



XVI Kongres

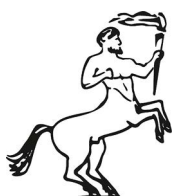
Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych

„Omnia Autem Animalia Sunt”



SZKOŁA GŁÓWNA
GOSPODARSTWA
WIEJSKIEGO

Instytut Medycyny
Weterynaryjnej



Warszawa
26-27 listopada 2021

Kongres organizowany jest przy wsparciu



Ministerstwo
Edukacji i Nauki

*Doskonała nauka – Wsparcie konferencji naukowych,
projekt nr DNK/SP/515129/2021.*



Komitet Nauk Weterynaryjnych i Biologii Rozrodu

oraz



LABSOFT®





„Omnia Autem Animalia Sunt”



Patronat honorowy

JM Rektora
Szkóły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie

© Copyright by Instytut Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie
Warszawa 2021

Redakcja i korekta

Kaja Urbańska, Justyna Sokołowska,
Tomasz Sadkowski, Lidia Szulc-Dąbrowska, Ilona Stefańska,
Zuzanna Biernacka, Zuzanna Strzałkowska, Agata Cienkusz

Redakcja techniczna

Kamil Dąbrowski, Lidia Szulc-Dąbrowska

Projekt graficzny

Kamil Dąbrowski

ISBN 978-83-8237-043-0

Wydawnictwo SGGW

ul. Nowoursynowska 161, 02-787 Warszawa

tel. 22 593 55 20

e-mail: wydawnictwo@sggw.edu.pl

www.wydawnictwosggw.pl

Druk: POLIMAX, ul. Nowoursynowska 161I, 02-787 Warszawa

SPIIS TREŚCI

SŁOWO WSTĘPNE – Rektor Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.....	7
SŁOWO WSTĘPNE – Prezes Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych.....	9
SŁOWO WSTĘPNE – Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego.....	11
KOMITET HONOROWY KONGRESU.....	13
KOMITET NAUKOWY KONGRESU.....	15
KOMITET ORGANIZACYJNY KONGRESU.....	16
WYKŁAD INAUGURACYJNY.....	17
INAUGURACJA KONGRESU.....	19
SESJE NAUKOWE KONGRESU I PREZENTACJE SPONSORÓW.....	21
PROGRAM.....	23
Sesja nauk podstawowych i przedklinicznych.....	25
Sesja epizootologii i administracji weterynaryjnej.....	29
Sesja higieny żywności i weterynaryjnej ochrony zdrowia publicznego.....	31
Sesja zwierząt nieudomowionych i futerkowych.....	36
Sesja fizjologii i patologii konia.....	39
Sesja fizjologii i patologii przeżuwaczy.....	43
Sesja żywienia zwierząt i higieny pasz.....	46
Sesja fizjologii i patologii świń.....	49
Sesja neonatologii.....	50
Sesja fizjologii i patologii psów i kotów.....	51
Sesja fizjologii i patologii ptaków.....	55
Sesja ichtiopatologii i zwierząt akwakultury.....	59
Sesja patologii i użytkowania zwierząt doświadczalnych.....	61
Sesja historii medycyny weterynaryjnej.....	62
Sesja mikrobiologii weterynaryjnej.....	64
Sesja dobrostanu zwierząt i ochrony środowiska.....	70
Sesja edukacji i nowoczesnych form nauczania w weterynarii.....	72
STRESZCZENIA PRAC.....	73
Sesja nauk podstawowych i przedklinicznych.....	75
Sesja epizootologii i administracji weterynaryjnej.....	115
Sesja higieny żywności i weterynaryjnej ochrony zdrowia publicznego.....	131
Sesja zwierząt nieudomowionych i futerkowych.....	181
Sesja fizjologii i patologii konia.....	203
Sesja fizjologii i patologii przeżuwaczy.....	239
Sesja żywienia zwierząt i higieny pasz.....	271
Sesja fizjologii i patologii świń.....	293
Sesja neonatologii.....	303
Sesja fizjologii i patologii psów i kotów.....	311
Sesja fizjologii i patologii ptaków.....	345
Sesja ichtiopatologii i zwierząt akwakultury.....	377
Sesja patologii i użytkowania zwierząt doświadczalnych.....	393
Sesja historii medycyny weterynaryjnej.....	401
Sesja mikrobiologii weterynaryjnej.....	409
Sesja dobrostanu zwierząt i ochrony środowiska.....	447
Sesja edukacji i nowoczesnych form nauczania w weterynarii.....	463
INDEKS AUTORÓW	469

Wielce Szanowni Państwo,

Odbywający się co cztery lata Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych to największe i najważniejsze naukowe wydarzenie w środowisku weterynaryjnym, otwarte forum wymiany informacji, wiedzy i doświadczeń. To doskonała okazja do zaprezentowania najnowszych osiągnięć nauk weterynaryjnych i możliwości ich zastosowania w praktyce. W czasie obrad spotykają się przedstawiciele całej korporacji – naukowcy, studenci, lekarze praktykujący i zatrudnieni w przemyśle i dystrybucji produktów weterynaryjnych.

Formuła kongresu w swoim podstawowym założeniu ma twórczo rozwijać trzy misje współczesnego środowiska naukowego: dydaktyczną, naukową i oddziaływania na otoczenie społeczno-gospodarcze, których celem ma być upowszechnianie i popularyzacja wyników badań oraz ich komercjalizacja. Stanowią one wierzchołki trójkąta wiedzy (badania – edukacja – biznes), który jest nowym modelem europejskiej polityki innowacji.

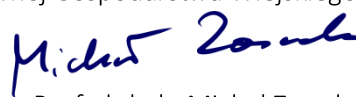
Ostatnie 100 lat rozwoju cywilizacyjnego charakteryzuje się lawinowym powiększaniem się zasobów wiedzy, nauki i zakresów ich zastosowań tak technicznych jak i medycznych. Zmiany następują tak szybko, że bieżące ich śledzenie możliwe jest jedynie przy wsparciu nowych sposobów uzyskiwania, gromadzenia i przetwarzania informacji i obecnie śmiało można stwierdzić, że staliśmy się społeczeństwem informacyjnym. Jednak mimo nieograniczonych właściwie możliwości wymiany wiedzy w świecie wirtualnym, jednak żywa dyskusja, wymiana myśli i poglądów w kontaktach bezpośrednich nadal pozostaje nieocenioną sposobnością do poszerzania horyzontów i twórczego rozwoju.

Bardzo się cieszę, że Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego po raz kolejny może gościć w swoich murach to wyjątkowe wydarzenie - XVI już Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, organizowany cyklicznie od 60 już lat, na którym reprezentacja SGGW będzie bardzo liczna.

Priorytetem naszej Alma Mater jest rozwój potencjału naukowego i cieszę się, że polityka ta, wspierając działania naukowej społeczności SGGW, przynosi efekty wyrażone publikacjami w renomowanych czasopismach, pozyskanymi grantami czy wystąpieniami na prestiżowych konferencjach, takich jak niniejszy Kongres.

Zapraszając do udziału w obradach życzę Państwu, aby obecna edycja Kongresu przyczyniła się do dalszego rozwoju nauk weterynaryjnych, wzrostu zainteresowania tematyką najnowszych osiągnięć z tego zakresu wśród lekarzy wolnej praktyki i przedstawicieli biznesu oraz integracji środowiska ekspertów reprezentujących niemal wszystkie działy medycyny weterynaryjnej.

Rektor
Szkoly Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie



Prof. dr hab. Michał Zasada

Szanowni Państwo,

po rocznym prolongowaniu terminu, udało się zorganizować XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych. Jak wszyscy wiemy, spowodowane to było i jest wciąż trwającą pandemią COVID-19, toteż wszystkie wykłady i doniesienia realizowane są w systemie *on-line*. Nie jest to komfortowa sytuacja, ale zdrowie uczestników jest najważniejsze, więc należy przestrzegać przepisów dotyczących zapobieganiu i rozszerzaniu się tej jednostki chorobowej.

Organizacja tak wyjątkowego wydarzenia naukowego to niewątpliwie wielki splendor, ale przede wszystkim weryfikator kompetencji zawodowych i umiejętności organizacyjnych naszego Towarzystwa. XVI Kongres odbywa się pod hasłem „*Omnia autem animalia sunt*”. Hasło to odnosi się do naszego świata – wspólnego istnienia ze światem zwierząt, z którym tak mocno jesteśmy związani osobiście i zawodowo. Temu zgodnemu istnieniu poświęcony jest tegoroczny Kongres, do którego wprowadzi nas wykładem inauguracyjnym prof. Jerzy Bralczyk – wybitny polski językoznawca, profesor nauk humanistycznych i specjalista w zakresie języka reklamy, mediów i polityki. W książce „*Zwierzyniec*”, którą powinien posiadać każdy lekarz weterynarii, prof. Jerzy Bralczyk pisze: „Bo tak się składa, że sami rzadko siebie zaliczamy „do królestwa zwierząt”. Czasem „wychodzi z nas zwierzę”, czasem półzartem mówimy o człowieku jako „o zwierzęciu społecznym” czy „towarzyskim”, ale naszych „braci mniejszych” za bliskich sobie tak naprawdę nie uważamy”.

Celem Kongresu jest przedstawienie osiągnięć nauki z dyscypliny nauk weterynaryjnych i im pokrewnych uczestnikom Kongresu – lekarzom weterynarii, studentom, pracownikom naukowym oraz firmom współpracującym w tym obszarze. Kongres to również szansa dla młodych pracowników nauki, będących na początku swojej kariery zawodowej, do zaprezentowania wyników badań na tak szerokim i autorytatywnym forum.

Zainteresowanie aktywnym uczestnictwem w Kongresie jest bardzo duże: zarejestrowanych zostało 482 uczestników, stworzono 17 sesji tematycznych i zgłoszono aż 356 tematów do prezentacji ustnych i posterowych. Tak szeroki zakres tematyczny Kongresu pozwoli każdemu z uczestników wybrać interesujące go zagadnienia, które wzbogacą jego wiedzę i umiejętności praktyczne.

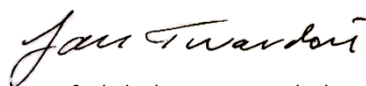
Niestety, z powodu trwającej pandemii, nie odbędą się, jak zawsze przy takich okazjach, spotkania face to face, które są nieodłącznym i istotnym elementem tego rodzaju wydarzeń naukowych.

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

Składam serdeczne podziękowania wszystkim, którzy współdziałali w przygotowaniu i realizacji XVI Kongresu PTNW. Szczególne podziękowania kieruję do Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie, do jego kierownictwa i pracowników, którzy z dużym entuzjazmem i profesjonalizmem zaangażowali się w tak ważne dla PTNW wydarzenie. Należy tutaj wspomnieć Pana prof. Arkadiusza Orzechowskiego, który włożył nieoceniony wkład pracy w przygotowaniach naszego Kongresu, jednak los sprawił, że z wielkim żalem pożegnaliśmy Go w maju 2021 roku.

Życzę Państwu owocnych obrad, ciekawych dyskusji i satysfakcji z uczestnictwa w XVI Kongresie Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych.

Prezes
Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych



Prof. dr hab. Jan Twardoń

Szanowni Państwo,

Mam zaszczyt oraz ogromną przyjemność powitać Państwa na **XVI Kongresie Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych** odbywającym się w dniach 26-27 listopada 2021 w Instytucie Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie **pod hasłem „*Omnia autem animalia sunt*”**, który jest doskonałą okazją do zaprezentowania najnowszych osiągnięć z dziedziny nauk weterynaryjnych przez najlepszych polskich i zagranicznych naukowców zajmujących się zdrowiem i dobrostanem zwierząt, w tym w szczególności praktykujących lekarzy weterynarii z naukowym zacięciem.

Jednocześnie Kongres, jako wydarzenie organizowane regularnie co 4 lata, należy traktować jako sposobność do zaprezentowania wachlarza ofert w zakresie profilaktyki, diagnostyki i leczenia zwierząt przez producentów z kraju i ze świata. W normalnych warunkach mielibyśmy możliwość uczestniczenia w wykładach plenarnych i prowadzonych w formie sesji tematycznych, w nieformalnych spotkaniach i dyskusjach kularowych oraz bezpośredniego kontaktu z przedstawicielami firm zarówno wspierających swoją działalnością nauki i praktykę weterynaryjną, jak również będących ważnym ogniwem wykorzystania i komercjalizacji wyników badań naukowych. Jednak trwająca drugi już rok pandemia wymusiła zmianę formuły Kongresu. Mimo oczywistych ograniczeń wynikających z obrad odbywających się w formie *on-line* pozwolę sobie wyrazić nadzieję, że zgromadzą one w jednym miejscu i czasie wybitnych przedstawicieli nauk weterynaryjnych oraz licznych słuchaczy, zarówno zajmujących się nauką i edukacją, jak również praktyków, lekarzy pracujących dla przemysłu i biznesu jak i studentów, a prezentowane treści staną się bodźcem stymulującym dalszy postęp nauk weterynaryjnych oraz wzbogacającym codzienną praktykę.

W imieniu Organizatorów oraz Władz Instytutu i Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, witam serdecznie wszystkich uczestników Kongresu w Warszawie, siedzibie Uczelni Rolniczej o dwustuletniej historii i Wydziału o dziewięćdziesięcioletniej tradycji. Życzę Państwu udanych obrad i owocnych, choć wirtualnych, dyskusji.

Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego



Prof. dr hab. Marcin Bańbura

KOMITET HONOROWY KONGRESU

Wiceprezes Rady Ministrów, Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi

Henryk Kowalczyk

Główny Lekarz Weterynarii

dr n. wet. Mirosław Welz

Prezes Krajowej Rady Lekarsko-Weterynaryjnej

lek. wet. Jacek Łukaszewicz

Prezes Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych

prof. dr hab. Jan Twardoń

Przewodniczący Komitetu Nauk Weterynaryjnych i Biologii Rozrodu PAN

prof. dr hab. Wojciech Niżański

Rektor Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

prof. dr hab. Michał Zasada

Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

prof. dr hab. Stanisław Dzimira, prof. UPWr

Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

prof. dr hab. Bogdan Lewczuk

Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

dr hab. Iwona Puzio, prof. UP

Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej,

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

dr hab. Michał Skibniewski

Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach,

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

prof. dr hab. Małgorzata Szumacher

Dyrektor Uniwersyteckiego Centrum Medycyny Weterynaryjnej,

Uniwersytet Jagielloński-Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

dr hab. Kazimierz Tarasiuk, prof. UR

Dyrektor Instytutu Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski

Dyrektor Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego
w Puławach

prof. dr hab. Krzysztof Niemczuk

Prezes Rady Warszawskiej Izby Lekarsko-Weterynaryjnej

lek. wet. Marek Mastalerek

Przewodnicząca Rady Towarzystw Naukowych Polskiej Akademii Nauk

prof. dr hab. Iwona Hofman

Prezesa ZG PTNW minionych kadencji:

prof. dr hab. Iwona Markowska-Daniel

prof. dr hab. Marian Binek

prof. dr hab. Andrzej Koncicki

prof. dr hab. Włodzimierz Kluciński

prof. dr hab. Jerzy Kita

Dyrektor Muzeum Rolnictwa im. Ks. Krzysztofa Kluka w Ciechanowcu

mgr Dorota Łapiak

Członkowie Honorowi PTNW

doc. dr hab. Krzysztof Wojciechowski

KOMITET NAUKOWY KONGRESU

prof. dr hab. Krzysztof Anusz
dr hab. Wojciech Bielecki
dr hab. Magdalena Chłopecka
prof. dr hab. Anna Cywińska
dr hab. Małgorzata Gajewska, prof. SGGW
prof. dr hab. Zdzisław Gajewski
prof. dr hab. Magdalena Gajęcka
dr hab. Małgorzata Gieryńska
prof. dr hab. Maciej Janeczek
prof. dr hab. Piotr Jurka
prof. dr hab. Jarosław Kaba
dr Mirosław Kalicki
prof. dr hab. Marta Kankofer
prof. dr hab. Roman Kołacz
prof. dr hab. Cezary Kowalski
dr hab. Aleksandra Ledwoń
prof. dr hab. Iwona Markowska-Daniel
prof. dr hab. Andrzej Mazur
dr hab. Marta Mendel
prof. dr hab. Artur Niedźwiedź
prof. dr hab. Agnieszka Noszczyk-Nowak
dr hab. Agnieszka Pękala-Safińska, prof. UPP
prof. dr hab. Krzysztof Rypuła
prof. dr hab. Andrzej Siwicki
prof. dr hab. Tadeusz Stefaniak
prof. dr hab. Piotr Szeleszczuk
prof. dr hab. Krzysztof Szkucik
dr hab. Kazimierz Tarasiuk, prof. UR
prof. dr hab. Jan Twardoń
prof. dr hab. Krzysztof Wąsowicz
prof. dr hab. Alina Wieliczko
dr Jan Wiśniewski
prof. dr hab. Romuald Zabielski

KOMITET ORGANIZACYJNY KONGRESU

Przewodniczący

prof. dr hab. Marcin Bańbura

Wiceprzewodniczący

dr hab. Sadkowski Tomasz

Wiceprzewodniczący (zmarł 30 maja 2021 r.)

prof. dr hab. Arkadiusz Orzechowski

Sekretarze

dr hab. Justyna Sokołowska

dr Kaja Urbańska

Skarbnik

dr Michał Tracz

Członkowie

dr Karolina Barszcz

Paulina Bindas

dr hab. Magdalena Chłopecka

prof. dr hab. Anna Cywińska

dr hab. Małgorzata Gieryńska

dr hab. Magdalena Kizerwetter-Świda

dr Maciej Klockiewicz

dr hab. Marta Mendel

dr hab. Anna Maria Pyziel

dr hab. Magdalena Rzewuska, prof. SGGW

dr hab. Małgorzata Sobczak-Filipiak

dr Ilona Stefańska

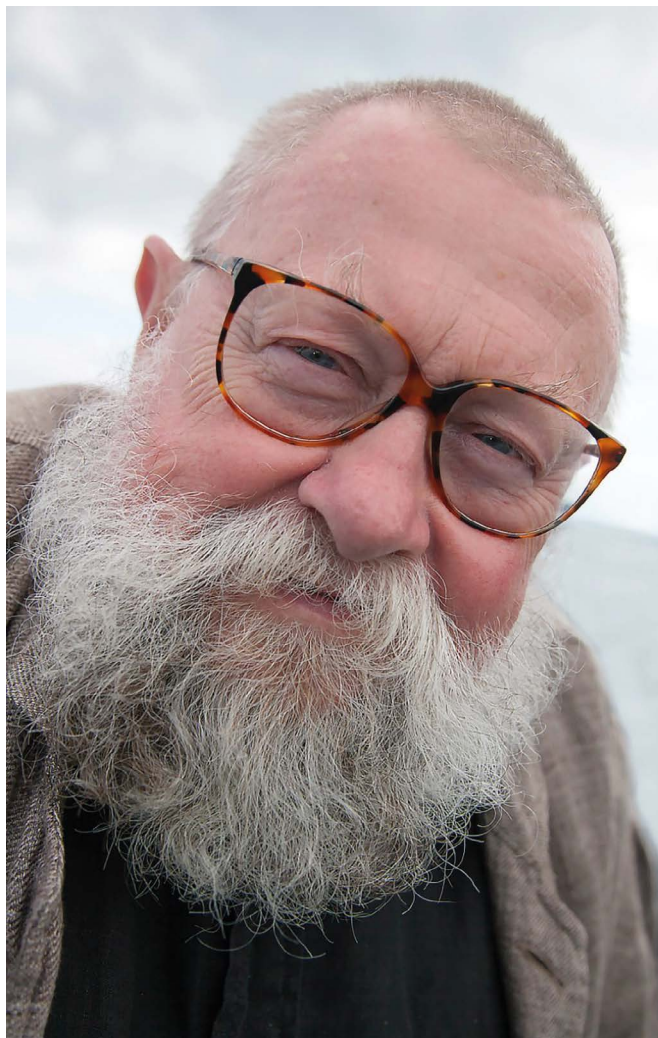
Zuzanna Strzałkowska

dr hab. Lidia Szulc-Dąbrowska

prof. dr hab. Jan Twardoń

prof. dr hab. Romuald Zabielski

WYKŁAD INAUGURACYJNY



Fot. Czesław Czaplński

Prof. dr hab. Jerzy Bralczyk, emerytowany profesor Uniwersytetu SWPS
i Uniwersytetu Warszawskiego, wiceprzewodniczący Rady Języka Polskiego.

Tytuł wykładu:
Jak o nich mówimy?

INAUGURACJA KONGRESU

Piątek 26 listopada 2021 r.

- 09:00 Otwarcie Kongresu – transmisja na żywo <https://youtu.be/OJ8DQhMvnm8>
- 09:05 Powitanie Gości Honorowych i Uczestników Kongresu
- Wystąpienie Przedstawiciela Władz Rektorskich
 Szkoly Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
 – **dr hab. Marta Mendel**
- Wystąpienie Prezesa Zarządu Głównego
 Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych
 – **prof. dr hab. Jan Twardoń**
- Wystąpienie Dyrektora Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie
 – **prof. dr hab. Marcin Bańbura**
- 09:15 Wykład inauguracyjny pt.: *Jak o nich mówimy?* – **prof. dr hab. Jerzy Bralczyk**
- 10:00 Informacja o nagrodach i odznaczeniach PTNW
- **prof. dr hab. Jan Twardoń** – Prezes ZG PTNW
- **prof. dr hab. Iwona Markowska-Daniel** – Prezes ZG PTNW poprzedniej kadencji
- **prof. dr hab. Marta Kankofer** – sekretarz naukowy ZG PTNW
- 11:00 Zakończenie uroczystości otwarcia Kongresu

SESJE NAUKOWE KONGRESU I PREZENTACJE SPONSORÓW

Piątek 26 listopada 2021 r.

- 11:00 Sesja nauk podstawowych i przedklinicznych
- 11:15 Prezentacja firmy Labsoft Sp. z o.o. – **mgr inż. Grzegorz Szumilas, dr Michał Kuźdzał**
- 11:30 Sesja epizootologii i administracji weterynaryjnej
Sesja higieny żywności i weterynaryjnej ochrony zdrowia publicznego
Sesja zwierząt nieudomowionych i futerkowych
Sesja fizjologii i patologii konia
Sesja fizjologii i patologii przeżuwaczy
- 12:00 Sesja żywienia zwierząt i higieny pasz
- 15:30 Sesja fizjologii i patologii świń
- 16:00 Sesja neonatologii
- 19:30 Zakończenie obrad

Sobota 27 listopada 2021 r.

- 08:45 Prezentacja firmy Phibro Animal Health Corporation – **lek. wet. Wojciech Hodorowicz**
- 09:00 Sesja fizjologii i patologii psów i kotów
Sesja fizjologii i patologii ptaków
Sesja ichtiopatologii i zwierząt akwakultury
Sesja patologii i użytkowania zwierząt doświadczalnych
Sesja historii medycyny weterynaryjnej
Sesja mikrobiologii weterynaryjnej
 - 14:40 Prezentacja oferty dla mikrobiologii weterynaryjnej firmy GRASO Biotech
- 13:00 Sesja dobrostanu zwierząt i ochrony środowiska
Sesja edukacji i nowoczesnych form nauczania w weterynarii
- 17:15 Zamknięcie Kongresu – transmisja na żywo <https://youtu.be/adm4OL3UasE>



PROGRAM



SESJA NAUK PODSTAWOWYCH I PRZEDKLINICZNYCH

Przewodnicząca: dr hab. Małgorzata Gieryńska
Wiceprzewodniczący: dr hab. Błażej Poźniak, prof. UPWr

Piątek 26 listopada 2021 r.

Część I.

11:00-11:10 Otwarcie sesji

WYKŁAD PLENARNY

11:10-11:40	prof. dr hab. Małgorzata Łobocka	PP.W.01
	Perspektywy terapii fagowej zakażeń gronkowcowych u psów i kotów	77

WYSTĄPIENIA USTNE (10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

11:45-13:00	J. Zdziennicka, J. Wessely-Szponder, A. Junkuszew, M. Latański, M. Świeca	PP.U.01
	Wpływ żelu bogatopłytkowego i osocza ubogopłytkowego na aktywność neutrofilii uzyskanych po wszczepieniu implantu tytanowego w okolicę chrząstki wzrostowej kości piszczelowej owiec	79
	T. Uzar	PP.U.02
	Przebieg i podział tętnicy trzewnej wilka szarego (<i>Canis lupus</i>)	80
	H. Jackowiak, K. Skiersz-Szewczyk, B. Plewa	PP.U.03
	Morfologia funkcjonalna i mikrostruktura brodawek językowych ssaków – stan badań	81
	B. Plewa, K. Skiersz-Szewczyk, H. Jackowiak	PP.U.04
	Trójwymiarowa analiza smakowych brodawek językowych i ich kubków smakowych na języku bydła (<i>Bos taurus</i>), żubra (<i>Bison bonasus</i>) i żubronia	82
	K. Skiersz-Szewczyk, H. Jackowiak	PP.U.05
	Analiza różnicująca nabłoneków rogowych błony śluzowej języka ptaków	83

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE
(3 min/wystąpienie + 2 min dyskusja)

13:00-14:00	M. Krawenda, E .Pasicka	PP.P.01
	Zmienność cech metrycznych czaszki psa domowego w zakresie morfotypów	88
	M. Krawenda, E .Pasicka	PP.P.02
	Zróżnicowanie indeksów pomiarowych czaszki psa domowego w obrębie morfotypów	89
	J. Sokołowska	PP.P.03
	Lokalizacja komórek C w tarczycy u żubra (<i>Bison bonasus</i>)	90
	K. Barszcz, O. Szaluś-Jordanow, K. Goździewska-Harłajczuk, J. Klećkowska-Nawrot, M. Mickiewicz, A. Moroz, G. Wysocki	PP.P.04
	Ujścia tętnic wieńcowych u kozy domowej	91
	J. Jacewicz, B. Degórska, W. Sienkiewicz	PP.P.05
	Unerwienie stawu łokciowego psa	92
	H. Jackowiak, E. Prozorowska, S. Godynicki	PP.P.06
	Mikrounacznienie pęcherza moczowego świni	93
	B. Plewa, H. Jackowiak, M. Stanisław	PP.P.07
	Badania makro- i mikroskopowe języka i brodawek językowych u dzikiego królika (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	94
	K. Skiersz-Szewczyk, H. Jackowiak	PP.P.08
	Dynamika rozwoju języka i brodawek językowych gęsi domowej (<i>Anser anser f. domestica</i>) w okresie zarodkowym	95
	A. Bełcik, W. Korpysa-Dzirba, E. Bilska-Zajac, M. Różycki, J. Dąbrowska, M. Włodarczyk-Ramus, A. Gontarczyk, T. Cencek	PP.P.09
	Zaskrońce zwyczajne jako żywicieli parateniczni dla przywra <i>Alaria alata</i>	96
	J. Dąbrowska, M. Kochanowski, M. Różycki, J. Karamon, J. Sroka, T. Cencek	PP.P.10
	Proteomiczna analiza białek wydzielniczo-wydalniczych larw III stadium <i>Anisakis simplex</i>	97
	J. Dąbrowska, J. Karamon, M. Kochanowski, J. Sroka, T. Cencek	PP.P.11
	Porównanie czterech komercyjnych zestawów do izolacji DNA <i>Trichomonas foetus</i> z kału kotów za pomocą dwóch metod molekularnych	98
14:00-14:20	Przerwa	

Część II.

WYKŁAD PLENARNY

14:20-14:55	prof. dr hab. Tomasz Grabowski	PP.W.02
	Świnia jako zwierzę modelowe w analizie PK/PD terapeutycznych przeciwciał monoklonalnych przeznaczonych dla człowieka	78

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

15:00-16:00	J. Niewiadomska, A. Noszczyk-Nowak	PP.U.06
	Analiza potencjału biologicznego ekstraktu ze skórek granatowca w szczurzym modelu zespołu metabolicznego	84
	H. Grzesik, K. Papis, A. Zarzycka, A. Niwińska, Z. Gajewski	PP.U.07
	Pomyślne rozmrożenie zarodków myszy przechowywanych w ciekłym azocie przez okres 35 lat	85
	M. Lis, M. Szczypka, M. Kuczkowski, A. Pawlak, A. Gawęł, B. Obmińska-Mrukowicz	PP.U.08
	Wpływ laktoferyny podanej <i>in ovo</i> na populację limfocytów śledziony u kurcząt brojlerów	86
	K. Grzymajło	PP.U.09
	Interakcje gospodarz-patogen w świetle różnorodności fimbrii typu I pałeczek <i>Salmonella</i>	87

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE

(3 min/wystąpienie + 2 min dyskusja)

16:00-17:30	B. Łebkowska-Wieruszewska, M. Gbylik-Sikorska, A. Gajda, I. Sartini, A. Lisowski, A. Poapolathep, M. Giorgi	PP.P.12
	Cebranopadol, nowatorski lek przeciwbólowy w medycynie weterynaryjnej?	99
	A. Józefiak, B. Kierończyk	PP.P.13
	Identyfikacja peptydów o aktywności przeciwbakteryjnej w ekstraktach pozyskanych z karaczana madagaskarskiego (<i>Gromphadorhina portentosa</i>)	100
	D. Barski, A. Spodniewska	PP.P.14
	Wpływ jednorazowego podania glifosatu na wybrane wskaźniki biochemiczne oraz parametry enzymatycznej obrony antyoksydacyjnej w organizmie szczura	101
	A. Prostek, J. Wilczak, B. Bałasińska	PP.P.15
	Wpływ diety wzbogaconej olejem z łososia na profil wydzielniczy tkanki tłuszczowej szczurów	102

K. Ciesielska, A. Prostek, M. Gajewska	PP.P.16
Wpływ nasyconych oraz nienasyconych kwasów tłuszczowych na aktywność procesu autofagii w hipertroficznym komórkach tłuszczowych myszy	103
A. Gralak, A. Cywińska, A. Czujkowska, M. Gałązka, K. Kowalski, M. Książkiewicz	PP.P.17
Stężenia kannabidiolu i jego metabolitów po podaniu pojedynczej dawki oleju CBD u słonia afrykańskiego i nosorożca indyjskiego – badania wstępne	104
E. Małek, N. Leciejewska, A. Łukomska, E. Pruszyńska-Oszmałek, M. Sassek, K. Mielnik, S. Kaczmarek, M. Hejdysz, P. Kołodziejski	PP.P.18
Wpływ rasy i typu użytkowego kur na ekspresję iryzyny w mięśniach	105
K. Urbańska, A. Orzechowski	PP.P.19
Próba zahamowania prenylacji białka Rab9 w komórkach raka trzustki i ocena jej wpływu na proces makroautofagii	106
Z. Biernacka, J. Struzik, M. Gieryńska, M. Koper, F. Toka, L. Szulc-Dąbrowska	PP.P.20
Stabilny poziom ekspresji katepsyn cysteinowych w cDC1 oraz cDC2 u wrażliwych i opornych szczepów myszy we wczesnym etapie zakażenia wirusem ektromelii	107
Z. Biernacka, J. Struzik, M. Gieryńska, F. Toka, L. Szulc-Dąbrowska	PP.P.21
Zmiany w strukturach adhezyjnych konwencjonalnych komórek dendrytycznych w zakażeniu pokswirusowym	108
W. Wasylko, W. Pieniądz, Z. Biernacka, J. Struzik, M. Gieryńska, F. Toka, L. Szulc-Dąbrowska	PP.P.22
Wirus ektromelii zaburza grasicznie niezależną i grasiczozależną aktywację limfocytów B <i>in vitro</i>	109
A. Golke, W. Mulińska, M. Bańbura	PP.P.23
Ocena ekspresji wybranych cytokin na poziomie transkrypcji w komórkach nabłonkowych zakażonych końskim herpeswirusem typu I <i>in vitro</i>	110
M. Kwaśnik, A. Malinowska, K. Stasiak, M. Larska, J. Rola, W. Rożek	PP.P.24
Analiza proteomiczna sekretom komórek zakażonych herpeswirusem koni typu 1	111
A. Sysak, B. Obmińska-Mrukowicz, M. Mączyński	PP.P.25
Ocena aktywności immunomodulującej <i>in vitro</i> syntetycznych pochodnych pierścienia izoksazolowego	112
A. Żak-Bochenek, N. Siwińska, J. Bajzert, K. Sikorska, A. Chełmońska-Soyta	PP.P.26
Metoda wykrywania niespecyficznej wydzielniczej immunoglobuliny A w przewodzie pokarmowym koni	113

17:30-17:40 Zakończenie sesji

SESJA EPIZOOTIOLOGII I ADMINISTRACJI WETERYNARYJNEJ

Przewodniczący: dr hab. Lucjan Witkowski
Wiceprzewodniczący: prof. dr hab. Krzysztof Rypuła

Piątek 26 listopada 2021 r.

WYKŁADY PLENARNE

11:30-12:15	prof. dr hab. Krzysztof Niemczuk	EA.W.01
	Rola krajowych laboratoriów referencyjnych w implementacji technik badawczych wpływających na efektywność dochodzeń epizootycznych prowadzonych przez Inspekcję Weterynaryjną	117
12:15-12:30	Dyskusja	
12:30-13:00	lek. wet. Agata Andrzejewska	EA.W.02
	Nadchodzące zmiany w przepisach dotyczących produktów leczniczych weterynaryjnych	118
13:00-13:15	Dyskusja	
13:15-13:45	lek. wet. Małgorzata Bruczyńska	EA.W.03
	Przemieszczanie zwierząt domowych – problemy prawne	119
13:45-14:00	Dyskusja	
14:00-14:15	Przerwa	

WYSTĄPIENIA USTNE (10 min/wystąpienie)

14:15-14:35	M. Krajewska-Wędzina, Ł. Radulski, M. Lipiec, K. Szulowski	EA.U.01
	Wybuch gruźlicy bydłowej u alpak w Polsce	120
	A. Orłowska, M. Smreczak, P. Trębas, J. Rola	EA.U.02
	Epizootia wścieklizny w województwie mazowieckim w 2021 roku	121
14:35-14:45	Dyskusja	

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE

(3 min/wystąpienie)

14:45-15:15	Ł. Radulski, M. Lipiec, M. Krajewska-Wędzina, K. Szulowski	EA.P.01
	<i>Zakażenie <i>Mycobacterium kansasii</i> u dzika euroazjatyckiego</i>	122
	M. Lipiec, Ł. Radulski, M. Krajewska-Wędzina, K. Szulowski	EA.P.02
	<i>Mykobakterioza alpaki wywołana przez <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>avium</i></i>	123
	M. Larska, J. Kęsik-Maliszewska, J. Rola	EA.P.03
	<i>Co dalej z wirusem Schmallenberg?</i>	124
	P. Łada, K. Kończyk-Kmiecik, K. Lipczyńska-Ilczuk, A. Banczerz-Kisiel	EA.P.04
	<i>Charakterystyka szczepów <i>Yersinia enterocolitica</i> wyizolowanych od bydła</i>	125
	M. Odyniec, P. Socha, K. Kończyk-Kmiecik, K. Lipczyńska-Ilczuk, W. Szweda, A. Banczerz-Kisiel	EA.P.05
	<i>Występowanie szczepów <i>Yersinia enterocolitica</i> i <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> u wybranych gatunków zwierząt łownych</i>	126
	A. Platt-Samoraj, J. Żmudzki, J. Pajdak-Czaus, W. Szweda	EA.P.06
	<i>Rozprzestrzenienie <i>Yersinia enterocolitica</i> i <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> wśród małych dzikich gryzoni w południowo-wschodniej Polsce</i>	127
	M. Smreczak, A. Orłowska, P. Trębas, J. Rola	EA.P.07
	<i>Wstępna ocena występowania przeciwciał dla SARS-CoV-2 u psów i kotów w Polsce</i>	128
	G. Woźniakowski	EA.P.08
	<i>Wpływ występowania afrykańskiego pomoru świń (ASF) na produkcję trzody chlewnej w Europie</i>	129
	M. Siedlecka, K. Płoneczka-Janeczko, K. Rypuła	EA.P.09
	<i>Wpływ pandemii na częstotliwość zlecania badań bakteriologicznych u zwierząt towarzyszących (psy i koty)</i>	130
15:15-15:30	Dyskusja	
15:30-15:40	Zakończenie sesji	

SESJA HIGIENY ŻYWNOSCI I WETERYNARYJNEJ OCHRONY ZDROWIA PUBLICZNEGO

Przewodniczący: prof. dr hab. Krzysztof Anusz
Wiceprzewodniczący: dr hab. Waldemar Paszkiewicz, prof. UP

Piątek 26 listopada 2021 r.

Część I. Środowisko – bezpieczeństwo żywności

11:30-11:40 Otwarcie sesji

WYKŁAD PLENARNY

11:40-12:05	dr Joanna Zarzyńska	HŻ.W.01
	Negatywny wpływ produkcji zwierzęcej na klimat - czy mięso <i>in vitro</i> będzie rozwiązaniem problemu?	133

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE (5 min/wystąpienie)

12:05-13:20	A. Didkowska, B. Orłowska, M. Krajewska-Wędzina, W. Olech, K. Anusz	HŻ.P.01
	Wykorzystanie białek ostrej fazy jako biomarkera w diagnostyce gruźlicy u żubrów	139
	M. Roman, P. Stachura, A. Didkowska, P. Żmuda, K. Anusz	HŻ.P.02
	Badanie serologiczne w kierunku gorączki Q u owiec z województwa małopolskiego	140
	B. Wysok, T. Stenzel, M. Sołtysiuk	HŻ.P.03
	Ptaki wolno żyjące jako źródło patogennych szczepów <i>Campylobacter</i> spp.	141
	M. Puchalska, J. Wiśniewski, K. Anusz	HŻ.P.04
	Wpływ systemu utrzymania trzody chlewnej na częstość występowania przeciwciał przeciwko <i>Toxoplasma gondii</i>	142
	J. Pławińska-Czarnak, Z. Bełkot, K. Wódz, E. Skorek, J. Bogdan, J. Wiśniewski, K. Anusz	HŻ.P.05
	Kaczka krzyżówka (<i>Anas platyrhynchos</i>) jako bioindykator występowania antybiotykooporności u <i>Salmonella</i> spp.	143
	A. Gajda	HŻ.P.06
	Alternatywne metody kontroli stosowania antybiotyków u zwierząt hodowlanych	144
	M. Łuszczynska, M. Gołaś-Prądzyska, M. Łucjanek, J. Rola	HŻ.P.07
	Monitoring występowania środków przeciwdrobnoustrojowych w żywności i wodzie - metody skriningowe	145

T. Grenda, B. Kozak, M. Goldsztejn, K. Kwiatek, J. Wiśniewski, K. Anusz	HŻ.P.08
Występowanie beztlenowych laseczek przetrwalnikujących z rodzaju <i>Clostridium</i> w miodzie pochodzącym z Kazachstanu	146
M. Sołtysiuk, A. Wiszniewska-Łaszczych, B. Wysok, J. Wojtacka, M. Gomółka-Pawlicka	HŻ.P.09
Występowanie gatunków z rodzaju <i>Listeria</i> izolowanych z ryb świeżych pochodzących z różnych akwenów	147
M. Pawul-Gruba, A. Madejska, M. Michalski, J. Osek	HŻ.P.10
Badania nad występowaniem histaminy w rybach surowych i wędzonych w latach 2014-2018	148
K. Kulpa, R. Pyz-Łukasik, A. Chałabis-Mazurek, M. Maćkowiak-Dryka, W. Paszkiewicz	HŻ.P.11
Jakość mikrobiologiczna krewetek	149
M. Nowicki, J. Wiśniewski, M. Puchalska, N. Strokowska, B. Bartyzel, K. Anusz	HŻ.P.12
Przeżywalność <i>Alaria</i> spp. w mięsie dzików podczas przechowywania w warunkach chłodniczych	150
Z. Bełkot, A. Chałabis-Mazurek, M. Maćkowiak-Dryka	HŻ.P.13
Zanieczyszczenia metalami toksycznymi mięsa i narządów wewnętrznych koni rzeźnych	151
S. Maszewski, M. Warenik-Bany, M. Pajurek, S. Mikołajczyk, W. Pietroń	HŻ.P.14
Zastosowanie metody GC-HRMS do oznaczania kongenerów polibromowanych bifenyli (PBB) w żywności	152
M. Warenik-Bany, S. Maszewski, S. Mikołajczyk, M. Pajurek, W. Pietroń	HŻ.P.15
Halogenowe zanieczyszczenia chemiczne w żywności pochodzenia zwierzęcego	153

13:20-13:30 Przerwa

Część II. Bezpieczeństwo ryb, mięsa oraz mleka

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

13:30-14:00	M. Ziomek, K. Szkucik, R. Pyz-Łukasik, M. Maćkowiak-Dryka	HŻ.U.01
	Ocena jakości mikrobiologicznej ryb wędzonych wprowadzanych do obrotu w Polsce	134
	W. Paszkiewicz, R. Pyz-Łukasik, M. Ziomek, A. Piróg-Komorowska, A. Policht	HŻ.U.02
	Występowanie <i>Listeria monocytogenes</i> w żywności zwierzęcego pochodzenia	135

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE

(5 min/wystąpienie)

14:00-15:25	M. Łopatek, B. Lachtara, K. Wieczorek, J. Osek	HŻ.P.16
	Występowanie <i>Listeria monocytogenes</i> w rybach wędzonych w Polsce i ocena wrażliwości wyizolowanych szczepów na wybrane środki przeciwdrobnoustrojowe	154
	M. Kochanowski, M. Różycki, J. Dąbrowska, A. Bełcik, W. Korpysa-Dzirba, J. Karamon, J. Sroka, T. Cencek	HŻ.P.17
	<i>Anisakis simplex</i> , <i>Pseudoterranova decipiens</i> , <i>Contracaecum osculatum</i> – porównawcza analiza profili proteomicznych	155
	M. Kochanowski, M. Różycki, J. Dąbrowska, A. Bełcik, W. Korpysa-Dzirba, J. Karamon, J. Sroka, T. Cencek	HŻ.P.18
	Proteomiczna i bioinformatyczna analiza białek larw III stadium <i>Anisakis simplex</i> poddanych działaniu wysokiej temperatury	156
	M. Kizerwetter-Świda, J. Bogdan, K. Wódz, M. Rzewuska, K. Anusz, J. Pławińska-Czarnak	HŻ.P.19
	Lekooporność pałeczek <i>Campylobacter</i> wyizolowanych z mięsa drobiowego	157
	A. Kaczmarkowska, A. Didkowska, E. Kwiecień, M. Rzewuska, K. Anusz	HŻ.P.20
	Węzły chłonne jako potencjalne źródło zakażenia bakteriami ropotwórczymi oraz <i>Mycobacterium</i> spp.	158
	A. Kaczmarkowska, A. Didkowska, D. Klich, P. Kociuba, E. Kwiecień, M. Rzewuska, K. Anusz	HŻ.P.21
	Korelacja wielkości i charakteru zmian w węzłach chłonnych świń i zakażeń <i>Mycobacterium avium</i>	159
	P. Knysz, M. Gondek, K. Szkucik, A. Nowakiewicz	HŻ.P.22
	Występowanie bakterii z rodzaju <i>Enterococcus</i> na powierzchni tusz zwierząt rzeźnych	160
	M. Puchalska, J. Wiśniewski, K. Anusz	HŻ.P.23
	Występowanie przeciwciał przeciwko <i>Toxoplasma gondii</i> u świń z różnych grup wiekowych	161
	M. Puchalska, J. Wiśniewski, J. Sokołowska, K. Urbańska, K. Anusz	HŻ.P.24
	Efektywność wybranych metod diagnostycznych w rozpoznawaniu zarażeń <i>Toxoplasma gondii</i> u trzody chlewnej	162
	A. Wiszniewska-Łaszczych, M. Sołtysiuk, B. Wysok, J. Wojtacka, M. Gomółka-Pawlicka	HŻ.P.25
	Ocena występowania <i>T. gondii</i> w mięsie wieprzowym na podstawie oznaczeń przeciwciał anty- <i>T. gondii</i> w surowicy krwi i soku mięsnym, przy zastosowaniu testu immunoenzymatycznego	163
	J. Pławińska-Czarnak, K. Wódz, M. Kizerwetter-Świda, J. Bogdan, T. Nowak, P. Kwieciński, A. Kwieciński, K. Anusz	HŻ.P.26
	Porównanie identyfikacji izolatów <i>Salmonella</i> spp. z próbek mięsa przy użyciu rutynowych metod bakteriologicznych i metod biologii molekularnej	164

M. Welz, K. Barocha, J. Pławińska-Czarnak, M. Żychska, Z. Strzałkowska, A. Kaczmarska, K. Anusz, O. Martynyuk, A. Cywińska, L. Witkowski	HŻ.P.27
Zmiany białkowe u bydła w badaniu poubojowym	165
M. Sosnowski, I. Kapłon, K. Wieczorek, J. Osek	HŻ.P.28
Występowanie drobnoustrojów patogennych w mięsie i mięsnych produktach ekologicznych	166
E. Bilska-Zajac, M. Różycki, A. Bełcik, W. Korpysa-Dzirba, M. Włodarczyk-Ramus, A. Gontarczyk, M. Kochanowski, T. Cencek	HŻ.P.29
Badania profilu białkowego i identyfikacja gatunkowa izolatów włośni przy użyciu MALDI-TOF MS	167
A. Weiner, M. Skowronek, K. Kwiatek	HŻ.P.30
Identyfikacja gatunkowa mięsa i produktów mięsnych	168
P. Buras, M. Roman, A. Didkowska, P. Żmuda, K. Wódz, K. Anusz	HŻ.P.31
Ocena mikrobiologiczna mleka od klinicznie zdrowych owiec w kontekście bezpieczeństwa żywności	169
M. Gołaś-Prądyńska, M. Łuszczńska, D. Chrzęszcz, J. Rola	HŻ.P.32
Występowanie i wrażliwość na środki przeciwdrobnoustrojowe enterokoków izolowanych z surowego mleka koziego	170

15:25-15:40 Przerwa

Część III. Bezpieczeństwo żywności gotowej do spożycia

WYSTĄPIENIA USTNE (10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

15:40-16:25	S. Banaszkiewicz, E. Wałęcka-Zacharska, J. Schubert, J. Król, J. Bania	HŻ.U.03
	Występowanie i stabilność genów enterotoksyn gronkowców koagulazoujemnych	136
	A. Tabiś, M. Gonet, J. Schubert, A. Miązek, A. Tomaszek, M. Nowak, J. Bania	HŻ.U.04
	Czy toksyny <i>S. epidermidis</i> są enterotoksyczne? Badania <i>in vitro</i> na myszach	137
	K. Czech-Załubska, A. Jackowska-Tracz, K. Anusz	HŻ.U.05
	Efektywny algorytm kontroli właściwego użycia substancji dodatkowych w surowych wyrobach mięsnych i produktach mięsnych	138

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE
(5 min/wystąpienie)

16:25-17:10	R. Szewczyk, K. Wieczorek, J. Osek	HŻ.P.33
	Ocena występowania enterotoksycznych gronkowców koagulazo-ujemnych w żywności gotowej do spożycia	171
	K. Heikkinen, M. Tracz, D. Gozdowski, M. Puchalska, M. Ziarno, K. Anusz, A. Jackowska-Tracz	HŻ.P.34
	Promieniowanie gamma jako metoda kontroli <i>L. monocytogenes</i> w serach Gorgonzola, Ricotta i Gouda	172
	B. Lachtara, K. Wieczorek, J. Osek	HŻ.P.35
	Typowanie molekularne <i>Listeria monocytogenes</i> serogrupy IIA pochodzących z żywności i środowiska jej produkcji w Polsce	173
	M. Łopatek, E. Denis, K. Wieczorek, J. Osek	HŻ.P.36
	Oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe wśród bakterii z rodziny <i>Enterobacteriaceae</i> izolowanych z żywności gotowej do spożycia	174
	A. Madejska, M. Pawul-Gruba, M. Michalski, J. Osek	HŻ.P.37
	Zawartość histaminy w wybranych etapach produkcji konserw rybnych	175
	E. Patyra, G. Dervilly-Pinel, B. Le Bizec, Y. Guitton, K. Kwiatek	HŻ.P.38
	Zastosowanie techniki <i>Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry</i> (REIMS) do wykrywania substancji zakazanych w żywności pochodzenia zwierzęcego	176
	M. Maćkowiak-Dryka, M. Ziomek, K. Szkucik	HŻ.P.39
	Zawartość selenu w kawiorze i wybranych substytutach kawioru	177
	P. Pniewski, E. Hać-Szymańczuk, E. Lipińska, M. Puchalska, M. Tracz, M. Ziarno, K. Anusz, A. Jackowska-Tracz	HŻ.P.40
	Ocena jakości mikrobiologicznej wysokobiałkowych batonów mięsnych	178
17:10-17:20	M. Gomółka-Pawlicka, J. Wojtacka, A. Wiszniewska-Łaszczych, B. Wysok, M. Sołtysiuk	HŻ.P.41
	Wrażliwość smakowa studentów medycyny weterynaryjnej z Polski, Litwy i Ukrainy	179
17:10-17:20	Zakończenie sesji	

SESJA ZWIERZĄT NIEUDOMOWIONYCH I FUTERKOWYCH

Przewodniczący: dr hab. Wojciech Bielecki
Wiceprzewodniczący: dr Mirosław Kalicki

Piątek 26 listopada 2021 r.

Część I.

11:30-11:35 Otwarcie sesji

WYSTĄPIENIA USTNE (10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

11:35-13:05	B. Orłowska, A. Didkowska, M. Krajewska-Wędzina, K. Anusz	NF.U.01
	Monitoring gruźlicy u jeleniowatych (południowa Polska)	183
	W. Vetter, K. Anusz, A. Pyziel-Serafin	NF.U.02
	Zarażenie dzikich jeleniowatych w Polsce nicieniami trawieńca o szerokim i wąskim spektrum żywicielskim	184
	K. Libera, M. Pomorska-Mól, M. Krzysiak, M. Larska	NF.U.03
	Stężenia białek ostrej fazy w surowicy żubrów klinicznie zdrowych oraz eliminowanych z powodów zdrowotnych – badania wstępne	185
	M. Gałązka, D. Klich, K. Anusz, A. Pyziel-Serafin	NF.U.04
	Porównanie skuteczności metody Willisa i McMastera w koproskopowej diagnostyce zarażenia żubrów, <i>Bison bonasus</i> , pasożytami wewnętrznymi	186
	A. Pyziel-Serafin, Z. Laskowski, A. Demiaszkiewicz, S. Kaczor, D. Merta, J. Kobielski, Ż. Steiner-Bogdaszewska, J. Werszko, K. Anusz	NF.U.05
	Nowy genotyp nicieni płucnych z rodzaju <i>Dictiocaulus</i> u jeleni w południowo - wschodniej i południowo - zachodniej Polsce	187
	B. Orłowska, A. Didkowska, W. Bielecki, A. Pyziel-Serafin, K. Anusz	NF.U.06
	Ropień mięśnia skroniowego u alpaki (<i>Vicugna pacos</i>) – opis przypadku	188

13:05-13:15 Przerwa

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE (5 min/wystąpienie)

13:15-13:55	M. Krzysiak, K. Anusz, J. Roła, M. Larska	NF.P.01
	Żubr (<i>Bison bonasus</i>) jako gatunek wskaźnikowy dla występowania wirusa kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV) w środowisku sylwatyicznym	194

I. Kozyra, M. Larska, M. Krzysiak, J. Rola, A. Rzeżutka	NF.P.02
Określenie roli żubra (<i>Bison bonasus</i>) jako sylwatyicznego rezerwuaru wirusa zapalenia wątroby typu E	195
A. Szczerba-Turek, J. Siemionek, W. Szweda	NF.P.03
Występowanie Shiga – toksycznych <i>Escherichia coli</i> (STEC) w populacji lisów fermowych (<i>Alopex lagopus</i>)	196
K. Buczak, S. Lachowska, P. Kucharski, P. Prządka, J. Bieżyński, A. Sowińska, Z. Kiełbowicz, S. Mulica	NF.P.04
Chirurgiczne rozwiązanie ciąży przenoszonej u boa leśnego (<i>Corallus hortulanus</i>) – przypadek kliniczny	197
K. Goździewska-Harłajczuk, K. Barszcz, P. Hamouzová, J. Klećkowska-Nawrot, P. Čížek	NF.P.05
Morfologia nadnerczy pantery mglistej (<i>Neofelis nebulosa</i> Griffith, 1821) (Pantherinae)	198
A. Wichtowska	NF.P.06
Użycie środków farmakologicznych w stabilizacji stanu klinicznego królika z wytrzeszczem oczu i problemami oddechowymi spowodowanymi grasiczakiem – opis przypadku	199
J. Klećkowska-Nawrot, K. Goździewska-Harłajczuk, K. Barszcz, K. Stegmann	NF.P.07
Badania histologiczne powieki górnej i dolnej u niedźwiedzia himalajskiego (<i>Ursus thibetanus</i> Cuvier, 1823) (Carnivora: Ursidae)	200
S. Lachowska, K. Buczak, P. Kucharski, A. Sowińska, A. Antończyk, P. Prządka, B. Liszka, Z. Kiełbowicz	NF.P.08
Pierwsze udokumentowane znieczulenie z zastosowaniem niskich dawek tyletaminy – zolazepam u jajożyworodnego boa leśnego (<i>Corallus hortulanus</i>) poddanego celiotomii – opis przypadku	201

13:55-14:05 Przerwa

Część II.

WYSTĄPIENIA USTNE (10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

14:05-15:20	M. Welz, J. Pławińska-Czarnak, J. Wiśniewski, A. Pyziel-Serafin, Z. Strzałkowska, K. Anusz, A. Cywińska, L. Witkowski	NF.U.07
	Lis rudy (<i>Vulpes vulpes</i>) niedocenione źródło pasożytów jelitowych w środowisku człowieka	189
	P. Plewako, M. Kalicki, I. Krause	NF.U.08
	Zastosowanie treningu medycznego żyraf przy wykonywaniu tuberkulinizacji	190

A. Blank, P. Foksiński, E. Kaczorek-Łukowska	NF.U.09
Wstępne badania przesiewowe w kierunku choroby aleuckiej u fretek z różnych części Polski	191
K. Domańska-Blicharz, A. Orłowska, M. Smreczak, K. Niemczuk, E. Iwan, P. Trębas, A. Lisowska, J. Rola	NF.U.10
Zakażenia SARS- CoV-2 u norek w Polsce	192
J. Ruszkowski, M. Pomorska-Mól, M. Gogulski, K. Domańska-Blicharz	NF.U.11
Betacoronavirus (podrodzaj: Merbecovirus) po raz pierwszy potwierdzony u jeży w Polsce	193

15:20-15:25 Zakończenie sesji

SESJA FIZJOLOGII I PATOLOGII KONIA

Przewodnicząca: prof. dr hab. Anna Cywińska
Wiceprzewodniczący: prof. dr hab. Artur Niedźwiedź

Piątek 26 listopada 2021 r.

Część I.

11:30-11:40 Otwarcie sesji

WYKŁAD PLENARNY

11:40-12:15	prof. dr hab. Roland Kozdrowski	FK.W.01
	Postanówkowe zapalenie błony śluzowej macicy - problem ciągle aktualny	205

WYSTĄPIENIA USTNE (10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

12:15-14:45	W. Kędzierski, S. Kowalik	FK.U.01
	Stężenie rezystyny w osoczu krwi koni wyścigowych i rajdowych	206
	S. Kowalik, W. Kędzierski	FK.U.02
	Zależność stężenia miostatyny w osoczu krwi od rasy i sposobu użytkowania koni	207
	L. Pardyak, M. Witkowski, P. Pawlicki, M. Profaska-Szymik, S. Kantor, Z. Arent, M. Kotula-Balak	FK.U.03
	Czy błonowy receptor estrogenowy - GPER odgrywa rolę w powstawaniu wnetrzenia u koni?	208
	A. Pawlak, P. Kupczyk, P. Serek, M. Rykała, A. Niedźwiedź	FK.U.04
	Pozyskiwanie i hodowla keratynocytów konia – model do badań porównawczych i translacyjnych	209
	M. Rykała, P. Kupczyk, P. Serek, A. Pawlak, B. Słowikowski, M. Hołysz, G. Chodaczek, P. Ziółkowski, A. Niedźwiedź	FK.U.05
	Identyfikacja układu receptorów endokannabinoidowych w skórze i mózgu koni	210
	N. Siwińska, A. Żak-Bochenek, I. Janus, A. Noszczyk-Nowak	FK.U.06
	Wpływ otyłości na histologiczną strukturę tkanki układu sercowo-naczyniowego i narządów mięsnych koni	211
	W. Socha, P. Sztromwasser, M. Dunowska, B. Jaklińska, J. Rola	FK.U.07
	Występowanie oraz zmienność genetyczna wirusa zakaźnego zapalenia tętnic (EAV) u trwale zakażonych ogierów w stadzie koni rasy huculskiej	212
	K. Stasiak, M. Dunowska, S. Trewick, J. Rola	FK.U.08
	Zmienność genetyczna szczepów herpeswirusa koni typu 5 w populacji koni w Polsce	213

	A. Szóstek-Mioduchowska, A. Wójtowicz, A. Sadowska, G. Ferreira-Dias, D. Skarżyński	FK.U.09
	Rola mediatorów zapalnych w procesach związanych z rozwojem endometrosis u klaczy – badania <i>in vitro</i>	214
	A. Wójtowicz, A. Sadowska, G. Ferreira-Dias, A. Szóstek-Mioduchowska	FK.U.10
	Wpływ cytokin uwalnianych przez limfocyty Th1, Th2 oraz Th17 na ekspresję metaloproteinaz i ich tkankowych inhibitorów w komórkach nabłonka endometrium klaczy z endometrosis	215

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE (5 min/wystąpienie)

14:45-15:00	R. Gołda, W. Krumrych	FK.P.01
	Analiza krążących kompleksów immunologicznych u koni sportowych i zimnokrwistych	230
	W. Krumrych, R. Gołda	FK.P.02
	Wpływ wybranych czynników egzo- i endogennych na chemiluminescencję krwi obwodowej u klinicznie zdrowych koni	231
	N. Leciejewska, E. Małek, A. Łukomska, M. Sassek, T. Nowak, M. Majewski, K. Mielnik, P. Kołodziejski, E. Pruszyńska-Oszmałek	FK.P.03
	Metoda izolacji i charakterystyka metabolizmu izolowanych adipocytów konia – wstęp do badań nad otyłością gatunku	232

15:00-15:30 Przerwa

Część II.

WYSTĄPIENIA USTNE (10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

15:30-19:00	B. Giercuskiewicz-Hecold, M. Hecold, A. Cywińska, K. Marycz	FK.U.11
	Występowanie zmian radiologicznych w stawach pęcinowych oraz trzespach pęcinowych kończyn piersiowych u koni rajdowych w Zjednoczonych Emiratach Arabskich	216
	K. Górski, B. Turek, P. Polasik, O. Drewnowska-Szczepakowska, A. Bereznowski, I. Polkowska	FK.U.12
	Próba leczenia syndromu EOTRH za pomocą szynowania zębów siecznych u konia	217
	M. Rykała, M. Jasiak, A. Niedźwiedź	FK.U.13
	Status szczepień u koni w Polsce na podstawie internetowej ankiety skierowanej do właścicieli koni	218

N. Kozłowska, M. Wierzbicka	FK.U.14
<i>Sabulous cystitis</i> u konia – opis przypadku	219
Ł. Oktawiec, A. Niedźwiedź	FK.U.15
Wpływ kondycji ciała na sezonową aktywność jajników oraz stężenie leptyny we krwi u klaczy rasy śląskiej	220
A. Pomorska-Zniszczyńska, M. Szczepanik, G. Kalisz	FK.U.16
Pilotażowe badania videodermoskopowe włosa i skóry u koni czystej krwi arabskiej w sezonie zimowym	221
P. Pyrek, N. Siwińska, A. Żak-Bochenek	FK.U.17
Określenie powtarzalności oceny ogólnej kondycji koni przy zastosowaniu 9-stopniowej skali BCS na przykładzie rasy śląskiej	222
A. Rakowska, A. Bereznowski, M. Żychska, L. Witkowski	FK.U.18
Zmiany ultrasonograficzne obserwowane w płucnej postaci rodokokozy źrebiąt	223
A. Rapacz-Leonard	FK.U.19
Czynniki wpływające na proces zatrzymania błon płodowych u klaczy	224
M. Senderska-Płonowska, P. Zielińska, T. Stefaniak	FK.U.20
Diagnostyka subklinicznej postaci ochwatu u koni	225
N. Siwińska, A. Żak-Bochenek, U. Paśławska	FK.U.21
Ocena przydatności wybranych biomarkerów surowicy krwi do wykrycia ostrego uszkodzenia nerek u koni	226
B. Turek, M. Pawlikowski, O. Drewnowska, K. Górski, T. Szara, M. Turemka	FK.U.22
Badania <i>in vitro</i> nad możliwością wykorzystania urządzenia odciążającego własnej konstrukcji w leczeniu skomplikowanych złamań kości pęciny u koni	227
P. Zielińska, J. Nicpoń, Z. Kietbowicz, M. Soroko	FK.U.23
Zastosowanie laseroterapii wysokoenergetycznej w leczeniu urazów ścięgien u koni	228
O. Drewnowska-Szczepakowska, B. Turek, B. Lisowska, K. Górski	FK.U.24
Analiza zapisu EEG do oceny procesu wybudzania u koni ze znieczulenia ogólnego	229

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE

(5 min/wystąpienie)

19:00-19:30	A. Biazik, M. Sobuś, R. Henklewski	FK.P.04
	Piaskowe zapalenie pęcherza (<i>sabulous cystitis</i>) u koni jako coraz częstszy problem diagnozowany podczas cystoskopii. Omówienie na podstawie pięciu przypadków klinicznych	233
	B. Nowicka, I. Polkowska, Ł. Adaszek, W. Łopuszyński, R. Komsta, A. Korolczuk, J. Jackow-Nowicka	FK.P.05
	Pierwsza mózgowa postać anaplazmozy u konia w Polsce – opis przypadku	234

M. Słowikowska, N. Siwińska, A. Niedźwiedź	FK.P.06
Głęboki uraz rogówki u konia – przypadek kliniczny – terapia zachowawcza/farmakologiczna	235
A. Żak-Bochenek, N. Siwińska, K. Frączkowska, K. Rypuła, K. Płoneczka-Janeczko	FK.P.07
Komensalna mikroflora worka spojówkowego u zdrowych osłów – charakterystyka	236
N. Kozłowska, M. Wierzbicka	FK.P.08
Stan zapalny dróg oddechowych jako przyczyna dogrzebietowego przemieszczenia podniebienia miękkiego u koni – opis przypadku	237
B. Nowicka, I. Polkowska, R. Komsta, W. Łopuszyński, A. Korolczuk, J. Jackow-Nowicka	FK.P.09
Niespecyficzne objawy neurologiczne jako konsekwencja przewlekłego zapalenia zatok u konia - przypadek kliniczny	238

19:30-19:40 Zakończenie sesji

SESJA FIZJOLOGII I PATOLOGII PRZEŻUWACZY

Przewodniczący: prof. dr hab. Jarosław Kaba, Dip. ECSRH
Wiceprzewodnicząca: dr hab. Paulina Jawor, prof. UPWr

Piątek 26 listopada 2021 r.

11:30-11:40 Otwarcie sesji

WYKŁADY PLENARNE

11:40-12:10	prof. dr hab. Tomasz Janowski	SP.W.01
	Metaboliczne i immunologiczne uwarunkowania poporodowych zaburzeń rozrodu u krów mlecznych	241
12:10-12:40	prof. dr hab. Przemysław Sobiech	SP.W.02
	Rola selenu w utrzymaniu zdrowia małych przeżuwaczy	242

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie + 3 min dyskusja)

12:40-14:10	M. Trela, O. Witkowska-Piłaszewicz, D. Domańska, M. Domino, M. Kaczmarek, Z. Gajewski, B. Pawliński	SP.U.01
	Ekspresja mRNA receptorów progesteronowych i estrogenowych w endometrium krów podczas progesteronowej terapii anestrus typu II	243
	P. Brodzki, U. Lisiecka, M. Szczubiał, R. Dąbrowski, L. Krakowski, M. Bochniarz	SP.U.02
	Ocena wybranych subpopulacji leukocytów, w krwi obwodowej oraz wypłuczynach z macicy krów z <i>endometritis</i> , przed i po domacicznym zastosowaniu cefapiryny i methisoprinolu	244
	M. Szymańska-Czerwińska, A. Jodełko, K. Niemczuk	SP.U.03
	Sytuacja epizootyczna w zakresie gorączki Q u bydła w Polsce w latach 2017-2020	245
	M. Bochniarz, R. Dąbrowski, M. Szczubiał, P. Brodzki, L. Krakowski, I. Vasiu	SP.U.04
	Ocena stężenia tryptofanu, kynureniny i kwasu kynureninowego oraz aktywności 2,3-dioksygenazy indoloaminy w mleku i surowicy krów chorych na mastitis wywołane przez <i>Streptococcus</i>	246
	A. Opałka, J. Twardoń, J. Król, E. Adamczyk	SP.U.05
	Wykorzystanie nanosrebra w leczeniu mastitis u bydła	247
	P. Jawor, J. Bajzert, T. Stefaniak	SP.U.06
	Wykorzystanie surowicy allogenicznej w odchowie cieląt ras mięsnych	248

	K. Cebulska	SP.U.07
	Seleninotriglicerydy - nowe możliwości w profilaktyce niedoboru selenu u owiec	249

14:10-14:40 Przerwa

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE
(5 min/wystąpienie)

Część I. – Fizjologia i patologia bydła

14:40-15:40	K. Dudek, E. Szacawa, D. Bednarek	SP.P.01
	Wpływ iniekcji pegbowigrastymu u cieląt na aktywność fagocytarną leukocytów krwi obwodowej	250
	A. Nowicki, A. Siergiej, M. Kupa, N. Nowicka, W. Barański, I. Wocławek-Potocka	SP.P.02
	Porównanie liczby pobranych oocytów i współczynnika blastocyst pomiędzy wysokowydajnymi krowami w 30 – 50 dniu laktacji a dojrzałymi płciowo jałówkami	251
	M. Rudowska, S. Zduńczyk, W. Barański, A. Nowicki, Z. Polak	SP.P.03
	Wpływ leczenia torbieli jajnikowych PRID delta na płodność krów	252
	B. Stefańska, P. Sobolewska, E. Pruszyńska-Oszmałek, M. Gąsiorek, W. Nowak	SP.P.04
	Wpływ stresu cieplnego na wyniki produkcyjne i status metaboliczny krów mlecznych	253
	W. Socha, J. Rola, D. Bednarek	SP.P.05
	Występowanie zakażeń BCoV u bydła w Polsce	254
	R. Urban-Chmiel, A. Wernicki, A. Marek, M. Dec, A. Nowaczek, A. Puchalski, E. Pyzik, D. Stępień-Pyśniak	SP.P.06
	Możliwości wykorzystania bakteriofagów w zwalczaniu zakażeń u zwierząt – badania własne	255
	R. Baran, J. Bajzert, T. Stefaniak, P. Jawor	SP.P.07
	Występowanie przeciwciał anty Hsp60 i OMP40 <i>H. somni</i> oraz anty pełnym komórkom <i>E. coli</i> w surowicach przedślarowych cieląt martwo i żywo urodzonych	256
	M. Dziekiewicz-Mrugasiewicz, D. Chrobak-Chmiel	SP.P.08
	Eliminacja zapalenia gruczołu mlekowego wywołanego przez <i>S. aureus</i> u krów mlecznych na fermie w województwie mazowieckim	257
	Ż. Dzięgielewska-Sokołowska, M. Gajewska	SP.P.09
	Rola adipokin w regulacji podstawowych funkcji życiowych komórek nabłonka gruczołu sutkowego bydła	258

	M. Rola-Łuszczak, E. Iwan, A. Bomba, J. Kuźmak	SP.P.10
	Analiza zmienności izolatów prowirusowego DNA wirusa białaczki bydła (BLV) występujących u bydła w Polsce metodą głębokiego sekwencjonowania	259
	M. Materniak-Kornas, P. Kubiś, B. Sell, G. Pougialis, M. Löchelt, J. Kuźmak	SP.P.11
	Replikacja wyselekcjonowanych <i>in vitro</i> wariantów spumawirusa bydła u doświadczalnie inokulowanych cieląt	260
	M. Szczotka, J. Kuźmak	SP.P.12
	Analiza sekrecji cytokin przez komórki macierzyste bydła zakażonego wirusem enzoptycznej białaczki bydła (BLV)	261

Część II. Fizjologia i patologia owiec i kóz

15:40-16:20	M. Florek, J. Kaba	SP.P.13
	„Kurdziel” i „współczesne” metody jego zwalczania	262
	M. Polak, W. Rożek, M. Kwaśnik, J. Rola	SP.P.14
	Trzęsawka małych przeżuwaczy w Polsce	263
	A. Potârniche, S. Zablău, D. Olah, M. Spînu, A. Moroz, M. Mickiewicz, M. Czopowicz, J. Kaba	SP.P.15
	Case report: <i>Mycoplasma agalactiae</i> in association with <i>Staphylococcus</i> spp. and <i>E. coli</i> in a dairy goat herd from Romania	264
	M. Mickiewicz, M. Czopowicz, A. Moroz, O. Szaluś-Jordanow, T. Nalbert, I. Markowska-Daniel, J. Kaba	SP.P.16
	Wpływ dimetylosulfotlenku (DMSO) na rozwój larw nicieni żołądkowo-jelitowych w teście rozwoju larw	265
	M. Mickiewicz, M. Czopowicz, O. Szaluś-Jordanow, A. Moroz, L. Witkowski, T. Nalbert, I. Markowska-Daniel, J. Kaba	SP.P.17
	Czy inwazja węgorzków może prowadzić do wyłysień u kóz?	266
	M. Czopowicz, A. Moroz, M. Mickiewicz, M. Samoilenko, O. Szaluś-Jordanow, L. Witkowski, T. Nalbert, I. Markowska-Daniel, J. Kaba	SP.P.18
	Ocena trafności diagnostycznej kompetycyjnego testu immunoenzymatycznego do diagnostyki wirusowego zapalenia stawów i mózgu kóz	267
	E. Bagnicka, D. Urbańska, M. Czopowicz, J. Kaba	SP.P.19
	Analiza ekspresji katelicydyn i białek ostrej fazy w leukocytach krwi koziołków w przebiegu zapalenia stawów i mózgu kóz (CAE) od urodzenia do wieku 2 lat	268
	A. Moroz, M. Czopowicz, M. Mickiewicz, O. Szaluś-Jordanow, L. Witkowski, T. Nalbert, I. Markowska-Daniel, J. Kaba	SP.P.20
	Obraz histopatologiczny płuc w przebiegu zakażenia lentiwirusem małych przeżuwaczy u kóz	269
16:20-16:25	Zakończenie sesji	

SESJA ŻYWIENIA ZWIERZĄT I HIGIENY PASZ

Przewodnicząca: dr hab. Marta Mendel
Wiceprzewodnicząca: prof. dr hab. Magdalena Gajęcka

Piątek 26 listopada 2021 r.

12:00-12:10 Otwarcie sesji

WYKŁAD PLENARNY

12:10-12:50	prof. dr hab. Maciej Gajęcki	ŻP.W.01
	Terenowe monitorowanie zearalenonu i jego metabolitów we krwi wysokowydajnych krów mlecznych, w wybranych miejscach pobrań, w różnych stanach chorobowych	273
12:50-13:30	dr hab. Piotr Jedziniak	ŻP.W.02
	Mikotoksyny w paszach - wszystko (prawie) co musicie wiedzieć a boicie się zapytać albo nie wiecie a wiedzieć powinniście	274

13:30-13:40 Pytania i dyskusja

13:40-14:00 Przerwa

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

14:00-15:15	M. Olejnik, K. Pietruk	ŻP.U.01
	Zatrucia indyków kokcydiostatykami jonoforowymi	275
	A. Weiner, M. Skowronek, K. Kwiatek	ŻP.U.02
	Stosowanie i wykrywanie przetworzonego białka z owadów w paszach	276
	Z. Sieradzki, M. Mazur, B. Król, K. Kwiatek	ŻP.U.03
	Wyniki badań pasz z udziałem białka owadziego na zawartość organizmów genetycznie zmodyfikowanych (GMO)	277
	B. Stefańska, M. Gąsiorek, P. Sobolewska, W. Nowak	ŻP.U.04
	Wpływ odchowu jałówek w okresie podawania pasz płynnych na wyniki produkcyjne w pierwszej laktacji	278
	M. Mendel, W. Karlik, U. Latek, M. Chłopecka, E. Nowacka- Kozak, K. Pietruszka, P. Jedziniak	ŻP.U.05
	Wpływ deoksyniwalenolu na wchłanianie amoksycykliny i doksycykliny – badania <i>ex vivo</i>	279

15:15-15:30 Przerwa

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE
(3 min/wystąpienie)

15:30-16:10	M. Gajęcka, Ł. Zielonka, M. Gajęcki	ŻP.P.01
	Rola deoksyriwalenolu w immunohistochemicznej ekspresji jelitowych receptorów estrogenowych i genów kodujących wybrane enzymy okrężnicy u niedojrzałych płciowo loszek	280
	K. Cieplińska, M. Gajęcka, A. Nowak, M. Dąbrowski, Ł. Zielonka, M. Gajęcki	ŻP.P.02
	Ocena genotoksyczności i mikrobiomu jelitowego u niedojrzałych płciowo loszek narażonych na niskie dawki zearalenonu	281
	E. Szacawa, K. Dudek, D. Bednarek, B. Muszyńska, D. Bederska-Łojewska, M. Pieszka	ŻP.P.03
	Wpływ dodatku paszowego na wybrane parametry odporności komórkowej i przyrosty masy ciała cieląt	282
	M. Przeniosło-Siwczyńska, E. Patyra, A. Grelik, M. Chyłek-Purchała, B. Kozak, K. Kwiatek	ŻP.P.04
	Ocena występowania substancji przeciwbakteryjnych w paszach stosowanych u zwierząt gospodarskich	283
	M. Przeniosło-Siwczyńska, M. Chyłek-Purchała, B. Kozak, A. Grelik, E. Patyra, K. Kwiatek	ŻP.P.05
	Bezpieczeństwo pasz leczniczych stosowanych u zwierząt gospodarskich na podstawie badań laboratoryjnych	284
	M. Przeniosło-Siwczyńska, M. Chyłek-Purchała, B. Kozak, K. Kwiatek	ŻP.P.06
	Zastosowanie metody mikrobiologicznej do wykrywania substancji przeciwbakteryjnych w białku owadzym i paszach wytworzonych z udziałem białka owadziego	285
	A. Weiner, M. Skowronek, K. Kwiatek	ŻP.P.07
	Przetworzone białka zwierzęce – możliwości stosowania, wykrywania i identyfikacji w świetle aktualnych przepisów	286
	Z. Sieradzki, M. Mazur, B. Król, K. Kwiatek	ŻP.P.08
	Zastosowanie techniki real-time PCR do wykrywania i oznaczania zawartości organizmów genetycznie zmodyfikowanych (GMO) w paszach	287
	T. Grenda, B. Kozak, M. Goldsztejn, K. Kwiatek	ŻP.P.09
	Wpływ uwarunkowań środowiskowych i technologicznych na występowanie bakterii z rodzaju <i>Clostridium</i> w kiszonkach stosowanych w żywieniu bydła	288
	E. Patyra, K. Kwiatek	ŻP.P.10
	Wykrywanie i oznaczanie substancji przeciwbakteryjnych w przetworzonym białku owadzym, mączkach mięsno – kostnych i paszach z dodatkiem PAP owadziego	289

E. Patyra, Z. Osiński, M. Przeniosło-Siwczyńska, T. Grenda, K. Kwiatek	ŻP.P.11
Analiza nawozów naturalnych i organicznych jako narzędzie do oceny stosowania antybiotyków w produkcji zwierzęcej	290
K. Łubiech, I. Ałtyn, E. Soszczyńska	ŻP.P.12
Zanieczyszczenie pasz dla zwierząt gospodarskich grzybami pleśniowymi	291

16:10-16:20 Pytania i dyskusja

16:20-16:30 Zakończenie sesji

SESJA FIZJOLOGII I PATOLOGII ŚWIŃ

Przewodniczący: dr Artur Jabłoński
Wiceprzewodnicząca: prof. dr hab. Małgorzata Pomorska-Mól

Piątek 26 listopada 2021 r.

15:30-15:35 Otwarcie sesji

WYKŁAD PLENARNY

15:35-16:20	prof. dr hab. Marek Świtoński	FŚ.W.01
	Genetyczne podłoże zaburzeń rozwoju płci i płodności świń	295

WYSTĄPIENIA USTNE

(15 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

16:25-18:20	J. Woźniak, W. Loba, P. Iskrzak, M. Pszczoła, J. Wojtczak, M. Świtoński, J. Nowacka-Woszek	FŚ.U.01
	Markery genetyczne związane z predyspozycją świń do powstawania przepuklin pępkowych	296
	H. Turlewicz-Podbielska, E. Czyżewska-Dors, M. Pomorska-Mól	FŚ.U.02
	Profil cytokin w wybranych zakażeniach wirusowych układu oddechowego u świń	297
	A. Zygmuntowicz, W. Markiewicz, J. Jaroszewski	FŚ.U.03
	Wpływ bisfenolu S na aktywność skurczową mięśniówki gładkiej macicy świni	298
	E. Skrzypiec, D. Wojdat, P. Pasim, W. Koza, R. Kwit, E. Mikos-Wojewoda, M. Skóra, A. Śmiałowska-Węglińska, M. Skarżyńska, M. Zając, D. Wasyl, A. Dors, J. Żmudzki	FŚ.U.04
	Projekt BIOPIGEE: zakażenia <i>Salmonella</i> spp. w gospodarstwach trzody chlewnej	299
	P. Cybulski, S. Zębek, A. Nowak, P. Matyba, E. Kwit, A. Jabłoński	FŚ.U.05
	Antybiotykowrażliwość patogenów bakteryjnych układu oddechowego świń	300
	M. Olech, M. Antas, A. Szczotka-Bochniarz	FŚ.U.06
	Molekularna charakterystyka szczepów wirusa epidemicznej biegunki świń (PEDV) w Polsce	301

18:20-18:30 Zakończenie sesji

SESJA NEONATOLOGII

Przewodniczący: prof. dr hab. Romuald Zabielski
Wiceprzewodniczący: prof. dr hab. Tadeusz Stefaniak

Piątek 26 listopada 2021 r.

16:00-16:05 Otwarcie sesji

WYKŁADY PLENARNE

16:05-16:40	dr John F. Mee	SN.W.01
	Calf morbidities – what have we learned and what do we need to know in future?	305
16:40-17:15	dr Karolina Ferenc	SN.W.02
	Zespół wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu płodu a granice fizjologii	306
17:15-17:50	prof. dr hab. Tadeusz Stefaniak	SN.W.03
	Diagnostyczna przydatność oznaczania stężenia immunoglobulin i białek ostrej fazy u cieląt od urodzenia do 1 miesiąca życia	307

WYSTĄPIENIA USTNE (25 min/wystąpienie)

17:50-18:40	M. Sady, J. Olszewski, T. Skrzypek, Z. Gajewski, R. Zabielski, K. Ferenc	SN.U.01
	Rozwój jelitowego układu immunologicznego u prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu	308
	P. Matyba, G. Galemba, K. Ferenc, A. Jabłoński, T. Florowski, K. Dasiewicz, M. Słowiński, Z. Gajewski, R. Zabielski	SN.U.02
	Częstotliwość występowania zjawiska IUGR u prosiąt – obserwacje prowadzone na jednej z wielkopolskich ferm	309

18:40-18:50 Pytania i dyskusja

18:50-19.00 Zakończenie sesji

SESJA FIZJOLOGII I PATOLOGII PSÓW I KOTÓW

Przewodniczący: prof. dr hab. Piotr Jurka
Wiceprzewodnicząca: prof. dr hab. Urszula Paślawska
Wiceprzewodnicząca: prof. dr hab. Agnieszka Noszczyk-Nowak

Sobota 27 listopada 2021 r.

Część I.

9:00-9:15 Otwarcie sesji

WYKŁAD PLENARNY

9:15-10:00	dr hab. Jacek Sterna	PK.W.01
	Nowe choroby kręgosłupa	313

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

10:15-11:00	K. Urbańska, T. Hutsch, A. Kawińska	PK.U.01
	Ocena przydatności cytobloków w diagnostyce płynów z jam ciała w cytopatologii klinicznej psów	314
	M. Żmigrodzka, O. Witkowska-Piłaszewicz, R. Pingwara, A. Pawlak, A. Winnicka	PK.U.02
	Wpływ <i>in vitro</i> mikropęcherzyków z komórek nowotworowych na proliferację limfocytów krwi u psów	315
	E. Kaczmar	PK.U.03
	Ocena ekspresji COX-2 i KI-67 w zmianach rozrostowych błony śluzowej jamy nosowej u psów i kotów	316

11:00-11:15 Przerwa

Część II.

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

11:15-13:00	J. Zwolska, M. Szadkowski, I. Balicki	PK.U.04
	Badanie warstw naczyniówki przy użyciu optycznej tomografii koherentnej w przypadku progresywnego zaniku siatkówki u psów	317

K. Bugiel-Stabla, A. Pawlak, M. Idziak	PK.U.05
Cytometria przepływowa w diagnostyce chłoniaków u psów	318
M. Henklewska, A. Pawlak, B. Obmińska-Mrukowicz	PK.U.06
Inhibicja kinazy ATR jako nowy cel terapeutyczny w leczeniu nowotworów układu hematopoetycznego psów	319
A. Majewska, K. Dembele	PK.U.07
Wpływ alergenowo swoistej immunoterapii na poziom ekspresji genów w jądrzastych komórkach krwi obwodowej psów z atopowym zapaleniem skóry	320
P. Pawlicki, A. Gałuszka, L. Pardyak, G. Ramisz, M. Chmurska-Gąsowska, A. Pietsch-Fulbiszewska, M. Kotula-Balak, K. Tarasiuk	PK.U.08
Białko P16 i receptory estrogenowe GPER i ERR - nowe molekularne markery zaburzeń w gonadzie psa	321
L. Krakowski, M. Wieszczezyński, I. Krakowska, J. Furmaga, G. Opielak, P. Brodzki, T. Piech, M. Grodzka, R. Dąbrowski, M. Bochniarz	PK.U.09
Ocena możliwości wykorzystania biomarkerów (CCL11 i TGF-beta1) w diagnostyce schorzeń gruczołu prostaty u psów	322
M. Wieszczezyński, L. Krakowski, G. Opielak, I. Krakowska, J. Furmaga, P. Brodzki, M. Bochniarz, R. Dąbrowski, T. Piech, B. Zdzisińska, Ł. Adaszek	PK.U.10
MikroRNA oraz czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) jako nowe przydatne markery w diagnostyce schorzeń gruczołu prostaty u psów	323

13:00-14:00 Przerwa

Część III.

WYSTĄPIENIA USTNE (10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

14:00-15:00	E. Prozorowska, H. Jackowiak	PK.U.11
	Analiza rozwoju warstwy korowej i rdzeniowej jajnika kota domowego w okresie prenatalnym	324
	A. Domosławska, S. Zduńczyk	PK.U.12
	Ciąża u suki z torbielami jajnikowymi	325
	M. Lewicki, M. Kawicka, I. Janus, A. Noszczyk-Nowak	PK.U.13
	Arytmogenna kardiomiopatia prawej komory (ARVC) o nietypowym charakterze u psa rasy Rhodesian Ridgeback - opis przypadku	326
	A. Antończyk, Z. Kiełbowicz, W. Niżański, M. Ochota	PK.U.14
	Tradycyjne znieczulenie wziewne czy zbilansowane? – porównanie wpływu dwóch protokołów znieczulenia do cesarskiego cięcia na stan zdrowia i żywotność szczeniąt	327

15:00-15:15 Przerwa

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE
(3 min/wystąpienie + 1 min dyskusja)

15:15-16:20	I. Vasiu, G. Meroni, R. Dąbrowski, P. Martino, A. Tvarijonaviciute, M. Bochniarz, R. Pop, F. Brudașcă, I. Fiț	PK.P.01 328
	Aerobic milk bacterial strains from lactating bitches	
	I. Vasiu, R. Dąbrowski, M. Szczubiał, A. Tvarijonaviciute	PK.P.02 329
	Measurement of milk serum amyloid A in canine milk. A preliminary study	
	A. Górka, M. Ochota, W. Niżański	PK.P.03 330
	Rozwój nerki u płodów kota domowego – badania wstępne	
	K. Domrazek, I. Kaszak, P. Jurka	PK.P.04 331
	Obecność bakterii <i>Mycoplasma</i> spp. w układzie rozrodczym psów - reproduktorów	
	M. Zacharski, M. Ugorski, S. Škevin, P. Prządka, B. Liszka, S. Dzimira, P. Skrzypczak, W. Niżański, Z. Ligocka, F. Van Nieuwerburgh	PK.P.05 332
	Różnice ekspresji genów w raku prostaty i łagodnym rozroście prostaty u psów	
	M. Krasztel, M. Czopowicz, O. Szaluś-Jordanow, A. Moroz, M. Mickiewicz, J. Kaba	PK.P.06 333
	Zastosowanie metabolomiki w diagnostyce zapalenia trzustki u kotów	
	Ł. Juźwiak, A. Sowińska, P. Prządka, B. Liszka, A. Antończyk, J. Tunikowska, Z. Kiełbowicz, B. Żukow	PK.P.07 334
	Tylno-brzeżny guzek Schmorla u 15 miesięcznego buldoga francuskiego w badaniu TK – opis przypadku	
	W. Turek, G. Ramisz, A. Pietsch-Fulbiszewska	PK.P.08 335
	Tomografia komputerowa w diagnostyce schorzeń górnych dróg oddechowych u kotów	
	A. Tobolska, Z. Adamiak, P. Holak, J. Głodek	PK.P.09 336
	Ocena skuteczności ultrasonograficznego obrazowania więzadeł stawu nadgarstkowego u psów	
	P. Prządka, B. Liszka, A. Antończyk, Z. Kiełbowicz, P. Skrzypczak, P. Kucharski, S. Lachowska, K. Buczak, Ł. Juźwiak, D. Kubiak-Nowak, W. Borawski, S. Gerus, D. Patkowski	PK.P.10 337
	Leczenie przepukliny pachwinowej u psów laparoskopową techniką PIRS połączone z obustronną owariektomią	
	P. Kucharski, P. Prządka, B. Liszka, A. Antończyk	PK.P.11 338
	Propozycja protokołu anestetycznego PIVA z wykorzystaniem ciągłego wlewu dożylnego tiletamin-yolazepamu do zabiegu przepukliny okołoodbytowej metodą laparoskopową	

B. Liszka, P. Prządka, A. Antończyk, S. Lachowska, P. Kucharski, K. Buczak, J. Tunikowska, P. Zielińska, J. Nicpoń, Z. Kiełbowicz	PK.P.12
Porównanie laparoskopowej biopsji wątroby z biopsją w trakcie klasycznej laparotomii	339
O. Szaluś-Jordanow, M. Czopowicz, A. Moroz, M. Mickiewicz, A. Łobaczewski, M. Rzewuska, R. Sapieryński, M. Krasztel, M. Kizerwetter-Świda, D. Chrobak-Chmiel, T. Frymus	PK.P.13
Zapalenie wsierdzia i mięśnia sercowego u kota	340
O. Szaluś-Jordanow, M. Czopowicz, A. Moroz, M. Mickiewicz, A. Łobaczewski, S. Tarka, R. Sapieryński, T. Frymus	PK.P.14
Mnogi pierwotny mięśniakomięsak prążkowanokomórkowy serca u psa	341
A. Moroz, O. Szaluś-Jordanow, R. Sapieryński, M. Czopowicz, M. Mickiewicz, K. Barszcz, M. Kędziera, T. Frymus	PK.P.15
Podwójna śledziona u kota – opis przypadku	342
J. Nicpoń, E. Nicpoń, M. Małek, P. Zielińska, B. Liszka	PK.P.16
Zastosowanie bajpasu moczowodowego u kotów z ostrą niewydolnością nerek	343
D. Kubiak-Nowak, Z. Kiełbowicz, W. Borawski, P. Prządka, K. Kubiak, M. Jankowski, J. Spużak, K. Glińska-Suchocka, R. Sokalski	PK.P.17
Badanie rentgenowskie w rozpoznawaniu młodzieńczego zapalenia kości u psów – obserwacje własne	344

16:20-16:30 Zakończenie sesji

SESJA FIZJOLOGII I PATOLOGII PTAKÓW

Przewodniczący: prof. dr hab. Piotr Szeleszczuk
Wiceprzewodnicząca: prof. dr hab. Alina Wieliczko

Sobota 27 listopada 2021 r.

Część I.

9:00-9:15 Otwarcie sesji

WYKŁAD PLENARNY

9:15-10:15	dr Marcin Śmiałek	FP.W.01
	Wpływ przeciwciał matczynych na rozwój odporności poszczepiennej w stosunku do AMPV u indyków szczepionych przeciwko TRT	347

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

10:15-11:00	P. Szeleszczuk	FP.U.01
	Wspomnienie o pierwszym rządzie polskich patologów drobiu	348
	K. Śmietanka	FP.U.02
	Wysoce zjadliwa grypa ptaków w Polsce w latach 2006-2021	349
	M. Siedlecka, A. Matczuk, M. Chmielewska-Władyka, A. Wieliczko	FP.U.03
	Występowanie zakażeń Avian Hepatitis E Virus (AHEV) u drobiu w Polsce	350

11:00-11:15 Przerwa

Część II.

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

11:15-13:00	A. Pikuła, A. Lisowska, J. Opolska	FP.U.04
	Badania porównawcze nad patogenizacją zakażeń szczepami wirusa zakaźnego zapalenia bursy Fabrycjusza o różnej zjadliwości	351
	K. Domańska-Blicharz, A. Lisowska, J. Opolska, A. Pikuła, J. Sajewicz-Krukowska	FP.U.05
	Epidemiologia molekularna koronawirusów indyków w Polsce w okresie dwunastu lat (2008-2019)	352

H. Czekaj, W. Kozdruń, K. Piekarska, N. Styś-Fijoł, J. Niczyporuk, A. Stolarek	FP.U.06
Występowanie mieszanych zakażeń wirusowych w stadach gęsi w Polsce	353
K. Piekarska, W. Kozdruń, A. Gaweł, K. Bobrek, N. Styś-Fijoł, H. Czekaj, A. Stolarek	FP.U.07
Analiza klinicznych przypadków zakażenia polyomawirusem (GHPV) w stadach gęsi	354
J. Sajewicz-Krukowska, K. Domańska-Blicharz, K. Tarasiuk, B. Marzec-Kotarska	FP.U.08
Interakcje wirus-gospodarz w przebiegu zakażenia astrowirusem kurzym	355
K. Piekarska, W. Kozdruń, N. Styś-Fijoł, H. Czekaj, A. Stolarek	FP.U.09
Ocena statusu immunologicznego w stadach gęsi immunizowanych przeciwko GPV	356
M. Szymańska-Czerwińska, K. Zaręba-Marchewka, K. Niemczuk	FP.U.10
Chlamydioza ptaków – aktualne dane na podstawie badań prowadzonych w Polsce	357

13:00-14:00 Przerwa

Część III.

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie + 5 min dyskusja)

14:00-15:15	G. Szafraniec, B. Dolka, D. Chrobak-Chmiel, P. Szeleszczuk	FP.U.11
	Charakterystyka szczepów gronkowców izolowanych z układu kostno-stawowego kurcząt brojlerów	358
	M. Karwańska, P. Krzyżek, A. Woźniak-Biel, A. Wieliczko	FP.U.12
	Zdolność tworzenia biofilmu <i>Gallibacterium anatis</i> w warunkach przepływu	359
	A. Ledwoń, I. Dolka, D. Chrobak-Chmiel, M. Murawska, P. Szeleszczuk	FP.U.13
	<i>Campylobacter jejuni</i> i <i>Eimeria pavonina</i> przyczyną martwicowego zapalenia jelit u dorosłego pawia indyjskiego (<i>Pavo cristatus</i>)- opis przypadku	360
	M. Kuczkowski, M. Szczypka, M. Lis, A. Pawlak, A. Gaweł, B. Obmińska-Mrukowicz	FP.U.14
	Wpływ dimeru lizozymu podanego <i>in ovo</i> na populacje limfocytów śledziony kurcząt broilerów	361
	P. Szeleszczuk, A. Żbikowski, M. Michalczyk, M. Gagucki, Y. Siotkas, E. Kaukonen, K. Pawłowski, B. Dolka, K. Adamczyk, G. Szafraniec	FP.U.15
	Wpływ preparatu aNGF na kinetykę specyficznych przeciwciał przeciwko IBDV i NDV u brojlerów kurzych immunizowanych szczepionkami wektorowymi	362

15:15-15:30 Przerwa

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE
(3 min/wystąpienie + 1 min dyskusja)

15:30-16:45	M. Dec, T. Nowak, K. Wódz, D. Pietras-Ożga, J. Wilczyński, R. Urban-Chmiel	FP.P.01
	Serotypy i rodzaje powierzchniowego antygeny SPA u szczepów <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> izolowanych od drobiu wodnego	363
	K. Dziadek, E. Świętoń, K. Tarasiuk, A. Giza, K. Śmietanka	FP.P.02
	Różnorodność genetyczna oraz siewstwo wirusa H7N7 w eksperymentalnym zakażeniu kury domowej	364
	A. Gawęł, J. Madej, K. Bobrek, B. Kozak	FP.P.03
	Wpływ wczesnego karmienia i pojenia piskląt na przyrosty masy ciała i rozwój tkanki mięśniowej kurcząt brojlerów	365
	J. Kowalczyk, M. Śmiałek, B. Tykałowski, A. Koncicki	FP.P.04
	Wpływ wieku indyczek reprodukcyjnych na lokalne mechanizmy odpornościowe w jajowodzie	366
	O. Kursa, G. Tomczyk, A. Sawicka-Durkalec	FP.P.05
	Metagenomika jako narzędzie do oceny różnorodności składu bakteryjnego układu rozrodczego indyków – badania wstępne	367
	J. Niczyporuk, W. Kozdruń, H. Czekaj, K. Piekarska, N. Styś-Fijoł	FP.P.06
	Analiza zagrożenia wystąpienia zakażeń adenowirusami w stadach drobiu w kraju	368
	P. Pasim, W. Koza, E. Skrzypiec, D. Wojdat, E. Mikos-Wojewoda, A. Śmiałowska-Węglińska, R. Kwit, M. Skóra, M. Skarżyńska, M. Zając, D. Wasyl	FP.P.07
	Występowanie zakażeń <i>Salmonella</i> spp. w stadach gęsi	369
	E. Pyzik, M. Dec, D. Stępień-Pyśniak, A. Marek, J. Valverde Piedra, A. Chałabis-Mazurek, K. Szczepaniak, R. Urban-Chmiel	FP.P.08
	Sokół wędrowny jako potencjalny rezerwuuar drobnoustrojów	370
	A. Sawicka-Durkalec, G. Tomczyk, O. Kursa, T. Stenzel, A. Giza	FP.P.09
	Charakterystyka populacji bakteryjnej mikrobioty górnych dróg oddechowych u gołębi	371
	M. Skóra, R. Kwit, M. Zając, M. Skarżyńska, P. Pasim, E. Skrzypiec, E. Mikos-Wojewoda, D. Wojdat, W. Koza, A. Śmiałowska-Węglińska, D. Wnuk, D. Wasyl	FP.P.10
	Występowanie zakażeń <i>Salmonella</i> spp. w stadach kaczek	372
	D. Stępień-Pyśniak, M. Dec, A. Marek, M. Brzeski, R. Urban-Chmiel	FP.P.11
	Wykorzystanie spektrometrii mas typu MALDI-TOF do różnicowania izolatów <i>Enterococcus faecalis</i> z zakażeń woreczków żółtkowych piskląt brojlerów kurzych	373
	E. Świętoń, K. Dziadek, K. Śmietanka	FP.P.12
	Identyfikacja i wstępna charakterystyka genetyczna bornawirusów występujących u dzikich ptaków w Polsce	374

B. Tykałowski, M. Śmiatek, J. Kowalczyk, A. Koncicki

FP.P.13

Wpływ szczepienia indyków przeciwko krwotocznemu zapaleniu jelit na
wybrane wskaźniki odporności humoralnej i komórkowej

375

16:45-17:00 Zakończenie sesji

SESJA ICHTIOPATOLOGII I ZWIERZĄT AKWAKULTURY

Przewodnicząca: dr hab. Agnieszka Pękala-Safińska, prof. UPP
Wiceprzewodniczący: prof. dr hab. Andrzej Siwicki

Sobota 27 listopada 2021 r.

WYKŁAD PLENARNY

9:00-9:30	prof. dr hab. Andrzej Siwicki	IA.W.01
	Doskonalenie metod ochrony zdrowia ryb	379

WYSTĄPIENIA USTNE

(15 min/wystąpienie + 2 min dyskusja)

9:30-11:15	E. Terech-Majewska, J. Pajdak-Czaus, W. Szweda, H. Skrzypnik, P. Schulz, A. Siwicki	IA.U.01
	Najczęściej występujące koinfekcje pasożytniczo – bakteryjne u ryb w podchowach kontrolowanych	380
	A. Drzewiecka, E. Terech-Majewska, M. Miśków-Baranowska, M. Augustynowicz, A. Świątalska, A. Stryszak	IA.U.02
	Ocena histopatologiczna narządów i tkanek w diagnostyce chorób ryb hodowlanych i ozdobnych	381
	Z. Zakęś, M. Rożyński	IA.U.03
	Znakowanie ryb pasywnymi zintegrowanymi transponderami (PIT) – wpływ na stan kondycyjny i fizjologiczny	382
	J. Pajdak-Czaus, P. Schulz, E. Terech-Majewska, W. Szweda, A. Siwicki, A. Platt-Samoraj	IA.U.04
	Ocena wybranych parametrów niespecyficznej odpowiedzi immunologicznej w przebiegu koinfekcji IPNV i <i>Yersinia ruckeri</i> u pstrąga tęczowego	383
	M. Rożyński, M. Hopko, K. Stawecki, Z. Zakęś	IA.U.05
	Zastosowanie MS-222 do indukcji znieczulenia ogólnego ryb	384
	A. Pękala-Safińska, J. Karamon, M. Różycki, J. Grudniewska, H. Tkachenko, N. Kurhaluk, W. Sobiegraj, A. Posyniak	IA.U.06
	Inwazja tasiemca <i>Eubothrium crassum</i> u troci wędrownej (<i>Salmo trutta morpha trutta</i> L.)	385

11:15-11:30 Przerwa

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE
(5 min/wystąpienie)

11:30-12:05	J. Maj-Paluch, M. Wasiak, M. Reichert	IA.P.01
	Wpływ wirusa zakaźnej martwicy trzustki ryb łososiowatych na apoptozę podczas zakażenia pojedynczego oraz w koinfekcji z innymi wirusami	386
	J. Pajdak-Czaus, B. Kordas, A. Witkowska, E. Terech-Majewska	IA.P.02
	Wpływ różnych stężeń chlorku sodu na wybrane drobnoustroje patogenne dla ryb, w warunkach „in vitro”	387
	E. Paździor, D. Wasyl, A. Bomba, K. Nadolna-Ałtyn, M. Podolska, M. Reichert, A. Pękala-Safińska	IA.P.03
	Badania nad genetycznymi podstawami patogenności bakterii z grupy <i>Shewanella putrefaciens</i> izolowanymi od ryb	388
	K. Naumowicz, E. Terech-Majewska, J. Szarek, K. Wąsowicz, M. Rożyński, A. Siwicki, Z. Zakęś	IA.P.04
	Wpływ efektywnych mikroorganizmów na obraz wybranych narządów u sandacza	389
	A. Pękala-Safińska, E. Paździor, D. Wasyl	IA.P.05
	Ustalenie kryteriów interpretacyjnych dla środków przeciwdrobnoustrojowych stosowanych u ryb hodowlanych – tło problemu	390
	A. Pękala-Safińska, E. Paździor, K. Nadolna-Ałtyn, M. Różycki, T. Cencek, M. Podolska	IA.P.06
	Stan zdrowotny dorszy (<i>Gadus morhua</i>) z południowego Bałtyku	391
	H. Tkachenko, N. Kurhaluk, J. Grudniewska, E. Terech-Majewska, J. Pajdak-Czaus, A. Pękala-Sawińska	IA.P.07
	Ocena zastosowania szczepionki przeciwko jersiniozie na stężenie markerów stresu oksydacyjnego w wątrobie pstrąga tęczowego (<i>Oncorhynchus mykiss</i>, Walbaum)	392
12:05-12:15	Zakończenie sesji	

SESJA PATOLOGII I UŻYTKOWANIA ZWIERZĄT DOŚWIADCZALNYCH

Przewodnicząca: dr hab. Małgorzata Sobczak-Filipiak
Wiceprzewodniczący: prof. dr hab. Krzysztof Wąsowicz

Sobota 27 listopada 2021 r.

9:00-9:05 Otwarcie sesji

WYKŁAD PLENARNY

9:05-9:45	prof. dr hab. Józef Szarek	ZD.W.01
	Zwierzęta laboratoryjne - użytkowanie i patologia, stan obecny i dokąd zmierzamy?	395

9:45-10:00 Przerwa

WYSTĄPIENIA USTNE (10 min/wystąpienie)

10:00-10:50	Ł. Deneka, T. Hutsch, A. Gierczak, L. Bańcerowska	ZD.U.01
	Oznaczanie lekooporności bakterii <i>Rodentibacter pneumotropicus</i> i <i>Staphylococcus xylosus</i> izolowanych od myszy i szczurów utrzymywanych w zwierzętarniach na obszarze Europy centralno-wschodniej	396
	T. Hutsch, A. Barc, J. Kotlinowski, M. Szudzik	ZD.U.02
	Porównanie skalarnych metod ocen histopatologicznych w szczurzych modelach NAFLD-NASH	397
	A. Barc, T. Hutsch, R. Wrzesień	ZD.U.03
	Porównanie wpływu trzech metod utrwalania tkanek na występowanie artefaktów w płucach myszy	398
	A. Drzewiecka, P. Łucyszyn, J. Faron, P. Parma, M. Frontczak-Baniewicz	ZD.U.04
	Narzędzia do oceny gruczołów podgardzielowych u pszczoł miodnych (<i>Apis mellifera</i> L.)	399
	A. Drzewiecka, M. Miśków-Baranowska, A. Świątalska	ZD.U.05
	Badania z udziałem gadów – wyzwanie dla naukowców	400

10:50-11:20 Dyskusja

11:20-11:30 Zakończenie sesji

SESJA HISTORII MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

Przewodniczący: dr Jarosław Sobolewski
Wiceprzewodniczący: dr Jan Wiśniewski
Wiceprzewodniczący: prof. dr hab. Maciej Janeczek

Sobota 27 listopada 2021 r.

Część I.

9:00-9:10 Otwarcie sesji

WYKŁAD PLENARNY

9:10-10:00	prof. dr hab. Maciej Janeczek	HW.W.01
	Korzenie lecznictwa zwierząt – czy są oczywiste?	403

WYSTĄPIENIA USTNE (15 min/wystąpienie)

10:00-10:30	J. Wiśniewski, M. Nowicki, L. Kiszczak, M. Puchalska, J. Pławińska-Czarnak, K. Anusz	HW.U.01
	Prof. Jan Tropiło (1933 – 2021)	404
	J. Pajdak-Czaus, K. Naumowicz, P. Schulz, A. Siwicki, W. Szweda, J. Siemionek, E. Terech-Majewska	HW.U.02
	Stanisław Franciszek Śnieszko (1902-1984): twórca współczesnej ichtiopatologii	405

10:30-10:45 Dyskusja i pytania

Część II.

WYSTĄPIENIA USTNE (15 min/wystąpienie)

10:45-11:30	J. Sobolewski	HW.U.03
	Wpływ prac Rudolfa Virchowa na rozwój medycyny weterynaryjnej w aspekcie ochrony zdrowia publicznego	406

10:45-11:30	J. Sobolewski	HW.U.04
	Reklamy preparatów weterynaryjnych na łamach „Przeglądu Weterynarskiego” i „Przeglądu Weterynaryjnego”	407
	J. Judek	HW.U.05
	Udział bydgoskich lekarzy weterynarii w zjazdach lekarzy i przyrodników polskich	408
11:30-11:50	Dyskusja i pytania	
11:50-12:00	Zakończenie sesji	

SESJA MIKROBIOLOGII WETERYNARYJNEJ

Przewodnicząca: dr hab. Magdalena Rzewuska, prof. SGGW
Wiceprzewodniczący: dr hab. Dariusz Wasyl, prof. PIWet

Sobota 27 listopada 2021 r.

9:00-9:10 Otwarcie sesji

Część I. W centrum uwagi: lekooporność

WYKŁAD PLENARNY

9:10-9:40	dr hab. Aneta Nowakiewicz, prof. UP	MW.W.01
	Lekooporność drobnoustrojów jako zagrożenie dla zdrowia publicznego w kontekście nowych, (nie)znanych rezerwuarów wielolekoopornych bakterii	411

WYSTĄPIENIA USTNE (15 min/wystąpienie)

9:40-10:30	A. Dors	MW.U.01
	Monitorowanie lekooporności zwierzęcych izolatów klinicznych w Europie – programy, sieci laboratoriów, planowane działania	413
	M. Zając, M. Skarżyńska, R. Kwit, A. Śmiałowska-Węglińska, A. Lalak, E. Skrzypiec, E. Mikos-Wojewoda, P. Pasim, D. Wasyl	MW.U.02
	Zwalczanie <i>Salmonella</i> oraz urzędowy monitoring oporności na substancje przeciwbakteryjne	414
	(10 min/wystąpienie)	
	M. Kizerwetter-Świda, D. Chrobak-Chmiel, M. Rzewuska, M. Binek	MW.U.03
	Oporność na mupirocynę wśród gronkowców wyizolowanych od psów i kotów	415
	M. Osińska, A. Nowakiewicz, S. Gnat, D. Łagowski, A. Trościańczyk	MW.U.04
	Profile oporności cefotaksymo-opornych szczepów <i>Escherichia coli</i> wyizolowanych od lisa rudego (<i>Vulpes vulpes</i>)	416

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE

(2 min/wystąpienie)

10:30-10:35	M. Dec, D. Stępień-Pyśniak, K. Szczepaniak, A. Puchalski, R. Urban-Chmiel	MW.P.01
	Profile lekowrażliwości i wirulencji szczepów <i>Escherichia coli</i> izolowanych od gadów hodowlanych	428
	M. Murawska, M. Sypecka, J. Bartosik, A. Sałamaszyńska-Guz	MW.P.02
	Zróźnicowanie genetyczne i lekowrażliwość <i>Campylobacter jejuni</i> izolowanych od psów ze schroniska	429
10:35-10:45	Pytania i dyskusja	
10:45-11:00	Przerwa	

Część II. W centrum uwagi: bakterie

WYKŁAD PLENARNY

11:00-11:30	dr hab. Jarosław Król, prof. UPWr	MW.W.02
	Nowe gatunki gronkowców koagulazoujemnych jako czynniki etiologiczne zapalenia wymienia u bydła	412

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie)

11:30-12:30	M. Miszczak, A. Korzeniowska-Kowal, A. Wzorek, A. Gamian, K. Rypuła, P. Prorok, D. Ściebura, K. Bierowiec	MW.U.05
	Koagulazo-ujemne gronkowce izolowane od zwierząt – niedoceniane zagrożenie	417
	A. Kędrak-Jabłońska, S. Budniak, M. Krzysiak, M. Larska, A. Szczawińska, M. Rekxa, M. Krupa, K. Szulowski	MW.U.06
	Występowanie <i>Pasteurella multocida</i> z otoczką typu A u żubrów w Polsce	418
	R. Kolenda, K. Sidorczuk, M. Noszka, A. Aleksandrowicz, M. Khan, D. Pickard, P. Schierack	MW.U.07
	Położenie locus alfa-hemolizyny w genomie jest związane z profilem czynników wirulencji u <i>Escherichia coli</i>	419
	A. Aleksandrowicz, R. Kolenda	MW.U.08
	Wpływ adhezyny FdeC i zmienności jej struktury pierwszorzędowej na przyleganie <i>Escherichia coli</i> patogennej dla drobiu (APEC) do komórek nabłonka jelita	420
	A. Blank, P. Foksiński, E. Kaczorek-Łukowska	MW.U.09
	Czynniki wirulencji i zdolność do wytwarzania biofilmu u <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	421

A. Trościańczyk, A. Nowakiewicz, D. Łagowski, S. Gnat, M. Osińska	MW.U.10
Bakteriocyny <i>Enterococcus faecium</i> i <i>E. faecalis</i> jako alternatywa w zwalczaniu kluczowych dla zdrowia publicznego bakterii	422

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE
(2 min/wystąpienie)

12:30-12:45	I. Stefańska, E. Kwiecień, D. Chrobak-Chmiel, M. Kizerwetter-Świda, L. Witkowski, M. Żychska, M. Binek, M. Rzewuska	MW.P.03 430
	Częstość występowania gatunków beta-hemolitycznych paciorkowców wywołujących zakażenia u zwierząt	
	A. Kędrak-Jabłońska, S. Budniak, M. Krzysiak, E. Plis-Kuprianowicz, M. Larska, A. Szczawińska, M. Reksa, M. Krupa, K. Szulowski	MW.P.04 431
	Izolacja i identyfikacja <i>Pasteurella multocida</i> serotypu B:2 u żubra w Polsce	
	O. Szaluś-Jordanow, E. Augustynowicz-Kopeć, A. Zabost, M. Czopowicz, A. Moroz, M. Mickiewicz, A. Łobaczewski, R. Sapieryński, M. Krasztel, T. Frymus	MW.P.05 432
	Uogólnione zakażenie <i>Mycobacterium avium</i> u sznaucera miniaturowego	
	D. Chrobak-Chmiel, A. Golke, E. Kwiecień, M. Murawska, M. Krupa, M. Rzewuska	MW.P.06 433
	Badanie <i>in vitro</i> zdolności szczepów <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> wyizolowanych od zdrowych i chorych psów do adhezji i inwazji do psich keratynocytów	
	E. Kwiecień, I. Stefańska, M. Rzewuska	MW.P.07 434
	Występowanie plazmidów u <i>Trueperella pyogenes</i>	
	A. Szprynca, E. Kwiecień, A. Didkowska, P. Żmuda, I. Stefańska, D. Chrobak-Chmiel, K. Anusz, E. Bagnicka, M. Rzewuska	MW.P.08 435
	Różnicowanie genetyczne szczepów <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> wyizolowanych od owiec	
	A. Śmiałowska-Węglińska, E. Mikos-Wojewoda, M. Zając, M. Skarżyńska, D. Wasyl, W. Koza, R. Kwit, P. Pasim, E. Skrzypiec, D. Wojdat, D. Wnuk, A. Lalak, M. Skóra, K. Szulowski	MW.P.09 436
	Występowanie pałeczek <i>Salmonella</i> spp. w nawozach organicznych, organiczno-mineralnych oraz środkach poprawiających właściwości gleby (2019-2020)	

12:45-13:00 Pytania i dyskusja

13:00-13:30 Przerwa

Część III. W centrum uwagi: grzyby

WYSTĄPIENIE USTNE

(10 min/wystąpienie)

13:30-13:40	D. Łagowski, S. Gnat, A. Trościańczyk, A. Nowakiewicz	MW.U.11
	Analiza porównawcza aktywności <i>in vitro</i> leków azolowych nowej generacji wobec izolatów <i>Microsporium canis</i> uzyskanych od asymptomatycznych kotów	423

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE

(2 min/wystąpienie)

13:40-13:45	S. Gnat, D. Łagowski, M. Dyląg, A. Trościańczyk, M. Osińska, A. Nowakiewicz	MW.P.10
	Metody molekularne i konwencjonalne detekcji dermatofitów – analiza porównawcza	437
	I. Bąk, M. Biegańska, K. Adamczyk, M. Rzewuska	MW.P.11
	Trichosporonoza u kury ozdobnej – opis przypadku	438

13:45-13:50 Pytania i dyskusja

Część IV. W centrum uwagi: wirusy

WYSTĄPIENIE USTNE

(15 min/wystąpienie)

13:50-14:05	J. Cymerys, A. Słońska, M. Bartak, A. Lange, S. Jaworski, E. Sawosz-Chwialibóg, M. Bańbura	MW.U.12
	Określenie właściwości przeciwwirusowych kompozytu tlenku grafenu z nanocząstkami srebra – badania modelowe z wykorzystaniem mysiego koronawirusa (MHV-JHM)	424

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE

(2 min/wystąpienie)

14:05-14:10	M. Kwaśnik, W. Socha, P. Sztromwasser, J. Rola, W. Rożek	MW.P.12
	Analiza wariantów nukleotydowych poszczególnych segmentów wirusa grypy H3N8 generowanych pasażami na zarodkach kurzych	439
	M. Bartak, A. Słońska, M. Bańbura, J. Cymerys	MW.P.13
	Sialodacryoadenitis virus – zapomniane zagrożenie zoonotyczne	440

	A. Słońska, J. Cymerys, M. Bartak, M. Bańbura	MW.P.14
	Rola mikrotubul podczas zakażenia pierwotnej hodowli astrocytów końskim herpeswirusem typu 1 – badania <i>in vitro</i>	441

14:10-14:20 Pytania i dyskusja

14:20-14:30 Przerwa

Część V. W centrum uwagi: metody diagnostyczne

WYSTĄPIENIA USTNE

(10 min/wystąpienie)

14:30-15:05	M. Żychska, L. Witkowski, T. Nowak, A. Kwieciński, K. Wódz, S. Smulski, P. Kwieciński	MW.U.13
	Badanie antybiotykooporności przy pomocy automatycznego systemu do oznaczeń – badanie pilotażowe	425
	Firma GRASO Biotech	
	Prezentacja oferty dla mikrobiologii weterynaryjnej (5 min)	
	S. Budniak, A. Kędrak-Jabłońska, M. Krupa, J. Złotnicka, A. Szczawińska, M. Reksa, B. Wasiński, K. Szulowski	MW.U.14
	Zastosowanie metody real-time PCR do wykrywania <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Brucella</i> spp., <i>Burkholderia mallei</i> , <i>Francisella tularensis</i> oraz <i>Yersinia pestis</i>	426
	E. Iwan, A. Giza, D. Wasyl	MW.U.15
	Automatyzacja wysokoprzepustowego sekwencjonowania w obszarze diagnostyki weterynaryjnej i nadzoru nad bezpieczeństwem żywności	427

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE

(2 min/wystąpienie)

15:05-15:15	A. Giza, E. Iwan, D. Wasyl	MW.P.15
	Metoda SANGERA w dobie sekwencjonowania wysokoprzepustowego	442
	S. Budniak, A. Kędrak-Jabłońska, A. Szczawińska, M. Reksa, M. Krupa, K. Szulowski	MW.P.16
	Ocena przydatności metody PCR do wykrywania obecności i identyfikacji <i>Bacillus anthracis</i> z próbek środowiskowych	443
	S. Budniak, A. Kędrak-Jabłońska, A. Szczawińska, M. Krupa, M. Reksa, K. Szulowski	MW.P.17
	Wykrywanie <i>Bacillus anthracis</i> w próbkach środowiskowych przy użyciu metody real-time PCR opartej na fluorescencji barwnika SYBR GREEN I	444

A. Kędrak-Jabłońska, S. Budniak, M. Reksa, A. Szczawińska, M. Krupa,
K. Szulowski

MW.P.18

Zastosowanie metody real-time PCR opartej na wykorzystaniu
nukleolitycznych sond typu TAQMAN do wykrywania *Bacillus anthracis*
w próbkach środowiskowych

445

15:15-15:25 Pytania i dyskusja

15:25-15:30 Zakończenie sesji

SESJA DOBROSTANU ZWIERZĄT I OCHRONY ŚRODOWISKA

Przewodnicząca: dr hab. Magdalena Chłopecka
Wiceprzewodniczący: prof. dr hab. Roman Kołacz

Sobota 27 listopada 2021 r.

WYKŁADY PLENARNE

13:00-13:30	dr hab. inż. Barbara Tombarkiewicz, prof. UR	OŚ.W.01
	Środowisko elektromagnetyczne ziemi w kontekście dobrostanu zwierząt	449
13:30-14:00	dr hab. Tadeusz Kaleta, prof. SGGW	OŚ.W.02
	Dobrostan zwierząt dzikich żyjących w naturze-problematyka i problemy	450
14:00-14:30	prof. dr hab. Roman Kołacz	OŚ.W.03
	Dobrostan zwierząt w świadomości społecznej	451
14:30-14:45	Dyskusja	

WYSTĄPIENIA USTNE

(12 min/wystąpienie + 3 min dyskusja)

14:45-17:00	K. Pawlak, K. Andres, B. Tombarkiewicz, M. Lis	OŚ.U.01
	Obserwacje behawioru lęgowego kaczek domowych	452
	A. Wójcik, K. Solecka	OŚ.U.02
	Zachowania niepożądane jako wskaźnik obniżonego dobrostanu u kotów domowych	453
	M. Herudzińska, P. Kaźmierczak, A. Grzeczka, S. Kulynycz, W. Niewitecki, B. Jaśkowski, G. Balicki, J. Jaśkowski	OŚ.U.03
	Czystość krów w stadach w odniesieniu do warunków chowu oraz jej związek z zaburzeniami zdrowotnymi	454
	T. Kiljanek, S. Semeniuk, M. Goliszek, M. Małysiak, O. Burek, P. Łusiak, A. Posyniak	OŚ.U.04
	Pszczoły i pestycydy – wyniki badań zatruc pszczoł w latach 2014-2021	455
	M. Tracz, A. Jackowska-Tracz, K. Anusz	OŚ.U.05
	Dobrostan i prawa zwierząt w kodeksie etyki lekarza weterynarii	456
	A. Grzeczka, S. Graczyk, G. Wozniak, A. Hrynyszyn, J. Wyszowska, M. Gehrke, J. Jaśkowski	OŚ.U.06
	Wpływ badania rektalnego na wartość ciśnienia krwi i tętna oraz temperaturę gałki ocznej u krów	457
	M. Giergiel, B. Sell, A. Posyniak, P. Jedziniak	OŚ.U.07
	Lis pospolity (<i>Vulpes vulpes</i>) jako bioindykator zanieczyszczenia środowiska	458

M. Ciorga	OŚ.U.08
Ocena dobrostanu bydła podczas transportów do rzeźni	459

WYSTĄPIENIA PLAKATOWE
(3 min/wystąpienie + dyskusja)

17:00-17:15	K. Makowska, J. Martin, A. Rychlik, I. Aparicio, J. Santos, E. Alonso, S. Gonkowski	OŚ.P.01
	Ocena stopnia narażenia psów na bisfenol A (BPA) poprzez analizę próbek sierści	460
	M. Lech, J. Sobolewski	OŚ.P.02
	Opieka lekarsko-weterynaryjna w stadach bydła mlecznego w Polsce – badania ankietowe	461
	A. Ponieważ, D. Witkowska	OŚ.P.03
	Wpływ zastosowania materiału ściółkowego na występowanie wybranych zachowań niepożądanych u cieląt	462

17:15-17:25 Zakończenie sesji

SESJA EDUKACJI I NOWOCZESNYCH FORM NAUCZANIA W WETERYNARII

Przewodnicząca: dr hab. Małgorzata Gajewska, prof. SGGW
Wiceprzewodnicząca: prof. dr hab. Marta Kankofer

Sobota 27 listopada 2021 r.

13:00-13:15 Otwarcie sesji

WYKŁAD PLENARNY

13:15-13:45	dr Grzegorz Cebula	NN.W.01
	Neurobiologiczne i psychologiczne podstawy uczenia się	465

WYSTĄPIENIA USTNE (15 min/wystąpienie)

13:50-14:35	M. Załęcki, M. Klimczuk, J. Kaleczyc	NN.U.01
	Techniki e-learningu w nauczaniu anatomii zwierząt w czasie pandemii COVID19 – doświadczenie Katedry Anatomii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie	466
	I. Kołomyjska, A. Efthimiadou, M. Charakis, I. Athanasopoulos, G. Koulas	NN.U.02
	Badanie porównawcze potrzeb edukacyjnych lekarzy weterynarii w obszarze komunikacji z właścicielem zwierzęcia	467
	W. Kędzierski, J. Wawrzykowski, M. Jamioł, M. Kankofer	NN.U.03
	Efekty stosowania tutoringu w nauczaniu studentów weterynarii przedmiotów podstawowych	468

14:35-14:50 Dyskusja i pytania

14:50-15:00 Zakończenie sesji



STRESZCZENIA PRAC



SESJA NAUK PODSTAWOWYCH I PRZEDKLINICZNYCH



PERSPEKTYWY TERAPII FAGOWEJ ZAKAŻEŃ GRONKOWCOWYCH U PSÓW I KOTÓW

M. Łobocka

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa, Polska

Gronkowcowe zakażenia u psów i kotów są głównym powodem przepisywania środków antybakteryjnych w praktyce weterynaryjnej małych zwierząt. Wśród przyczyn zakażeń dominują *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus schleiferi*. Infekcje szczepami tych bakterii wrażliwymi na antybiotyki można opanować antybiotykoterapią lecz problemem są występujące coraz częściej szczepy antybiotykooporne. Co więcej, opisano szereg przypadków transmisji tych szczepów z psów lub kotów na ich właścicieli i odwrotnie. Dlatego pilne staje się wdrożenie do praktyki weterynaryjnej środków przeciwgronkowcowych skutecznych w walce z antybiotykoopornymi szczepami *Staphylococcus*.

Wśród stosowanych w przeszłości i powracających do kręgu zainteresowań środków przeciwgronkowcowych alternatywnych dla antybiotyków czołową pozycję zajmują bakteriofagi. Są to wirusy infekujące bakterie i nieszkodliwe dla organizmów eukariotycznych. Są naturalnym składnikiem mikrobioty zwierząt i ludzi. Określone bakteriofagi infekują i zabijają bakterie określonych rodzajów, gatunków lub szczepów. Nie niszczą więc pozostałej mikrobioty. Zależność ich namnażania od dostępności żywych bakterii gospodarzy, czyni je samolimitującym środkiem terapeutycznym.

Bakteriofagi bezwzględnie lityczne, zabijające komórki *S. aureus*, są jednymi z najlepiej poznanych. Wiele ma szeroką specyficzność szczepową w obrębie *S. aureus*. Niektóre infekują też szczepy *S. pseudintermedius* mimo różnic w składzie ścian komórkowych tych bakterii. Testy efektywności terapeutycznej bakteriofagów gronkowcowych z wykorzystaniem infekcji bezkręgowców jako modelu pozwalają na wybór ich najsukuteczniejszych terapeutycznie przedstawicieli. Badania *in vitro* doprowadziły do identyfikacji cech wirionów niezbędnych do infekcji metacyclino-opornych szczepów *S. aureus* oraz szczepów *S. pseudintermedius*. Sukcesy eksperymentalnej terapii fagowej zakażeń *S. aureus* u ludzi i zwierząt wyprzedziły badania nad fagoterapią zakażeń *S. pseudintermedius* i *S. schleiferi* u psów i kotów. Jednak szereg opisanych ostatnio izolatów fagów *S. pseudintermedius* i *S. schleiferi* wykazuje aktywność w lizie komórek planktonicznych i destrukcji biofilmów tych bakterii, otwierając drogę tym badaniom. Aktywność przeciwgronkowcową wykazują również lizyny tych fagów - enzymy zdolne do trawienia ścian komórkowych gronkowców z zewnątrz. Niska cena produkcji bakteriofagów i lizyn fagowych stwarza perspektywę szerokiego ich stosowania w praktyce weterynaryjnej.

Słowa kluczowe: gronkowiec, bakteriofagi, terapia fagowa, zakażenia gronkowcowe psów i kotów

ŚWINIA JAKO ZWIERZĘ MODELOWE W ANALIZIE PK/PD TERAPEUTYCZNYCH PRZECIWCIAŁ MONOKLONALNYCH PRZEZNACZONYCH DLA CZŁOWIEKA

T. Grabowski

Polpharma Biologics SA, Gdański Park Naukowo-Technologiczny, Gdańsk, Polska

Badania przedkliniczne leków biologicznych wciąż wymagają wykorzystywania zwierząt, w tym gatunków które nie są zaliczane do gryzoni. Jest to element typowy dla późnej fazy przedklinicznej, w której od lat prym wiodą małpy człekokształtne (NHP). Jak stwierdzono w jednej z wytycznych Amerykańskiej Agencji ds. Leków (FDA), analiza chemiczna leku nie musi uwzględniać wszystkich czynników wpływu, istotnych z punktu widzenia farmakokinetyki (PK). Z kolei badania *in vitro* mogą nie odzwierciedlać zależności od czasu, aspektów dystrybucji leków. Podkreślono również, że PK *in vivo* często ujawnia mechanizmy wchłaniania i szeroko pojmowanej dyspozycji leku, których nie odzwierciedlają żadne inne typy analiz. Wydaje się więc, że jeszcze długo model zwierzęcy będzie jednym z najskuteczniejszych narzędzi wykorzystywanych w fazie przedklinicznej. Szczególnie w odniesieniu do kandydatów na przyszłe leki.

Powstaje jednak pytanie czy istnieje jakakolwiek alternatywa dla NHP w przypadku tak specyficznych leków jak terapeutyczne przeciwciała monoklonalne przeznaczone dla człowieka (mAb). Wiele badań wskazuje jednoznacznie na ogromny potencjał świnki miniaturowej oraz świni hodowlanej. Wiele gatunków NHP to gatunki chronione, lub zagrożone wyginięciem. Są to zwierzęta dzikie, nie hodowlane, bardzo wymagające w sensie codziennej opieki. Mogą być również bardzo niebezpieczne dla człowieka.

Świnia szczególnie w odniesieniu do mAb podawanych podskórnie to model pod wieloma względami zbliżony do ideału. Fizjologia i anatomia skóry jest w tym wypadku bardzo zbliżona do skóry ludzkiej. Zwierzęta mogą mieć masę ciała znacznie większą niż NHP co ułatwia pobieranie próbek krwi. Wreszcie odpowiedź układu immunologicznego na podanie ludzkiego mAb w przypadku świni może być wielokrotnie słabsza niż w przypadku NHP. Świnia domowa lub świnki miniaturowe nie są zwierzętami dzikimi. Można więc spodziewać się znacznie niższej zmienności zarówno PK jak i obserwowanych efektów (PD).

W przypadku mAb to właśnie układ immunologiczny jest wspólnym mianownikiem zjawisk opisywanych jako PK/PD. Ich przebieg w ogromnym stopniu zależy od stosunku procesów odpowiedzialnych za jego indukcję i supresję. Świnia jako zwierzę modelowe ułatwia poznawanie, rozumienie i prognozowanie przebiegu zjawisk związanych z podaniem mAb u człowieka. Dzięki obecnej wiedzy, dzisiaj możemy śmiało postawić taki wniosek.

Słowa kluczowe: świnia, mAb, model

Badania finansowane przez NCBI R:POIR.01.02.00-00-0016/17.

WPŁYW ŻELU BOGATOPŁYTKOWEGO I OSOCZA UBOGOPŁYTKOWEGO NA AKTYWNOŚĆ NEUTROFILI UZYSKANYCH PO WSZCZEPIENIU IMPLANTU TYTANOWEGO W OKOLICĘ CHRZĄSTKI WZROSTOWEJ KOŚCI PISZCZELOWEJ OWIEC

J. Zdziennicka¹, J. Wessely-Szponder¹, A. Junkuszew¹, M. Latański², M. Świeca¹

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, Polska

Istnieje szereg metod leczenia urazów kostno-stawowych u zwierząt, część z nich wykorzystuje biomateriały. Częsteczek uwalnianie przez jony tytanu, mogą dyfundować do tkanek i wchodzić w interakcję z komórkami gospodarza indukując nadmierną reakcję zapalną, skutkując nawet odrzuceniem implantu.

Celem badania była ocena wpływu żelu bogatopłytkowego (PRP) oraz osocza ubogopłytkowego (PPP) na długotrwałe oddziaływanie pomiędzy krążącymi neutrofilami a jonami tytanu po wszczepieniu implantu tytanowego w okolicę chrząstki wzrostowej kości piszczelowej u owiec.

Badanie zostało przeprowadzone na grupie 12 owiec, rasy BCP, podzielonych na dwie grupy: 8 z wszczepionym implantem (grupa eksperymentalna) oraz 4 bez implantu (grupa kontrolna). Implanty tytanowe zostały umieszczone w okolicy chrząstki wzrostowej kości piszczelowej.

Materiał (krew pełna) do pozyskania produktów PRP został pobrany do 8,5ml probówek zawierających płyn cytrynianowo-fosforanowo-glukozowy (CPD). W celu wyizolowania PRP użyto systemu o nazwie CURASAN. W górnej warstwie systemu otrzymano PPP, pozostałą objętość stanowiło PRP. Do izolacji neutrofilów i oceny ich aktywności krew została pobrana do probówek z antykoagulantem (EDTA) w punktach czasowych: A- 7 dni przed, B- 24 godziny po, C- 4 miesiące po oraz D- 10 miesięcy po operacji. Jako stymulatorów dla neutrofilów użyto: PPP, Lipopolisacharydu (LPS) oraz PRP. Osobne grupy stanowiły hodowle stymulowane PPP oraz PRP z dodatkiem LPS. Zawiesiny były inkubowane przez 4 oraz 20 godzin w 37°C i 5% CO₂ we wszystkich punktach czasowych. Aktywność neutrofilów była mierzona na podstawie uwalniania elastazy, mieloperoksydazy (MPO), fosfatazy alkalicznej (ALP) oraz wytwarzania wolnych rodników (ROS) (tlenku azotu i anionorodnika nadtlenkowego).

Dodatek LPS oraz PRP do zawiesiny neutrofilów spowodował wzrost uwalniania enzymów oraz ROS we wszystkich punktach czasowych w porównaniu do grupy kontrolnej. PPP wywołał spadek uwalniania elastazy, MPO, ALP oraz ROS zarówno 24 godziny, 4 miesiące i 10 miesięcy po zabiegu w porównaniu do grupy kontrolnej.

Uzyskane dane pokazują, że w przypadku PRP w kontakcie z neutrofilami powoduje on wzrost odpowiedzi tych komórek, natomiast PPP wykazuje działanie przeciwzapalne zarówno w fazie zapalnej procesu naprawczego oraz przy długotrwałym leczeniu.

Słowa kluczowe: implant tytanowy, PRP, PPP

PRZEBIEG I PODZIAŁ TĘTNICY TRZEWNEJ WILKA SZAREGO (*CANIS LUPUS*)

T. Uzar

Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Tętnica trzewna jest pierwszym, nieparzystym naczyniem tętnicznym odchodzącym od aorty brzusznej. W przypadku rodziny psowatych (*Canidae*) dzieli się na 3 główne gałęzie tętnicze, które unaczyniają żołądek, końcowy fragment przełyku, śledzionę, wątrobę, pęcherzyk żółciowy, trzustkę, a także bliższy odcinek dwunastnicy. W obrębie psowatych dotychczasowe badania z dziedziny angiologii skupiały się głównie na psie domowym (*Canis familiaris*). Celem badań był opis przebiegu i podziału tętnicy trzewnej wilka szarego, a także wskazanie ewentualnych zmienności międzygatunkowych i międzyosobniczych w przypadku badanego naczynia.

Do badań wykorzystano pięć osobników wilka szarego, które zostały pozyskane na terenie województwa wielkopolskiego. Metodyka badań polegała na wprowadzeniu doaortalnie barwionego materiału lateksowego. Otrzymane preparaty utrwalono w 30% roztworze formaliny, a następnie preparowano tętnicę trzewną i jej gałęzie, co pozwoliło sporządzić opisy przebiegu i podziału badanego naczynia.

W przypadku badanych osobników tętnica trzewna przedłużała się w 3 naczynia tętnicze tj. tętnica żołądkowa lewa, tętnica śledzionowa, tętnica wątrobowa. Tętnica żołądkowa lewa przebiegała następnie po krzywiźnie mniejszej żołądka i jej zasięg był podobny u wszystkich badanych osobników. Różnic międzyosobniczych nie zaobserwowano także w przebiegu tętnicy śledzionowej. Pewne zmienności dotyczyły tętnicy wątrobowej, której dalsze gałęzie odznaczały się różnym zasięgiem, a także sposobem unaczynienia poszczególnych narządów. Na podstawie badań można stwierdzić, że sposób podziału i przebiegu głównych gałęzi tętnicy trzewnej jest podobny do opisywanego u innych gatunków z rodziny psowatych, w tym blisko spokrewnionego psa domowego. Drobne różnice zaobserwowane w obrębie dalszych gałęzi tętnicy trzewnej były opisywane u innych gatunków zwierząt i są wyrazem zmienności międzyosobniczej.

Słowa kluczowe: angiologia, tętnica trzewna, unaczynienie, wilk szary

MORFOLOGIA FUNKCJONALNA I MIKROSTRUKTURA BRODAWEK JĘZYKOWYCH SSAKÓW – STAN BADAŃ

H. Jackowiak, K. Skieresz- Szewczyk, B. Plewa

Pracownia Histologii i Embriologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Czynnikami kształtującymi anatomię i histologię języka, w tym smakowych i mechanicznych brodawek językowych jest dieta oraz mechanizmy pobierania i transportowania pokarmu w jamie ustnej. W tym względzie istnieją znaczące różnice strukturalne w określonych grupach pokarmowych tj. u ssaków wszystkożernych, roślinożernych, czy mięso- i owadożernych. Różnice te obserwuje się zarówno na poziomie obserwacji makroskopowych, jak i mikroskopowych w zakresie mikroskopii świetlnej i elektronowej skaningowej.

Ostatnie doniesienia o strukturach błony śluzowej języka (m.in. o nabłonku błony śluzowej, gruczołach języka i in.) analizowanych metodami immunohistochemicznymi, lub technikami komputerowymi dostarczają interesujących danych zmieniających ustalone paradygmaty.

W niniejszej prezentacji zostaną zaprezentowane porównawczo dane pochodzące z własnych badań mikroskopowych i immunohistochemicznych oraz wykorzystujących innowacyjną metodę trójwymiarowej rekonstrukcji mikrostruktur języka ssaków domowych, hodowlanych i dziko żyjących oraz pozyskanych z Ogrodów Zoologicznych, które rozpoczęliśmy w macierzystym Zakładzie Histologii i Embriologii Zwierząt UP w Poznaniu w 2004 roku.

Przegląd cech języka i brodawek językowych torbaczy, ssaków owadożernych, nietoperzy, drapieżnych, parzysto- i nieparzystokopytnych oraz trąbowców będzie rozpatrywany w aspekcie adaptacji środowiskowych. Wyniki przedstawią funkcjonalnie ważne obszary błony śluzowej języka charakteryzujące się (i) zróżnicowanym rozmieszczeniem i morfologią brodawek językowych i kubków smakowych, (ii) mikrostrukturą nabłonka błony śluzowej, (iii) obecnością mechanoreceptorów, i są wybiórczo związane z adhezją cząstek pokarmowych i przystosowaniem do procesów transportu oraz percepcją smaku. Nasze badania wskazują na konieczność weryfikacji zarówno metodyki badań, jak i niekiedy nazewnictwa mikrostruktur języka.

Słowa kluczowe: język, brodawki językowe, mikroskopia świetlna, skaningowa mikroskopia elektroniczna, immunohistochemia, rekonstrukcja 3D, ssaki

Badania finansowane z funduszu 506-539.04.00.

TRÓJWYMIAROWA ANALIZA SMAKOWYCH BRODAWEK JĘZYKOWYCH I ICH KUBKÓW SMAKOWYCH NA JĘZYKU BYDŁA (*BOS TAURUS*), ŻUBRA (*BISON BONASUS*) I ŻUBRONIA

B. Plewa, K. Skiersz-Szewczyk, H. Jackowiak

Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Wcześniejsze własne badania makro- i mikroskopowe brodawek językowych bydła domowego, dzikiego żubra oraz ich hybrydy – żubronia wskazały, że żubroni charakteryzował się odmiennym od gatunków rodzicielskich rozmieszczeniem i wielkością brodawek grzybowatych, szczególnie w przedniej części języka.

Celem dalszych badań była szczegółowa analiza mikrostrukturalna brodawek grzybowatych u wymienionych wyżej gatunków przeżuwaczy, połączona z analizą rozmieszczenia i liczby kubków smakowych innowacyjną metodą trójwymiarowej analizy seryjnych skrawków histologicznych.

Języki przeżuwaczy pobrano podczas uboju i utrwalono w 10% formalinie. Bloczki parafinowe z brodawkami grzybowatymi z wierzchołka, trzonu i wału języka krojono seryjnie na skwarki o grubości 5-8 μm . Dokumentację preparatów wybarwionych metodą Masson-Goldner, wykonano w mikroskopie świetlnym, połączonym z systemem komputerowym z oprogramowaniem morfometrycznym (Multi-Scan; CSS Warszawa). Modele 3D brodawek grzybowatych wykonano w systemie do wizualizacji i analizy danych 3D - AMIRA (Thermo Fisher Scientific).

Analiza porównawcza uzyskanych modeli 3D brodawek grzybowatych wskazała różnice w ich mikrostrukturze u badanych przeżuwaczy. Charakterystyka cech tj. liczba i gęstość brodawek grzybowatych, ich wyniesienie oraz liczba i gęstość kubków smakowych w tych brodawkach pozwoliły na wyodrębnienie dwóch istotnych obszarów funkcjonalnie związanych z selekcją pobieranego pokarmu, i dalej z percepcją smaku podczas procesu przeżuwania.

Analiza cech modeli 3D brodawek grzybowatych wskazała na występowanie trzech typów trzonów łącznotkankowych oraz dwóch wzorców rozmieszczenia kubków smakowych na powierzchni brodawek. Ponadto obserwowano istotne różnice międzygatunkowe dotyczące większej liczby kubków smakowych w pojedynczej brodawce grzybowatej u gatunków rodzicielskich oraz znacząco zredukowanej liczby lub brakiem kubków smakowych u żubronia. Zauważono, że cechy brodawek grzybowatych występujące u żubronia były zbliżone do gatunku matczynego, czyli bydła.

Analiza 3D wykorzystana przez nas po raz pierwszy do badań przestrzennych struktur brodawek smakowych pozwoliła uzyskać cenne wyniki, opisujące funkcje aparatu smaku, które mogą być wykorzystane w żywieniu zwierząt i w praktyce weterynaryjnej.

Słowa kluczowe: język, brodawki grzybowate, kubki smakowe, przeżuwacze, rekonstrukcja trójwymiarowa 3D

Źródło finansowania: projekt działalności badawczej nr 506.539.04.00.

ANALIZA RÓŻNICUJĄCA NABŁONKÓW ROGOWYCH BŁONY ŚLUZOWEJ JĘZYKA PTAKÓW

K. Skiersz-Szewczyk, H. Jackowiak

Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Ptaki charakteryzuje szerokie spektrum spożywanego pokarmu oraz zróżnicowane mechanizmy pobierania i transportu pokarmu w jamie dzioba. Czynniki te decydują o występowaniu na powierzchni błony śluzowej języka dwóch typów nabłoneków rogowych tj. nabłonka orto- i pararogowego o zmiennym zasięgu. Proces rogowacenia tych nabłoneków jest różny niż u ssaków i cechuje się występowaniem specyficznej alfa- i beta-keratyny. Celem badań było wyznaczenie obszarów występowania nabłonka orto- i pararogowego u różnych grup pokarmowych ptaków, ich charakterystyka mikroskopowa i ultrastrukturalna oraz analiza rozmieszczenia alfa- i beta-keratyny. W badaniach wykorzystano techniki LM, TEM, analizy IHC i technikę mikrospektroskopii Ramana.

Zasadniczą cechą różnicującą oba typy nabłoneków rogowych jest obecność przetrwałych, zdegenerowanych jąder komórkowych w warstwie rogowej nabłonka pararogowego. Cecha ta pozwoliła określić, iż nabłonek pararogowy występuje na powierzchni grzbietowej języka, a nabłonek ortorogowy pokrywa mechaniczne brodawki językowe oraz buduje paznokiec języka. Obserwacje w TEM wykazały, że warstwa rogową w obu typach nabłoneków rogowych jest zbudowana z elektronowo jasnych i ciemnych komórek, przy czym układ pęczków włókien keratynowych jest różny pomiędzy nabłonkami. W nabłonku ortorogowym w komórkach elektronowo ciemnych pęczki włókien keratynowych są ułożone równolegle względem siebie, a w nabłonku pararogowym krzyżują się ze sobą. Analizy IHC wskazały na obecność alfa-keratyny zarówno w nabłonku orto- jak i pararogowym. Wyniki mikrospektroskopii Ramana określiły, że alfa-keratyna jest gromadzona przede wszystkim w warstwie podstawnej oraz pośredniej nabłonka i stanowi ok. 38 - 45%, natomiast beta-keratyna występuje głównie w warstwie rogowej. Cechą różniącą oba nabłonki jest procentowa ilość beta-keratyny, która wynosi aż 70% w nabłonku ortorogowym i 61% w nabłonku pararogowym.

Podsumowując wyniki możemy stwierdzić, że nabłonek pararogowy występuje w obszarach języka biorących udział w transporcie pokarmu, a nabłonek ortorogowy pokrywa struktury zaangażowane w pobieranie pokarmu. Różnice w budowie warstwy rogowej, organizacji przestrzennej włókien keratynowych i rozmieszczenia beta-keratyny wpływają na to, że nabłonek ortorogowy cechuje się większą wytrzymałością mechaniczną niż nabłonek pararogowy.

Słowa kluczowe: ptaki, język, nabłonek ortorogowy, nabłonek pararogowy, alfa-keratyna, beta-keratyna

Źródło finansowania: projekt działalności badawczej nr 506.539.04.00.

ANALIZA POTENCJAŁU BIOLOGICZNEGO EKSTRAKTU ZE SKÓREK GRANATOWCA W SZCZURZYM MODELU ZESPOŁU METABOLICZNEGO

J. Niewiadomska, A. Noszczyk-Nowak

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Polska

Zespół metaboliczny (ZM) to grupa powiązanych wzajemnie czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego do których należą: otyłość typu brzuszego, dyslipidemia, nadciśnienie tętnicze oraz insulinooporność. Ich współwystępowanie istotnie zwiększa ryzyko rozwoju m.in. cukrzycy typu 2, schorzeń serca, nerek czy udaru mózgu. W interwencji terapeutycznej istotne jest leczenie dietetyczne pozwalające na kontrolę poszczególnych składowych zespołu. Wyniki badań wskazują na związki polifenolowe jako potencjalne remedium w ZM ze względu na ich właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne czy wazoprotekcyjne. Obiecującym źródłem polifenoli jest granatowiec.

Szczury Zucker Diabetic Fatty (fa/fa, 18 osobników) oraz ich zdrową kontrolę (fa/+, 12 osobników) podzielono na 5 grup po 6 osobników w każdej. Kontrolę stanowiły szczury ZDF (fa/fa) pojone samą wodą. Pozostałym osobnikom (2 grupy fa/fa, 2 grupy fa/+) podawano sondą dożołądkową ekstrakt ze skórek granatowca (ESG). Zbadano wpływ dwóch różnych dawek: 100mg/kg mc. oraz 200mg/kg mc. ESG podawano szczurom przez 8 tyg. Przed rozpoczęciem suplementacji ESG, w 4 tyg. oraz w 8 tyg. pobrano krew z żyły bocznej ogona w ilości nieprzekraczającej 2 ml, celem oceny morfologii, profilu lipidowego oraz glikemii. Pomiarów masy ciała dokonywano dwukrotnie w każdym tygodniu. Pomiarów echokardiograficznych przeprowadzono przed rozpoczęciem doświadczenia oraz w 8 tyg. Przed badaniem osobniki zostały poddane anestezji deksmetomidyną (100 ug/kg) z butorfanolem (0,4 mg/kg). Oceniono następujące parametry: La/Ao, IVSs, IVSd, LVIDs, LVIDd, FS oraz EF.

Przyrost masy ciała był istotnie niższy w grupie fa/+ otrzymujących ekstrakt w ilości 200 mg/kg mc względem osobników fa/+, którym podawano ESG w stężeniu 100 mg/kg mc ($p < 0,05$). W morfologii krwi oraz w pomiarach echokardiograficznych nie uzyskano istotnych statystycznie różnic między grupami. ESG nie wpłynął także na poprawę profilu lipidowego oraz glikemii. Bazując na otrzymanych wynikach można wnioskować, że ekstrakt ze skórek granatowca nie wywiera istotnego efektu biologicznego w zakresie wybranych markerów klinicznych. Możliwe jednak, iż efekt ich podaży jest zauważalny na poziomie zmian molekularnych.

Słowa kluczowe: zespół metaboliczny, polifenole, ekstrakt ze skórek granatowca

Badanie finansowane przez NCN: projekt PPI/APM/2019/1/ 00044/U/00001.

POMYŚLNE ROZMROŻENIE ZARODKÓW MYSZY PRZECHOWYWANYCH W CIEKŁYM AZOCIE PRZEZ OKRES 35 LAT

H. Grzesik¹, K. Papis^{1,2}, A. Zarzycka¹, A. Niwińska¹, Z. Gajewski¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Przychodnia Lekarska „nOvum”, Warszawa, Polska

Przechowywanie zamrożonych zarodków w ciekłym azocie nie jest limitowane czasowo. Najdłuższy, potwierdzony okres przechowywania zarodków ssaków dotyczy zygot człowieka i wynosi niemal 20 lat (Dowling-Lacey i wsp. 2011, Fertil Steril). W 2020/21 r. rozmrożono zarodki myszy zamrożone w stadium wczesnej blastocysty i blastocysty w IGBZ PAN w Jastrzębcu w latach 1985-1986. Zarodki te były zamrażane w szklanych mini probówkach metodą slow-freezing w 0,1 ml roztworu 1,5 M dimetylosulfotlenku, 1,5 M propandiolu lub 3,0 M metanolu. Stosowano dwie metody zamrażania: klasyczną (powolne schładzanie do -80°C) i dwustopniową (powolne schładzanie do -35°C). Metody te wymagają odmiennego sposobu rozmrażania. Szczegółowa dokumentacja eksperymentów nie zachowała się więc arbitralnie wybrano rozmrażanie w powietrzu i wodzie o temp. 37°C (rozmrażanie szybkie, właściwe dla metody dwustopniowej) oraz uniwersalny sposób wymywania środków osłaniających w osłonie disacharydu. Rozmrożono ogółem 7 probówek odzyskując 168 zarodków. Po rozmrożeniu i ocenie mikroskopowej zarodki hodowano w pożywce G2 (Vitrolife) w temp. 37°C w atmosferze 6% CO_2 i 6% O_2 przez okres 48 godz.

Po 24 godz. hodowli *in vitro* (Tabela) zdolność do rozwoju wykazały 34 zarodki (46,6%) a po 48 godz. 27 (37%) przy czym 5 z nich uzyskało stadium zaawansowanej blastocysty (wykluwającej się lub wyklułej z osłonki przejrystej).

Próba/zarodki	Odzyskane (n)	Żywe (n %)	Rozwinięte po 24 godz. (n %)	Rozwinięte po 48 godz. (n %)
I	24	21 (87,5)	13 (54,2)	7 (29,2)
II	25	22 (88,0)	11 (44,0)	9 (36,0)
III	24	20 (83,3)	10 (41,7)	11 (45,8)
Razem	73	63 (86,3)	34 (46,6)	27 (37,0)

Zarodki w 4 pozostałych próbkach, zamrożone najprawdopodobniej metodą klasyczną, ze względu na nieodpowiednią dla nich metodę rozmrażania nie przeżyły procedury i/lub nie rozwinęły się w hodowli.

Spośród prawidłowo rozmrożonych próbek uzyskano ponad 85% zarodków żywych i blisko 50% zarodków rozwijających się *in vitro*, co jest wynikiem zbliżonym do efektów uzyskiwanych w latach 80-tych (Rall i wsp. 1984, Reprod.). Tym samym odzyskano żywe zarodki, zdolne do rozwoju *in vitro* po 35-letnim okresie przechowywania w stanie zamrożonym. Jest to najdłuższy odnotowany w piśmiennictwie okres pomyślnego przechowywania zamrożonych zarodków ssaków.

Słowa kluczowe: zarodki myszy, zamrażanie, długotrwałe przechowywanie

Badanie finansowane ze środków własnych.

WPŁYW LAKTOFERYNY PODANEJ *IN OVO* NA POPULACJE LIMFOCYTÓW ŚLEDZIONY U KURCZĄT BROJLERÓW

M. Lis¹, M. Szczypka¹, M. Kuczkowski², A. Pawlak¹, A. Gawel², B. Obmińska-Mrukowicz¹

¹Katedra Farmakologii i Toksykologii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Laktoferyna jest endogenną glikoproteiną należącą do rodziny transferyn. Jest białkiem multipotencjalnym, wykazującym właściwości przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe. Uczestniczy również w utrzymaniu homeostazy żelaza. W badaniach wykazano także jej aktywność immunomodulującą, działanie przeciwzapalne oraz regulacyjny wpływ na procesy redox.

Laktoferyna bydlęca (w czystej postaci) została podana jednorazowo *in ovo* w 18 dniu inkubacji w dawkach 1, 10 lub 100 µg/jajo. Grupa kontrolna otrzymała sterylną sól fizjologiczną. Brojlery linii Cobb utrzymywano w standardowych warunkach na komercyjnej fermie drobiu w systemie ściółkowym i poddano standardowemu kalendarzowi szczepień. Określono wpływ laktoferyny u ptaków 1, 7, 14, 21, 28, 35 i 42-dniowych na odsetek limfocytów B (Bu-1a⁺) i T (CD3⁺) oraz subpopulacje limfocytów T (CD4⁺ i CD8⁺) w śledzeniu przy użyciu przeciwciał monoklonalnych metodą cytometrii przepływowej. Każda grupa liczyła 8 brojlerów. Dane opracowano statystycznie z zastosowaniem analizy jednoczynnikowej wariancji (ANOVA) oraz testu post hoc Tukeya.

Nie wykazano zmian populacji limfocytów u kurcząt 1-dniowych. U kurcząt w 7 dniu życia (we wszystkich trzech badanych dawkach) i 14 dniu życia (po dawce 10 i 1 µg), wykazano wzrost odsetka subpopulacji limfocytów CD4⁺, natomiast spadek komórek CD8⁺. U ptaków 21-dniowych po dawce 10 i 1 µg wykazano wzrost odsetka komórek CD3⁺ i CD4⁺. U ptaków 28, 35 i 42-dniowych, niezależnie od wielkości dawki, wykazano spadek odsetka limfocytów B oraz wzrost odsetka limfocytów T CD3⁺, w tym subpopulacji CD4⁺. Ponadto u 28 i 42-dniowych ptaków we wszystkich trzech dawkach stwierdzono wzrost odsetka komórek CD8⁺.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że po podaniu laktoferyny *in ovo* dochodzi do wzrostu odsetka limfocytów T, z równoczesnym spadkiem odsetka limfocytów B. Efekt ten jest widoczny w drugiej połowie cyklu produkcyjnego brojlerów (od 28 dnia życia).

Słowa kluczowe: laktoferyna, limfocyty, brojler

Badania współfinansowane ze środków Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich (nr umowy z ARiMR 00020.DDD.6509.00006.2018.04).

INTERAKCJE GOSPODARZ-PATOGEN W ŚWIETLE RÓŻNORODNOŚCI FIMBRII TYPU 1 PAŁECZEK *SALMONELLA*

K. Grzymajło

Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

W zależności od serowaru oraz infekowanego gospodarza, *Salmonella* może powodować choroby o innych symptomach klinicznych – od infekcji ograniczonej do układu pokarmowego, aż po zakażenia systemowe.

W złożonym procesie zakażenia pałeczkami *Salmonella* jego pierwsze etapy, adhezja do skutkująca w kolejnej fazie wnikaniem bakterii do wnętrza komórek gospodarza, wydają się być krytyczne dla przebiegu zakażenia. Jednym z najintensywniej badanych czynników odpowiedzialnych za adhezję pałeczek *Salmonella* są fimbrie typu 1, zaś drobne zmiany w strukturze adhezyny FimH znajdującej się na ich szczycie mogą wpływać na przebieg zakażenia.

Utworzono serię mutantów punktowych genu *fimH* w genomie modelowego szczepu *S. Typhimurium* SL1344 z wykorzystaniem systemu mutacji bezbliznowych. Mutanty poddano testom adhezyjnym i inwazyjnym z wykorzystaniem linii komórkowych enterocytów świni (IPEC-J2), myszy (MIEC), mysich makrofagów (RAW264.7) oraz makrofagów izolowanych ze szpiku kostnego myszy (BMDM). W dalszym etapie sprawdzono oddziaływanie z organoidami pochodzącymi z ludzkiego jelita cienkiego. Finalnie, przeprowadzono serię eksperymentów obejmujących dootrzewnowe jak i dożołądkowe zakażenia myszy 129SV/J wybranymi mutantami pałeczek *S. Typhimurium*. W trakcie oddziaływań mierzono poziom adhezji, inwazji, oraz poziom sekrecji cytokin.

Wykazano, że mutanty posiadające warianty „wysoko-adhezyjne” białka FimH wyraźnie lepiej infekują zarówno makrofagi jak i enterocyty (10-20 x, $p < 0,01$) w porównaniu do typu dzikiego. Wykazano istotne statystycznie różnice w poziomie sekrecji badanych cytokin pomiędzy pałeczkami *S. Typhimurium* typu dzikiego a mutantami. Zarówno mutant pozbawiony białka FimH, jak i ekspresjonujący jego nieaktywny wariant powodował niższą sekrecję IL-1 β , IL-6 oraz IL-10 ($P < 0,001$) w stosunku do typu dzikiego. Zakażenia myszy wykazały istotne różnice w zasiedlaniu organów wewnętrznych pomiędzy poszczególnymi mutantami, zarówno przy podaniu dootrzewnowym jak i dożołądkowym.

Podsumowując, uzyskane w ramach projektu wyniki pozwalają jednoznacznie stwierdzić istotną rolę fimbrii typu 1 w pierwszych etapach zakażenia, a także ich wpływ na odpowiedź immunologiczną gospodarza.

Słowa kluczowe: *Salmonella*, fimbrie typu 1, adhezja, inwazja, organoidy, myszy

Badania finansowane przez NCN: UMO-2020/38/E/NZ6/00182.

ZMIENNOŚĆ CECH METRYCZNYCH CZASZKI PSA DOMOWEGO W ZAKRESIE MORFOTYPÓW

M. Krawenda¹, E. Pasicka²

¹Katedra Biologii Eksperymentalnej, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Pracownia Archeozoologii i Muzeum Wzorcowe, Zakład Anatomii Zwierząt, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Zróznicowanie w morfologii czaszki psa związane jest z ukierunkowaną hodowlą nastawioną na pozyskanie i poprawę cech osobników konkretnej rasy oraz tworzenie nowych ras. Obecnie uznaje się ich ponad 350. Ze względu na dużą zmienność w morfologii czaszki psa domowego wykorzystuje się podział na trzy morfotypy. Wyróżnia się je zazwyczaj na podstawie stosunku długości trzewioczaszki do jej szerokości. W niniejszych badaniach sprawdzono czy pomiary kraniometryczne wykazują istotne statystycznie różnice pomiędzy morfotypami.

Wykonano 47 pomiarów na 59 czaszkach należących do 24 ras psa domowego zgodnie z metodyką von den Driesch (1976). Każdą rasę przypisano do morfotypu na podstawie sześciu wskaźników (indeks czaszkowy, indeks mózgowioczaszki, indeks twarzowy, indeks długość-szerokość 2, indeks długość-szerokość 4 oraz indeks długość-długość 2). Wartości uzyskane podczas pomiarów zostały porównane pomiędzy morfotypami przy pomocy ANOVA Kruskala-Wallisa. Dane liczbowe opracowano w pakiecie statystyczno-graficznym STATISTICA® 13 PL firmy StatSoft® Polska.

Najwyższą istotność różnic w średnich wartościach stwierdzono dla pomiaru długości pyska ($P < 0.0001$) pomiędzy psami długo- i krótkopyskimi oraz długo- i średniopyskimi. Wysoką istotnością różnic ($P < 0.001$) w przypadku psów długo- i krótkopyskich oraz długo- i średniopyskich charakteryzowały się pomiary długości trzewioczaszki, twarzy oraz największej długości kości nosowej. Taki sam poziom istotności statystycznej różnic wykazywał pomiar długości rzędu przedtrzonowców w przypadku psów długo- i średniopyskich. Pomiar długości czaszki, podniebienia oraz jego środka, długości rzędu zębów policzkowych, największej szerokości otworu wielkiego w przypadku psów długo- i krótkopyskich oraz pomiar długości rzędu zębów policzkowych i największej wysokości otworu wielkiego dla psów długo- i średniopyskich wykazywały istotność statystyczną różnic na poziomie $P < 0.01$. Istotne statystycznie różnice ($P < 0.05$) pomiędzy psami długo- i krótkopyskimi stwierdzono dla pomiarów długości kondylobazalnej i bazalnej, długości M^1 oraz najmniejszej szerokości czaszki za oczodołami. Wynika z tego, że pod względem statystycznym największą zmiennością morfologiczną charakteryzuje się część trzewna czaszki psa.

Słowa kluczowe: pies domowy, kraniometria, morfotyp, morfologia czaszki

ZRÓŻNICOWANIE INDEKSÓW POMIAROWYCH CZASZKI PSA DOMOWEGO W OBRĘBIE MORFOTYPÓW

M. Krawenda¹, E. Pasicka²

¹Katedra Biologii Eksperymentalnej, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Pracownia Archeozoologii i Muzeum Wzorcowe, Zakład Anatomii Zwierząt, Katedra Biostruktury i Fiziologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Pies cechuje się polimorfizmem eksterieru, który u tego gatunku najsilniej manifestuje się w obrębie głowy. Zmienność kształtu czaszki w przypadku ras psa domowego znacznie przewyższa tą występującą u dzikich psowatych. Dlatego podczas analiz kraniometrycznych dotyczących psa domowego często klasyfikuje się go do jednego z trzech morfotypów (dolichocefaliczne, mezaticefaliczne i brachycefaliczne). Podziału dokonuje się wykorzystując różne wskaźniki, najczęściej na podstawie stosunku długości podstawy czaszki do jej szerokości. Celem niniejszych badań było sprawdzenie statystycznej istotności różnic między wybranymi indeksami, obrazującymi pokrój głowy, występującymi pomiędzy morfotypami.

Materiał badawczy składał się z 59 czaszek należących do 24 ras psa domowego. Wykonano 47 pomiarów kraniometrycznych zgodnie z metodyką przedstawioną przez von den Driesch (1976). Wyznaczono 17 wybranych indeksów pomiarowych: indeks czaszkowy (Ic), indeks mózgowioczaski (Im), indeks twarzowy (It), indeks twarzowy 1 (It-1), indeks bazalny (Ib), indeks bazalny 1 (Ib-1), indeks podniebienny 1 i 2 (Ip-2), indeks podniebieno-bazalny (Ipb), indeks podniebieno-bazalny 1 (Ipb-1), indeks podniebieno-podniebienny (Ipp), indeks podniebieno-podniebienny 1 (Ipp-1), indeks mózgo-czaszkowo-twarzowy (Imt), indeks mózgo-czaszkowo-twarzowy 1 (Imt-1), indeks długość-długość 2 (Idd-2), indeks długość-szerokość 2 (Ids-2) i 4 (Ids-4). Na podstawie średnich wartości sześciu z nich dokonano klasyfikacji ras do odpowiedniego morfotypu. Wartości indeksów zostały przyrównane pomiędzy morfotypami przy użyciu ANOVA Kruskala-Wallisa. Dane liczbowe opracowano w pakiecie statystyczno-graficznym STATISTICA® 13 PL firmy StatSoft® Polska.

Wyniki analiz wskazują na statystycznie istotne różnice na poziomie co najmniej $P < 0.05$ w przypadku każdego z badanych indeksów, pomiędzy przynajmniej dwoma morfotypami. Najwięcej istotnych różnic ($P < 0.05$), bo aż 15 z 17 analizowanych indeksów, występowało pomiędzy psami długopyskimi a krótkopyskimi. Porównanie psów średniopyskich z długopyskimi wykazało brak istotnych różnic tylko w przypadku 3 (Ipb, Ipb-1, Ipp), a różnice pozostałych 14 indeksów były wysoce istotne. Obserwowane różnice pomiędzy psami mezaticefalicznymi a brachycefalicznymi okazały się nieistotne pod względem statystycznym.

Słowa kluczowe: pies domowy, morfotyp, indeksy pomiarowe

LOKALIZACJA KOMÓREK C W TARCZYCY U ŻUBRA (*BISON BONASUS*)

J. Sokołowska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Komórki C stanowią niewielki odsetek mięszu tarczycy. Wiele cech tych komórek jest swoista gatunkowo. Dotyczy to również położenia komórek C względem pęcherzyków tarczycy. W przypadku komórek C u żubra (*Bison bonasus*), dane z tego zakresu są nieliczne i opierają się wyłącznie o ocenę lokalizacji komórek C względem tyreocytów, bez jednoczesnego uwidocznienia błon podstawnych pęcherzyków tarczycy. Stąd, podjęto pracę mającą na celu uściślenie wiedzy z tego zakresu.

Do badań wykorzystano poprzeczne wycinki lewego płata tarczycy żubra pobrane w jego środkowej części od 10 osobników obu płci, w wieku od 3 miesięcy do 24 lat, pochodzących ze stada wolno żyjącego w Puszczy Białowieskiej. Materiał utrwalono w 10% zbuforowanej formalinie i poddano standardowej obróbce histologicznej. Celem jednoczesnego uwidocznienia komórek C i błon podstawnych pęcherzyków tarczycy, skrawki barwiono łączoną metodą (modyfikacja własna) obejmującą barwienie immunohistochemiczne (przeciwciało przeciwko kalcytoninie) i metodę PAS.

Przeważająca liczba komórek C u żubra zlokalizowana była w obrębie ścian pęcherzyków tarczycy, pomiędzy tyreocytami (lokalizacja śródpęcherzykowa). Komórki te pozostawały w kontakcie z błoną podstawną pęcherzyków, a niektóre z nich sięgały aż do szczytowej powierzchni tyreocytów. Nieliczne komórki C zlokalizowane były poza ścianą pęcherzyków, w tkance śródmięszowej. Komórki te przyjmowały dwojaką lokalizację: przypęcherzykową (komórki będące w kontakcie z zewnętrzną powierzchnią błony podstawnej pęcherzyków tarczycy) oraz międzypęcherzykową (komórki położone w tkance śródmięszowej bez bezpośredniego kontaktu ze ścianą pęcherzyka tarczycy). Komórki C położone przypęcherzykowo występowały pojedynczo, natomiast te zlokalizowane międzypęcherzykowo - pojedynczo lub w grupach składających się z 2-3 komórek. Komórki C znajdujące się poza pęcherzykami tarczycy, a zwłaszcza te o lokalizacji międzypęcherzykowej, często pozostawały w kontakcie z błoną podstawną naczyń krwionośnych włosowatych tarczycy.

Słowa kluczowe: błony podstawne, komórki C, tarczyca, żubr

UJŚCIA TĘTNIC WIEŃCOWYCH U KOZY DOMOWEJ

**K. Barszcz¹, O. Szaluś-Jordanow¹, K. Goździewska-Harłajczuk², J. Klećkowska-Nawrot²,
M. Mickiewicz¹, A. Moroz¹, G. Wyśiadecki³**

¹*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

²*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska*

³*Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź, Polska*

Powszechnie przyjmuje się, obecność dwóch naczyń zaopatrujących serce – tętnicy wieńcowej lewej i prawej. Wspomniane tętnice są silnie rozwinięte, co świadczy o bardzo dobrym unaczynieniu tego narządu. Krew odżywcza doprowadzana za pomocą tętnic wieńcowych zapewnia dostarczenie tlenu i składników odżywczych do ścian mięśnia sercowego, aorty i pnia płucnego. W literaturze z zakresu medycyny weterynaryjnej opisano różne odmiany związane z lokalizacją ujść zasadniczych naczyń wieńcowych jak również obecnością ujść dodatkowych.

Celem pracy było przedstawienie budowy ujść tętnic wieńcowych z uwzględnieniem zaobserwowanych odmian u kozy domowej.

Badania przeprowadzono u 29 kóz domowych ras polska barwna uszlachetniona i polska biała uszlachetniona. W celu uwidocznienia ujść tętnic wieńcowych z wyizolowanych serce odcinano aortę wstępującą nad spoidłami płatków zastawki aorty. Następnie przeprowadzano cięcie wzdłuż ściany aorty wstępującej pomiędzy płatkami półksiężycowatymi.

U wszystkich przebadanych kóz zastawka aorty zbudowana była z trzech płatków półksiężycowatych – lewego, prawego i przegrodowego. W zatokach aorty płatek półksiężycowatego lewego i prawego znajdowały się ujścia tętnic wieńcowych. Spośród 29 przebadanych osobników typową budowę ujść stwierdzono u 17 kóz (58,62%). Natomiast u pozostałych 12 (41,38%) odnotowano odmiany w budowie zasadniczych ujść bądź obecność dodatkowych ujść. W przypadku 2 kóz opisano brak wspólnego pnia tętnicy wieńcowej lewej. Liczne odmiany tętnicy wieńcowej prawej odnotowano u 10 osobników. Należy tu wymienić brak wspólnego pnia u 2 kóz oraz obecność dodatkowego ujścia w przypadku 8 osobników.

Słowa kluczowe: tętnice wieńcowe, serce, koza domowa

UNERWIENIE STAWU ŁOKCIOWEGO PSA

J. Jacewicz, B. Degórska, W. Sienkiewicz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Unerwienie stawu łokciowego psa zaopatrzone jest przez cztery nerwy: n.mięśniowo-skórny, n. pośrodkowy, n. promieniowy oraz n. łokciowy. Według Staszyka i Gassego (1999r) torebka stawu łokciowego wykazuje cechy unerwienia wielokrotnego, zmiennego, asymetrycznego i segmentowego. W literaturze weterynaryjnej niewiele jest publikacji analizujących przebieg wyżej wymienionych nerwów w kierunku torebki stawu łokciowego psa. Ponadto tylko kilka z nich zawiera informacje o odgałęzieniach dostawowych tychże nerwów. Brakuje zgodności co do anatomicznej lokalizacji odgałęzień poszczególnych nerwów w obrębie torebki stawowej oraz ich liczby. Brakuje również informacji o rodzaju i rozmieszczeniu receptorów czuciowych wokół torebki stawu.

Przeanalizowano artykuły dotyczące unerwienia stawu łokciowego przy pomocy przeglądarki pubmed, google scholar posługując się wyszukiwaniami w języku angielskim i polskim. Zakres przeszukiwań obejmował lata 1948-2021.

Celem niniejszego wystąpienia jest przedstawienie dostępnej dotychczasowej wiedzy dotyczącej unerwienia stawu łokciowego psa.

Słowa kluczowe: odgałęzienia dostawowe, torebka stawowa, staw łokciowy, nerw, ból

MIKROUNACZYNIENIE PĘCHERZA MOCZOWEGO ŚWINI

H. Jackowiak, E. Prozorowska, S. Godynicki

Pracownia Histologii i Embriologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Mikrounaczynienie czynnościowe pęcherza moczowego badano metodą naczyńiowych odlewów mikrokorozyjnych jedynie u gryzoni (mysz, szczur) lub zwierząt mięsożernych (kot, pies) oraz u człowieka. Obserwacje takich odlewów naczyńiowych w skaningowym mikroskopie elektronowym pozwala na precyzyjny opis przestrzennego układu sieci naczyńiowych w poszczególnych warstwach ściany pęcherza moczowego oraz wykazanie czynnościowych zmian układu naczyń krwionośnych podczas cyklicznych zmian objętości narządu.

Celem niniejszej pracy jest poznanie funkcjonalnej mikroangioarchitektury ściany pęcherza moczowego świni. Do badań mikroskopowych przygotowano preparaty histologiczne oraz próbki tkanek do SEM. Preparaty mikrokorozyjne śródściennego układu naczyńiowego wykonano po iniekcji naczyń krwionośnych żywicą syntetyczną Mercor. Próbki tkankowe po polimeryzacji żywicy w łożysku naczyńiowym poddano maceracji, oczyszczeniu, osuszeniu i napyłaniu złotem, oraz obserwowano w skaningowym mikroskopie elektronowym Zeiss 435VP.

Ściana pęcherza moczowego świni jest zaopatrzona w krew przez tętnice pęcherzowe doczaszkowe oraz tętnicę pęcherzową doogonową. Tętnice te, przebiegając na powierzchni ściany pęcherza moczowego, tworzą pary naczyńiowe z dużymi żyłami zbiorczymi. W ścianie pęcherza moczowego wyróżniono dwie sieci naczyńiowe: powierzchniową i śluzową. Tętniczki powierzchniowej sieci naczyńiowej przechodzą przez szeroką błonę mięśniową i docierają do błony śluzowej. W blaszce właściwej błony śluzowej, w obszarze podnabłonkowym obserwowano rozbudowane sieci włosowate oraz szerokie żyłki zbiorcze, tworzące sploty żyłne.

Podczas cyklicznych zmian objętości pęcherza moczowego świni, związanych z napętnianiem się i opróżnianiem pęcherza moczem, zaobserwowano zmiany kierunku przebiegu, zarówno głównych, powierzchniowych naczyń krwionośnych, jak również tętniczek i żyłek przechodzących przez blaszkę właściwą błony śluzowej.

Słowa kluczowe: mikrounaczynienie, pęcherz moczowy, naczyńiowe odlewy mikrokorozyjne, SEM

Badania finansowane z funduszu 506-539.04.00.

BADANIA MAKRO- I MIKROSKOPOWE JĘZYKA I BRODAWEK JĘZYKOWYCH U DZIKIEGO KRÓLIKA (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*)

B. Plewa¹, H. Jackowiak¹, M. Stanisław²

¹*Pracownia Histologii i Embriologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska*

²*Katedra Hodowli Zwierząt i Oceny Surowców, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska*

Rodzaj spożywanego pokarmu i sposób jego rozdrabniania w jamie ustnej definiują rozmieszczenie i mikrostrukturę brodawek językowych, typową dla danego gatunku zwierzęcia. Liczne badania przeprowadzone wśród różnych gatunkach ssaków wskazują, że nawet u blisko spokrewnionych zwierząt można zaobserwować istotne różnice w rozmieszczeniu, liczbie i mikrostrukturze brodawek językowych.

Celem badań mikro- i makroskopowych brodawek języka królika dzikiego było scharakteryzowanie cech strukturalnych tych brodawek w aspekcie wcześniejszych badań przeprowadzonych u królika domowego.

Jezyki królików dzikich odłowionych interwencyjnie, utrwalono w 10% formalinie. W celu przeprowadzenia badań brodawki językowe wypreparowano z wierzchołka, trzonu, wału i korzenia języka. Część prób przygotowano do obserwacji w skaningowym mikroskopie elektronowym, a pozostałe zatopiono w parafinie i krojono na mikrotomie w skrawki o grubości 5 µm. Wybarwione preparaty metodą Masson-Goldner udokumentowano pod mikroskopem świetlnym. Pomiary morfometryczne wykonano w programie komputerowym MultiScan (CSS Warszawa). Modele 3D brodawek smakowych wykonano z użyciem oprogramowania do wizualizacji i analizy danych 3D - AMIRA (Thermo Fisher Scientific).

Badania przeprowadzone na języku dzikiego królika wskazały na występowanie w błonie śluzowej mechanicznych brodawek nitkowatych oraz brodawek smakowych grzybowatych, okolonych i liściastych. Makroskopowo zaobserwowano znaczące zagęszczenie brodawek grzybowatych na brzusznej powierzchni wierzchołka języka, z kolei na podstawie analizy morfometrycznej ustalono zmiany wysokości i stopnia zrogowacenia nabłonka pokrywającego brodawki grzybowate względem otaczających ich brodawek nitkowatych. Na podstawie wykonanych po raz pierwszy wizualizacji 3D smakowych brodawek językowych scharakteryzowano kształt i strukturę ich trzonów łącznotkankowych oraz określono rozmieszczenie i liczbę kubków smakowych w tych brodawkach.

Pomimo bliskiego pokrewieństwa między królikiem hodowlanym i dzikim, zaobserwowano międzygatunkowe różnice zarówno w morfologii języka, jak również w morfometrii i mikrostrukturze brodawek językowych.

Słowa kluczowe: język, brodawki językowe, królik dziki, LM, SEM, 3D

Źródło finansowania: projekt działalności badawczej nr 506.539.04.00.

DYNAMIKA ROZWOJU JĘZYKA I BRODAWEK JĘZYKOWYCH GĘSI DOMOWEJ (*ANSER ANSER F. DOMESTICA*) W OKRESIE ZARODKOWYM

K. Skiersz-Szewczyk, H. Jackowiak

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Język gęsi domowej jest zbudowany z zaokrąglonego wierzchołka, wydłużonego trzonu, trójkątnej wyniosłości języka i korzenia. Cechami charakterystycznymi języka są bruzda pośrodkowa w części pośrodkowej trzonu i wyniosłości języka, 15 par brodawek stożkowatych na bocznych krawędziach trzonu języka oraz liczne brodawki nitkowate. Unikalną strukturą na powierzchni brzusznej wierzchołka jest rogowa płytka zwana paznokciem języka. Między wyniosłością a korzeniem występuje kolejne 10 brodawek stożkowatych.

Celem badań było wyznaczenie tempa rozwoju języka i brodawek językowych gęsi domowej oraz określenie gotowości struktur języka do pełnienia właściwych funkcji po wykluciu. Badania przeprowadzono na językach zarodków gęsi domowej od 9 do 25 dnia inkubacji przy użyciu technik LM i SEM.

Badania wykazały, że w 9 dniu inkubacji zawiązek języka jest trójkątny i zrośnięty z zawiązkiem dolnej części dzioba. Od 10 do 14 dnia następuje formowanie wierzchołka, trzonu i korzenia języka. W 15 dniu inkubacji zawiązek języka ulega elongacji, a tylna część trzonu wyrzusza się, tworząc zawiązek wyniosłości. W tym czasie na powierzchni trzonu powstaje bruzda pośrodkowa, która wydłuża się ku wierzchołkowi. Jako pierwsze rozwijają się brodawki stożkowate trzonu od 11 do 19 dnia. Ich rozwój rozpoczyna się od strony wyniosłości, a nowe zawiązki powstają obustronnie ku wierzchołkowi. W trakcie wzrostu i rozwoju brodawek stożkowatych trzonu następuje częściowa zmiana kierunku ich położenia z bocznego na doogonowy. Jako drugie rozwijają się brodawki stożkowate wyniosłości od 16 do 23 dnia. Pierwsze zawiązki powstają w części pośrodkowej wyniosłości, a kolejne powstają symetrycznie do boku wyniosłości. W trakcie badań nie obserwowano powstawania zawiązków brodawek nitkowatych, których rozwój następuje prawdopodobnie po wykluciu. Paznokieć języka zaczyna się tworzyć ok. 14 dnia inkubacji w wyniku transformacji nabłonka embrionalnego w nabłonek wielowarstwowy, który pod koniec inkubacji, w 24 dniu jest pokryty warstwą rogową.

Uzyskane wyniki pozwoliły określić, że język gęsi domowej w momencie wyklucia jest przystosowany jedynie do dziobania i skubania trawy. Filtracja pokarmu z wody jest ograniczona ze względu na brak brodawek nitkowatych.

Słowa kluczowe: zarodki, gęś domowa, język, brodawki językowe, paznokieć języka

Źródło finansowania: projekt działalności badawczej 506-539-04-00.

ZASKROŃCE ZWYCZAJNE JAKO ŻYWICIELE PARATENICZNI DLA PRZYWR *ALARIA ALATA*

A. Bełcik, W. Korpysa-Dzirba, E. Bilska-Zajac, M. Różycki, J. Dąbrowska,
M. Włodarczyk-Ramus, A. Gontarczyk, T. Cencek

Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Zaskrońce zwyczajne (*Natrix natrix*) są niejadowitymi węzami szeroko rozpowszechnionymi w krajach europejskich. W środowisku naturalnym zaskrońce są źródłem pożywienia dla wielu zwierząt, w tym dzików, dlatego mogą one być jednocześnie wektorem wielu patogenów. Węże te uczestniczą w cyklach życiowych nicieni, przywr i tasiemców, powodując pośrednie niebezpieczeństwo zarażenia odzwierzęcego u ludzi.

Celem badania było określenie występowania oraz molekularna charakterystyka przywr *A. alata* u zaskrońców zwyczajnych pozyskanych z obszarów, na których pasożyt ten występował również u dzików.

W badaniach wykorzystano 51 martwych węży zidentyfikowanych na podstawie cech morfologicznych jako zaskrońce zwyczajne, które znaleziono na 15 kilometrowym odcinku drogi na terenie Gostynińsko-Włocławskiego Parku Krajobrazowego. Węże zebrano w miesiącu październiku w 2018 i 2019 roku. Po uprzednim oskórowaniu i wypatroszeniu każdego węża pobierano tkankę mięśniową do badań pod kątem występowania mezocerkarii *A. alata* przy użyciu metody AMT oraz MSM. Do izolacji DNA z każdego węża pobierano od 1 do 5 pasożytów, a następnie izolowano materiał genetyczny przy użyciu zestawu DNA IQ (Promega, USA). W uzyskanym DNA amplifikowano części genu 18S rDNA oraz część mitochondrialnego genu COX1.

Wśród 51 przebadanych zaskrońców 99,5% było zarażonych przywrmi. Łącznie znaleziono 5178 przywr. W 7 próbkach wykryto niezidentyfikowane nicienie (0,1%), a w 6 zidentyfikowano tasiemce. Charakterystyka molekularna oparta na fragmentach sekwencji 18S rDNA i COX1 wykazała, że większość znalezionych przywr to *A. alata* (51 próbek), u 2 węży zaobserwowano również *Strigea falconis*, a w przypadku 5 węży nie udało się zidentyfikować gatunków znalezionych przywr. Na podstawie analizy sekwencji konsensusowych 18S rDNA badanych nicieni, 3 zidentyfikowano na poziomie rodzaju jako *Creosoma vulpis*, 2 sekwencje wykazywały 90% identyczność z *Crenosomidae* spp. i *Metasrtingylidae*. Pozostałe sekwencje wykazywały mniej niż 80% identyczności z różnymi sekwencjami nicieni zdeponowanymi w bazie danych GenBank.

Uzyskane wyniki wskazują, że zaskrońce zwyczajne są doskonałym wektorem *A. alata* i mogą być potencjalnym źródłem infekcji dla innych ssaków, m.in. dzików, lisów, co może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem alariozy u konsumentów spożywających surową lub niedogotowaną dziczyznę, zwłaszcza na terenach gdzie zaskrońce występują szczególnie często.

Słowa kluczowe: *Alaria alata*, *Strigea falconis*, *Creosoma vulpis*, *Crenosomidae* spp., *Metasrtingylidae*, zaskrońce zwyczajne, identyfikacja genetyczna

PROTEOMICZNA ANALIZA BIAŁEK WYDZIELNICZO-WYDALNICZYCH LARW III STADIUM *ANISAKIS SIMPLEX*

J. Dąbrowska, M. Kochanowski, M. Różycki, J. Karamon, J. Sroka, T. Cencek

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Larwy III stadium *Anisakis simplex* są pasożytniczymi nicieniami powszechnie występującymi w rybach morskich. Zjedzone przez człowieka żywe larwy np. w surowych produktach rybnych mogą być przyczyną choroby zwanej anisakiozą. Martwe larwy *A. simplex* mogą być także przyczyną reakcji alergicznych. Powszechnie wiadomi, iż białka wydzielniczo-wydalnicze pasożytów dogrywają istotną rolę w ich funkcjonowaniu. W przypadku *A. simplex* białka te nie były jak dotąd badane. Dlatego celem pracy była identyfikacja i analiza białek wydzielniczo-wydalniczych larw III stadium *A. simplex*.

Białka wydzielniczo-wydalnicze larw III stadium *A. simplex* badano metodą LC-MS/MS, korzystając ze spektrometru mas Q-Exactive. Zidentyfikowane sekwencje białek poddano analizie bioinformatycznej. Dodatkowo analizowano również profil SDS-PAGE białek sekretomu *Anisakis*.

Uzyskany profil SDS-PAGE potwierdził typowy dla białek wydzielniczo-wydalniczych *A. simplex* układ prążków w zakresie masy cząsteczkowej od 15 do 221 kDa. Za pomocą metody LC-MS/MS zidentyfikowano 158 białek. Określono także względną zawartość wykrytych białek i zaklasyfikowano je do 143 rodzin białek. Siedemdziesiąt dwa białka przyporządkowano do 6 klas enzymów: hydrolazy (25 białek), izomerazy (16 białek), oksydoreduktazy (13 białek), transferazy (10 białek), translokazy (4 białka), liazy (4 białka). Zidentyfikowano białka 44 szlaków KEGG, a wśród nich najliczniej reprezentowane były następujące szlaki: szlaki metaboliczne (21 białek), metabolizm węgla (15 białek), metabolizm karboksylanów i dikarboksylanów (7 białek). Wykryto 9 białek istotnych dla patogenności, z czego większość stanowią chaperony. Wykryto także 1 alergen - Ani s 4 oraz 18 potencjalnych alergenów – głównie homologów alergenów nicieni i stawonogów. Zidentyfikowano 18 białek *A. simplex* oraz 28 białek ludzki i 5 zwierzęcych potencjalnie uczestniczących w interakcji żywiciel-pasożyt. Największą liczbę interakcji białek *A. simplex* wykryto z białkiem ludzkim - poliubikwityna-C.

Przeprowadzone badania pozwoliły na pierwszą identyfikację i scharakteryzowanie białek wydzielniczo-wydalniczych *Anisakis*. Na podstawie wyników analiz można stwierdzić, że białka te odgrywają kluczową rolę w życiu, rozwoju pasożyta, patogenезie choroby i interakcji żywiciel-pasożyt. Zidentyfikowane białka mogą okazać się w przyszłości celem terapeutycznym dla nowych leków oraz szczepionek.

Słowa kluczowe: *Anisakis simplex*, białka wydzielniczo-wydalnicze, proteomika

PORÓWNANIE CZTERECH KOMERCYJNYCH ZESTAWÓW DO IZOLACJI DNA *TRITRICHOMONAS FOETUS* Z KAŁU KOTÓW ZA POMOCĄ DWÓCH METOD MOLEKULARNYCH

J. Dąbrowska, J. Karamon, M. Kochanowski, J. Sroka, T. Cencek

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Tritrichomonas foetus jest pasożytniczym pierwotniakiem wywołującym rzęsistkowicę kotów, będącą skutkiem zapalenia jelita grubego. Choroba ta objawia się przewlekłymi, trudnymi w leczeniu biegunkami. Jednakże ze względu na małą specyficzność bardzo trudno jest zdiagnozować rzęsistkowicę tylko na podstawie objawów klinicznych. Dlatego też do identyfikacji *Tritrichomonas foetus* obecnie stosowane są testy molekularne.

Ze względu na możliwość występowania patogenów układu pokarmowego w kale, stanowi on doskonały materiał do molekularnej diagnostyki chorób zakaźnych, w tym rzęsistkowicy kotów. Ekstrakcja DNA z kału nie jest jednak pozbawiona trudności ze względu na obecność inhibitorów, które mogą hamować reakcję PCR. W niniejszym badaniu porównano 4 dostępne komercyjne zestawy do izolacji i oczyszczania DNA pod kątem ich wpływu na czułość PCR wg Feleisein oraz testu własnego LAMP do identyfikacji *Tritrichomonas foetus* w kale kotów.

Materiał do badań stanowiły komórki *T. foetus* namnażane na pożywce Diamonda, które liczono przy użyciu komory Neubauer'a. W celu oceny skuteczności metod izolacji, przygotowano próbki kału pochodzącego od zdrowego klinicznie kota wzbogacano odpowiednią liczbą komórek pierwotniaka (serie rozcieńczeń odpowiadały liczbie 10000, 1000, 100, 10, 1 oraz 0.1 komórek *T. foetus* w próbce, każdy wariant w 6-ciu powtórzeniach).

DNA *T. foetus* z kału ekstrahowano przy użyciu: QIAamp DNA Stool Mini kit (Qiagen, Valencia, CA.), UltraClean Fecal DNA Kit (50 reakcji) (firma: Mo-Bio Laboratories), Sherlock AX / 100 izolacji (firma: A&A Biotechnology), ZR Fecal DNA MiniPrep (50 reakcji) (firma: Zymo Research).

Przy użyciu testu PCR wg Felleisen umożliwiającego amplifikację fragmentu 5.8S rRNA, ITS1 i ITS2 a także metody własnej LAMP z zastosowaniem starterów komplementarnych do sekwencji genu kodującego β -tubulinę oceniano skuteczność w/w zestawów do izolacji. W celu oceny inhibicji obu reakcji PCR zastosowano kontrolę wewnętrzną poprzez dwukrotne badanie każdego wariantu próbki, gdzie do jednej z powtarzanych prób dodawano DNA *T. foetus*.

ZR Fecal DNA MiniPrep został zidentyfikowany jako zapewniający największą czułość analityczną gdzie za jego pomocą możliwe było wykrycie 1 komórki *T. foetus* na 150 mg kału w 100% reakcji PCR wg Felleisen i w teście LAMP. Ponadto, zidentyfikowana metoda ekstrakcji mogła być wykonana w najkrótszym czasie spośród wszystkich testowanych zestawów.

Słowa kluczowe: *Tritrichomonas foetus*, izolacja DNA, metody diagnostyczne, identyfikacja genetyczna

CEBRANOPADOL, NOWATORSKI LEK PRZECIWBÓLOWY W MEDYCYNIE WETERYNARYJNEJ?

B. Łebkowska-Wieruszewska¹, M. Gbylik-Sikorska², A. Gajda², I. Sartini³, A. Lisowski⁴, A. Poapolathep⁵, M. Giorgi⁶

¹Katedra Farmakologii, Toksykologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska,

²Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

³Department of Veterinary Medicine, University of Sassari, Włochy

⁴Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

⁵Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University in Bangkok, Tajlandia

⁶Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, Włochy

Cebranopadol jest nowym, działającym ośrodkowo, silnym, pierwszym w swojej klasie kandydatem na lek przeciwbólowy o unikalnym mechanizmie działania, gdyż jest zarówno agonistą receptora nocyceptyny/orfaniny FQ jak i receptorów opioidowych.

Niniejsze badanie miało na celu opracowanie i walidację nowej metody UHPLC-MS/MS do ilościowego oznaczania cebranopadolu w osoczu królika oraz oceny jego farmakokinetyki u tego gatunku po podaniu podskórnym (s.c.).

Dwunastu dorosłym samicom królika rasy Olbrzym Belgijski podano cebranopadol podskórnym, jednorazowo, w dawce 200 µg/kg m.c. Próbkę krwi pobrano po 15, 30 i 45 minutach oraz 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 10 i 24 godzinach po podaniu leku. Próbkę osocza wyekstrahowano metodą ekstrakcji ciecz/ciecz.

Nowa metoda analityczna była zgodna z wymogami EMA dotyczącymi walidacji metod bioanalitycznych. Metoda była selektywna, powtarzalna, dokładna i precyzyjna z dolną granicą oznaczalności 0,1 ng/ml. U wszystkich królików cebranopadol był oznaczalny ilościowo od 0,25 do 10 godz. Średnie C_{max} i T_{max} wyniosły odpowiednio 871 ng/ml i 0,25 godz.

Dalsze badania, w tym podanie dożylnie jest konieczne, aby w pełni ocenić właściwości farmakokinetyczne tego nowego związku aktywnego.

Słowa kluczowe: cebranopadol, opioid, królik, podanie podskórne, farmakokinetyka

IDENTYFIKACJA PEPTYDÓW O AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ W EKSTRAKTACH POZYSKANYCH Z KARACZANA MADAGASKARSKIEGO (*GROMPHADORHINA PORTENTOSA*)

A. Józefiak¹, B. Kierończyk²

¹Katedra Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

²Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

W dzisiejszych czasach oporność na antybiotyki stanowi bardzo duży problem, zarówno w medycynie, weterynarii oraz przemyśle rolniczym. Stawia to przed naukowcami duże wyzwanie mające na celu poszukiwanie, nowych alternatywnych substancji przeciwdrobnoustrojowych. Duże nadzieje pokłada się w peptydach przeciwbakteryjnych (ang. *antimicrobial peptides* – AMP), których największym źródłem są owady. AMP są małymi peptydami kationowymi, wykazującymi aktywność przeciwdrobnoustrojową, nie przyczyniając się do wzrostu oporności.

Izolacja białek nastąpiła przy wykorzystaniu buforu do ekstrakcji białek wraz z dodatkiem 0,2 M siarczanu amonu. Frakcjonowanie białek wykonano przy wykorzystaniu różnych stężeń schłodzonego acetonu: 10% aceton, 20% aceton, 30% aceton, 50% aceton i 80% aceton. Frakcje białek z owadów, które wykazywały aktywność mikrobiologiczną zostały rozdzielone w 18% żelu poliakrylamidowym niedenaturującym. Rozdział elektroforetyczny przeprowadzono w buforze do elektroforezy białek (TGS), przy napięciu 120V. Rozdział przebiegał wykorzystując zestaw do elektroforezy wertykalnej formy Bio-Rad, Mini-PROTEAN. Identyfikację peptydów przeprowadzono z zastosowaniem spektrometrii mas. Badaniu poddano ekstrakty (50% aceton) wykazujące najwyższą aktywność antybakteryjną względem badanych bakterii. Porównanie mas peptydów i ich sekwencji aminokwasowych z bazą danych: NCBIprot 20170307 (115,488,495 sequences; 42,334,050,411 residues), taksonomia: *Metazoa* (zwierzęta) (13,299,211 sequences) oraz z The Antimicrobial Peptide Database.

W badanych ekstraktach białkowych zidentyfikowano następujące peptydy o działaniu przeciwdrobnoustrojowym: eskulentyna, buforyna I, ponerycyna, oksyopinina i proliksyna. Peptydy te posiadają masę odpowiednio: 5047 Da, 4260 Da, 2599 Da, 1050 Da oraz 11 000 Da i wykazują aktywność przeciwbakteryjną względem bakterii (Gram-dodatnie i Gram-ujemne). Ocenę aktywności przeciwbakteryjnej przeprowadzono z zastosowaniem metody krążkowo-dyfuzyjnej.

Uzyskane wyniki pozwoliły na wstępną identyfikację AMP u karaczana madagaskarskiego, jednak wymagają dalszej weryfikacji z zastosowaniem techniki spektrometrii mas oraz metod biologii molekularnej opartych na analizie DNA oraz RNA badanych owadów.

Słowa kluczowe: AMP, peptydy przeciwbakteryjne, karaczan madagaskarski

WPLÝW JEDNORAZOWEGO PODANIA GLIFOSATU NA WYBRANE WSKAŹNIKI BIOCHEMICZNE ORAZ PARAMETRY ENZYMATYCZNEJ OBRONY ANTYOKSYDACYJNEJ W ORGANIZMIE SZCZURA

D. Barski, A. Spodniewska

Katedra Farmakologii i Toksykologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Celem badań było określenie wpływu pojedynczej intoksykacji glifosatem (herbicydem fosforoorganicznym) w dawkach 0.2 LD₅₀ i 0.04 LD₅₀ na wybrane wskaźniki biochemiczne i parametry enzymatycznej obrony antyoksydacyjnej.

Badania prowadzone były na szczurach (samcach) szczepu Wistar o wyjściowej masie ciała 180±10 g. Wydzielono 2 grupy doświadczalne zwierząt (I-II) oraz grupę kontrolną (K) po 30 sztuk w każdej. Do badań użyto soli potasowej glifosatu w postaci preparatu Roundup®Flex 480 (zawierającego 35,75% glifosatu potasu).

Szczurom z grupy I podawano sondą dożołądkowo glifosat w jednorazowej dawce 0.2 LD₅₀ (1000 mg/kg m.c.), zaś zwierzętom z grupy II w jednorazowej dawce 0.04 LD₅₀ (200 mg/kg m.c.). W wytypowanych okresach po intoksykacji (tj. po 3, 6, 24 godzinach oraz 3 i 7 dniach), szczury usypiano za pomocą pentobarbitalu sodowego, a następnie pobierano krew z serca do badań biochemicznych. W surowicy oznaczano: aktywność aminotransferaz: alaninowej (ALT) i asparaginianowej (AST), natomiast we krwi: aktywność acetylocholinoesterazy (AChE), dysmutazy ponadtlencowej (SOD), katalazy (CAT) oraz peroksydazy glutationowej (GPx).

Wzrost aktywności aminotransferaz alaninowej (ALT) i asparaginianowej (AST) w surowicy w stosunku do kontroli, obserwowano we wszystkich badanych przedziałach czasowych. Po zastosowaniu wyższej dawki glifosatu (0.2 LD₅₀) zmiany były silniej wyrażone. Największy wzrost w porównaniu z kontrolą wystąpił po 6 godzinie.

Podwyższoną w stosunku do kontroli aktywność acetylocholinoesterazy (AChE) we krwi odnotowano po dawce 0.04 LD₅₀, czego nie obserwowano po dawce wyższej.

Aktywność poszczególnych enzymów antyoksydacyjnych kształtowała się różnie i była uzależniona od dawki herbicydu i okresu badań. Wzrost aktywności obserwowano w przypadku katalazy (CAT) i peroksydazy glutationowej (GPx), natomiast spadek w odniesieniu do dysmutazy ponadtlencowej (SOD). Największe nasilenie zmian stwierdzano w ciągu pierwszych 24 godzin od narażenia na dawkę 0.2 LD₅₀ glifosatu.

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że glifosat w zastosowanych dawkach powodował zmiany w analizowanych parametrach enzymatycznych u szczurów, szczególnie po dawce wyższej tj. 0.2 LD₅₀. Wyniki badań dotyczące aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPx) mogą wskazywać na prooksydacyjne działanie glifosatu.

Słowa kluczowe: glifosat, szczur, wskaźniki biochemiczne, parametry enzymatycznej obrony antyoksydacyjnej

WPŁYW DIETY WZBOGAZONEJ OLEJEM Z ŁOSOSIA NA PROFIL WYDZIELNICZY TKANKI TŁUSZCZOWEJ SZCZURÓW

A. Prostek, J. Wilczak, B. Bałasińska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Tkanka tłuszczowa jest narządem wydzielniczym wpływającym na funkcjonowanie całego organizmu poprzez sekrecję licznych substancji bioaktywnych nazywanych adipokinami. Zaburzenia funkcji wydzielniczej tkanki tłuszczowej które najczęściej towarzyszą otyłości mogą być jedną z głównych przyczyn rozwoju insulinooporności i w efekcie cukrzycy typu 2. Chroniczny stan zapalny rozwijający się na skutek wzrostu wydzielania prozapalnych i spadku wydzielania przeciwzapalnych adipokin może stanowić jeden z patomechanizmów chorób o podłożu zapalnym, takich jak np. reumatoidalne zapalenie stawów czy atopowe zapalenie skóry. Badania wykazały, że wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny n-3 (WKT n-3) których bogatym źródłem jest tłuszcz ryb morskich mają działanie ochronne w wielu typach przewlekłych stanów zapalnych, takich jak: astma, choroba Crohna czy łuszczyca. Działanie przeciwzapalne WKT n-3 jest związane z ich zdolnością do zmniejszania produkcji prozapalnych eikozanoidów i cytokin. Dlatego też celem prezentowanego doświadczenia była ocena wpływu długotrwałej suplementacji diety szczurów olejem z łososia na wydzielanie pro- i przeciwzapalnych adipokin przez tkankę tłuszczową.

Doświadczenie przeprowadzone zostało na szczurach szczepu Sprague – Dawley, które żywione były dietami izoenergetycznymi o różnym składzie kwasów tłuszczowych przez okres dwunastu miesięcy. Grupa kontrolna otrzymywała dietę standardową (kwasy nasycone, nienasycone pochodzące z oleju roślinnego), natomiast zwierzęta z grupy badanej otrzymywały w diecie tłuszcz z łososia (WKT n-3). Stężenie wybranych adipokin oznaczono w homogenatach tkanki tłuszczowej metodą ELISA.

Wykonane analizy wykazały, iż zastosowana pasza eksperymentalna spowodowała znaczny spadek zawartości adipokin prozapalnych (IL6, TNF alfa, IL10) oraz istotny wzrost ilości adipokin przeciwzapalnych (adiponektyna, IL12) w homogenacie tkanki tłuszczowej w porównaniu z grupą kontrolną nie otrzymującą dodatku oleju z łososia.

Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, iż zawarte w oleju z łososia WKT n-3 mogą wpływać w korzystny sposób na profil wydzielniczy tkanki tłuszczowej szczurów. Zaobserwowane w doświadczeniu zmiany czyli, zmniejszona ilość prozapalnych i zwiększona zawartość adipokin przeciwzapalnych w tkance tłuszczowej zwierząt mogą mieć działanie prewencyjne w stosunku do rozwoju przewlekłego stanu zapalnego w obrębie tej tkanki.

Słowa kluczowe: tkanka tłuszczowa, adipokiny, wielonienasycone kwasy tłuszczowe n-3

WPŁYW NASYCONYCH ORAZ NIENASYCONYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH NA AKTYWNOŚĆ PROCESU AUTOFAGII W HIPERTROFICZNYCH KOMÓRKACH TŁUSZCZOWYCH MYSZY

K. Ciesielska, A. Prostek, M. Gajewska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Autofagia jest wewnątrzkomórkowym procesem degradacji z udziałem lizosomów. Pomaga w utrzymaniu homeostazy oraz uczestniczy w wielu fizjologicznych procesach komórkowych. Badania ostatnich lat wskazują na istotną rolę autofagii w rozwoju oraz funkcjonowaniu tkanki tłuszczowej. Udowodniono, że geny zaangażowane w regulację autofagii odpowiadają również za adipogenezę. Ponadto zaobserwowano zwiększoną aktywność autofagiczną w tkance tłuszczowej osobników otyłych, jednak rola nasilenia autofagii w hipertroficznych adipocytach nie została wyjaśniona.

Mysie komórki preadipocytarne linii 3T3-L1 poddawano procesowi różnicowania przez 6 dni w pożywkę DMEM z dodatkiem 10% FBS oraz czynników adipogennych. Dojrzałe komórki tłuszczowe traktowano pożywką wzbogaconą o kwas palmitynowy (PA, 0.5 mM) przez 6 kolejnych dni w celu indukcji hipertrofii. Hipertroficzne adipocyty inkubowano następnie przez 48 godzin w pożywkę DMEM+10%FBS suplementowanej różnymi kwasami tłuszczowymi (FA): PA (0.5 mM), laurynowym (LA, 0.5 mM), oleinowym (OA, 0.5 mM), eikozapentaenowego (EPA, 0.1 mM) oraz dokozaheksaenowego (DHA, 0.1 mM). Adipocyty hodowane w pożywkę niesuplementowanej (HC) oraz komórki tłuszczowe inkubowane w pożywkę z dodatkiem chlorochiny (25 μ M) (HC+ChQ) stanowiły grupy kontrolne. Po zakończeniu doświadczenia z komórek wyizolowano białko i wykonano analizę poziomu białek autofagicznych: bekliny1, LC3 oraz p62 metodą Western-blot.

Otrzymane wyniki wykazały podwyższony poziom białka LC3-II w adipocytach traktowanych kwasami EPA oraz DHA, w porównaniu do grupy kontrolnej HC oraz pozostałych grup doświadczalnych. W komórkach tłuszczowych poddanych działaniu EPA i DHA odnotowano też niższy poziom białka p62 w porównaniu do grup kontrolnych (HC i HC+ChQ) oraz innych grup doświadczalnych. Nie zauważono istotnego wpływu FA na ekspresję bekliny1. Otrzymane wyniki wskazują, że wielonienasycone kwasy tłuszczowe: EPA oraz DHA wpływają na nasilenie procesu autofagii w hipertroficznych adipocytach, co może być korzystne dla komórek tłuszczowych ze względu na udział autofagii w utrzymaniu homeostazy komórkowej. Pozostałe FA użyte w doświadczeniu nie wykazały jednoznacznego wpływu na proces aktywacji autofagii w hipertroficznych komórkach tłuszczowych.

Słowa kluczowe: autofagia, adipocyty, kwasy tłuszczowe, otyłość

Badania finansowane przez NCN, nr projektu: 2018/31/B/NZ9/00658.

STĘŻENIA KANNABIDIOLU I JEGO METABOLITÓW PO PODANIU POJEDYNCZEJ DAWKI OLEJU CBD U SŁONIA AFRYKAŃSKIEGO I NOSOROŻCA INDYJSKIEGO – BADANIA WSTĘPNE

A. Gralak¹, A. Cywińska¹, A. Czujkowska², M. Gałązka¹, K. Kowalski³, M. Książkiewicz⁴

¹*Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

²*Miejski Ogród Zoologiczny w Warszawie, Warszawa, Polska*

³*Laboratorium Masdiag, Warszawa, Polska*

⁴*Satiwell, Poznań, Polska*

Dostępność kannabidiolu (CBD) na rynku stale rośnie, a doniesienia o jego działaniu farmakologicznym wzbudzają duże zainteresowanie lekarzy weterynarii i właścicieli zwierząt. W istniejącej literaturze naukowej można odnaleźć wiele doniesień dotyczących stosowania tego związku u zwierząt domowych, jednakże brak jest danych na temat podawania go u zwierząt nieudomowionych. Celem badania było określenie stężenia CBD oraz jego metabolitów po jednorazowym podaniu oleju CBD u słonia afrykańskiego i nosorożca indyjskiego.

Samica słonia afrykańskiego otrzymała jednorazowo CBD (Satiwell) w dawce 0,5 mg/kg w postaci 30 % oleju doustnie (całkowita dawka 1500 mg/słonia). Krew została pobrana do probówek z antykoagulantem (fluorek sodu) przed podaniem oleju oraz 1, 4, 8 oraz 12 godzin po podaniu. U nosorożca indyjskiego podano jednorazowo olej CBD (Dobre Konopie) w dawce 0,5 mg/kg (całkowita dawka 1000 mg/zwierzę). Krew pobrano do probówek z antykoagulantem (fluorek sodu) 6 i 12 godzin po podaniu produktu. Wykonano oznaczenia CBD oraz jego metabolitów (CBDA, 7-COOH-CBD oraz 7-OH-CBD) we krwi pełnej.

Stężenia metabolitów u słonia afrykańskiego, w każdym momencie badania wyniosły <0,1 ng/ml. Stężenie CBD wynosiło 0,19 ng/ml, 0,38 ng/ml, 0,23 ng/ml oraz 0,16 ng/ml po odpowiednio 1, 4, 8 i 12 godzinach od podania. Stężenia CBDA, 7-COOH-CBD oraz 7-OH-CBD we krwi nosorożca indyjskiego wyniosły ≤ 0,1 ng/ml 6 godzin po podaniu oleju oraz odpowiednio 1,4 ng/ml, 2,3 ng/ml oraz <0,1 ng/ml 12 godzin po podaniu. Stężenie CBD po 6 i 12 godzinach wynosiło <0,1 ng/ml i 0,4 ng/ml.

U nosorożca stwierdzono wzrost stężenia CBDA i 7-COOH-CBD po 12 h od podania oleju, podczas gdy u słonia poziom tych metabolitów utrzymywał się na stałym poziomie - poniżej 0,1 ng/ml. Niskie stężenia metabolitów mogą odzwierciedlać niskie stężenia CBD we krwi. Stężenie kannabidiolu odnotowane po 12 godzinach od podania oleju CBD było niższe u słonia niż u nosorożca. Na podstawie prezentowanych wyników można przypuszczać, że wchłanianie CBD u słonia afrykańskiego jest ograniczone, a zastosowana dawka może nie mieć efektów terapeutycznych. Konieczne jest wykonanie dokładniejszych pomiarów z zakresu farmakokinetyki tej substancji u obu tych gatunków. Na podstawie przedstawionych pomiarów stężenia CBD i jego metabolitów u nosorożca indyjskiego niemożliwe jest dokonanie analizy farmakokinetycznej CBD u tego gatunku.

Słowa kluczowe: kannabidiol, słoń afrykański, farmakokinetyka, nosorożec indyjski

WPŁYW RASY I TYPU UŻYTKOWEGO KUR NA EKSPRESJĘ IRYZYNY W MIĘŚNIACH

E. Małek¹, N. Leciejewska², A. Łukomska¹, E. Pruszyńska-Oszmałek², M. Sassek², K. Mielnik², S. Kaczmarek³, M. Hejdysz⁴, P. Kołodziejwski²

¹Pracownia Patomorfologii Zwierząt/Katedra Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

²Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

³Katedra Żywienia Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

⁴Katedra Hodowli Zwierząt i Oceny Surowców, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Iryzyna to adipomiokina, będąca fragmentem domeny zewnątrzkomórkowej białka FNDC5. Została odkryta stosunkowo niedawno, w 2012 roku przez zespół Bostrom i wsp. Obecna wiedza dotycząca tego peptydu wskazuje na jego udział w przekazywaniu sygnału pomiędzy tkanką tłuszczową, a mięśniową. Ponadto wykazano, że iryzyna jest zaangażowana w regulowanie gospodarki energetycznej organizmu poprzez wpływ na metabolizm lipidów w mięśniach i tkance tłuszczowej. Udowodniono również, że stymuluje wydzielanie insuliny z trzustki gryzoni. Do tej pory badania nad iryzyną skupiały się głównie na określeniu jej funkcji w metabolizmie ssaków, podczas gdy niewiele wiadomo o jej roli jaką pełni w regulacji przemian w organizmie ptaków.

Wykorzystując materiał pobrany poubojowo od zróżnicowanych pod względem użytkowania ras kur, takich jak: zielononóżka, Sussex, Marans, Leghorn, Fawerola, Brakla, Aracuana, Włoszka zdecydowano się określić różnice w ekspresji iryzyny u w/w ras ptaków, które z uwagi na typ użytkowy charakteryzują się zmiennym metabolizmem. W badaniu wykorzystano techniki biologii molekularnej: Real Time PCR, Western blot oraz immunofluorescencję do opisu zmian ilościowych w ekspresji iryzyny na poziomie mRNA oraz dojrzałego białka w mięśniach szkieletowych tych zwierząt.

W badaniu wykazano istotne statystycznie różnice pomiędzy typem nieśnym, a ogólnoużytkowym, jak również pomiędzy poszczególnymi rasami kur.

Iryzyna jest wciąż słabo poznanym związkiem, który do tej pory badany był m.in. jako modulator metabolizmu i struktury mięśni szkieletowych. Poszerzenie wiedzy w zakresie działania iryzyny u drobiu wydaje się być istotne nie tylko w kontekście nauk podstawowych ale również może pomóc w zrozumieniu zależności metabolicznych organizmu ptaków, co przekłada się na skuteczność leczenia schorzeń występujących w tej grupie zwierząt.

Słowa kluczowe: iryzyna, drób, metabolizm

PRÓBA ZAHAMOWANIA PRENYLACJI BIAŁKA RAB9 W KOMÓRKACH RAKA TRZUSTKI I OCENA JEJ WPŁYWU NA PROCES MAKROAUTOFAGII

K. Urbańska, A. Orzechowski

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Białko RAB9 należy do nadrodziny małych monomerycznych GTPaz. Jest ono ważnym regulatorem transportu wewnątrzkomórkowego, a także uczestniczy w szlakach przekazywania sygnału i autofagii. Ponadto, wyniki badań wskazują na udział tego białka w progresji nowotworowej. Aby RAB9 mogło pełnić swoje funkcje, musi zakotwiczyć się w błonie biologicznej. Możliwe jest to dzięki prenylacji (t.j. przyłączeniu grup geranylgeranylowych). Biorąc pod uwagę funkcje pełnione przez RAB9, zahamowanie tej modyfikacji potranslacyjnej przy użyciu inhibitora mogłoby być korzystne z punktu widzenia terapii przeciwnowotworowej.

Komórki KP-4 raka trzustki: nietransferowane – NTC oraz z knock-outem genów regulujących ścieżkę klasyczną makroautofagii, oznaczone odpowiednio *ATG5^{-/-}* i *ATG7^{-/-}*, hodowano w standardowych warunkach, w suplementowanej pożywce wzrostowej (GM). Na 24h przed podaniem inhibitora prenylacji (GGTI-2133) GM zastępowano pożywką wzbogaconą 2% BSA, a następnie podawano inhibitor (20 μ M, 24h) lub sam rozcieńczalnik (DMSO). Z powodu braku dostępności przeciwciał skierowanych przeciwko prenylowanej/nieprenylowanej formie RAB9, wpływ GGTI-2133 oceniano wykorzystując zmodyfikowany protokół izolacji formy nieprenylowanej białek (doi: 10.21769/BioProtoc.1139) i przeprowadzając analizę Western blot. Oceny arbitralnego wskaźnika autofagii (AAU) dokonywano za pomocą testów MTT, CV i NR.

Użycie GGTI-2133 spowodowało wzrost nieprenylowanej formy białka RAB9 w komórkach KP-4 *ATG7^{-/-}* (GGTI-2133 vs. 0,1% DMSO, 2% DMSO), natomiast w komórkach KP4 *ATG5^{-/-}* i KP-4 NTC tylko w porównaniu z 0,1% DMSO. Inhibitor nie wpłynął na zmianę wskaźnika AAU w żadnym z badanych typów komórek, ale spowodował obniżenie przeżycia komórek KP-4 NTC. Trudno zatem jednoznacznie rozstrzygnąć jakie znaczenie ma prenylacja RAB9 w klasycznej makroautofagii (jak wskazują na to wyniki testu MTT) oraz jakie konsekwencje, dla ścieżki alternatywnej, ma jej zahamowanie. Ponadto, biorąc pod uwagę trudności i różne efekty próby zahamowania prenylacji RAB9 przy użyciu GGTI-2133 a także, w przypadku komórek transefowanych, brak różnic w testach *in vitro* pomiędzy grupą kontrolną, a poddaną działaniu inhibitora, kolejnym etapem pracy wydaje się być poszukiwanie innych szlaków lub inhibitorów prenylacji RAB9.

Słowa kluczowe: rak trzustki, makroautofagia, prenylacja, RAB9

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2018/02/X/NZ5/02560 (Miniatura 2) finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

STABILNY POZIOM EKSPRESJI KATEPSYN CYSTEINOWYCH W CDC1 ORAZ CDC2 U WRAŻLIWYCH I OPORNÝCH SZCZEPÓW MYSZY WE WCZESNYM ETAPIE ZAKAŻENIA WIRUSEM EKTROMELII

Z. Biernacka¹, J. Struzik¹, M. Gieryńska¹, M. Koper², F. N. Toka^{1,3}, L. Szulc-Dąbrowska¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Uniwersytet Warszawski, Warszawa, Polska

³Ross University School of Veterinary Medicine, Basseterre, St. Kitts and Nevis

Katepsyny (Cts) cysteinowe to enzymy, które regulują wiele procesów w różnych typach komórek, m.in. w komórkach układu odpornościowego, takich jak konwencjonalne komórki dendrytyczne (cDC). W cDC katepsyny kontrolują zarówno wrodzone, jak i adaptacyjne funkcje odpornościowe, umożliwiając tym komórkom pełnienie kluczowej roli w stymulacji swoistej odpowiedzi immunologicznej. Wirus ektromelii (ECTV) jest pokswirusem o wąskim zakresie gospodarzy (mysz), mogący produktywnie namnażać się w cDC w warunkach *in vitro*, czemu towarzyszy spadek ekspresji katepsyn B, L i S, a niedobór tych białek zwiększa tempo replikacji ECTV w tych komórkach. Ponieważ katepsyny regulują wnikanie licznych wirusów do komórek, w tym cDC, sprzyjając ich replikacji i rozprzestrzenianiu się po organizmie gospodarza, oraz decydują niejednokrotnie o progresji zakażenia, celem niniejszej pracy było określenie ekspresji katepsyn cysteinowych (Cts B, L i S) w dwóch populacjach cDC: cDC1 (CD8α⁺) i cDC2 (CD8α⁻) u myszy różniących się genetyczną podatnością na rozwój śmiertelnej postaci choroby podczas zakażenia ECTV.

Myszy BALB/c (wrażliwe) i C57BL/6 (oporne) zakażano ECTV przy MOI=200 PFU/mysz. Po 5 dniach od zakażenia (dpi) od zwierząt pobierano śledzionę, z której uzyskiwano zawiesinę pojedynczych komórek za pomocą trawienia enzymatycznego. Następnie, cDC1 i cDC2 były uzyskiwane w wyniku negatywnej i/lub pozytywnej selekcji za pomocą technologii MACS. Ekspresja katepsyn B, L i S w śledzionowych cDC1 i cDC2 została oceniona metodą Real-Time RT-PCR.

Obie subpopulacje cDC wykazywały porównywalną ekspresję *Ctsb*, *Ctsl* i *Ctss* zarówno u myszy BALB/c, jak i C57BL/6. Nie zaobserwowano także różnic w poziomie ekspresji tych genów w cDC1 i cDC2 pomiędzy myszami BALB/c a C57BL/6. Podobnie, zakażenie ECTV obu szczepów myszy nie skutkowało zmianą ekspresji analizowanych genów katepsyn cysteinowych w cDC1 i cDC2 u myszy BALB/c i C57BL/6 w 5 dpi, pomimo silnej aktywacji tych komórek. Uzyskane wyniki sugerują, że ECTV nie wpływa na ekspresję analizowanych genów katepsyn cysteinowych w cDC1 i cDC2 we wczesnym etapie zakażenia myszy opornych i wrażliwych. Nie oznacza to jednak, że ECTV nie oddziałuje na aktywność ww. białek w cDC, dlatego dalsze badania powinny być prowadzone w celu poznania roli katepsyn w promowaniu/ograniczaniu zakażenia wirusowego oraz stymulacji przeciwwirusowej swoistej odpowiedzi immunologicznej z udziałem cDC.

Słowa kluczowe: katepsyny, wirus ektromelii, komórki dendrytyczne

Badania finansowane przez NCN: UMO-2012/05/D/NZ6/02916.

ZMIANY W STRUKTURACH ADHEZYJNYCH KONWENCJONALNYCH KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH W ZAKAŻENIU POKSWIRUSOWYM

Z. Biernacka¹, J. Struzik¹, M. Gieryńska¹, F. N. Toka^{1,2}, L. Szulc-Dąbrowska¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Ross University School of Veterinary Medicine, Basseterre, St. Kitts and Nevis

Konwencjonalne komórki dendrytyczne (cDC) to wyspecjalizowane komórki układu odpornościowego, mające zdolność prezentacji antygenów dziewiczym limfocytom T w celu aktywacji nabytej odpowiedzi immunologicznej. cDC krążą po organizmie i pobierają „próbki środowiskowe” w poszukiwaniu antygenów. Pełnienie tej ważnej funkcji zapewniają im specjalne struktury adhezyjne, zwane podosomami, które tworzą miejsca styku komórka-macierz zewnątrzkomórkowa (ECM), stanowiąc punkty skoncentrowanego uwalniania proteinaz, promując degradację ECM i ułatwiając migrację cDC. Podosomy są cechą charakterystyczną niedojrzałych cDC o fenotypie adhezyjnym, natomiast podczas aktywacji dochodzi do zaniku tych struktur i utrzymania się adhezyn ogniskowych (FA), co stanowi adaptację do szybkiej migracji do narządów limfatycznych w celu indukcji odpowiedzi immunologicznej.

Wirus ektromelii (ECTV) i wirus krowianki (VACV), podobnie jak wirus ospy prawdziwej (VARV), należą do rodzaju *Orthopoxvirus* i rodziny *Poxviridae*. ECTV i VACV stanowią model do badania immunobiologii zakażeń ortopokswirusowych, włączając w to badanie interakcji tych wirusów z cytoszkieletem aktynowym w komórkach permissywnych. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu zakażenia ortopokswirusowego na struktury odpowiedzialne za adhezję komórek, tj. podosomy i adhezyny ogniskowe w cDC.

cDC wyhodowano z komórek prekursorowych szpiku kostnego myszy C57BL/6 w obecności GM-CSF. Za pomocą separacji magnetycznej z wykorzystaniem mikroperelek anty-CD11c⁺ uzyskano czystą populację cDC. Komórki zakażano ECTV lub VACV przy MOI=1 i stymulowano lub niestymulowano za pomocą LPS, który stanowił kontrolę dojrzewania cDC. W 4, 8, 12, 18 i/lub 24 godzinie po zakażeniu (hpi) komórki utrwalano i znakowano immunofluorescencyjnie na obecność antygenów wirusowych, aktyny, winkuliny, paksyliny i/lub dsDNA.

Przeprowadzone obserwacje wykazały, że zakażenie ECTV i VACV powoduje zanikanie podosomów i wzmożone tworzenie adhezyn ogniskowych już od wczesnych etapów zakażenia (4 hpi). W 18-24 hpi blisko 100% zakażonych komórek nie wykazywało obecności podosomów. Niewykluczone, że utrata podosomów może sprzyjać migracji cDC i ułatwiać rozprzestrzenianie się pokswirusów. Ortopokswirusy zatem, ze względu na silne właściwości modulowania struktur adhezyjnych w cDC, stanowią wartościowy model do badania molekularnych mechanizmów zaangażowanych w „rozpuszczanie” podosomów, formowanie adhezyn ogniskowych oraz migrację komórek.

Słowa kluczowe: ortopokswirusy, komórki dendrytyczne, adhezja ogniskowa, podosomy

Badania finansowane przez NCN: UMO-2012/05/D/NZ6/02916.

WIRUS EKTROMELII ZABURZA GRASICZONIEZALEŻNĄ I GRASICZOZALEŻNĄ AKTYWACJĘ LIMFOCYTÓW B *IN VITRO*

W. Wasylko¹, W. Pieniądz¹, Z. Biernacka¹, J. Struzik¹, M. Gieryńska¹, F. N. Toka^{1,2},
L. Szulc-Dąbrowska¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Ross University School of Veterinary Medicine, Basseterre, St. Kitts and Nevis

Wirusy z rodziny *Poxviridae* budzą obecnie obawy nie tylko ze względu na ich zoonotyczny charakter, ale także ryzyko celowego wykorzystania wirusa ospy prawdziwej (VARV), jako broni w atakach bioterrorystycznych. Po zwalczeniu ospy prawdziwej, kampanie szczepień ochronnych, przeciwko tej jednej z najgroźniejszych chorób w dziejach ludzkości, stopniowo ustawały i zostały ostatecznie zaprzestane 40 lat temu, co obecnie wiąże się ze wzrostem populacji ludzi podatnych na zakażenia pokswirusami zwierzęcymi, w szczególności wirusem ospy małp (MPXV), krów (CPXV) i krowianki (VACV). Co istotne, pokswirusy stanowią także poważne zagrożenie dla zwierząt gospodarskich i towarzyszących człowiekowi, dlatego ważne jest określenie patogenezы i wczesne rozpoznanie zakażeń pokswirusowych. Wirus ektromelii (ECTV) stanowi uznany model badawczy ospy prawdziwej, ponieważ u myszy wirus ten wywołuje chorobę uogólnioną (ospę myszy) o podobnym przebiegu do ospy prawdziwej, wywoływanej przez VARV, dlatego ospa myszy obrazowo nazywana jest „ospą prawdziwą myszy”.

Limfocyty B odgrywają zasadniczą rolę w odporności przeciwpokswirusowej, gdyż wytworzenie wirusowo-swoistych przeciwciał jest konieczne do zwalczenia pierwotnego zakażenia i całkowitego wyzdrowienia. W niniejszej pracy określono bezpośredni wpływ zakażenia ECTV na zdolność proliferacyjną i sekrecyjną limfocytów B w następstwie pobudzenia tych komórek drogą grasiczoniezależną i grasiczozależną.

Limfocyty B uzyskano w wyniku negatywnej separacji magnetycznej ze śledziony myszy C57BL/6. Część komórek zakażano ECTV, a następnie komórki niezakażone i zakażone były traktowane stymulatorami, naśladującymi aktywację grasiczozależną i/lub grasiczoniezależną. Po 5 dniach stymulacji proliferację limfocytów B oceniono mikroskopowo na podstawie wielkości tworzących się skupisk proliferujących komórek oraz cytometrycznie, po uprzednim wybarwieniu komórek *esterem* sukcy노imidylowym *diocetanu karboksylu fluoresceiny* (CFSE). Wytwarzanie IgM i IgG sprawdzono po 7 dniach stymulacji przy użyciu komercyjnych testów ELISA.

Uzyskane wyniki ukazały, że traktowanie ECTV limfocytów B w warunkach *in vitro* doprowadza do drastycznego spadku zarówno proliferacji, jak i zdolności wytwarzania obu klas przeciwciał przez te komórki, w następstwie ich stymulacji drogą grasiczoniezależną i/lub grasiczozależną. Wyniki mogą świadczyć o zdolności ECTV do efektywnego zakażenia i replikacji w limfocytów B, co skutkuje upośledzeniem ich funkcji odpornościowych.

Słowa kluczowe: wirus ektromelii, limfocyty B, proliferacja, grasiczozależność, IgG, IgM

Badania finansowane przez SGGW: 505-10-023400-L00203-99.

OCENA EKSPRESJI WYBRANYCH CYTOKIN NA POZIOMIE TRANSKRYPCJI W KOMÓRKACH NABŁONKOWYCH ZAKAŻONYCH KOŃSKIM HERPESWIRUSEM TYPU 1 *IN VITRO*

A. Golke, W. Mulińska, M. W. Bańbura

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Komórki nabłonkowe, które często jako pierwsze ulegają zakażeniu wirusem, odgrywają istotną rolę we wczesnym rozpoznawaniu jego komponentów. Powinno to prowadzić do uruchomienia produkcji cytokin prozapalnych i białek o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym, jednak wirusy często już na tym etapie hamują odpowiedź immunologiczną. Wśród mistrzów ucieczki spod kontroli układu immunologicznego na szczególną uwagę zasługują herpeswirusy.

W niniejszej pracy zbadano wpływ zakażenia końskim herpeswirusem typu 1 (EHV-1) na ekspresję wybranych receptorów toll-podobnych oraz cytokin pro- i przeciwzapalnych, na poziomie transkrypcji, w końskich komórkach nabłonkowych skóry *in vitro*. Hodowle komórkowe zakażane były dwoma różnymi szczepami EHV-1 (Jan-E i EHV-1 26) oraz stymulowane PAM2CSK4 (ligand TLR2/TLR6) i poly(I:C) (ligand TLR3). Po 2 i 24h od zakażenia bądź stymulacji zbierano komórki w celu izolacji całkowitego RNA i przeprowadzenia odwrotnej transkrypcji. Po wykonaniu real-time PCR, ekspresję wybranych genów obliczano względem kontroli (komórki traktowane PBS) stosując metodę Livaka.

W badanych komórkach nie wykazano ekspresji mRNA TLR2, TLR3 oraz IL-10, nawet po stymulacji ligandami TLR2 i TLR3. Wykazano natomiast ekspresję IFN- α i IFN- β .

Co ciekawe, w pierwszych godzinach po zakażeniu (2h p.z.) oba szczepy EHV-1 całkowicie hamowały ekspresję interferonów. Przypuszczalnie jest to związane z działaniem białka tegumentu UL41, którego homologi powszechnie występują u herpeswirusów. Białko to, natychmiast po wnikięciu wirusa do komórki powoduje degradację mRNA gospodarza. Prowadzi to do zahamowania syntezy białek komórkowych, w tym również białek uczestniczących w odpowiedzi immunologicznej.

W późniejszych etapach zakażenia (24h p.z.) zaobserwowano, że każdy z badanych szczepów EHV-1 w inny sposób modulował ekspresję interferonów. Szczep Jan-E powodował spadek ekspresji IFN- α oraz wzrost ekspresji IFN- β . Natomiast szczep EHV-1 26 powodował wzrost ekspresji IFN- α , nie wpływając na ekspresję IFN- β .

Pozostaje pytanie, które receptory rozpoznające wzorce, przy braku ekspresji TLR2 i TLR3 w badanym typie komórek, uczestniczą w aktywacji produkcji interferonów typu I po zakażeniu EHV-1?

Słowa kluczowe: interferony, komórki nabłonkowe, EHV-1

ANALIZA PROTEOMICZNA SEKRETOMU KOMÓREK ZAKAŻONYCH HERPESWIRUSEM KONI TYPU 1

M. Kwaśnik¹, A. Malinowska², K. Stasiak¹, M. Larska¹, J. Rola¹, W. Rożek¹

¹Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa, Polska

Herpeswirus koni typu 1 (EHV-1) jest patogenem powodującym poronienia, choroby układu oddechowego i zaburzenia neurologiczne u koni na całym świecie. Chociaż większość szczepów EHV-1 wywołuje poronienia, tylko określone mogą wywoływać mieloencefalopatię. Postulowany jest związek między mutacją punktową w genie polimerazy DNA wirusa, ORF 30 (A2254G, N752D) a zwiększoną częstością występowania postaci neurologicznej. Można przypuszczać, że różnice we właściwościach biologicznych szczepów EHV-1 z mutacją G2254 lub A2254 (np. potencjalna neuropatogenność) mogą mieć odzwierciedlenie w różnicach sekretomów zakażonych komórek.

Celem naszych badań było określenie różnic w sekrecji białek między komórkami zakażonymi A2254 i G2254 EHV-1. Na podstawie ilościowej analizy proteomicznej „Label-free” zidentyfikowano różnice w wydzielaniu niektórych białek gospodarza między komórkami nerki królika zakażonymi A2254 a komórkami tej samej linii zakażonymi szczepem G2254 EHV-1. W obu grupach zaobserwowano obniżenie poziomu białek zaangażowanych w regulację insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF) oraz szlaku macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). Spośród 12 białek o zwiększonej sekrecji 8 było regulowanych tylko w zakażeniu G2254 EHV-1. Były to chaperony retikulum endoplazmatycznego o właściwościach wiążących wapń, związane z systemem odpowiedzi na obecność niesfałdowanych białek (UPR) (ang. unfolded protein response) i mitochondriami. Przypuszcza się, że sekrecja białek, takich jak kalretikulina, Hspa5 czy endoplazmina może przyczyniać się do patogenezy zakażenia EHV-1.

Słowa kluczowe: herpeswirus koni typu 1, EHV-1, UPR, kalretikulina, endoplazmina, Hspa5

Badania finansowane przez KNOW, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego: 05-1/KNOW2/2015 (K/02/1.0).

OCENA AKTYWNOŚCI IMMUNOMODULUJĄCEJ *IN VITRO* SYNTETYCZNYCH POCHODNYCH PIERŚCIENIA IZOKSAZOLOWEGO

A. Sysak¹, B. Obmińska-Mrukowicz¹, M. Mączyński²

¹Katedra Farmakologii i Toksykologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Chemia związków heterocyklicznych staje się ważną dziedziną w poszukiwaniu substancji o licznych zastosowaniach praktycznych, w tym o potencjalnym przeznaczeniu terapeutycznym. Jedną z najbardziej interesujących struktur heterocyklicznych jest pięcioczłonowy pierścień izoksazolowy zawierający w swej strukturze atom azotu i tlenu. Pochodne izoksazolowe cieszą się dużym zainteresowaniem wśród naukowców z całego świata, ponieważ z jednej strony ich synteza jest stosunkowo łatwa, a z drugiej strony wykazują one różnorodne aktywności biologiczne.

Trzy związki będące pochodnymi izoksazolowymi (MZO-2, MM2 i MM6) poddano analizie aktywności immunomodulującej. W badaniach wykorzystano myszy szczepu wsobnego Balb/c w wieku 8-10 tygodni, z których pobrano śledziony, a następnie wyizolowano z nich limfocyty. Komórki hodowano w medium RPMI-1640 z dodatkiem 10% FBS, L-glutaminy, penicyliny i streptomycyny. Limfocyty poddane były działaniu różnych stężeń badanych związków bez lub z mitogenami: lipopolisacharydem z *E. coli* (LPS, mitogen stymulujący limfocyty B), fitohemaglutyniną (PHA) i konkanawaliną A (ConA) (mitogeny stymulujące limfocyty T). Po 72 godzinach inkubacji proliferację komórek oceniano przy użyciu testu MTT. Ponadto, po 24 godzinach inkubacji limfocytów z badanymi substancjami metodą cytometrii przepływowej określono ekspresję cząsteczek sygnałowych CD3 (limfocyty T) i CD19 (limfocyty B).

Wszystkie związki wykazały działanie hamujące stymulowaną mitogenami proliferację limfocytów myszy, przy czym pochodne MZO-2 i MM2 w największym stopniu hamowały proliferację komórek stymulowanych konkanawaliną A (ConA) (odpowiednio $71 \pm 8\%$ i $74 \pm 2\%$), natomiast w przypadku pochodnej MM6 działanie to było porównywalne w przypadku wszystkich mitogenów ($41 \pm 8\%$ dla komórek stymulowanych ConA i PHA oraz $45 \pm 5\%$ hamowania proliferacji komórek stymulowanych LPS). Zastosowany jako kontrola leflunomid, będący pochodną izoksazolową lek immunosupresyjny stosowany w reumatoidalnym zapaleniu stawów, hamował proliferację komórek w stopniu zbliżonym do badanych związków ($87 \pm 1\%$ w połączeniu z ConA, $49 \pm 7\%$ w kombinacji z PHA oraz $68 \pm 1\%$ w połączeniu z LPS). Dodatkowo, związki MM2 i MM6 zwiększały ekspresję cząsteczek CD3 (marker limfocytów T) oraz zmniejszały ekspresję cząsteczek CD19 (marker limfocytów B) w limfocytach wyizolowanych ze śledziony myszy.

Otrzymane wyniki wskazują na to, że działanie badanych związków dotyczy w większym stopniu populacji limfocytów T niż limfocytów B i czynią je interesującymi obiektami dalszych badań mających na celu sprecyzowanie mechanizmu ich działania, a w dalszej perspektywie ocenę ich potencjalnego zastosowania terapeutycznego.

Słowa kluczowe: izoksazole, immunomodulacja, limfocyty, proliferacja

METODA WYKRYWANIA NIESPECYFICZNEJ WYDZIELNICZEJ IMMUNOGLOBULINY A W PRZEWODZIE POKARMOWYM KONI

A. Żak-Bochenek¹, N. Siwińska², J. Bajzert¹, K. Sikorska³, A. Chełmońska-Soyta¹

¹Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

³Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Wydzielnicza immunoglobulina A (SIgA) jest najważniejszym elementem obrony i błon śluzowych. W badaniu skupiono się na jej ilościowym oznaczaniu w kale oraz w treści pobranej z poszczególnych fragmentów przewodu pokarmowego. Badania nad możliwością oceny ilościowej SIgA w kale za pomocą testu immunoenzymatycznego fazy stałej (ELISA) stanowią wstęp do dalszych badań nad wykorzystaniem tego parametru w diagnostyce zapaleń jelit u koni.

W pierwszym etapie badania pobrano kał od 39 koni. Wszystkie próbki kału poddano badaniu parazytologicznemu metodą flotacji. Pozostałą część próbek kału umieszczono w pojemniczkach i przechowywano w -80°C do dalszej analizy. Po rozmrożeniu próbek odważono gram kału, który zawieszono w 5 ml PBS. Po dwukrotnym wytrząsaniu próbki wirowano (20 minut, 1600xg), a następnie mililitr nadsącza filtrowano z użyciem filtrów strzykawkowych o hydrofilowej membranie polietersulfonowej (PES, średnica porów $22\mu\text{m}$) do probówek zawierających 10 μl koktajlu inhibitorów proteaz (Calbiochem Protease Inhibitor Cocktail Set I 539131). Po ponownym wirowaniu (15 minut, 3260xg) w nadsączu oznaczono zawartość białka całkowitego (Pierce™ BCA Protein Assay Kit (ThermoFisher Scientific) oraz SIgA (IgA Horse ELISA Kit, Abcam ab190530).

W drugim etapie badania od 25 koni zdrowych pobrano kał oraz wymaz z prostnicy, w celu określenia, który materiał jest bardziej wiarygodny diagnostycznie. Pobrany wymaz niezwłocznie został umieszczony w probówce zawierającej 0,5 ml PBS oraz 5 μl koktajlu inhibitorów proteaz i poddany wytrząsaniu. W pobranym materiale oznaczono stężenie białka całkowitego i SIgA. Z kałem postępowano analogicznie jak w etapie 1.

W trzecim etapie badania pobrano treść z dwunastnicy, jelita biodrowego, jelita ślepego, okrężnicy dużej oraz kału od 6 koni poddanych ubojowi. Materiał stanowiący treść przewodu pokarmowego został zawieszony w PBS w proporcji 5 ml PBS na g treści. Dalsze postępowanie przebiegało zgodnie z etapem 1.

Na obecnym etapie badania wyciągnięto wniosek, że komercyjny test ELISA jest skuteczną metodą wykrywania SIgA zarówno w kale, treści przewodu pokarmowego oraz wymazie z prostnicy. Wykazano korelację pomiędzy ilością jaj małych słupkowców w kale oraz ilością SIgA / g kału ($r = 0.508$, $p = 0.031$).

Słowa kluczowe: wydzielnicza immunoglobulina A, jelita, kał, konie, ELISA



SESJA EPIZOOTIOLOGII I ADMINISTRACJI WETERYNARYJNEJ



ROLA KRAJOWYCH LABORATORIÓW REFERENCYJNYCH W IMPLEMENTACJI TECHNIK BADAWCZYCH WPŁYWAJĄCYCH NA EFEKTYWNOŚĆ DOCHODZEŃ EPIZOOTYCZNYCH PROWADZONYCH PRZEZ INSPEKCJĘ WETERYNARYJNĄ

K. Niemczuk¹, M. Welz², K. Śmietanka¹, M. Frant¹, A. Szczotka-Bochniarz¹

¹Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Główny Inspektorat Weterynarii, Warszawa, Polska

Krajowe laboratoria referencyjne (KLR) ds. afrykańskiego pomoru świń (ASF) i grypy ptaków zostały powołane Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 17 maja 2002 r. KLR ds. ASF odpowiada za implementację rekomendacji ang. European Union Reference Laboratories (EURL) w kraju, zawartych w art. 101 „Obowiązki i zadania krajowych laboratoriów referencyjnych” Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/625 z dnia 15 Marca 2017 r., w tym zasad i metod dotyczących diagnostyki ASF. Oprócz standardowej diagnostyki: molekularnej i serologicznej, KLR pełni funkcję naukową oraz doradczą, zwiększającą efektywności dochodzeń epizootycznych prowadzonych przez Inspekcję Weterynaryjną. Wśród nowoczesnych technik badawczych szczególne zastosowanie znajduje sekwencjonowanie DNA wirusa ASF (ASFV), pozwalające na ustalenie pochodzenia danego szczepu patogenu. Badania genetyczne prowadzone w PIWet-PIB pozwoliły na określenie szlaków i okresów introdukcji ASFV do Polski z krajów ościennych. Dodatkowo podjęto badania mające na celu doskonalenie diagnostyki ASF oraz innych chorób świń z wykorzystaniem nowoczesnych i szybkich testów, pozwalających na wykonanie wstępnych badań obecności wirusa w warunkach „przy pacjencie/zwierzęciu”. Kolejnym istotnym kierunkiem są badania przeżywalności ASFV w zależności od różnych warunków środowiska i w zanieczyszczonych płodach rolnych. Bardzo istotny aspekt stanowią również badania nad skutecznością substancji chemicznych przeciwko wirusowi ASF oraz substancji naturalnych (ekstrakty roślinne), czy prace nad szczepionką przeciw ASF.

Z kolei główne zadania KLR ds. grypy ptaków polegają na diagnostyce podejrzeń tej choroby, szczególnie w formie wysoce zjadliwej (HPAI), oraz realizacji programów nadzoru nad jej występowaniem w populacji domowej i wolno żyjącej. Wykryte w toku tych badań szczepy wirusa HPAI poddawane są charakterystyce molekularnej, w tym sekwencjonowaniu genomowemu. Ich celem jest m.in. śledzenie w czasie ewolucji markerów zoonotycznych, a informacja o wykrytych zmianach jest natychmiast przekazywana (wraz z rekomendacjami) do głównego lekarza weterynarii (GLW). Innym aspektem badań genetycznych jest analiza pokrewieństwa, pozwalająca wykryć ścisły związek pomiędzy poszczególnymi ogniskami, co wykazano na wniosek Głównego Lekarza Weterynarii w odniesieniu do ognisk HPAI powstałych w wyniku rozwiezienia w różne miejsca kraju kaczek, sprowadzonych w ramach handlu wewnątrzunijnego. Ponadto KLR ds. grypy ptaków prowadzi szeroką działalność związaną z oceną ryzyka, upowszechnianiem wiedzy oraz uczestniczy w licznych projektach badawczych, zarówno krajowych jak i zagranicznych.

Nie bez znaczenia jest rola KLR zlokalizowanych w PIWet-PIB w Puławach w poszerzaniu bazy laboratoryjnej o Laboratoria znajdujące się w strukturze Inspekcji Weterynaryjnej, tj. Zakłady Higieny Weterynaryjnej, które z powodzeniem wykonują badania w zakresie ASF i od listopada 2021r. także w zakresie grypy ptaków.

Słowa kluczowe: afrykański pomór świń, ASF, grypa ptaków, HPAI

NADCHODZĄCE ZMIANY W PRZEPISACH DOTYCZĄCYCH PRODUKTÓW LECZNICZYCH WETERYNARYJNYCH

A. Andrzejewska

Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, Warszawa, Polska

Dopuszczone do obrotu produkty lecznicze weterynaryjne służą utrzymaniu w zdrowiu zarówno zwierząt towarzyszących, jak i zwierząt gospodarskich produkujących żywność. Unia Europejska w swojej działalności dąży do opracowania optymalnych i bezpiecznych produktów leczniczych weterynaryjnych, mając na celu zapewnienie odpowiedniej ochrony zdrowia zwierząt i ludzi.

Dnia 11 grudnia 2018 r. Parlament Europejski i Rada wydała rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) z dnia 11 grudnia 2018 r. Nr 2019/6 w sprawie weterynaryjnych produktów leczniczych i uchylającą dyrektywę 2001/82/WE, zwanego dalej „rozporządzeniem 2019/6”.

Niniejsze rozporządzenie będzie stosowane wprost i bezpośrednio we wszystkich państwach członkowskich Unii Europejskiej (w tym w Polsce) od dnia 28 stycznia 2022 roku. Oznacza to, że zawarte w rozporządzeniu 2019/6 przepisy prawa unijnego z dniem ich wejścia w życie stają się częścią wewnętrznych porządków prawnych państw członkowskich.

Rozporządzenie 2019/6 uchyla dyrektywę 2001/82/WE i przynosi następujące główne osiągnięcia:

1. Zapewnienie nowoczesnych rozwiązań prawnych w celu stworzenia dogodnych warunków stymulujących rozwój innowacyjnych produktów leczniczych weterynaryjnych (nowych produktów leczniczych weterynaryjnych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym oraz leków przeznaczonych na małe rynki, dla „rzadkich” gatunków zwierząt, takich jak indyki, kaczki, pszczoły).
2. Usprawnienie rynku wewnętrznego farmaceutycznego w zakresie weterynarii i zwiększenie dostępności leków dla zwierząt poprzez zmniejszenie obciążeń administracyjnych podczas procedury rejestracji przy jednoczesnym zagwarantowaniu najwyższej jakości, skuteczności i bezpieczeństwa dopuszczonych do obrotu produktów leczniczych weterynaryjnych.
3. Wzmocnienie działań w walce z narastającą opornością na środki przeciwdrobnoustrojowe. Rozporządzenie 2019/6 min. wprowadza listę środków przeciwdrobnoustrojowych zarezerwowanych tylko do leczenia ludzi oraz nakłada obowiązek gromadzenia danych dotyczących sprzedaży i stosowania weterynaryjnych środków przeciwdrobnoustrojowych co umożliwi monitorowanie faktycznego zużycia ww. środków w Unii Europejskiej.

Celem mojej prezentacji jest przybliżenie najistotniejszych zmian w przepisach dotyczących produktów leczniczych weterynaryjnych.

PRZEMIESZCZANIE ZWIERZĄT DOMOWYCH – PROBLEMY PRAWNE

M. Bruczyńska

Powiatowy Inspektorat Weterynarii, Piaseczno, Polska

Sprzedaż zwierząt za granicę stała się ostatnio niezwykle łatwa i dochodowa. W szczególności, gdy wykorzystywane są luki w prawie. W ostatnich latach znacznie zwiększyła się liczba zwierząt przewożonych komercyjnie między krajami członkowskimi, a także sprzedawanych do krajów trzecich, co wiąże się z wieloma problemami dotyczącymi legalności pochodzenia zwierząt. Sytuacja dotyczy w szczególności psów i kotów przywożonych zza wschodniej granicy oraz wysyłek młodych zwierząt do Wielkiej Brytanii, a także nie końca jasnych przepisów dotyczących rejestracji i kontroli miejsc hodujących zwierzęta w celach handlowych.

Problemem jest dokumentacja, która powinna towarzyszyć takiej przesyłce, gdzie zdarza się jej zafałszowanie, błędne wypełnienie lub po prostu jej brak. Dla przykładu, według danych zebranych przez organizację Dogs Trust Worldwide Polska jest jednym z trzech największych eksporterów szczeniąt do Wielkiej Brytanii, a sytuacja geopolityczna Polski, która jest krajem należącym do UE i Układu z Schengen, pozwala na szybkie i często bezproblemowe przemieszczanie się.

Tematem pracy jest zobrazowanie problemu na podstawie danych zebranych w latach 2020 i 2021.

WYBUCH GRUŹLICY BYDLĘCEJ U ALPAK W POLSCE

M. Krajewska-Wędzina, Ł. Radulski, M. Lipiec, K. Szulowski

Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Diagnostyka przyżyciowa gruźlicy bydłowej (BTB) u innych gatunków niż bydło jest trudna do wykonania z dwóch głównych powodów. Problemem może być uzyskanie odpowiedniego materiału do badań, a także brak wiarygodnych testów. Test tuberkulinowy (*ang. tuberculin skin test- TST*) w wielu krajach europejskich, w tym także w Polsce, nadal uważany jest za oficjalny test przesiewowy w kierunku BTB, pozwalający na uzyskanie odpowiedniego certyfikatu. Wykonanie TST na alpakach nie pozwala na uzyskanie w pełni wiarygodnych wyników a sytuacja epidemiologiczna gruźlicy bydłowej u alpak w Polsce w latach 2018-2019 pokazała, że wyniki TST u alpak z BTB dają wyniki fałszywie ujemne. Dodatkowo BTB u alpak przebiega bezobjawowo, dopiero w ostatnim stadium choroby można zauważyć takie symptomy jak wychudzenie, apatia, duszność czy śluzowo-ropny wyciek z nosa. Wystąpienie BTB u alpak w Polsce było bezpośrednio związane z importem chorych na gruźlicę alpak z Wielkiej Brytanii, które przed transportem miały wykonany tylko TST. Wybuch gruźlicy wystąpił u hodowcy, który sprowadzał alpaki z renomowanej hodowli z Wielkiej Brytanii. W sumie w Polsce potwierdzono 5 ognisk gruźlicy bydłowej u alpak i wspólne źródło ich zakażenia. Łącznie padło bądź zostało zlikwidowanych 27 alpak. Uzyskany w hodowli bakteryjnej szczep sklasyfikowano jako *Mycobacterium bovis* o spoligotypie SB0666. Wg międzynarodowej bazy spoligotypów bydłowych (Mbovis.org) – SB0666 pochodzi z Wielkiej Brytanii a do bazy został wpisany w 2003 r.

Trudno oszacować dokładną liczbę chorych na BTB alpak, które padły w Polsce w latach 2018-2019. W świetle polskiego prawa alpaki nie są zwierzętami hodowlanymi, a tym samym nie wymaga się żadnych dodatkowych pozwoleń czy rejestracji. Właściciele chorych alpak likwidują zwykle zwierzęta na własny koszt, bez wykonania niezbędnej sekcji zwłok, a także bez wiedzy Powiatowego Lekarza Weterynarii, w większości przypadków nie poddając padłych zwierząt dokładnym badaniom mikrobiologicznym. Jest to istotne ograniczenie i zawężenie możliwości skutecznego zwalczania BTB.

Słowa kluczowe: alpaka, *Vicugna pacos*, gruźlica bydła, *Mycobacterium bovis*

EPIZOOTIA WŚCIEKLIZNY W WOJEWÓDZTWIE MAZOWIECKIM W 2021 ROKU

A. Orłowska, M. Smreczak, P. Trębas, J. Rola

Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Wścieklizna jest zoonozą o zasięgu globalnym. W Europie choroba występuje endemicznie, a rolę wektora i rezerwuaru wirusa pełni lis rudy. W wyniku wprowadzonej doustnej immunizacji lisów przeciwko wścieklicznie (ORV) wiele krajów Europy Zachodniej zwalczyło chorobę. W Polsce doustne uodparnianie lisów prowadzone jest od 1993 roku, dzięki któremu w 2019 roku stwierdzono tylko jeden przypadek zakażenia wirusem wścieklizny (RABV) u lisa, w województwie lubelskim, oraz 11 przypadków zakażenia lyssawirusami u nietoperzy. Ostatni przypadek wścieklizny w województwie mazowieckim odnotowano w 2004 roku u kota. W styczniu 2021 roku w gminie Wiązowna, miejscowości Izabela znaleziono padłego lisa, u którego w teście immunofluorescencji bezpośredniej zdiagnozowano wściekliznę. Od początku roku do chwili obecnej wykryto 54 przypadki wścieklizny na terenie województwa mazowieckiego. W toku przeprowadzonej analizy filogenetycznej w oparciu o pełne genomy referencyjnych szczepów wirusa wścieklizny oraz archiwalnych izolatów RABV pochodzących z województwa mazowieckiego z lat 2000-2004 wykazano, iż sekwencje RABV uzyskane z przypadków wścieklizny w 2021 roku tworzą jeden klastery wykazując między sobą wysoką homologię na poziomie 99,8 – 99,9%. Wartość ta, sięgająca prawie 100% identyczności sekwencji nukleotydowych, wskazuje na szerzenie się jednego i tego samego wariantu RABV wśród zwierząt wrażliwych na zakażenie, na obszarze objętym epizootią wścieklizny. Sekwencje RABV pochodzące z ognisk wścieklizny w 2021 r. tworzą klastery wraz z sekwencjami referencyjnymi należącymi do wariantu CE (środkowo-europejski) RABV, podczas gdy sekwencje izolatów archiwalnych, z lat 2000-2004, przynależą do odrębnego kladu wraz z sekwencjami referencyjnymi należącymi do wariantu NEE (północno-wschodnio-europejski) RABV. Przynależność sekwencji RABV, pochodzących z aktualnych ognisk wścieklizny oraz archiwalnych szczepów do różnych grup RABV, sugeruje brak powiązania filogenetycznego RABV pochodzącego z aktualnych ognisk wścieklizny z wirusem odpowiedzialnym za przypadki wścieklizny u zwierząt na tym obszarze w latach 2000-2004. Istnieje duże prawdopodobieństwo, że mogło dojść do wprowadzenia wariantu CE RABV na teren województwa mazowieckiego w 2021 roku, z któregoś z krajów sąsiadujących z Polską.

Słowa kluczowe: wścieklizna, województwo mazowieckie, Polska

ZAKAŻENIE *MYCOBACTERIUM KANSASII* U DZIKA EUROAZJATYCKIEGO

Ł. Radulski, M. Lipiec, M. Krajewska-Wędzina, K. Szulowski

Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Bakterie z rodzaju *Mycobacterium* to jedne z najgroźniejszych patogenów, których infekcje stanowią zagrożenie zarówno dla zdrowia i życia zwierząt, jak i ludzi. Prątki podzielić można na typowe - wywołujące gruźlicę, należące do grupy *Mycobacterium Tuberculosis Complex* (MTBC) oraz atypowe, nazywane również NTM (Nontuberculous Mycobacteria). Infekcje NTM w zależności od gatunku mykobakterii, która je powoduje, dotyczą chorób płuc, węzłów chłonnych, skóry, tkanki podskórnej i zapalenia otrzewnej. Rezerwuarem prątków należących do obu grup są często zwierzęta wolno żyjące. Ze względu na swobodną migrację mogą one być skutecznym czynnikiem w rozprzestrzenianiu się choroby. Jednym z najniebezpieczniejszych gatunków prątków z grupy NTM jest *Mycobacterium kansasii*. Prątek ten powoduje infekcje płuc, a w skrajnych przypadkach może doprowadzić do śmierci zarażonego zwierzęcia lub człowieka.

Badaniu poddano węzły chłonne podżuchwowe dzika euroazjatyckiego, odstrzelonego przez myśliwego w południowej części Polski. Zwierzę nie wykazywało objawów klinicznych i sekcyjnych choroby, a pobrane próbki zostały przesłane do Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach w celach naukowych. Tkanek przy pomocy skalpela pocięto na niewielkie fragmenty i poddano dekontaminacji w 5% kwasie szczawiowym. Powstały po wirowaniu osad płukano dwukrotnie w jałowym płynie fizjologicznym. Otrzymany materiał posiano na 4 podłoża Petragnianego oraz 4 podłoża Stonebrinka i inkubowano w 37 °C. Po 12 dniach inkubacji otrzymano izolaty, który poprzez barwienie metodą Ziehl – Nielsena określono jako prątek kwasooporny. Kolejnym etapem badań była identyfikacja gatunkowa z wykorzystaniem testu Hain Lifescience CM oraz MALDI-TOF. Wyniki obu badań jasno wskazały, że gatunkiem prątka, odpowiedzialnym za infekcję badanego zwierzęcia jest *Mycobacterium kansasii*.

Do dnia dzisiejszego nie opisano żadnego przypadku wystąpienia mykobakteriozy wywołanej tym prątkiem u dzika na terenie Europy, a wśród pozostałych gatunków zwierząt wolno żyjących jako przyczyna infekcji pojawia się on sporadycznie. Badanie to pokazuje również, że należy zwrócić większą uwagę na monitorowanie sytuacji epidemiologicznej wśród zwierząt wolno żyjących.

Słowa kluczowe: *Mycobacterium kansasii*, mykobakterioza, dzik euroazjatycki

MYKOBAKTERIOZA ALPAKI WYWOŁANA PRZEZ *MYCOBACTERIUM AVIUM* SSP. *AVIUM*

M. Lipiec, Ł. Radulski, M. Krajewska-Wędzina, K. Szulowski

Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Mykobakteriozy to choroby wywołane przez prątki kwasoodporne inne niż *Mycobacterium leprae* i prątki z grupy *Mycobacterium tuberculosis* complex (prątki typowe). W literaturze do chwili obecnej opisano ponad 140 gatunków prątków atypowych, z których około 30 posiada zdolność infekowania ludzi i zwierząt. Wśród tych mikroorganizmów znajduje się *M. avium*, który powszechnie występuje w środowisku wodnym jak i lądowym. *M. avium* składa się z czterech podgatunków, do których należą *M. avium* ssp. *avium*, *M. avium* ssp. *silvaticum*, *M. avium* ssp. *paratuberculosis* i *M. avium* ssp. *hominissuis*. Wszystkie te bakterie są w największej mierze odpowiedzialne za infekcje u ptaków, bydła i świń, a do zakażeń innych gatunków zwierząt dochodzi rzadko.

Badaniu poddano dziesięciomiesięczną samicę alpaki, która została zaimportowana do Polski z Chile. Materiał wykorzystany w badaniach stanowiły węzły chłonne oraz wycinek jelita obejmujący zmiany chorobowe. W badaniu anatomopatologicznym stwierdzono pogrubienie ściany jelita z licznymi ropniami oraz całkowitym zserowaniem węzłów chłonnych oskrzelowych oraz krezkowych, co początkowo wskazywało na przebieg paratuberkulozy. Tkanki z widocznymi zmianami chorobowymi poddano dekontaminacji w 5 % kwasie szczawiowym, a wyflukany płynem fizjologicznym osad posiano na 4 podłoża Stonebrinka i 4 podłoża Petragianiego. Po 14 dniach inkubacji posiewów w 37 °C otrzymano obfity wzrost bakterii, której gatunek został zidentyfikowany poprzez sekwencjonowanie NGS jako *M. avium* ssp. *avium*.

Mykobakteriozy wielbłądowatych wywołane przez ten gatunek bakterii są niezwykle rzadkie oraz charakteryzują się nietypowym przebiegiem, mogącym łączyć w sobie objawy gruźlicy oraz paratuberkulozy, choroby powodowanej przez *M. avium* ssp. *paratuberculosis*. Dodatkowo, wśród objawów klinicznych zaobserwowano zahamowany wzrost, chudnięcie oraz biegunkę, co ostatecznie doprowadziło do padnięcia zwierzęcia i również wskazywało na przebieg paratuberkulozy. *M. avium* ssp. *avium* może być zatem prątkiem niezwykle groźnym dla alpaki ze względu zarówno na ostry przebieg choroby, jak i nieprawidłowe działania lekarzy weterynarii w związku z błędnym rozpoznaniem infekcji *M. avium* ssp. *paratuberculosis*.

Słowa kluczowe: mykobakterioza, alpaka, prątki atypowe, *Mycobacterium avium* ssp. *avium*

CO DALEJ Z WIRUSEM SCHMALLEMBERG?

M. Larska, J. Kęsik-Maliszewska, J. Rola

Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Wirus Schmallerberg (SBV) jako nowy patogen (z ang. emerging) został zidentyfikowany po raz pierwszy u bydła w strefie przygranicznej Niemiec (Nadrenia Północna-Westfalia) i Holandii w 2011 r. i zaliczony do rodzaju *Orthobunyavirus*, rodziny *Peribunyaviridae*. Pochodzenie wirusa Schmallerberg pozostaje niejednoznaczne. Blisko spokrewnione orthobunyawirusy (Aino, Akabane, Sathuperi, Shamonda) powodują zachorowania przeżuwaczy w Afryce, Azji i Australii, stąd też podejrzewa się zawleczenie SBV z odległych geograficznie regionów. Pod względem genetycznym uznaje się go za reasortanta wirusów Sathuperi i Shamonda. Jest to arbowirus (z ang. arbovirus – arthropod-borne virus) przenoszony przez owady krwiopijne – kuczmany z rodzaju *Culicoides* spp. U przeżuwaczy dorosłych zakażenia SBV często mają przebieg podkliniczny, natomiast w przypadku wystąpienia objawów, mają one charakter raczej niespecyficzny tj. spadek mleczności (nawet o 50%), wzrost ciepłoty wewnętrznej i biegunka. Z punktu widzenia klinicznego największe straty wywoływane przez SBV związane są z zakażeniami śródmacicznymi powodującymi resorpcję, poronienia i zwiększoną śmiertelność nowonarodzonych zwierząt. W Polsce pierwsze przypadki zanotowano w 2012 roku u przeżuwaczy gospodarskich, jak również u wolno żyjących oraz w wektorze owadzi odłowionym w okolicy ognisk. Prezentowane będą wyniki wieloletnich prac nad rozprzestrzenieniem zakażeń SBV u gospodarza i w wektorze owadzi w Polsce. Monitoring prowadzony ciągle od 2014 roku pozwolił uzyskać oryginalne wyniki dotyczące wieloczynnikowej analizy problemu epizootycznej zakażeń SBV w Polsce, zidentyfikować czynniki ryzyka i możliwe drogi szerzenia się zakażeń SBV i określić zmienność genetyczną wirusa. Wiedza dotycząca cykliczności występowania kolejnych fal epizootyki SBV jest unikalnym wkładem w badania nad tym wirusem na świecie.

Badania wykonano w ramach Programu Wieloletniego PIWet-PIB („Ochrona zdrowia zwierząt i zdrowia publicznego”).

CHARAKTERYSTYKA SZCZEPÓW *YERSINIA ENTEROCOLITICA* WYIZOLOWANYCH OD BYDŁA

P. Łada, K. Kończyk-Kmiecik, K. Lipczyńska-Ilczuk, A. Banczerz-Kisiel

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Yersinia (Y.) enterocolitica jest bezpośrednią przyczyną jersiniozy – zoonozy o rosnącym znaczeniu epidemiologicznym. Dane literaturowe na temat występowania tej bakterii u bydła w Polsce są znikome, a z uwagi na fakt, iż zanieczyszczone pałeczkami tusze oraz wołowina stanowią potencjalne zagrożenie dla człowieka, badania mające na celu ocenę występowania *Y. enterocolitica* u bydła wydają się niezbędne.

Przebadano 1020 wymazów, w tym 660 z prostnicy bydła poddawanego zabiegom lekarsko-weterynaryjnym oraz 360 z tusz bydlęcych przechowywanych w chłodni. W przypadku wymazów pobieranych z prostnicy, szczepy *Y. enterocolitica* wyizolowano od zwierząt pochodzących z 3 spośród 15 badanych stad. Współczynnik prewalencji w badanych stadach kształtował się na poziomie od 0 do blisko 32%, a w stadach, z których izolowano szczepy *Y. enterocolitica* wynosił 2,2%, 31,8% oraz 2,9%, odpowiednio dla stad nr 1, 2 i 5. Z wymazów z prostnicy wyizolowano 29 szczepów *Y. enterocolitica*, co stanowi 4,4% pobranych próbek; ponad 65% szczepów pozyskano z hodowli zimnej. Z tusz bydlęcych, przechowywanych po uboju w warunkach chłodniczych, wyizolowano 14 szczepów *Y. enterocolitica*, w tym 3 szczepy z hodowli ciepłej i 11 z hodowli zimnej. Generalnie wyizolowano *Y. enterocolitica* z 3,9% badanych próbek, co biorąc pod uwagę pobieranie dwóch wymazów z jednej tuszy oznacza izolację drobnoustroju z 7,8% badanych tusz.

Ogółem wyizolowano 43 szczepy *Y. enterocolitica*. Wszystkie należały do biotypu 1A i w zdecydowanej większości nie typowały się serologicznie. Zaledwie 4 (9,3%) z 43 szczepów reagowały z surowicą dla antygeny somatycznego O:5 w odczynie aglutynacji szkiełkowej. Wszystkie wyizolowane szczepy charakteryzowały się także obecnością amplikonów genu *ystB*, nie wykazano natomiast amplikonów genów *ail* i *ystA*. Wszystkie badane szczepy wykazywały oporność na ampicylinę i cefaleksynę, a zdecydowana większość także na amoksycylinę z kwasem klawulanowym. Wyizolowane szczepy *Y. enterocolitica* charakteryzowała natomiast wrażliwość na cyprofloksacynę i tetracyklinę. W przypadku pozostałych chemioterapeutyków szczepy wykazywały zróżnicowaną wrażliwość. Zaobserwowano także zjawisko wielolekooporności u wyizolowanych szczepów – ponad 90% wykazywało oporność na co najmniej trzy zastosowane w badaniach chemioterapeutyki.

Słowa kluczowe: *Yersinia enterocolitica*, współczynnik prewalencji, biotyp 1A, geny *ail*, *ystA* i *ystB*, wielolekooporność

WYSTĘPOWANIE SZCZEPÓW *YERSINIA ENTEROCOLITICA* I *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* U WYBRANYCH GATUNKÓW ZWIERZĄT ŁOWNYCH

M. Odyniec, P. Socha, K. Kończyk-Kmiecik, K. Lipczyńska-Ilczuk, W. Szweda, A. Banczerz-Kisiel

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Pałeczki *Yersinia* (*Y.*) *enterocolitica* i *Y. pseudotuberculosis* są czynnikami etiologicznymi jersiniozy, stanowiąc trzecią co do częstości przyczynę zakażeń przewodu pokarmowego u ludzi. Przeprowadzone badania miały na celu ocenę występowania oraz charakterystykę szczepów *Y. enterocolitica* i *Y. pseudotuberculosis* izolowanych od niebadanych dotychczas w Polsce (lub badanych w niewielkim stopniu) gatunków zwierząt wolno żyjących.

Po wstępnych badaniach bakteriologicznych poszukiwano charakterystycznych dla poszczególnych gatunków bakterii markerów zjadliwości w postaci fragmentów genów *ail*, *ystA*, *ystB*, *ystC* *Y. enterocolitica* oraz *inv* i *wzz* *Y. pseudotuberculosis*. Przeprowadzone badania molekularne umożliwiły potwierdzenie przynależności do gatunku *Y. enterocolitica* 17 szczepów wyizolowanych od 4 różnych gatunków zwierząt: danieli wolno żyjących i hodowlanych, łysiek zwyczajnych, cyraneczki zwyczajnej i głuszców zwyczajnych. Wszystkie wyizolowane szczepy *Y. enterocolitica* charakteryzowały się obecnością fragmentu genu *ystB*. Od żadnego z badanych zwierząt nie wyizolowano szczepów *Y. pseudotuberculosis*.

Analiza biotypowa wykazała, iż zróżnicowanie wyizolowanych szczepów *Y. enterocolitica* pod względem biotypu było niewielkie. Zdecydowana większość – 16 szczepów, należała do biotypu 1A. Załedwie jeden szczep, wyizolowany od głuszca zwyczajnego, wykazywał cechy charakterystyczne dla biotypu 1B. Badania serotypujące wykazały, że zdecydowana większość szczepów nie aglutynowała z żadną z użytych surowic diagnostycznych. Aglutynację z surowicą dla antygenu O:9 odnotowano u 2 szczepów – wyizolowanych od daniela wolno żyjącego oraz głuszca zwyczajnego, a z surowicą dla antygenu O:5 u 1 szczepu, wyizolowanego od daniela wolno żyjącego.

Ocenie wrażliwości na chemioterapeutyki poddano wszystkie potwierdzone molekularnie szczepy *Y. enterocolitica*. W badaniu metodą dyfuzyjno-krążkową najwięcej badanych szczepów charakteryzowało się wrażliwością na cyprofloksacynę. Wszystkie szczepy wykazały natomiast oporność na amoksycylinę z kwasem klawulanowym, ampicylinę i cefaleksynę oraz charakteryzowały się wielolekoopornością. Należy również zauważyć, że szczepy *Y. enterocolitica* wyizolowane od ptaków wolno żyjących charakteryzowały się większą wrażliwością na zastosowane chemioterapeutyki niż szczepy wyizolowane od wolno żyjących przeżuwaczy.

Słowa kluczowe: *Yersinia enterocolitica*, biotyp, serotyp, *ystB*, wielolekooporność

ROZPRZESTRZENIENIE *YERSINIA ENTEROCOLITICA* I *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* WŚRÓD MAŁYCH DZIKICH GRYZONI W POŁUDNIOWO-WSCHODNIEJ POLSCE

A. Platt-Samoraj¹, J. Żmudzki², J. Pajdak-Czaus¹, W. Szweda¹

¹Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

²Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Gryzonie (*Rodentia*) to najliczniejszy rząd ssaków zamieszkujących różne środowiska. Mogą być nosicielami drobnoustrojów zoonotycznych, np. *Yersinia* spp, wówczas stają się zagrożeniem dla zdrowia ludzi i ich zwierząt.

W celu określenia częstości występowania *Yersinia* (*Y.*) *enterocolitica* i *Y. pseudotuberculosis* przebadano próbki jelit cienkich 214 leśnych i polnych gryzoni, w tym 114 myszy leśnych (*Apodemus flavicollis*), 66 myszy polnych (*Apodemus agrarius*), 33 norników polnych (*Microtus arvalis*) i 1 nornicy rudej (*Myodes glareolus*), pochodzących z 6 województw południowo-wschodniej Polski. W badaniach zastosowano wstępne namnażanie na podłożach bakteriologicznych oraz poszukiwanie chromosomalnych markerów wirulencji *ail*, *ystA*, *ystB* i *inv* z zastosowaniem PCR.

Z badanych próbek otrzymano 9 (4,2%) izolatów *Y. enterocolitica* i 1 *Y. pseudotuberculosis*. Większość izolatów (n=5) uzyskano od norników polnych. Wszystkie izolaty *Y. enterocolitica* zostały zaklasyfikowane do biotypu 1A. Analiza obecności markerów wirulencji wykazała, że wszystkie izolaty *Y. enterocolitica* zawierały gen *ystB*, a 5 izolatów zawierało rzadką genetyczną konfigurację genów *ail/ystB*. Trzy z czterech *ail/ystB* – dodatnich izolatów stanowiły serotyp O:5,27. Izolat *Y. pseudotuberculosis* zawierający gen chorobotwórczości *inv*, został określony jako biotyp 1.

Analiza sekwencji nukleotydowej *ystB* izolatów *Y. enterocolitica* wykazała 100% podobieństwo wobec zamieszczonych w GenBank sekwencji pochodzących z próbek pacjentów z biegunką z Indii i UK oraz wysokie podobieństwo do sekwencji *ystB* z *Y. enterocolitica* wyizolowanych od innych gatunków zwierząt dzikich w Polsce. Sekwencja fragmentu genu *inv* *Y. pseudotuberculosis* była w 100% identyczna w stosunku do sekwencji wyizolowanych z wysoko zjadliwych szczepów pochodzących z Francji i Australii.

Wyniki badań sugerują, że małe dzikie gryzonie, szczególnie norniki i myszy leśne, mogą być nosicielami szczepów *Yersinia* spp. Wysokie podobieństwo badanych sekwencji genów otrzymanych izolatów do pochodzących od innych wolno żyjących zwierząt wskazuje, że małe dzikie gryzonie mogą odgrywać istotną rolę w epidemiologii jersiniozy i być siewcami *Yersinia* spp. w środowisku.

Słowa kluczowe: *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, wild rodents, *ystA*, *ystB*, *inv*

Badania finansowane przez MNiSW: 010/RID/2018/19 oraz NCN: DEC-2013/09/B/NZ7/02563.

WSTĘPNA OCENA WYSTĘPOWANIA PRZECIWCIAŁ DLA SARS-COV-2 U PSÓW I KOTÓW W POLSCE

M. Smreczak, A. Orłowska, P. Trębas, J. Rola

Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Pandemia COVID 19 zapoczątkowana pod koniec 2019 r. w Chinach wzbudziła obawy, że zwierzęta towarzyszące mogą ulegać zakażeniu SARS-CoV-2 i stać się rezerwuarem wirusa. Zakażone zwierzęta mogą siać wirusa i tym samym zakażać inne zdrowe zwierzęta oraz ludzi. SARS-CoV-2 wykazuje zdolność do przekraczania bariery gatunkowej o czym świadczy przeskok wirusa z nietoperza na nieznanego żywiciela pośredniego, a następnie na człowieka. Wyniki badań eksperymentalnych dowiodły, że koty, fretki, jenoty, chomiki syryjskie oraz naczelnie są szczególnie wrażliwe na zakażenie SARS-CoV-2. Przeciwciała specyficzne dla wirusa wykryto również w surowicy krwi psów, u właścicieli których diagnozowano COVID 19. Zwierzęta ulegają efektywnemu zakażeniu, zwłaszcza na terenach o wysokim wskaźniku zachorowań na COVID-19 u ludzi i w wyniku odpowiedzi układu immunologicznego na infekcję produkują specyficzne przeciwciała dla wirusa.

Głównym celem badań była ocena występowania przeciwciał specyficznych dla SARS-CoV-2 w populacji zwierząt domowych w Polsce, a tym samym pośrednie określenie występowania zakażeń SARS-CoV-2 u tych zwierząt. Próbkę krwi pobierane były za zgodą właściciela podczas standardowych wizyt w przychodniach weterynaryjnych na terenie Krakowa, Warszawy, Poznania oraz Gdańska w okresie od lutego do maja 2021 r. Seroprewalencja została określona przy użyciu komercyjnego testu ID Screen® SARS-CoV-2 Double Antigen Multi-species ELISA (IDVet), a wyniki pozytywne zostały potwierdzone w teście ELISA: INGEZIM COVID 19 S VET (Eurofins-INGENASA S.A.) oraz teście seroneutralizacji wirusa (SARS-CoV-2 Surrogate Virus Neutralization Test (svNT) Kit, GenScript).

Ogółem przebadano 903 surowice krwi pobrane od 545 psów oraz 353 kotów. Przeciwciała specyficzne dla SARS-CoV-2 wykryto w 42 (4,65%) próbkach, w tym w 28 surowicach pobranych od psów (66,7% wszystkich seropozytywnych próbek) oraz 14 surowicach krwi kotów (33,3% wszystkich seropozytywnych próbek). Obecność specyficznych przeciwciał potwierdzono, w 16 (1,77% seroprewalencji, INGEZIM COVID 19 S VET) oraz 20 (2,2%, test seroneutralizacji wirusa) badanych próbkach.

W oparciu o przeprowadzone badania mało prawdopodobnym jest, aby zwierzęta towarzyszące mogły być rezerwuarem SARS-CoV-2 lub stanowić znaczące zagrożenie dla zdrowia publicznego.

Słowa kluczowe: SARS-CoV-2, seroprewalencja, zwierzęta towarzyszące, Polska

WPŁYW WYSTĘPOWANIA AFRYKAŃSKIEGO POMORU ŚWIŃ (ASF) NA PRODUKCJĘ TRZODY CHLEWNEJ W EUROPIE

G. Woźniakowski

*Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń, Polska*

Produkcja zwierzęca ma duże znaczenie gospodarcze w wielu krajach europejskich, w tym w Polsce. Pod względem produkcji trzody chlewnej na całym świecie obecnie utrzymuje się ponad 1,3 miliarda świń. Unia Europejska jest drugim co do wielkości producentem wieprzowiny z ponad 186 milionami świń rocznie. W Polsce, według danych EUROSTATU, w czerwcu 2020 r. ogólna liczba świń przekroczyła 11,43 mln, wykazując wzrost o 6,0% w porównaniu z analogicznym okresem roku poprzedniego. Obserwowane fluktuacje pogłowia świń związane są z brakiem zysku w produkcji głównie z powodu występowania chorób zakaźnych, z których najważniejszą jest afrykański pomór świń (ASF). Najbardziej zauważalny spadek produkcji wieprzowiny został zidentyfikowany w Niemczech i osiągnął 4,2% w porównaniu z okresem lat 2016 - 2020. Bardziej znaczący wpływ epizootii ASF zaobserwowano w Chinach i innych krajach azjatyckich, gdzie produkcja w tym samym okresie sprawozdawczym spadła o ponad 20%. W Polsce, według danych EUROSTATU, w czerwcu 2020 r. pogłowie trzody chlewnej przekroczyło 11 mln 432,6 tys., wykazując wzrost o 6,0% w porównaniu z analogicznym okresem roku poprzedniego. Wzrost pogłowia trzody nastąpił we wszystkich grupach produkcyjnych i użytkowych trzody chlewnej. Pogłowie świń w 2020 r. było o 6% wyższe niż w analogicznym okresie w 2019 r. ASF w Polsce od siedmiu lat stanowi poważne zagrożenie dla produkcji trzody chlewnej. Główne problemy w zwalczaniu ASF w Polsce wynikają z dużej gęstości populacji dzików oraz ograniczonych środków ograniczania tej populacji. Inne czynniki odpowiedzialne za rozprzestrzenianie się ASF na duże odległości są związane z działalnością człowieka i brakiem świadomości producentów trzody chlewnej. Obserwacje z siedmiu lat epidemii ASF w Polsce wskazują, że choroba nadal nie może być skutecznie kontrolowana w populacji dzików i może być w pewnym stopniu ograniczona w populacji świń domowych po zastosowaniu rygorystycznych środków bioasekuracji. Ponieważ nie ma skutecznej szczepionki przeciwko ASF, jedynym sposobem ograniczenia wpływu jego pojawienia się jest ścisłe wdrożenie środków bioasekuracji na wszystkich poziomach i rodzajach produkcji trzody chlewnej.

WPŁYW PANDEMII NA CZĘSTOTLIWOŚĆ ZLECANIA BADAŃ BAKTERIOLOGICZNYCH U ZWIERZĄT TOWARZYSZĄCYCH (PSY I KOTY)

M. Siedlecka, K. Płoneczka-Janeczko, K. Rypuła

Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

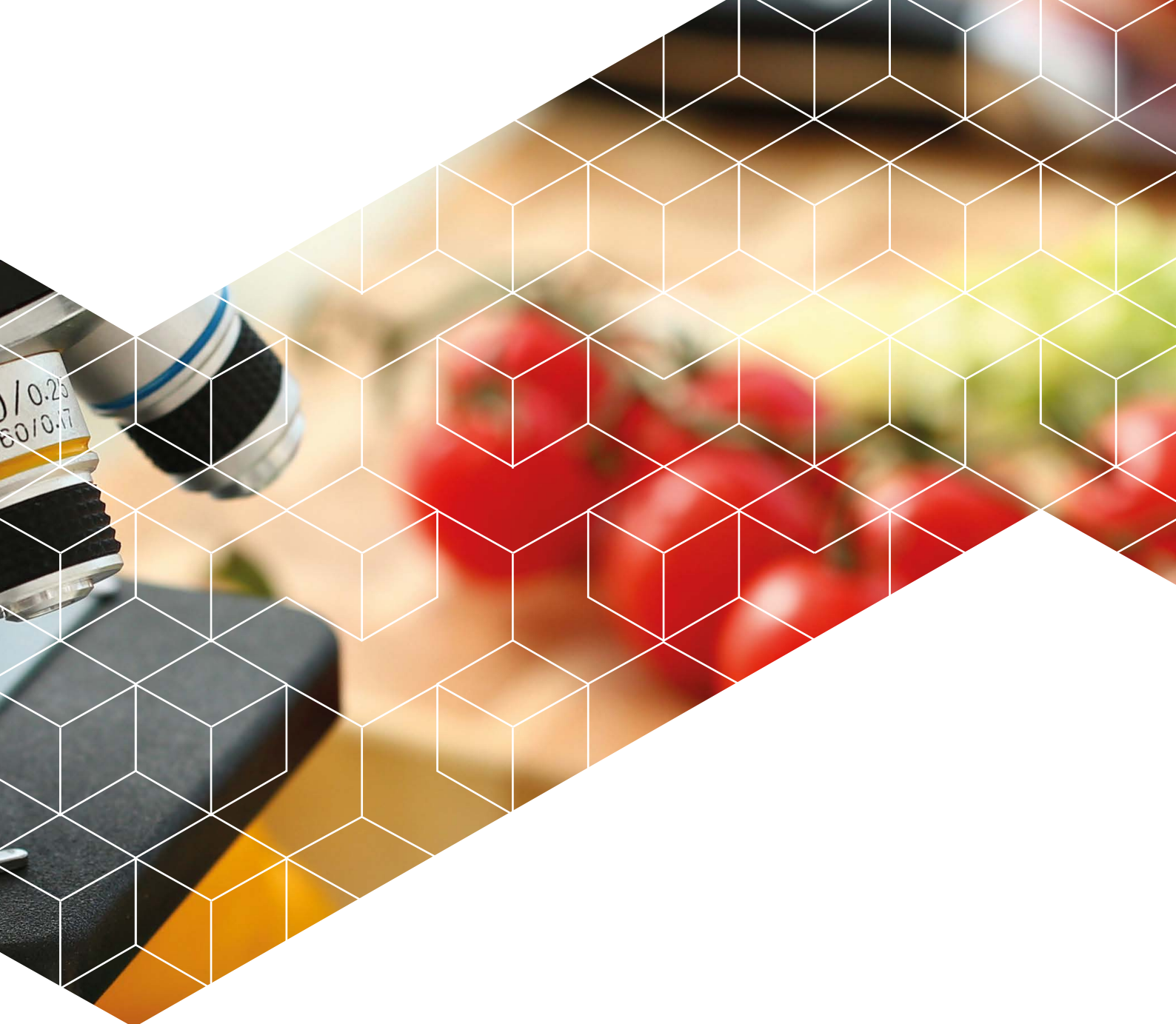
Pandemia COVID-19 i związane z nią ograniczenia wpłynęły na rzeczywistość wielu branż, w tym także weterynaryjną. Zmniejszona dostępność konsultacji lub wstrzymanie praktyk mogły rzutować na zmiany w obszarze diagnostyki laboratoryjnej.

Celem analiz było porównanie ilości zlecanych badań, wykonywanych w laboratorium „Epi-Vet” UPWr, obsługującym pacjentów klinik uczelni i zewnętrzne zakłady lecznicze dla zwierząt. Do analiz wybrano 2 okresy: od wybuchu pandemii w Polsce (04.03.2020) do 22.09.2021, oraz porównawczo ten sam okres w latach 2018-2019. W analizach retrospektywnych uwzględniono ilość zleconych badań: w skali rocznej, z podziałem na miesiące; w kierunku bakterii tlenowych, beztlenowych i grzybów, przyjmując podział na gatunki zwierząt towarzyszących (psy, koty).

Łączna ilość badań wykonanych dla psów i kotów w okresie pandemicznym i w latach 2018/2019 wynosiła odpowiednio 2210 oraz 2369. W okresie pandemicznym wykonano 1850 badań bakteriologicznych, a w okresie 2018/2019 - 1750. Mykologia w latach 2020/2021 objęła 360 analiz, a w 2018/2019 - 619. Dla psów w okresie 2020/2021 wykonano ogółem 1463 badania, a dla kotów 747 i było to odpowiednio o 112 i 47 mniej w stosunku do 2018/2019. W okresie pandemicznym u psów (84,28% vs. 74,15%) i u kotów (82,59% vs. 73,3%) wzrósł odsetek badań bakteriologicznych, a spadł mykologicznych (psy-15,72% vs. 25,85%; koty-17,41% vs. 26,7%). Udział posiewów w kierunku bakterii beztlenowych zarówno dla psów, jak i kotów był większy w okresie pandemicznym.

W pandemii odnotowano łącznie mniejszą ilość zlecanych badań, co przekładało się na aspekt ekonomiczny laboratorium. Częściej zlecano badania bakteriologiczne niż mykologię. Zmienił się również profil badań, które wykonywano częściej dla bakterii beztlenowych. Może to wynikać z większego udziału tej grupy bakterii w mikroflorze mieszanej, czemu sprzyjało prawdopodobne opóźnienie wizyt oraz dłużej stosowana terapia objawowa, na skutek ograniczeń społecznych. Niezależnie od okresu pandemii, widoczny jest wzrost ilości badań laboratoryjnych wykonywanych w czasie wakacji (czerwiec-sierpień).

Słowa kluczowe: zwierzęta towarzyszące, diagnostyka weterynaryjna, pandemia COVID-19



SESJA HIGIENY ŻYWNOŚCI I WETERYNARYJNEJ OCHRONY ZDROWIA PUBLICZNEGO



NEGATYWNY WPŁYW PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ NA KLIMAT – CZY MIĘSO *IN VITRO* BĘDZIE ROZWIĄZANIEM PROBLEMU?

J. Zarzyńska, R. Zabielski

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Produkcja zwierzęca odczuwa skutki zmian klimatu, ale również jest odpowiedzialna za obciążenie środowiska – poprzez zużycie wody, produkcję odpadów oraz emisję CO₂ i metanu przez zwierzęta gospodarskie. Zmniejszenie śladu węglowego generowanego przez rolnictwo i produkcję zwierzęcą ma kluczowe znaczenie dla ograniczenia negatywnych zmian klimatu. Wskazuje się konieczność dokonania zmian w systemie chowu zwierząt (w tym dobrostanu), zwiększenia roli prewencyjnych działań w aspekcie zdrowia zwierząt, adaptacji procesów produkcji żywności, ograniczenia ilości strat żywności oraz zwiększenie wykorzystania biomasy (gospodarka o obiegu zamkniętym). Unia Europejska w strategii europejskiego zielonego ładu zobowiązała się osiągnąć neutralność klimatyczną do 2050 r. Uwzględnia w niej zrównoważony model żywnościowy, gwarantujący zrównoważoną produkcję żywności, bezpieczeństwo żywnościowe i zwiększenie produkcji ekologicznej.

Jako działania adaptacyjne wskazuje się ograniczenie produkcji zwierzęcej, przejście na ekstenzywne systemy chowu, czy modyfikacje systemów paszowych. W aspekcie dostosowania produkcji do zmian klimatu nie należy zapominać o konsumencie - decyzjach konsumenckich w zakresie modyfikacji nawyków żywieniowych, ograniczeniu nadkonsumpcji i marnotrawstwa żywności. Mówi się o tzw. paradoksie mięsa, w którym tradycja jedzenia mięsa walczy z obiekcjami etycznymi. Ograniczenie spożycia mięsa pozwoliłoby zmniejszyć obciążenie środowiskowe. Pojawiły się nowe trendy konsumencie, jak „flexitarianizm”, czy „conscientious omnivorism”. Jednocześnie poszukuje się innych źródeł białka zwierzęcego (np. z owadów). Bardzo promowanym trendem w kontekście ekologii i dobrostanu zwierząt jest produkcja mięsa *in vitro*, nazywanego również w literaturze anglojęzycznej „animal-free meat”, hodowanego w warunkach laboratoryjnych z komórek macierzystych. W nim upatruje się rozwiązania problemów środowiskowych związanych z produkcją zwierzęcą – jednak z naukowego punktu widzenia należy wziąć pod uwagę także zagrożenia, problemy technologiczne związane z produkcją masową, a także akceptowalność konsumencką.

Słowa kluczowe: zmiana klimatu, produkcja zwierzęca, ślad węglowy, Zielony łąd, mięso *in vitro*

OCENA JAKOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ RYB WĘDZONYCH WPROWADZANYCH DO OBROTU W POLSCE

M. Ziomek, K. Szkucik, R. Pysz-Lukasik, M. Maćkowiak-Dryka

Katedra Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Tkanka mięśniowa ryb względu na wyższą zawartość wody jak również podwyższoną temperaturę po wyłowieniu podatna jest na proces psucia. Rozpoczyna się on niezwłocznie po uśmierceniu na drodze enzymatycznego trawienia i rozkładu bakteryjnego. Największą rolę w procesie psucia się ryb odgrywa rozkład mikrobiologiczny. Po uśmierceniu, bakterie ze skóry i skrzelii przedostają się do tkanki mięśniowej powodując jej rozkład. Wędzenie jest metodą utrwalania polegającą na działaniu temperatury i przenikaniu do tkanki substancji konserwujących wytwarzanych w procesie spalania drewna. Podczas wędzenia mikroorganizmy zarówno saprofityczne jak i chorobotwórcze są eliminowane, niemniej jednak ryby wędzone mogą być źródłem niektórych bakterii chorobotwórczych tj. *L. monocytogenes*, *Salmonella* czy *Staphylococcus*, których obecność wynika z zanieczyszczenia produktu na terenie zakładu. Niehigieniczne postępowania z produktem gotowym jest również przyczyną wzrostu zanieczyszczenia mikrobiologicznego ryb wędzonych.

Materiał do badań stanowiło 5 gatunków ryb wędzonych: karmazyn, makreła, dorsz, szprot i śledź. Ryby poddane były wędzeniu na gorąco po czym zostały schłodzone i przechowywane w temperaturze 4°C. Celem przeprowadzonych badań była ocena jakości mikrobiologicznej ryb wędzonych trafiających do obrotu. Określano ogólną liczbę bakterii tlenowych, liczbę drobnoustrojów psychrofilnych, liczbę gronkowców koagulazododatnich, obecność *L.monocytogenes* i *Salmonella*. Do badań pobrano tkankę mięśniową ryb z okolicy grzbietu. Z każdego gatunku przebadano 10 próbek (n=10) pobranych losowo.

Największe zanieczyszczenie bakteriami tlenowymi stwierdzono w tkance mięśniowej karmazyna (3,63 log₁₀ jtk/g) było ono istotnie wyższe w porównaniu z pozostałymi badanymi rybami, gdzie wartość wynosiła średnio 2,36 log₁₀ jtk/g. Najwyższe zanieczyszczenie drobnoustrojami psychrofilnymi stwierdzono również w tkance mięśniowej karmazyna wynosiło ono 3,04 log jtk/g, a najniższe w tkance mięśniowej śledzia - 1,13 log₁₀ jtk/g, u pozostałych gatunków było porównywalne i wynosiło średnio 2,86 log₁₀ jtk/g. Gronkowce koagulazododatnie w największej liczbie stwierdzono w tkance mięśniowej karmazyna - 2,56 log₁₀ jtk/g i makreli - 2,13 log₁₀ jtk/g u pozostałych gatunków ryb stwierdzono średnio 1,25 log₁₀ jtk/g. Badanie w kierunku wykrycia bakterii z rodzaju *Salmonella* i *L.monocytogenes* nie wykazało obecności tych drobnoustrojów w badanych próbkach.

Słowa kluczowe: ryby wędzone, *Listeria*, *Salmonella*

WYSTĘPOWANIE *LISTERIA MONOCYTOGENES* W ŻYWNOŚCI ZWIERZĘCEGO POCHODZENIA

W. Paszkiewicz¹, R. Pyz-Łukasik¹, M. Ziomek¹, A. Piróg-Komorowska², A. Policht²

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Zakład Higieny Weterynaryjnej, Kraków, Polska

Według raportów EFSA i ECDC listerioza jest jedną z pięciu najczęściej odnotowywanych zoonoz na terenie UE. W latach 2011-2019 wśród ludności UE liczba potwierdzonych przypadków listeriozy wzrosła z 1516 do 2621, natomiast wskaźnik zachorowalności zwiększył się z 0,36 do 0,46 na 100000, a liczba zgonów wzrosła ze 134 do 300. Zgodnie z prawem żywnościowym w zależności od rodzaju żywności kryterium bezpieczeństwa jest brak *L. monocytogenes* lub limit 100 jtk/g w ciągu całego okresu przydatności do spożycia.

W zestawieniu uwzględniono wyniki badań w kierunku obecności *L. monocytogenes* w próbkach żywności zwierzęcego pochodzenia oraz w wymazach z powierzchni produkcyjnych przeprowadzonych w latach 2014-2018 w Zakładzie Higieny Weterynaryjnej w Krakowie. Próbki do badań pochodziły z zakładów produkcyjnych nadzorowanych przez Inspekcję Weterynaryjną w ramach urzędowych kontroli i z zakładów produkcyjnych w ramach badań zleconych. Oznaczenie obecności i identyfikację *L. monocytogenes* przeprowadzono zgodnie z metodyką określoną w PN-EN ISO 11290-1:1999 i PN-EN ISO 11290-1: 2017-07. Ponadto wszystkie badane izolaty zostały poddane identyfikacji metodą PCR.

Tabela 1. Zestawienie wyników badań próbek żywności zwierzęcego pochodzenia w kierunku *L. monocytogenes*.

Liczba próbek	2014	2015	2016	2017	2018	Razem
Zbadanych	1743	2780	2778	2687	3515	13503
Dodatnich/% zbadanych w tym:	31/1,8	36/1,3	50/1,8	21/0,8	56/1,6	194/1,4
- mięsa i produktów mięsnych/% dodatnich	21/67,7	27/75	35/70,0	14/66,7	40/71,4	137/70,6
- produktów rybołówstwa/% dodatnich	3/9,7	0/0	1/2,0	0/0,0	0/0,0	4/2,1
- produktów mlecznych/% dodatnich	2/6,5	2/5,6	7/14,0	4/19,0	9/16,1	24/12,4
- wymazów/% dodatnich	5/16,1	7/19,4	7/14,0	3/14,3	7/12,5	29/14,9

Wyniki badań wskazały, że odsetek zanieczyszczonych *L. monocytogenes* próbek żywności zwierzęcego pochodzenia w latach 2014-2018 utrzymywał się na zbliżonym poziomie i zawierał się w przedziale od 0,8% do 1,8%. W porównaniu do danych przedstawionych w raporcie EFSA w tych samych latach odsetek zanieczyszczonych, w zależności od kategorii żywności, zawierał się w przedziale od 0,1% do 14,3%.

Słowa kluczowe: *Listeria monocytogenes*, bezpieczeństwo żywności, kryteria mikrobiologiczne

WYSTĘPOWANIE I STABILNOŚĆ GENÓW ENTEROTOKSYN GRONKOWCÓW KOAGULAZOUJEMNYCH

S. Banaszkiewicz, E. Wałęcka-Zacharska, J. Schubert, J. Król, J. Bania

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Enterotoksyny *Staphylococcus aureus* (SE) stanowią przyczynę gronkowcowych zatruć pokarmowych. Nowe doniesienia wykazały zdolność gronkowców koagulazoujemnych (CoNS) do wytwarzania enterotoksyn. Wśród 191 izolatów CoNS pochodzących z żywności oraz wymazów z jamy nosowej świń, określono występowanie ortologów genów SE *S. aureus*. Amplikony odpowiadające SE stwierdzono w 29 izolatach CoNS, a ich sekwencje zidentyfikowano jako elementy genów enterotoksyn *S. aureus* lub *S. epidermidis*. Za pomocą qPCR określono względną liczbę kopii amplikonów SE w enterotoksycznych CoNS oraz w referencyjnych szczepach *S. aureus* i *S. epidermidis*. Amplikony *sec* w trzech izolatach *S. epidermidis* wykazywały względne liczby kopii porównywalne z *sec* w referencyjnych *S. aureus* i *S. epidermidis*. Względna liczba kopii amplikonów *sea*, *seb*, *sec* i *seh* w pozostałych izolatach CoNS była 1 050–3 461 012 krotnie niższa niż w *S. aureus* i *S. epidermidis*. Kolejne pasażę CoNS posiadających niskie liczby kopii *sea*, *seb*, *sec* i *seh* w podłożach mikrobiologicznych wywołały spadek liczby tych amplikonów, w przeciwieństwie do trzech izolatów *S. epidermidis* posiadających wysoką liczbę kopii *sec*, które pozostawały stabilne podczas pasażowania. W genomach tych izolatów *S. epidermidis* stwierdzono obecność genu *sec*. W genomach izolatów CoNS cechujących się niską liczbą kopii amplikonów SE nie zidentyfikowano obecności genów SE, ani elementów genetycznych mogących zawierać te geny.

Słowa kluczowe: enterotoksyny gronkowcowe, gronkowce koagulazoujemne, stabilność, PCR, horyzontalny transfer genów

Badania zostały sfinansowane ze środków projektu NCN: 2015/19/B/NZ7/00447.

CZY TOKSYNY *S. EPIDERMIDIS* SĄ ENTEROTOKSYCZNE? BADANIA *IN VITRO* NA MYSZACH

A. Tabiś¹, M. Gonet¹, J. Schubert¹, A. Miązek², A. Tomaszek¹, M. Nowak¹, J. Bania¹

¹Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda PAN, Wrocław, Polska

Enterotoksyny gronkowcowe to wysoce termostabilne i odporne na działanie enzymów proteolitycznych białka, produkowane głównie przez *S. aureus*, gatunek zaliczany do gronkowców koagulazododatnich. Enterotoksyny gronkowcowe mają działanie pirogenne i enteropatogenne, dlatego też są przyczyną wielu zaburzeń zdrowia ludzi, w tym gronkowcowych zatruc pokarmowych, zespołu wstrząsu toksycznego i innych. Zgodnie z prawem europejskim podlegają one kontroli w żywności pochodzenia zwierzęcego jedynie wtedy, kiedy w produktach stwierdza się obecność gronkowców koagulazododatnich. Z nielicznych doniesień wynika, że gatunek zaliczany do grupy gronkowców koagulazoujemnych, tj. *S. epidermidis* jest zdolny do wytwarzania enterotoksyn. *S. aureus* w podłożach mikrobiologicznych, mleku i soku mięsny. Chociaż sekwencje aminokwasowe enterotoksyn *S. epidermidis* są podobne do sekwencji enterotoksyn *S. aureus*, to białka te różnią się w niektórych pozycjach aminokwasowych. Nerozstrzygnięte pozostaje czy różnice te wpływają na enteropatogenną aktywność enterotoksyn *S. epidermidis*.

Myszom BALB/C (7 osobników w grupie) zostały podane dożołądkowo rekombinowane enterotoksyny: SEC₃, SEC_{epi}, SEL i SEL_{epi} oraz PBS (grupa kontrolna). Po 4h, 24h oraz 48h od podania zwierzęta zostały poddane eutanazji, a jelita, śledziona oraz węzły chłonne krezkowe zostały poddane analizie cytometrycznej. Z jelit dodatkowo wykonano preparaty histologiczne.

Wykazano, że zarówno toksyny produkowane przez *S. aureus* jak i *S. epidermidis* wpływają na istotne skrócenie kosmków jelitowych oraz krypt jelitowych w różnych odcinkach jelita cienkiego. Ponadto widoczne są zmiany w morfologii jelita. Toksyny są również zdolne do aktywacji (marker CD69) limfocytów śródłonkowych oraz tych zlokalizowanych w narządach limfatycznych (węzły chłonne krezkowe, śledziona). Zaobserwowano również zwiększenie ekspresji markera wczesnej proliferacji (CD71) na limfocytach pod wpływem działania badanych enterotoksyn toksyn gronkowcowych.

Słowa kluczowe: enterotoksyny gronkowcowe, zatrucie pokarmowe, gronkowce koagulazoujemne, SEC, SEL

Badania zostały sfinansowane ze środków projektu NCN 2017/27/NZ/00715.

EFEKTYWNY ALGORYTM KONTROLI WŁAŚCIWEGO UŻYCIA SUBSTANCJI DODATKOWYCH W SUROWYCH WYROBACH MIĘSNYCH I PRODUKTACH MIĘSNYCH

K. Czech-Załubska^{1,2}, A. Jackowska-Tracz¹, K. Anusz¹

¹*Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Polska*

²*Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Krakowie, Kraków, Polska*

Stosowanie substancji dodatkowych w żywności podlega ścisłym regulacjom prawnym. Ich nieautoryzowane użycie stanowi zagrożenie dla zdrowia ludzi. Polska znajduje się wśród krajów o najwyższym spożyciu przetworzonego mięsa, które jest jedną z przyczyn występowania chorób, takich jak cukrzyca, otyłość, choroba wieńcowa oraz nowotwory. Wdrożenie efektywnego algorytmu postępowania pozwoli na wybór do kontroli asortymentów o najwyższym priorytecie, wyznaczanym w oparciu o analizę ryzyka. Doprowadzi to do podniesienia bezpieczeństwa żywności przy zastosowaniu tych samych sił i środków.

Ocenie właściwego użycia poddano substancje dodatkowe, które zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności mogą być używane do produkcji surowych wyrobów mięsnych i produktów mięsnych. W celu zidentyfikowania substancji dodatkowych wykorzystywanych przez polskich producentów oraz określenia częstości ich występowania, dokonano analizy etykiet asortymentów pozyskanych w 17 miastach w Polsce, w 5 sieciach handlowych wyróżniających się największym udziałem w rynku. W celu określenia priorytetu dla poszczególnych substancji dodatkowych dokonano oceny każdej z nich w pięciu obszarach, którym przyporządkowano współczynnik wagowy. Umożliwi to wdrożenie algorytmu, który zobiektywizuje postępowanie kontrolne w zakładach przemysłu mięsnego. W celu pełniejszego określenia kolejności typowanych do kontroli asortymentów, w algorytmie uwzględniono także aspekty dotyczące systemu HACCP, niezgodności oraz liczby źródeł dodatków.

Zidentyfikowano 78 substancji dodatkowych stosowanych przez polskich producentów w przetworzonym mięsie. Ponad 90 % analizowanych asortymentów zawierało minimum jeden dodatek do żywności, podczas gdy 64,5 % zawierało co najmniej 3 dodatki do żywności, a 15% co najmniej 9. Do grupy dodatków o najwyższym priorytecie zakwalifikowany został między innymi azotyn sodu, który jest najczęściej występującą substancją dodatkową w polskich produktach mięsnych. Analiza etykiet ujawniła również przypadki nieautoryzowanego użycia dodatków do żywności.

Słowa kluczowe: surowe wyroby mięsne, produkty mięsne, substancje dodatkowe, algorytm kontroli

Badania finansowane z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki.

WYKORZYSTANIE BIAŁEK OSTREJ FAZY JAKO BIOMARKERA W DIAGNOSTYCE GRUŹLICY U ŻUBRÓW

A. Didkowska¹, B. Orłowska¹, M. Krajewska-Wędzina², W. Olech¹, K. Anusz¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Diagnostyka gruźlicy u zwierząt, a szczególnie gatunków wolno żyjących wciąż pozostaje dużym wyzwaniem. Poszukiwane są biomarkery, które mogłyby stanowić dodatkowe narzędzie w diagnostyce gruźlicy. Przykładowo u bydła zakażonego *Mycobacterium bovis* stwierdzono wzrost stężenia haptoglobiny i surowiczego amyloidu A w surowicy. Podwyższone stężenie haptoglobiny w przebiegu gruźlicy bydłowej stwierdzono niedawno także u jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*). Celem pracy była wstępna ocena przydatności pomiaru wybranych białek ostrej fazy w diagnostyce gruźlicy u żubra (*Bison bonasus*).

Materiał pochodził z kolekcji surowic Katedry Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie oraz Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach. Materiał stanowiła surowica pobrana przez lekarzy weterynarii z żyły szyjnej zewnętrznej (*vena jugularis externa*) od 13 żubrów w latach 2015-2018. Próbkę surowicy zostały wyselekcjonowane z archiwum na podstawie dodatniego wyniku zwierząt w badaniu mikrobiologicznym w kierunku gruźlicy. Protokoły z sekcji zwłok wykazały, że jeden z żubrów miał uogólnione zmiany gruźlicze. Zmiany anatomopatologiczne u pozostałych osobników były ograniczone do jednej okolicy ciała.

Próbki surowicy rozmrożono i doprowadzono do temperatury pokojowej. Następnie zostały one przebadane metodą fotometryczną, w kierunku dwóch wybranych białek ostrej fazy: haptoglobiny oraz surowiczego amyloidu A. Wyniki zostały porównane do norm referencyjnych dla bydła.

U trzech (23.08%) z 13 żubrów stężenie haptoglobiny osiągnęło stężenie przekraczające wartość referencyjną dla bydła. Stężenie surowiczego amyloidu A powyżej normy dla bydła uzyskano jedynie u jednego osobnika. Był to żubr z uogólnioną gruźlicą.

Obecnie brak jest wyznaczonych wartości referencyjnych białek ostrej fazy dla żubrów, a jedynie przeprowadzono wstępne badania w tym kierunku. Uzyskane wyniki pokazują, że ceruloplazmina i surowiczy amyloid A nie mogą być używane jako specyficzne biomarkery do diagnostyki gruźlicy u żubrów, ale szczególnie osobników z uogólnioną gruźlicą mogą służyć jako pomocnicze narzędzie diagnostyczne. Potrzebne są dalsze badania w tym kierunku.

Słowa kluczowe: białka ostrej fazy, ceruloplazmina, diagnostyka, gruźlica, surowiczy amyloid A, żubr

Badania finansowane przez projekt "Kompleksowa ochrona żubra przez Lasy Państwowe" finansowanego przez Fundusz Leśny Lasów Państwowych, numer grantu OR.271.3.10.2017.

BADANIE SEROLOGICZNE W KIERUNKU GORĄCZKI Q U OWIEC Z WOJEWÓDZTWA MAŁOPOLSKIEGO

M. Roman¹, P. Stachura¹, A. Didkowska¹, P. Żmuda², K. Anusz¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Kraków, Polska

Gorączka Q jest groźną chorobą ludzi, zwierząt domowych oraz dzikich. Czynnikiem etiologicznym jest bakteria *Coxiella burnetti*. Jest to patogen bezwzględnie wewnątrzkomórkowy, cechujący się zbliżoną do bakterii Gram-ujemnych budową ściany komórkowej. U ludzi do zakażenia *C. burnetti* wystarczy niewielka liczba komórek bakteryjnych. Źródłem zakażenia są zwykle roniące przeżuwacze (najczęściej kozy i owce). Do zakażenia u ludzi dochodzi zwykle drogą wziewną, a także poprzez spożycie surowego mleka lub przetworów mlecznych. Celem badania było określenie statusu serologicznego owiec z województwa małopolskiego w kierunku przeciwciał anty-*C. burnetti*.

Badanie obejmowało sto maciorek z pięciu różnych stad w wieku od 1 roku do 10 lat na terenie województwa małopolskiego. Do analizy pobrano krew z żyły szyjnej zewnętrznej do jałowych probówek i w temperaturze 4°C dostarczono do laboratorium. Następnie krew została odwirowana w celu uzyskania surowicy. Do badania serologicznego wykorzystano pośredni test immunoenzymatyczny BIO K 298/2 firmy Bio-X Diagnostics. Test wykonano zgodnie z instrukcją od producenta dołączoną do zestawu.

Wyniki dodatnie uzyskano u pięciu maciorek w wieku od 3 do 9 lat z trzech różnych stad. Oznacza to, iż u 5% przebadanych owiec w surowicy krwi znajdowały się przeciwciała anty-*Coxiella burnetti*.

Przeprowadzone badanie serologiczne wskazuje, iż gorączka Q aktualnie nie jest problemem u owiec na badanym terenie. Niemniej jednak, biorąc pod uwagę fakt, że jest to zoonoza, która może przybrać ciężki przebieg obejmujący między innymi zapalenie wsierdzia oraz płuc u ludzi, warto podobne badania wykonywać w przyszłości. Kolejnym argumentem za wykonywaniem badań serologicznych w kierunku gorączki Q u owiec jest fakt, iż *C. burnetti* jest czynnikiem wywołującym ronienia u maciorek, co przekłada się na straty hodowlane oraz ekonomiczne. U osobników serododatnich wskazane byłoby przeprowadzenie badań molekularnych.

Słowa kluczowe: owce, gorączka Q, zoonoza, *Coxiella burnetti*, małopolska, ronienia

PTAKI WOLNO ŻYJĄCE JAKO ŹRÓDŁO PATOGENNYCH SZCZEPÓW *CAMPYLOBACTER* SPP.

B. Wysok, T. Stenzel, M. Sołtysiuk

Uniwersytet Warmiński – Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Ptaki wolno żyjące mogą być nosicielami wielu drobnoustrojów, które powodują choroby u zwierząt i ludzi. Współistnienie ptaków wolno żyjących i człowieka w środowisku miejskim i rolniczym ułatwia przenoszenie chorób odzwierzęcych. W ostatnich latach narastającym problemem epidemiologicznym jest kampylobakterioza, zakażenie przewodu pokarmowego, wywołane przez bakterie z rodzaju *Campylobacter*.

Celem podjętych badań było określenie, czy ptaki wolno żyjące mogą stanowić rezerwuar patogennych szczepów *Campylobacter*, rozprzestrzeniając te bakterie na innych żywicieli lub bezpośrednio przyczyniając się do zakażenia człowieka.

Ogółem badaniu poddano 91 wymazów z kloaki ptaków z gatunków kaczka krzyżówka (*Anas platyrhynchos*, n = 61), cyraneczka zwyczajna (*Anas crecca*, n = 6), gęś gęgawa (*Anser anser*, n = 8), gęś białoczelna (*Anser albifrons*, n = 11) oraz gęś zbożowa (*Anser fabalis*, n = 5). W celu izolacji *Campylobacter* spp. zastosowano płynną pożywkę wg Boltona oraz agar selektywny mCCDA (zmodyfikowaną pożywkę agarową z węglem drzewnym, cefoperazonem i dezoksycholanem) oraz Karmali. Ponadto oceniono zróżnicowanie genetyczne pozyskanych szczepów w oparciu o sekwencjonowanie zmiennego fragmentu genu *flaA* (*flaA*-SVR). Istotnym elementem podjętych badań była także identyfikacja genotypowych markerów wirulencji oraz ocena antybiotykooporności wśród wyosobnionych izolatów *Campylobacter*.

Obecność *Campylobacter* spp. stwierdzono w 30 (32,9%) próbkach, przy czym wskaźnik występowania sięgał od 45,5% u gęsi białoczelnej do 32,8% u kaczki krzyżówki. W żadnej z próbek pozyskanych od cyraneczki zwyczajnej nie wykazano obecności tego patogenu. Dominującym gatunkiem był *C. jejuni*, którego obecność stwierdzono w 93,3% próbek. Wśród wyosobnionych izolatów wykazano powszechne występowanie genów związanych z adhezją (*flaA*, *cadF*, *racR*, *docA* oraz *dnaJ*), inwazją (*ciaB*, *pldA*) oraz genów determinujących produkcję cytotoksyny wydłużającej komórki (*cdtA*, *cdtB* oraz *cdtC*). Analiza profili oporności, przeprowadzona metodą dyfuzyjno-krążkową wykazała, że 16,7% (5/30) wyosobnionych szczepów było opornych na trzy różne klasy substancji przeciwdrobnoustrojowych. Ponadto przeprowadzone badania wskazały, że ptaki wolno żyjące zasiedlające obszary miejskie mają wyższą oporność na antybiotyki w porównaniu z ptakami z obszarów podmiejskich. Otrzymane wyniki badań wskazują, że ptaki wolno żyjące mogą przyczyniać się do rozprzestrzeniania w środowisku patogennych szczepów *Campylobacter*.

Słowa kluczowe: *Campylobacter*, ptaki wolno żyjące, antybiotykooporność, wirulencja

WPŁYW SYSTEMU UTRZYMANIA TRZODY CHLEWNEJ NA CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA PRZECIWCIAŁ PRZECIWKO *TOXOPLASMA GONDII*

M. Puchalska, J. Wiśniewski, K. Anusz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Spożywanie surowego lub niedogotowanego mięsa jest uważane za jedną z najważniejszych dróg zarażenia *Toxoplasma gondii*. Na liczbę zarażonych świń w stadzie istotny wpływ mają warunki utrzymania zwierząt. Obecnie obserwuje się coraz większe zainteresowanie konsumentów mięsem pochodzącym od zwierząt utrzymywanych w tzw. „systemach przyjaznych”, zapewniających zwierzętom możliwość kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym, a tym samym zwiększają ryzyko zarażenia *T. gondii*.

Próbki surowic pochodzące od 167 tuczników z gospodarstw o wysokich standardach higienicznych, 115 tuczników pochodzących z gospodarstw o niskich standardach higienicznych, 40 tuczników z gospodarstwa o wysokim poziomie bioasekuracji oraz 116 tuczników z gospodarstw ekologicznych zbadano za pomocą komercyjnego testu ELISA (PrioCHECK® *Toxoplasma* Ab porcine) przeznaczanego do wykrywania przeciwciał przeciwko *T. gondii* w próbkach surowicy, osocza i soku mięsnego, pochodzących od świń.

Obecność specyficznych przeciwciał najczęściej stwierdzano u tuczników z gospodarstw ekologicznych (61 ze 116 badanych zwierząt; 52,6%), następnie u tych z gospodarstw o niskich standardach higienicznych (47 ze 115 badanych zwierząt; 40,9%) i gospodarstw o wysokich standardach higienicznych (9 ze 167 badanych zwierząt; 5,4%). Obecności przeciwciał przeciwko *T. gondii* nie stwierdzono u żadnego spośród 40 tuczników pochodzących z gospodarstwa o wysokim poziomie bioasekuracji. Obecność przeciwciał przeciwko *T. gondii* częściej była stwierdzana u świń z gospodarstw ekologicznych i tych, o niskich standardach higienicznych. Mięso pochodzące od seropozytywnych świń stanowi potencjalne źródło zarażenia tym pasożytem dla konsumentów.

Słowa kluczowe: *Toxoplasma gondii*, trzoda chlewna, przeciwciała, systemy utrzymania, ELISA

KACZKA KRZYŻÓWKA (*ANAS PLATYRHYNCHOS*) JAKO BIOINDYKATOR WYSTĘPOWANIA ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI U *SALMONELLA* SPP.

J. Pławińska-Czarnak¹, Z. Bełkot², K. Wódz³, E. Skorek¹, J. Bogdan¹, J. Wiśniewski¹, K. Anusz¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

³Vet-Lab Brudzew, Brudzew, Polska

Kaczka krzyżówka (*Anas platyrhynchos*) zwana dziką kaczką powszechnie występuje w Polsce. Zamieszkuje tereny dzikiej przyrody i aglomeracje miejskie w okolicach zbiorników wodnych. Prowadzi osiadły lub wędrujący tryb życia, dlatego jest doskonałym bioindykatorem występowania lekooporności u bakterii w środowisku lokalnym i transgranicznym.

Materiał do badań pobrano od 17 kaczek odstrzelonych w obszarze 2 terenów łowieckich Lubelszczyzny. Od jednej kaczki pobrano 3 próbki (frag. jelita, mięśni i wątroby) w celu izolacji *Salmonella* sp. postępowano zgodnie z EN ISO 6579-1:2017 oraz schematem White'a-Kauffmanna-Le Minora. Wykonano różnicowanie *Salmonella* Typhimurium i *Salmonella* Enteritidis przy użyciu dostępnych testów Real-Time PCR firmy Kylt (Anicon, Niemcy). Do oznaczenia lekowrażliwości zastosowano metodę MIC z użyciem 96-dołkowych płytek MICRONAUT Special Plates, podłoża Mueller Hinton Bulion z kationami (Graso, Polska) i oprogramowania Merlin MICRONAUT (MERLIN, Niemcy). Inkubację prowadzono w temp. 37 °C, 24 godz. Wykonano oznaczenia dla 25 chemioterapeutyków: amoksycyliny, amoksycyliny z kwasem klawulanowym, cefkuinonu, ceftiofuru, cefaleksyny, kloksacyliny, kolistyny, cefapiiryny, doksycykliny, enrofloksacyny, erytromycyny, florfenikolu, gentamycyny, linkomycyny, linkomycyny ze spektinomycyną, nafcyliny, neomycyny, norfloksacyny, oksytetracykliny, penicyliny G, streptomycyny, trimetoprimu z sulfametoksazolem, tiamuliny, tylozyny i tylwalozyny.

Wyizolowano 7 szczepów *Salmonella* spp. 4 szczepy *Salmonella* Enteritidis, 2 szczepy *Salmonella* Typhimurium i 1 szczep *Salmonella* Derby.

Wszystkie badane szczepy pałeczek *Salmonella* wykazały oporność na 13 środków przeciwdrobnoustrojowych (min. erytromycyna, gentamycyna, linkomycyna, nafcylina, neomycyna, penicylina G, streptomycyna, tiamulina) i wrażliwość na cefkuinon i kolistynę.

Biorąc pod uwagę powszechnie znaną koncepcję dbałości o „One Health - Jedno Zdrowie”, która odnosi się zarówno do ochrony zdrowia człowieka jak i zwierząt, uwzględniając wpływ środowiska na ludzi i zwierzęta, Światowa Organizacja Zdrowia stawia problem patogenów opornych na antybiotyki jako jedno z głównych wyzwań zdrowotnych XXI wieku.

Nasze wstępne badania pokazują, że zwierzęta wolno żyjące pełnią ważną rolę w rozprzestrzenianiu się drobnoustrojów opornych na wiele leków.

Słowa kluczowe: *Salmonella* spp., lekooporność, dzika kaczka

ALTERNATYWNE METODY KONTROLI STOSOWANIA ANTYBIOTYKÓW U ZWIERZĄT HODOWLANÝCH

A. Gajda

Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Kontrola stosowania leków weterynaryjnych jest ważnym elementem w hodowli zwierząt. W praktyce leki przeciwbakteryjne obok wskazań terapeutycznych, mogą być również bez uzasadnienia, nielegalnie stosowane w profilaktyce. W konsekwencji nadużywanie antybiotyków u zwierząt, może prowadzić do występowania ich pozostałości w żywności. Mając na uwadze istniejące zagrożenia, poszukuje się nowych, nieinwazyjnych metod przyżyciowej kontroli obecności antybiotyków u świń i u drobiu, pozwalających określić czy w trakcie hodowli antybiotyki stosowane były zgodnie z zaleceniami lekarza weterynarii.

Dotychczas, antybiotyki u zwierząt od których pozyskuje się żywność badane są głównie w tkankach w ramach Krajowego Programu Badań Kontrolnych Pozostałości Chemicznych. Jednak badania te nie dają możliwości przyżyciowego monitorowania stosowania antybiotyków na fermach zwierząt gospodarskich.

Alternatywnym rozwiązaniem dla badania tkanek u świń w kontroli stosowania leków weterynaryjnych wydaje się być wykorzystanie płynu ustnego. W badaniach własnych wykazano przenikanie i możliwość wykrywania w płynie ustnym oksytetracykliny, sulfadoksyny, trimetoprimu, linkomycyny, tiamuliny, tylozyny, amoksycyliny po ich terapeutycznym podaniu świnom. W przypadku oksytetracykliny wykazano dużą zależność pomiędzy stężeniami w płynie ustnym i w tkankach w dniu karencji zastosowanego leku. U drobiu najmniej inwazyjnym narzędziem do walki z nielegalnym stosowaniem antybiotyków wydaje się być badanie piór kurzych. Po doświadczalnym podaniu doksycykliny broilerom kurzym, wykrywano wysokie stężenia antybiotyku utrzymujące się przez długi okres czasu. Znaczną zaletą badania piór jest rozpoznanie i odtworzenie częstotliwości aplikowania leków u ptaków oraz rozróżnienie legalnego, zgodnie ze wskazaniami podawania od nielegalnego, subterapeutycznego stosowania antybiotyków. Pióra kurze jako składnik pasz mogą być źródłem przedostawania się antybiotyków do łańcucha żywnościowego. W celu kontroli stosowania leków weterynaryjnych, przyżyciowo badana jest także woda przeznaczona do pojenia zwierząt. Jednakże, badania wody pozwalają na określenie źródła kontaminacji ewentualnie występującymi lekami, a nie ich pozostałości w organizmie zwierząt.

Słowa kluczowe: antybiotyki, kontrola, alternatywne metody, drób, świnie

MONITORING WYSTĘPOWANIA ŚRODKÓW PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH W ŻYWNOSCI I WODZIE – METODY SKRININGOWE

M. Łuszczynska, M. Gołaś-Prądyńska, M. Łucjanek, J. G. Rola

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Zgodnie z zaleceniami Europejskiej Agencji Leków (EMA) ważne jest racjonalne stosowanie antybiotyków w medycynie weterynaryjnej, ale potrzebny jest również monitoring antybiotyków w żywności i wodzie. EMA podzieliła antybiotyki na cztery kategorie, w weterynarii antybiotyki z kategorii D powinny być stosowane jako preparaty pierwszego rzutu, natomiast te z kategorii C powinny być stosowane w przypadku braku skutecznego klinicznie zamiennika z kategorii D.

W ramach krajowych programów kontroli pozostałości antybiotyków (grupa B1), w latach 2018-2020 zbadano metodami skринingowymi 2176 próbek, w tym żywność pochodzenia zwierzęcego (1093), pochodzącą z województwa lubelskiego oraz próbki wody do pojenia zwierząt (1083) pochodzące z województwa lubelskiego i podkarpackiego. Do badania próbek mleka wykorzystano: metodę receptorową – 4Sensor BSCT KIT060 i dyfuzyjną metodę mikrobiologiczną – Delvotest SP NT, a do badania tkanek zwierzęcych i wody wykorzystano dyfuzyjną metodę mikrobiologiczną – metodę 5-płytkową.

Metodami skринingowymi pozostałości substancji przeciwbakteryjnych wykryto w 37 próbkach, co stanowiło 1,7% wszystkich przebadanych próbek. Wyniki dodatnie uzyskano w 18 próbkach żywności (tkanki zwierząt rzeźnych i mleko) oraz 19 próbkach wody. W żywności występowały pozostałości antybiotyków betalaktamowych, aminoglikozydów i tetracyklin. W próbkach wody wykryto betalaktamy, tetracykliny, makrolidy, linkozamidy, chinolony i sulfonamidy. Zgodnie z kategoryzacją EMA wykryte antybiotyki zaliczają się głównie do kategorii C i D. Wyjątek stanowią chinolony zaliczane do kategorii B, których stosowanie należy ograniczać u zwierząt.

Wszystkie dodatnie próbki zgodnie z założeniami programu były przekazywane do potwierdzenia metodami potwierdzającymi w Zakładzie Farmakologii i Toksykologii PIWet-PIB. Zgodność wyników uzyskanych metodami skринingowymi z wynikami metod potwierdzających wyniosła 56,8%.

Na podstawie analizy przedstawionych wyników możemy stwierdzić, że tylko niewielki odsetek próbek jest zanieczyszczonych pozostałościami antybiotyków. Większość wykrytych antybiotyków należy do leków pierwszego rzutu w weterynarii (kategoria D), ale wykrywane są również te, których stosowanie powinno być ograniczane w celu zmniejszenia zagrożenia dla zdrowia publicznego (kategoria B).

Słowa kluczowe: woda, żywność pochodzenia zwierzęcego, antybiotyki, metody skринingowe

Badanie zostało sfinansowane w ramach programu wieloletniego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach i urzędowej kontroli pasz

WYSTĘPOWANIE BEZTLENOWYCH LASECZEK PRZETRWAŁNIKUJĄCYCH Z RODZAJU *CLOSTRIDIUM* W MIODZIE POCHODZĄCYM Z KAZACHSTANU

T. Grenda¹, B. Kozak¹, M. Goldsztejn¹, K. Kwiatek¹, J. Wiśniewski², K. Anusz²

¹Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

²Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Szczepy bakterii beztlenowych z rodzaju *Clostridium* w większości stanowią saprofity, jednak niektóre z nich mogą być przyczyną poważnego zagrożenia epidemiologicznego dla ludzi i zwierząt. Za jedno z najistotniejszych pod względem epidemiologicznym uznawane są gatunki *C. botulinum* i *C. perfringens*. Za źródło występowania przetrwalników rodzaju *Clostridium* uznawany jest m.in. miód. Jego spożycie jest uznawane jako jedna z głównych przyczyn występowania botulizmu u niemowląt.

Celem pracy była ocena występowania wybranych szczepów rodzaju *Clostridium* w próbkach miodu z Kazachstanu. Analizy przeprowadzono przy użyciu zestawu metod PCR do identyfikacji bakterii beztlenowych opartych na amplifikacji fragmentów genów 16SrRNA i wykrywania genów warunkujących wytwarzanie toksyn przez *C. botulinum* i *C. perfringens*.

Spośród 197 próbek badanego miodu, geny warunkujące wytwarzanie toksyn botulinowych stwierdzono tylko w jednej (0,5%) z nich. Z próbki tej wyizolowano szczep *C. botulinum* wykazujący obecność genów *bont/A* i *ntnh*. Z 18 (9%) wspomnianych próbek miodu wyizolowano także szczepy *C. perfringens*. Analiza przy zastosowaniu mPCR (multiplex PCR) do wykrywania genów warunkujących wytwarzanie toksyn głównych u szczepów *C. perfringens* umożliwiła zaklasyfikowanie, wspomnianych izolatów do typu A ze zdolnością do wytwarzania toksyny α . Analiza sekwencji genów 16S rRNA wykazała występowanie w 4 próbkach, innych beztlenowców spokrewnionych z *C. botulinum*, którymi były szczepy *C. sporogenes* i *C. beijerinckii*. Najwyższa częstość występowania *Clostridium* spp. została zaobserwowana w próbkach miodu pochodzących z prowincji Wschodniego Kazachstanu.

Zastosowany w niniejszej pracy zestaw metod biologii molekularnej pozwolił na usprawnienie wykrywania istotnych z punktu widzenia epidemiologicznego bakterii z rodzaju *Clostridium* występujących w miodzie. Wdrażanie tego typu metod pozwala na ocenę ryzyka występowania przypadków botulizmu i innych schorzeń powodowanych przez patogenne *Clostridium* spp. u ludzi i zwierząt.

Słowa kluczowe: *Clostridium* spp., *C. botulinum*, *C. perfringens*, PCR

WYSTĘPOWANIE GATUNKÓW Z RODZAJU *LISTERIA* IZOLOWANYCH Z RYB ŚWIEŻYCH POCHODZĄCYCH Z RÓŻNYCH AKWENÓW

M. Sołtysiuk, A. Wiszniewska-Łaszczych, B. Wysok, J. Wojtacka, M. Gomółka-Pawlicka

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Bakterie z rodzaju *Listeria*, a szczególnie *Listeria monocytogenes*, stanowią obecnie jeden z najczęstszych etiologicznych czynników zaburzeń żołądkowo-jelitowych u ludzi, które w ostrym przebiegu określane są mianem listeriozy. Są one szeroko rozpowszechnione w środowisku, występują m.in. w glebie, roślinach, kiszonkach, odchodach, ściekach oraz w wodzie. Wysoka odporność na czynniki fizyczno-chemiczne, a także zdolność do przeżycia i namnażania się w szerokim zakresie temperatur powoduje, że bakterie te obecne są w surowcach pochodzenia zwierzęcego i roślinnego oraz w żywności. Jakkolwiek ryby stanowią jedno z głównych źródeł listeriozy u ludzi.

Celem przedstawionych badań pilotażowych było określenie występowania bakterii z rodzaju *Listeria* w rybach świeżych pozyskanych zarówno z środowiska morskiego, jak i z jezior przepływowych oraz zbiorników z wodą stojącą.

W okresie od stycznia do sierpnia 2021 r. ogółem pobrano 265 próbek mięśni ryb świeżych w tym 100 próbek z ryb morskich, 80 próbek ze zbiorników przepływowych i 85 próbek ze zbiorników z wodą stojącą. Izolację przeprowadzono zgodnie ze standardową procedurą opisaną w normie PN-EN ISO 11290-1:2017-07. Przynależność gatunkową wyizolowanych szczepów określono na podstawie dostępnego komercyjnie szeregu biochemicznego Microbact *Listeria* 12L (Oxoid-Argenta).

Na podstawie uzyskanych wyników określono prevalencję *Listeria* spp. w rybach świeżych na poziomie 18,11% (48/265). Analizując występowanie *Listeria* spp. w zależności od akwenu, z którego pozyskiwane były ryby stwierdzono, że bakterie te występowały w 15% próbek pochodzących z wód morskich, w 16,3% próbek pochodzących z jezior przepływowych oraz w 23,5% ze zbiorników z wodą stojącą. Identyfikacja gatunkowa wykazała, że wśród szczepów wyosobnionych z ryb morskich 12 należało do *Listeria monocytogenes* (12%), natomiast 3 do *Listeria innocua* (3%). Z ryb pozyskanych ze zbiorników przepływowych wyizolowano 7 szczepów *Listeria monocytogenes* (8,75%) i 6 szczepów *Listeria welshimeri* (7,55%), natomiast ze zbiorników z wodą stojącą wyizolowano 20 szczepów *Listeria seeligeri* (23,5%).

Uzyskane wyniki wskazały, że ryby stanowią potencjalne źródło zakażenia bakteriami z rodzaju *Listeria*. Ponadto badania wstępne wykazały, że rodzaj zbiornika, z którego pozyskiwane są ryby, ma wpływ na częstotliwość występowania różnych gatunków *Listeria* spp.

Słowa kluczowe: *Listeria* spp, ryby świeże, prevalencja

BADANIA NAD WYSTĘPOWANIEM HISTAMINY W RYBACH SUROWYCH I WĘDZONYCH W LATACH 2014-2018

M. Pawul-Gruba, A. Madejska, M. Michalski, J. Osek

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Histamina jest jedną z najważniejszych i najbardziej toksycznych amin biogennych, które mogą występować w żywności. Może ona naturalnie występować u wielu gatunków ryb o ciemnym mięsie, zwłaszcza z rodzin makrelowatych (*Scombridae*), śledziowatych (*Clupeidae*), sardelowatych (*Engraulidae*), koryfenowatych (*Coryfenidae*), tasergalowatych (*Pomatomidae*) i makreloszowatych (*Scomberosocidae*). W tkankach mięśniowych tych ryb znajdują się duże ilości aminokwasu histydy, który przy udziale enzymów bakteryjnych ulega dekarboksylacji do histaminy. Celem pracy było zbadanie obecności histaminy w rybach surowych i wędzonych dostępnych w Polsce w latach 2014-2018.

Do badań wykorzystano 355 próbek ryb, w tym ryb surowych (248) i wędzonych (107), które poddano analizie metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją diodową (HPLC-DAD). Histaminę wyekstrahowano z próbek kwasem trichlorooctowym (TCA) oraz oczyszczono przy użyciu kolumnienek jonowymiennych SPE. Rozdział chromatograficzny przeprowadzono na kolumnie C18, przy długości fali detekcji $\lambda = 215$ nm. Granica wykrywalności metody wynosiła 2,1 mg/kg, granica oznaczalności 3,3 mg/kg, natomiast zakres 3,3 - 420 mg/kg.

Obecność histaminy stwierdzono w 35 (14,1%) próbkach ryb surowych, a jej poziom był w zakresie od 3,4 do 156,4 mg/kg. Największą zawartość histaminy wykazano w próbkach pochodzących z łososa atlantyckiego (156,4 mg/kg) oraz śledzia atlantyckiego (42,5 mg/kg). W 31 (29,0%) próbkach ryb wędzonych zawartość histaminy wynosiła od 3,5 mg/kg (pstrąg tęczowy) do 125,8 mg/kg (szprot europejski). Spośród wszystkich 355 przebadanych próbek ryb surowych i wędzonych histamina została zidentyfikowana w 66 (18,6%) próbkach.

Przeprowadzone badania wykazały, że ryby surowe oraz wędzone dostępne na polskim rynku spełniają kryteria bezpieczeństwa żywności dla histaminy wymienione w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 2073/2005 i są bezpieczne dla konsumentów. Obecność pojedynczych próbek zawierających histaminę powyżej dopuszczalnego prawnie limitu 100 mg/kg wskazuje, że taka żywność może potencjalnie stwarzać zagrożenie dla zdrowia konsumentów.

Słowa kluczowe: histamina, ryby surowe, ryby wędzone, HPLC-DAD

Badanie finansowane przez Rząd RP: Program Wieloletni "Ochrona zdrowia zwierząt i zdrowia publicznego".

JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA KREWETEK

K. Kulpa, R. Pysz-Lukasik, A. Chałabis-Mazurek, M. Maćkowiak-Dryka, W. Paszkiewicz

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Zgodnie z prawem żywnościowym każdy środek spożywczy wprowadzany na rynek powinien spełniać wymagania w zakresie bezpieczeństwa żywności. Obecność drobnoustrojów chorobotwórczych jest jedną z przyczyn dyskwalifikacji spożywczej żywności. Według danych piśmiennictwa, krewetki mogą być przyczyną zatruc pokarmowych wywołanych przez drobnoustroje chorobotwórcze lub ich toksyny.

Celem badań była wstępna ocena jakości mikrobiologicznej krewetek i ich bezpieczeństwa dla zdrowia konsumentów.

Materiał do badań stanowiły próbki surowych krewetek białych (*Litopenaeus vannamei*) pochodzących z obrotu, przechowywanych w temperaturze 0-3°C. Badanie mikrobiologiczne przeprowadzono w kierunku obecności *Staphylococcus aureus* i drobnoustrojów rodzaju *Salmonella* oraz określenia liczby bakterii tlenowych, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, enterokoków oraz drożdży i pleśni. Oznaczenia mikrobiologiczne przeprowadzono według PN-EN ISO 6888-1:2001, PN-EN ISO 6579-1:2017-04, PN-EN ISO 4833-2:2013-12, PN-EN ISO 21528-2:2017-08, PN-ISO 16649-2:2004, PN-A-82055-7:1997 i PN-ISO 21527-1:2009.

W przeprowadzonych badaniach mikrobiologicznych w żadnej z badanych próbek nie wykazano obecności drobnoustrojów *Salmonella* spp., *S. aureus* i *E. coli*. Liczba bakterii tlenowych i *Enterobacteriaceae* wynosiła odpowiednio 2,34 i 1,20 log jtk/g. Enterokoki wykazano w 1 próbce, w liczbie 1,38 log jtk/g. Liczba drożdży i pleśni nie przekroczyła 1 log jtk/g. W badanych próbkach ogólna liczba bakterii tlenowych oraz liczba *Enterobacteriaceae*, enterokoków, drożdży i pleśni była niska.

Słowa kluczowe: krewetki, mikrobiologia żywności, drobnoustroje chorobotwórcze

PRZEŻYWALNOŚĆ *ALARIA* SPP. W MIĘSIE DZIKÓW PODCZAS PRZECHOWYWANIA W WARUNKACH CHŁODNICZYCH

M. Nowicki, J. Wiśniewski, M. Puchalska, N. Strokowska, B. Bartyzel, K. Anusz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Motyliczka mięśniowa to pasożyt występujący m.in. w mięsie dzików, jest on formą larwalną (mezocerkaria) *Alaria* spp. Jest to pasożyt, który może stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi. Wyniki badań mięsa dzików z wykorzystaniem metody AMT (*Alaria* Migration Technique) wykazały powszechne występowanie alariozy u dzików na terenie Polski. W niektórych regionach kraju uzyskano wyniki dodatnie w 70% badanych próbek. W innych krajach na terenie Europy również potwierdzono występowanie alariozy u zwierząt wolno żyjących. Zarówno dzik jak i człowiek może być paratenicznym żywicielem tego pasożyta. Żywicielami pośrednimi są ślimaki słodkowodne i żaby a ostatecznymi zwierzęta mięsożerne.

Celem badania było określenie przeżywalności *Alaria* spp. w mięsie dzików podczas przechowywania w warunkach chłodniczych. 46 próbek mięsa dzików, w których potwierdzono obecność naturalnej inwazji motyliczką mięśniową było przechowywane w temperaturze od 0 °C do 8 °C. Próbkę były przechowywane przez okres od 1 do 4 tygodni. Po zakończeniu okresu przechowywania próbki badano metodą AMT. Wyizolowane larwy były obserwowane pod mikroskopem w celu potwierdzenia żywotności. Wyniki wykazały, że *Alaria* spp. przeżywa w mięsie dzików podczas chłodzenia dłużej niż 21 do 28 dni. Dłuższe obserwacje nie były prowadzone ponieważ mięso w takich warunkach ulega rozkładowi. Larwy zachowywały żywotność w mięsie, w którym były wyraźne cechy rozkładu. Redukcja ilości larw wynosiła szacunkowo od 0 do 80 %. Ze względu na fakt, że larwy były obecne w mięsie w wyniku naturalnej inwazji, były różnice w intensywności w poszczególnych próbkach. Z tego powodu redukcji została określona szacunkowo.

Wyniki wykazały że *Alaria* spp. obecna w mięsie może przeżywać w niskich temperaturach i może być przyczyną zarażenia. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku zwłok padłych zwierząt i możliwości zarażenia padlinożernych zwierząt. W porównaniu do wcześniejszych badań przeżywalność *Alaria* spp jest większa niż w warunkach *in vitro* (Gonzales-Fuentes). Istnieje potrzeba kontynuacji badań z uwzględnieniem innych metod przechowywania.

Słowa kluczowe: alaria, motyliczka mięśniowa, mięso dzików, bezpieczeństwo żywności

ZANIECZYSZCZENIA METALAMI TOKSYCZNYMI MIĘSA I NARZĄDÓW WEWNĘTRZNYCH KONI RZEŹNYCH

Z. Bełkot¹, A. Chałabis-Mazurek², M. Maćkowiak-Dryka¹

¹Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Katedra Farmakologii, Toksykologii i Ochrony Środowiska, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Celem badań było określenie zanieczyszczenia metalami ciężkimi toksycznymi, mięsa końskiego w zależności od wieku koni i miejsca pobrania próbki.

Badania przeprowadzono na 120 próbkach pochodzących z 30 tusz koni rzeźnych. Do badań przeznaczono konie rzeźne płci żeńskiej drugiej klasy jakościowej i podzielono je na dwie grupy wiekowe: 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 próbki pochodzące z mięśnia najdłuższego klatki piersiowej (*m. longissimus thoracis*) oraz: płuc, wątroby i nerek.

Na badanym materiale przeprowadzono oznaczenia chemiczne następujących metali ciężkich: ołowiu, kadmu, chromu i rtęci. Uzyskane wyniki przedstawiono w ppm (mg/kg próbki). Cel badań uzyskano porównując zawartość badanych pierwiastków w próbkach z tych samych rodzajów mięśni i narządów pomiędzy końmi młodymi i starymi a także porównując zawartość pierwiastka w mięśniu i narządach pochodzących z tej samej tuszy (tj. od tego samego konia). Wpływ poszczególnych czynników zmienności na oznaczane wyróżniki poddany został obliczeniom statystycznym.

Analizując zawartość ołowiu (Pb) istotne różnice pomiędzy końmi młodymi i starymi zaobserwowano jedynie w wątrobie i nerkach. Natomiast porównując zawartość tego pierwiastka obrębie jednej grupy wiekowej istotne różnice wystąpiły we wszystkich badanych próbkach. Najwyższe stężenie tego pierwiastka 0,17 mg/kg stwierdzone zostało w wątrobie koni starych.

Przeprowadzone badania wykazały istotne różnice w zawartości kadmu (Cd) pomiędzy wszystkimi badanymi próbkami pochodzącymi od koni młodych i starych. Różnice takie zaznaczyły się również w zawartości tego pierwiastka pomiędzy mięśniami a badanymi narządami w obrębie tej samej grupy wiekowej. Najwięcej kadmu zawierała wątroba koni starych 181 mg/kg. Ilość ta przekraczała dwudziestokrotnie poziom tego pierwiastka w wątrobie koni młodych. Wysoką zawartość kadmu 98 mg/kg zaobserwowano również w nerkach koni starych. Poziom ten był dwukrotnie wyższy niż w nerkach koni młodych.

W otrzymanych wynikach badań zawartość chromu (Cr) różniła się istotnie tylko w próbkach płuc i wątroby koni młodych i starych. Zależności takiej nie stwierdzono w próbkach mięśni i nerek. Porównując zawartość chromu w badanych mięśniach i narządach istotne różnice wystąpiły zarówno u koni młodych jak i starych we wszystkich badanych próbkach. Najwyższe stężenie tego pierwiastka wykazano w nerkach zarówno koni młodych jak też starych.

Analizując zawartość rtęci (Hg) istotne różnice pomiędzy końmi młodymi i starymi zaobserwowano jedynie w nerkach. Natomiast porównując zawartość tego pierwiastka obrębie jednej grupy wiekowej istotne różnice wystąpiły we wszystkich badanych próbkach. We wszystkich badanych próbkach wykryto jedynie śladowe ilości tego pierwiastka. Najwyższe stężenie 0,34 mg/kg skumulowane zostało w nerkach koni starych.

Słowa kluczowe: mięso koni, metale ciężkie, ołów, kadm, chrom, rtęć

ZASTOSOWANIE METODY GC-HRMS DO OZNACZANIA KONGENERÓW POLIBROMOWANYCH BIFENYLI (PBB) W ŻYWNOSCI

S. Maszewski, M. Warenik-Bany, M. Pajurek, S. Mikołajczyk, W. Pietroń

Zakład Radiobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Polibromowane bifenyle (PBB) bifenyle stanowią grupę 209 kongenerów, strukturalnie identycznych z polichlorowanymi bifenylami (PCB). Składają się również z dwóch pierścieni aromatycznych, a w odróżnieniu od PCB w miejscach cząsteczki zawierających chlor podstawione są przez atomy bromu. Bromowane bifenyle podobnie jak PCB produkowano celowo, a wprowadzono je do stosowania po raz pierwszy w latach 70-tych ubiegłego stulecia w USA. Związki te znalazły zastosowanie w przemyśle jako dodatki do tworzyw sztucznych takich jak włókna syntetyczne, czy polimery wchodzące w skład elementów wyposażenia pomieszczeń oraz urządzeń elektrycznych i elektronicznych. Po przedostaniu się do środowiska, ze względu na zbliżone do ich strukturalnie podobnych chlorowanych odpowiedników (PCB) właściwości fizyko-chemiczne, takie jak np. lipofilność, stabilność, czy persystentność w środowisku mogą być kumulowane w tkankach zwierząt i żywności zwierzęcego pochodzenia. Zainteresowanie tymi związkami rozpoczęło się od katastrofy ekologicznej która miała miejsce w Michigan (USA) w 1973 roku. Sprzedawana wówczas techniczna mieszczanina PBB „FireMaster”, została pomyłona z dodatkiem paszowym tlenkiem magnezu o nazwie „NutriMaster”. W efekcie zanieczyszczeniu uległo ponad 800 ton paszy, ok. 8 ton sera, ponad 1 tona masła, 5 mln jaj, oraz ok. 15 ton mleka w proszku, a uśmierceniu i utylizacji poddano ok 30 tysięcy sztuk bydła, 4,5 tys świni, 1,5 tys owiec i ponad 1,5 miliona sztuk drobiu.

Celem badań była optymalizacja i opracowanie warunków oznaczania kongenerów PBB (PBB-18, PBB-52, PBB-101, PBB-153, PBB-180, PBB-194, PBB-206, PBB-209) z zastosowaniem metody spektrometrii mas rozcieńczeń izotopowych, za pomocą techniki instrumentalnej HRGC-HRMS. Zakres optymalizacji obejmował ocenę możliwości analitycznych w tym separację i detekcję analitów na dwóch kolumnach chromatograficznych, stosowanych w oznaczaniu chlorowanych i bromowanych dioksyn, furanów, polichlorowanych bifenyli, oraz polibromowanych eterów difenylowych. Ze względu na podobną strukturę chemiczną i właściwości, próbki badane w kierunku zawartości PBB poddano procesom ekstrakcji i oczyszczania stosowanym w analizie PCB i PBDE. W wyniku optymalizacji określono, że obie kolumny pozwalają na prowadzenie oznaczeń PBB o zbliżonym całkowitym czasie trwania pomiaru (ok. 40min) zapewniając zadowalającą separację. Analizując kształt sygnału chromatograficznego, odpowiedź systemu instrumentalnego (IDL) oraz wpływ faz stacjonarnych na degradację oznaczanych związków ustalono, że lepsze parametry pomiarowe (brak ogonowania, wyższa selektywność, niższa degradacja) można osiągnąć z wykorzystaniem kolumny RTX-1614. Instrumentalny limit detekcji w zależności od stopnia bromowania kongenerów PBB wynosi od 0,1 do 0,5 pg dla kolumny RTX-1614, oraz od 0,1 do 1pg dla kolumny DB-5MS.

Słowa kluczowe: PBB, TZO, dioksyny, PCB, HRGC-HRMS, IDMS

Badania finansowane w ramach tematu statutowego PIWet-PIB nr. S/328: „Opracowywanie nowych metod oznaczania analitów z grupy dioksyn i innych związków halogenowych w żywności i paszach”.

HALOGENOWE ZANIECZYSZCZENIA CHEMICZNE W ŻYWNOŚCI POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO

M. Warenik-Bany, S. Maszewski, S. Mikołajczyk, M. Pajurek, W. Pietroń

Zakład Radiobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Rozwój cywilizacji spowodował uwalnianie do środowiska naturalnego szeregu halogenowych zanieczyszczeń chemicznych, do których należą m.in. dioksyny (PCDD/PCDF), polichlorowane bifenyle (PCB), polibromowane bifenyle (PBB) oraz polichlorowane naftaleny (PCN). Ze względu na właściwości fizykochemiczne, związki te są odporne na przekształcenia chemiczne i biologiczne, są wszechobecne oraz łatwo ulegają biokumulacji i biomagnifikacji w łańcuchu żywnościowego. Halogenowe zanieczyszczenia organiczne stanowią zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt, zaburzają działanie układu hormonalnego, immunologicznego oraz mają właściwości neurotoksyczne i rakotwórcze. Stała obecność w środowisku oraz działania niepożądane, powodują konieczność kontroli ich obecności w produktach spożywczych i paszach. Kraje Unii Europejskiej zobligowane są do prowadzenia programów monitoringowych umożliwiających ocenę zagrożenia zdrowia mieszkańców Europy. Wyniki badań kontrolnych pozwalają na opracowywanie i podejmowanie określonych działań zapobiegawczych w celu zapewnienia bezpieczeństwa konsumentów.

Celem badań prowadzonych w Zakładzie Radiobiologii PIWet-PIB było określenie poziomów zanieczyszczeń halogenowych w żywności pochodzenia zwierzęcego. Badaniami objęto nieprzetworzoną żywność pochodzenia zwierzęcego, która była pobierana przez upoważnionych i wykwalifikowanych pracowników Inspekcji Weterynaryjnej zgodnie z obowiązującym ustawodawstwem. Opracowane na przestrzeni lat procedury badawcze pozwalały na oznaczenie wymaganych prawem unijnym zanieczyszczeń chemicznych, takich jak dioksyny i PCB oraz monitorowanie obecności związków będących w zainteresowaniu Komisji Europejskiej (PBB). Próbkę analizowano pod kątem zawartości 35 PCDD/PCDF i PCB, 8 kongenerów PBB (PBB-18, PBB-52, PBB-101, PBB-153, PBB-180, PBB-194, PBB-206, PBB-209). Do badań zastosowano metodę spektrometrii mas rozcieńczeń izotopowych (IDMS) z detekcją za pomocą techniki instrumentalnej HRGC-HRMS.

Stwierdzono obecność dioksyn, PCB oraz polibromowanych bifenyli we wszystkich rodzajach badanej żywności. Najwyższe poziomy dioksyn i PCB oznaczano w próbkach ryb bałtyckich oraz jajach od kur wolno wybiegowych. Natomiast najwyższe poziomy PBB oznaczono w próbkach mięśni drobiu oraz podobnie jak dioksyny i PCB w próbkach jaj kurzych. Odnosząc wyniki do najwyższych dopuszczalnych poziomów określonych w rozporządzeniach unijnych można stwierdzić, że w większości przypadków krajowa żywność jest bezpieczna, wyjątek mogą stanowić ryby bałtyckie i jaja od kur z wolnego wybiegu.

Słowa kluczowe: TZO, dioksyny, PCB, PBDD, PBB, PCN, HRGC-HRMS, IDMS

Badania finansowane w ramach tematu statutowego PIWet-PIB nr S/328: „Opracowywanie nowych metod oznaczania analitów z grupy dioksyn i innych związków halogenowych w żywności i paszach”.

WYSTĘPOWANIE *LISTERIA MONOCYTOGENES* W RYBACH WĘDZONYCH W POLSCE I OCENA WRAŻLIWOŚCI WYIZOLOWANYCH SZCZEPÓW NA WYBRANE ŚRODKI PRZECIWDROBNOUSTROJOWE

M. Łopatek, B. Lachtara, K. Wieczorek, J. Osek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

L. monocytogenes jest czynnikiem etiologicznym listeriozy, która w krajach Unii Europejskiej znajduje się na piątym miejscu pod względem liczby zachorowań u ludzi oraz na pierwszym miejscu pod względem współczynnika śmiertelności wśród wszystkich notowanych zoonoz. Do zakażenia dochodzi najczęściej po spożyciu żywności zanieczyszczonej *L. monocytogenes*. Celem badań było określenie występowania *L. monocytogenes* w rybach wędzonych w Polsce oraz ocena oporności przeciwdrobnoustrojowej wyizolowanych szczepów.

Do badań wykorzystano 305 próbek ryb wędzonych na zimno, w tym 230 próbek łososia oraz 75 próbek ryb należących do rodzajów: pstrąg, makrela, śledź, tuńczyk, troć i halibut. Badania w kierunku obecności *L. monocytogenes* wykonano zgodnie z PN-EN ISO 11290-1:2017-07 a oznaczania liczby *L. monocytogenes* wg PN-EN ISO 11290-2:2017-07. Wszystkie izolaty, potwierdzone biochemicznie jako *L. monocytogenes*, zostały poddane identyfikacji molekularnej z zastosowaniem testu multiplex PCR, pozwalającego na zaklasyfikowanie ich do jednej z serogrup IIa, IIb, IIc lub IVb. W kolejnym etapie, za pomocą metody najmniejszych stężeń hamujących (MIC) oraz przy użyciu płytek Sensititre GPN3F, określono wrażliwość badanych izolatów na wybrane substancje przeciwbakteryjne.

Obecność bakterii *L. monocytogenes* wykryto w 19,0% (58 z 305) próbek, z czego większość z nich (86,2%) stwierdzono w łososiu wędzonym na zimno. Liczba *L. monocytogenes* wynosiła od $< 1,0 \times 10^1$ jtk/g do $3,7 \times 10^2$ jtk/g i tylko w jednej próbce łososia wykazano przekroczenie ustalonego w Rozporządzeniu Komisji (WE) Nr 2073/2005 limitu 100 jtk/g. Najwięcej izolatów *L. monocytogenes* zaklasyfikowano do serogrupy IIa (50 z 58; 86,2%), a pojedyncze do serogrup IIb (1 izolat), IIc (3 izolaty) oraz IVb (4 izolaty). Przeprowadzone badania wykazały, że 30 (51,7%) szczepów *L. monocytogenes* było wrażliwych na wszystkie zastosowane substancje przeciwbakteryjne. Ponadto stwierdzono, że 25 (43,1%) izolatów było opornych na cefriakson, 11 (19,0%) na oksacylinę, a jedynie 2 izolaty charakteryzowały się opornością na klindamycynę. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że ryby wędzone mogą być źródłem bakterii *L. monocytogenes*, które stanowią potencjalne zagrożenie zdrowia konsumentów.

Słowa kluczowe: *L. monocytogenes*, ryby wędzone, serogrupy, środki przeciwdrobnoustrojowe

ANISAKIS SIMPLEX, PSEUDOTERRANOVA DECIPIENS, CONTRACAEUM OSCULATUM – PORÓWNAWCZA ANALIZA PROFILI PROTEOMICZNYCH

M. Kochanowski, M. Różycki, J. Dąbrowska, A. Bełcik, W. Korpysa-Dzirba, J. Karamon, J. Sroka, T. Cencek

Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Badania proteomu *A. simplex*, pozwoliły na identyfikację nowych, jak również potencjalnych alergenów. Niemniej wiele z nich jest wciąż niescharakteryzowanych. Co więcej przypuszcza się, że nie wszystkie alergeny *Anisakis* zostały zidentyfikowane oraz brak jest danych na temat występowania alergenów w innych nicielach z rodziny Anisakidae takich jak *Pseudoterranova decipiens* i *Contracaecum osculatum*. Dlatego celem badań była analiza profili proteomicznych i identyfikacja alergenów/potencjalnych alergenów *A. simplex*, *P. decipiens* oraz *C. osculatum*.

Identyfikację białek antygenów przeprowadzono za pomocą badania metodą LC-MS/MS, korzystając ze spektrometru mas Q-Exactive. Zidentyfikowane sekwencje białek poddano analizie bioinformatycznej. Dodatkowo porównano profile SDS-PAGE oraz Western Blot antygenów trzech nicieni.

Zidentyfikowano 645 białek antygenów *A. simplex*, 397 białek antygenów *P. decipiens* oraz 261 białek antygenów *C. osculatum*. Wykryto 51 białek wspólnych dla trzech antygenów Anisakidae. Wśród nich zidentyfikowano głównie sekwencje: HSP, białka związane z wrzecionem mitotycznym i centrosomem, sekwencje aldolazy fruktozo-bisfosforanowej. Obecność białek wspólnych tłumaczy stosunkowo duże podobieństwo profili SDS-PAGE oraz Western Blot antygenów Anisakidae. W antygenie *A. simplex* zidentyfikowano 14 następujących alergenów: Ani s 1, Ani s 2 (2 izomery), Ani s 3 (2 izomery), Ani s 4, Ani s 8, Ani s 9, Ani s 10, Ani s 11-like, Ani s 13, Ani s FBPP, Ani s PEPB, Thu a 3.0101. Ośiem alergenów wykryto w antygenie *P. decipiens*: Ani s 2, Ani s 3 (2 izomery), Ani s 5, Ani s 8, Ani s 9, Ani s PEPB, Ani s Troponin. W antygenie *C. osculatum* zidentyfikowano 4 alergeny: Ani s 2, Ani s 5, Ani s 13, and Asc I 3. Ponadto wykryto 28 prawdopodobnych alergenów w antygenie *A. simplex* i taką samą ilość przypuszczalnych alergenów w antygenie *P. decipiens*. W antygenie *C. osculatum* zidentyfikowano 25 prawdopodobnych alergenów. Najliczniej reprezentowanymi prawdopodobnymi alergenami wykrytymi w antygenach Anisakidae były sekwencje: HSP, paramiozyny, peptydylo-prolyl cis-trans izomerazy, enolazy oraz tropomiozyny.

Wykonane badania pozwoliły na scharakteryzowanie profili proteomicznych antygenów *A. simplex*, *P. decipiens* oraz *C. osculatum*. Rozszerzona została lista alergenów zidentyfikowanych w antygenie *P. decipiens* oraz po raz pierwszy wykryto alergeny w antygenie *C. osculatum*. We wszystkich trzech antygenach zidentyfikowane zostały także nowe prawdopodobne alergeny.

Słowa kluczowe: *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*, *Contracaecum osculatum*, proteomika, alergeny, potencjalne alergeny

Badania finansowane w ramach: grantu NCBR - BIOSTRATEG2/296211/4/NCBR/2016; tematu statutowego PIWet-PIB - S/261.

PROTEOMICZNA I BIOINFORMATYCZNA ANALIZA BIAŁEK LARW III STADIUM *ANISAKIS SIMPLEX* PODDANYCH DZIAŁANIU WYSOKIEJ TEMPERATURY

M. Kochanowski, M. Różycki, J. Dąbrowska, A. Bełcik, W. Korpysa-Dzirba, J. Karamon, J. Sroka, T. Cencek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Anisakis simplex jest źródłem ukrytych alergenów w produktach rybnych. Produkty te często są poddawane procesom technologicznym takim jak działanie wysokiej temperatury np. autoklawowaniu. Mimo iż działanie temperatury co najmniej 60°C przez minimum 1 minutę powoduje zabicie larw to część alergenów *A. simplex* jest termostabilna i może być przyczyną reakcji alergicznej u uczulonych konsumentów. Dlatego też celem badań była proteomiczna identyfikacja i bioinformatyczna analiza białek w antygenie *A. simplex* poddanym autoklawowaniu.

Antygen pełny otrzymany z larw L3 *A. simplex* był autoklawowany w 121 °C przez 60 minut. Następnie poddano go badaniu metodą LC-MS/MS za pomocą ze spektrometru mas Q-Exactive. Względna zawartość zidentyfikowanych białek została oszacowana zgodnie z algorytmem emPAI, a sekwencje peptydów/białek poddano licznym analizom bioinformatycznym. Ponadto przeprowadzono porównanie profili SDS-PAGE oraz Western Blot antygenów *A. simplex*.

Uzyskane profile SDS-PAGE oraz Western Blot potwierdziły znaczną termostabilność antygeny *A. simplex*, a analiza LC-MS/MS pozwoliła zidentyfikować 470 białek. Wykryto peptydy pochodzące z alergenów Ani s 1, Ani s 2, Ani s 3, Ani s 4, Ani s 5 oraz 13 potencjalnych alergenów. Potencjalne alergeny były głównie homologami alergenów *A. simplex* (Ani s 2, Ani s 5, Ani s 8, Ani s 9, Ani s troponin C) oraz alergenów roztoczy (Tyr p 28, Der f 33, Der f 33-like). Alergeny Ani s 2, Ani s 3, Ani s 5 oraz 3 potencjalne alergeny zostały sklasyfikowane wśród 25 białek o najwyższej względnej zawartości w autoklawowanym antygenie. W sekwencji peptydów pochodzących z alergenów Ani s 1 oraz Ani s 5 wykryto potwierdzone eksperymentalnie epitopy dla komórek T oraz komórek B. Natomiast epitopy alergenów Ani s 2, Ani s 3, i Ani s 4 nie zostały jak dotąd eksperymentalnie zidentyfikowane. Dlatego prawdopodobne epitopy dla komórek T, komórek B i cząsteczek MHC II w sekwencjach wykrytych peptydów tych alergenów wyznaczono in silico.

Wykryte w antygenie peptydy alergenów oraz potencjalnych alergenów pomimo obróbki cieplnej produktów rybnych, mogą stanowić potencjalne zagrożenie dla uczulonych konsumentów. Ryzyko to jest wysoce prawdopodobne ze względu na zidentyfikowane w ich sekwencjach epitopy. Niemniej konieczne są dalsze badania immunologiczne nad potencjałem alergicznym zidentyfikowanych w pracy alergenów i potencjalnych alergenów poddanych działaniu wysokiej temperatury.

Słowa kluczowe: *Anisakis simplex*, proteomika, alergeny, białka termo stabilne

Badania finansowane w ramach: grantu NCBR - BIOSTRATEG2/296211/4/NCBR/2016; tematu statutowego PIWet-PIB - S/261; funduszu badań własnych PIWet-PIB - F/109.

LEKOOPORNOŚĆ PAŁECZEK *CAMPYLOBACTER* WYIZOLOWANYCH Z MIĘSA DROBIOWEGO

M. Kizerwetter-Świda¹, J. Bogdan¹, K. Wódz², M. Rzewuska¹, K. Anusz¹,
J. Pławińska-Czarnak¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Vet-Lab Brudzew, Brudzew, Polska

W krajach Unii Europejskiej drobnoustrojami najczęściej izolowanymi z zakażeń przewodu pokarmowego u ludzi są pałeczki z rodzaju *Campylobacter*. Zgodnie z danymi przedstawionymi przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) oraz Europejskie Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób (ECDC) sytuacja taka występuje nieprzerwanie od roku 2005. Stwierdzany jest trend wzrostowy w liczbie notowanych przypadków kampylobakteriozy jelitowej u ludzi oraz w odsetku szczepów niewrażliwych na środki przeciwdrobnoustrojowe. Celem podjętych badań było określenie oporności szczepów *Campylobacter* spp. pochodzących z mięsa drobiowego na wybrane antybiotyki i chemioterapeutyki.

Materiał do badań stanowiło 17 szczepów *Campylobacter* spp. wyizolowanych z próbek mięsa drobiowego zgodnie z normą PN-EN ISO 10272-1:2017-08. Określano wartości MIC z użyciem 96-dółkowych płytek Micronaut Special Plates oraz podłoża Micronaut H-medium). Inkubację prowadzono przez 48 godzin, w warunkach mikroaerofilnych, (CampyGen, ThermoScientific, USA), w temperaturze 42°C. Do odczytu wyników stosowano oprogramowanie Merlin Micronaut (Merlin Diagnostika GmbH, Niemcy) oraz rekomendacje CLSI. Wykonano oznaczenia dla następujących środków przeciwdrobnoustrojowych: penicyliny, amoksycyliny, amoksycyliny z kwasem klawulanowym, cefoquinonu, ceftiofuru, cefaleksyny, kloksacyliny, doksycykliny, oksytetracykliny, enrofloksacyny, norfloksacyny, florfenikolu, erytromycyny, linkomycyny, streptomycyny, neomycyny, gentamycyny, kolistyny, tylozyny oraz sulfametoksazolu z trimetoprimem.

Wszystkie badane szczepy pałeczek *Campylobacter* wykazały wrażliwość na amoksycylinę z kwasem klawulanowym, gentamycynę oraz florfenikol. Wszystkie szczepy były odporne na penicylinę, amoksycylinę, ceftiofur, cefaleksynę, kloksacylinę, tylozynę oraz sulfametoksazol z trimetoprimem. Wysoki odsetek badanych szczepów cechowała oporność na tetracykliny (od 70,6% do 88,2%) oraz fluorochinolony (64,7%).

Mięso drobiowe często jest źródłem zakażenia ludzi przez te drobnoustroje. Uzyskane wyniki wskazują na wysoki poziom oporności pałeczek *Campylobacter*. Sugeruje to potencjalne trudności w skutecznej terapii zakażeń wywołanych przez te patogeny.

Słowa kluczowe: *Campylobacter* spp., lekooporność, mięso drobiowe

WĘZŁY CHŁONNE JAKO POTENCJALNE ŹRÓDŁO ZAKAŻENIA BAKTERIAMI ROPOTWÓRCZYMI ORAZ *MYCOBACTERIUM* SPP.

A. Kaczmarkowska, A. Didkowska, E. Kwiecień, M. Rzewuska, K. Anusz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Na podstawie opinii EFSA (ang. European Food Safety Authority) w istniejącym prawie żywnościowym wprowadzane zostały zmiany ograniczające nacinanie węzłów chłonnych podczas badania poubojowego. W tym kontekście celem badań było określenie etiologii zmian gruźliczopodobnych (o cechach martwicy skrzepowej) i ropnych w węzłach chłonnych świń, a także ocena potencjału zoonotycznego wyizolowanych patogenów na podstawie literatury.

W latach 2017-2020 badaniu poubojowemu poddano 10600 tusze wieprzowe. Węzły chłonne, w których stwierdzono zmiany gruźliczopodobne lub ropne, poddawano badaniu mikrobiologicznemu w kierunku bakterii ropotwórczych oraz prątków. Wykonywano posiewy na podłoża Columbia Agar, Löwenstein-Jensen i Stonebrinka. Wyizolowane szczepy identyfikowano w kierunku bakterii ropotwórczych testami: Microgen Staph, Microgen Strep, CAPM, oraz z zastosowaniem metod molekularnych: PCR (ang. polymerase chain reaction), PCR-RFLP (ang. PCR-restriction fragment length polymorphism), natomiast w kierunku identyfikacji prątków wykonano komercyjny test GenoType CM oraz badanie MIRU-VNTR (ang. mycobacterial interspersed repetitive unit-variable number tandem repeat).

Zmiany gruźliczopodobne i ropne stwierdzono w 0,83% węzłów chłonnych świń. Z węzłów chłonnych ze zmianami wyizolowano: *Streptococcus dysgalactiae* (32,95%), *Mycobacterium avium* (22,73%), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (7,95%), *Rhodococcus equi* (7,95%), *Trueperella pyogenes* (1,14%), *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (1,14%) *Mycobacterium fortuitum* (1,14%). Wyizolowane szczepy *M. avium* (poza *M. avium* subsp. *paratuberculosis*) mają nowe, niezidentyfikowane dotychczas wzory MIRU-VNTR.

Większość z wyizolowanych bakterii ma potencjał zoonotyczny (z wyjątkiem *M. fortuitum*). Wydaje się, że przy zachowaniu zasad GMP (ang. good manufacture practice) ryzyko krzyżowego zanieczyszczenia tusz przez lekarzy weterynarii wykonujących nacinanie węzłów chłonnych stanowi mniejsze zagrożenie niż dopuszczenie do spożycia tusz zanieczyszczonych bakteriami zoonotycznymi. Na podstawie uzyskanych wyników sugerujemy zwiększenie częstości nacinania węzłów chłonnych u świń, co zwiększy efektywność ochrony zdrowia publicznego.

Słowa kluczowe: świnie, badanie poubojowe, węzły chłonne, bakterie ropotwórcze, prątki

KORELACJA WIELKOŚCI I CHARAKTERU ZMIAN W WĘZŁACH CHŁONNYCH ŚWIŃ I ZAKAŻEŃ *MYCOBACTERIUM AVIUM*

A. Kaczmarkowska¹, A. Didkowska¹, D. Klich¹, P. Kociuba², E. Kwiecień¹, M. Rzewuska¹, K. Anusz¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Katolicki Uniwersytet Lubelski im. Jan Pawła II, Lublin, Polska

Zakażenie *M. avium* może prowadzić do ciężkich schorzeń u ludzi, zakażenie u świń ma często przebieg subkliniczny, a zmiany obserwowane są w węzłach chłonnych.

Celem badań było określenie czy poprzez wielkość oraz charakter zmian gruzliczopodobnych w węzłach chłonnych żuchwowych świń można przewidzieć możliwość wystąpienia zakażenia *M. avium*.

Materiał do badań stanowiły węzły chłonne trzody chlewnej oceniane makroskopowo pod kątem występowania zmian gruzliczopodobnych. Pobrane węzły chłonne zostały sklasyfikowane do trzech grup, które określały rodzaj zmian oraz do trzech grup określających liczebność zmian: grupa 0 - węzły, w których makroskopowo nie stwierdzono zmian; 1 - węzły z pojedynczymi zmianami wielkości główki szpilki; 2 stanowiły węzły chłonne z licznymi zmianami wielkości główki szpilki, bądź rozlane zmiany. Grupa A – zmiany inne niż ropne; B – zmiany ropne; C – brak zmian. W badaniu fotogrametrycznym węzłów chłonnych, z wykonanych zdjęć węzłów chłonnych obliczono stosunek zmienionej powierzchni węzła na przekroju do całej powierzchni przekroju węzła chłonnego - obliczenie procentu powierzchni zmian. Fragmenty węzłów chłonnych żuchwowych pobierano także do badań histopatologicznych.

Wykazano, iż w przypadku licznych zmian prawdopodobieństwo wyizolowania z węzłów chłonnych *Mycobacterium* spp. jest wysokie, w przeciwieństwie do braku zmian, gdzie zachodzi małe prawdopodobieństwo wystąpienia zakażenia *M. avium*. Badanie wykazało brak korelacji pomiędzy częstością występowaniem *M. avium* a charakterem zmian. Dobrym wskaźnikiem obecności *M. avium* wydaje się być także obliczanie powierzchni zmian.

Badanie histopatologiczne wybranych węzłów chłonnych ze zmianami gruzliczopodobnymi wykazało obecność martwicy skrzepowej w badanej tkance, niekiedy z obszarami mineralizacji oraz zaobserwowano materiał podobny do zjawiska Splendore-Hoeppli. Węzły chłonne różniły się pod względem powierzchni jaką obejmowały zmiany.

Najlepszym narzędziem do wstępnej oceny występowania *M. avium* w węzłach chłonnych trzody chlewnej jest ilościowa ocena nasilenia zmian gruzliczopodobnych. Ocena procentu powierzchni zmian w węzłach chłonnych żuchwowych jest także dobrym wskaźnikiem.

Słowa kluczowe: świny, badanie histopatologiczne, węzły chłonne, prątki, fotogrametria

WYSTĘPOWANIE BAKTERII Z RODZAJU *ENTEROCOCCUS* NA POWIERZCHNI TUSZ ZWIERZĄT RZEŹNYCH

P. Knysz¹, M. Gondek¹, K. Szkucik¹, A. Nowakiewicz²

¹Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Wyniki badań przeprowadzonych na świecie wykazały, że na powierzchni tusz zwierząt rzeźnych obecne są drobnoustroje z rodzaju *Enterococcus*. W Polsce nie dokonano do tej pory kompleksowej oceny zanieczyszczenia tusz różnych gatunków zwierząt rzeźnych drobnoustrojami z rodzaju *Enterococcus* oraz nie określono ilościowego udziału *E. faecalis* i *E. faecium* w obrębie rodzaju *Enterococcus* u poszczególnych gatunków zwierząt poddawanych ubojowi. Stąd, celem badań było określenie częstości występowania bakterii z rodzaju *Enterococcus* na powierzchni tusz trzech gatunków zwierząt rzeźnych poddawanych ubojowi w Polsce (bydło, świnie, króliki) oraz określenie udziału gatunków o największym znaczeniu epidemiologicznym, tj. *E. faecalis* i *E. faecium* w wyizolowanej z powierzchni badanych tusz populacji *Enterococcus* spp.

Próbki do badań pobierano w zatwierdzonych do produkcji i sprzedaży na rynki UE ubojniach zlokalizowanych na obszarze Polski południowo-wschodniej w różnych dniach produkcyjnych. Próbki pobrano od bydła (n=196), świń (n=160) oraz królików (n=496) po zakończonym etapie wytrzewienia, a przed wychłodzeniem tusz. Wstępne potwierdzenie przynależności izolatów do rodzaju *Enterococcus* wykonano stosując testy biochemiczne tj. zdolność do produkcji katalazy, hydrolizy eskuliny oraz wzrostu w obecności 6,5% NaCl. Identyfikację gatunkową (*E. faecalis*, *E. faecium*) przeprowadzono stosując technikę multiplex PCR zgodnie z protokołem EURL-AR (2014).

Drobnoustroje z rodzaju *Enterococcus* wykryto w 592 próbkach, co stanowi 69,5% wszystkich przebadanych tusz (103 tusz bydła- 52,5% przebadanych tusz, 103 tusz świń- 64,4% przebadanych tusz i 386 tuszek królików- 77,8% przebadanych tusz). Stosując technikę mPCR, wykazano, że wśród szczepów przynależnych do rodzaju *Enterococcus*, gatunek *E. faecalis* stanowił 53% (szczepy wyizolowano z 27 tusz bydła, 41 tusz świń i 246 tuszek królików), a *E. faecium* 4,4% (szczepy wyizolowano z 14 tusz bydła i 12 tusz świń). Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na konieczność podjęcia działań w celu poprawy higieny uboju, obniżenia częstości występowania *Enterococcus* spp. na powierzchni tusz bydła, świń i tuszek królików, a tym samym ograniczenia ich ewentualnej transmisji do dalszych etapów produkcji żywności pochodzenia zwierzęcego.

Słowa kluczowe: *Enterococcus*, *E. faecium*, *E. faecalis*, zwierzęta rzeźne, ubój, higiena uboju

WYSTĘPOWANIE PRZECIWCIAŁ PRZECIWKO *TOXOPLASMA GONDII* U ŚWIŃ Z RÓŻNYCH GRUP WIEKOWYCH

M. Puchalska, J. Wiśniewski, K. Anusz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Spożywanie surowego lub niedogotowanego mięsa jest uważane za jedną z najważniejszych dróg zarażenia *Toxoplasma gondii*. Wyniki badań wskazują, że u świń starszy wiek zwierząt jest jednym z czynników ryzyka, sprzyjających większej liczbie świń zarażonych.

322 próbki surowic pochodzące od 63 świń w wieku poniżej trzeciego miesiąca życia, 60 świń w wieku 3-4 miesięcy, 57 świń w wieku 5-6 miesięcy (końcowy okres tuczu) oraz 142 macior w wieku 9 miesięcy i starszych zbadano za pomocą komercyjnego testu ELISA (PrioCHECK® Toxoplasma Ab porcine) przeznaczonego do wykrywania przeciwciał przeciwko *T. gondii* w próbkach surowicy, osocza i soku mięsnego, pochodzących od świń. Próbkę dającą wynik dodatni przy rozcieńczeniu 1:50 badano następnie w rozcieńczeniach 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 i 1:1600.

Obecność specyficznych przeciwciał najczęściej stwierdzano u macior w wieku 9 miesięcy i starszych (62 ze 142 badanych zwierząt; 43,7%), następnie u świń w wieku 5-6 miesięcy (7 ze 57 badanych zwierząt; 12,3%) i świń poniżej trzeciego miesiąca życia (7 z 63 badanych zwierząt; 11,1%). Obecności przeciwciał przeciwko *T. gondii* nie stwierdzono u żadnego spośród 60 świń w wieku 3-4 miesięcy. Spośród świń w wieku poniżej trzeciego miesiąca życia u 3 stwierdzono miano na poziomie 200-399, u 2 na poziomie 100-199 i u 2 na poziomie 50-99. W grupie świń w wieku 5-6 miesięcy u 1 zwierzęcia miano utrzymywało się na poziomie 200-399, u 5 na poziomie 50-99 i 1 na poziomie ≥ 1600 . U seropozytywnych macior u 27 miano przeciwciał utrzymywało się na poziomie ≥ 1600 , u 9 na poziomie 400-799, u 17 na poziomie 200-399, u 3 na poziomie 100-199 i u 6 na poziomie 50-99. Obecność przeciwciał przeciwko *T. gondii* częściej była stwierdzana u macior w wieku 9 miesięcy i starszych. Mięso pochodzące od seropozytywnych świń może stanowić potencjalne źródło zarażenia dla konsumentów. We krwi świń w wieku do czwartego miesiąca mogą być obecne przeciwciała matczyne, dlatego badania serologiczne świń do czwartego miesiąca życia wydaje się być bezpodstawne.

Słowa kluczowe: *Toxoplasma gondii*, trzoda chlewna, przeciwciała, wiek, ELISA

EFEKTYWNOŚĆ WYBRANYCH METOD DIAGNOSTYCZNYCH W ROZPOZNAWANIU ZARAŻEŃ *TOXOPLASMA GONDII* U TRZODY CHLEWNEJ

M. Puchalska, J. Wiśniewski, J. Sokołowska, K. Urbańska, K. Anusz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Spożywanie surowego lub niedogotowanego mięsa jest ważną drogą zarażenia *Toxoplasma gondii*. W diagnostyce zarażeń *T. gondii* wykorzystywane są liczne metody, m.in. serologiczne, biologii molekularnej i histopatologiczne.

Od 100 tuczników uzyskano próbki surowic oraz wycinki mózgu, mięśni przepony, języka, mięśni karku i mięśnia sercowego. Od dwóch tuczników pobranie próbek mózgu nie było możliwe, a od jednego nie udało się uzyskać próbki mięśni karku. Próbki surowic zbadano za pomocą komercyjnego testu ELISA (PrioCHECK® *Toxoplasma* Ab porcine). Próbki osadów wytrawionych mięśni przepony od 70 tuczników oraz próbki mózgu od 14 seropozytywnych osobników zbadano za pomocą PCR z wykorzystaniem starterów TOX4 i TOX 5 dla niekodującego fragmentu o wielkości 529 pz oraz nested PCR z wykorzystaniem starterów zewnętrznych (Pml/AS1 i Pml/S1) i wewnętrznych (Pml/AS2 i Pml/S2) dla fragmentu kodującego gen B1. Próbki mózgu, mięśnia sercowego, mięśni języka, przepony i karku od 31 wybranych tuczników zbadano z wykorzystaniem metod histopatologii. Ocenie poddano 459 preparatów barwionych metodą HE – po 93 obejmujące skrawki mięśnia sercowego, mięśni przepony i języka oraz po 90 obejmujące skrawki mózgu i mięśni karku.

Obecność specyficznych przeciwciał stwierdzono u 15 ze 100 badanych tuczników. Badania metodą PCR i nested PCR nie wykazały obecności DNA *T. gondii* w żadnej spośród 70 próbek osadów wytrawionych przepon oraz 14 próbek mózgów pochodzących od seropozytywnych świń. Badanie histopatologiczne mięśni przepony, karku, języka i mięśnia sercowego wykazały obecność wyraźnie otorbionych cyst u 9 z 31 badanych zwierząt. Cysty występowały częściej u świń seropozytywnych (7/15) niż seronegatywnych (2/16), zlokalizowane były wewnątrzkomórkowo i zawierały zasadochłonne, sierpowate lub owalne struktury. Spośród 42 wykrytych cyst 16 stwierdzono w mięśniach przepony, po 12 w mięśniu sercowym i mięśniach języka i 2 w mięśniach karku. Nie stwierdzono obecności cyst w mózgu. Test ELISA jest wygodnym narzędziem w poubojowej diagnostyce zarażeń *T. gondii* u świń. Próbki do badania histopatologicznego powinny być pobierane z miejsc predylekcyjnych, tj. mięśnia sercowego oraz mięśni szkieletowych (głównie języka i przepony).

Słowa kluczowe: *Toxoplasma gondii*, trzoda chlewna, ELISA, PCR, badanie histopatologiczne

OCENA WYSTĘPOWANIA *T.GONDII* W MIĘSIE WIEPRZOWYM NA PODSTAWIE OZNACZEŃ PRZECIWCIAŁ ANTY-*T.GONDII* W SUROWICY KRWI I SOKU MIĘSNYM, PRZY ZASTOSOWANIU TESTU IMMUNOENZYMATYCZNEGO

A. Wiszniewska-Łaszczych, M. Sołtysiuk, B. Wysok, J. Wojtacka, M. Gomółka-Pawlicka

Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Toksoplazmoza jest kosmopolityczną chorobą odzwierzęcą wywołaną przez wewnątrzkomórkowego pierwotniaka *T.gondii*. Głównym źródłem zarażenia człowieka jest mięso, w którym występują inwazyjne postaci pasożyta, w postaci cyst tkankowych.

Celem badań było określenie intensywności występowania *T. gondii* u świń poddawanych ubojowi na podstawie oznaczeń przeciwciał anty-*T.gondii* w surowicy krwi i soku mięsnym, przy zastosowaniu testu immunoenzymatycznego (ELISA).

Do badań pobrano surowicę krwi, pozyskaną podczas wykrwawiania oraz sok mięśny z mięśniowej części przepony 154 sztuk świń ubijanych w jednym z zakładów mięsnych w województwie Warmińsko-Mazurskim. 39 sztuk świń pochodziło z dużego, gospodarstwa, w którym prowadzony był zamknięty cykl produkcyjny (od wyproszenia do uboju). 115 sztuk pochodziło z 10 małych gospodarstw prowadzących odchów warchlaków.

Surowica oraz sok mięśny poddany został badaniu przy użyciu testu immunoenzymatycznego ELISA ID Screen Toxoplasmosin Indirect Multi-species (IDvet, Francja). Po przeprowadzeniu oznaczenia uzyskano ogółem 62/154 (40,25%) seropozytywne próbki surowicy krwi oraz 52/154 (33,76%) dodatnie próbki soku mięsnego. Wszystkie dodatnie próbki soku mięsnego pochodziły od zwierząt, w których surowicy uzyskano wynik pozytywny w kierunku występowania przeciwciał anty-*T.gondii*.

Analiza wyników pod względem pochodzenia świń poddawanych ubojowi wykazała, że 29 z 39 (74,35%) próbek pochodzących z dużego gospodarstwa uzyskało wynik pozytywny zarówno w surowicy krwi jak i soku mięsnym, natomiast w przypadku próbek pochodzących z małych gospodarstw wynik pozytywny uzyskano w 33 ze 115 (28,69%) próbek surowicy i w 23 ze 115 (20%) próbek soku mięsnego.

W przypadku świni domowej seropozytywność jest ściśle związana z obecnością cyst tkankowych w tuszy. Uzyskane wyniki wskazują na duże zagrożenie zakażenia człowieka *T.gondii* w przypadku spożycia poddanego niedostatecznej obróbce termicznej mięsa jak również braku zachowania zasad higieny podczas obróbki i przechowywania mięsa surowego. Korelacja wyników pozytywnych uzyskiwanych z surowicy krwi i soku mięsnego wskazuje, że sok mięśny może być skuteczną metodą diagnostyczną wykrywania obecności *T.gondii* w mięsie wieprzowym.

PORÓWNANIE IDENTYFIKACJI IZOLATÓW *SALMONELLA* SPP. Z PRÓBEK MIĘSA PRZY UŻYCIU RUTYNOWYCH METOD BAKTERIOLOGICZNYCH I METOD BIOLOGII MOLEKULARNEJ

J. Pławińska-Czarnak¹, K. Wódz², M. Kizerwetter-Świda¹, J. Bogdan¹, T. Nowak²,
P. Kwieciński², A. Kwieciński², K. Anusz¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Vet-Lab Brudzew, Brudzew, Polska

Strategia bezpieczeństwa żywności wprowadza obligatoryjne jej badanie na obecność *Salmonella* spp. Niestety podobieństwa antygenowe i właściwości biochemicznych między blisko spokrewnionymi bakteriami mogą prowadzić do nieprawidłowego ich rozpoznania. Przykładem może być błędne identyfikowanie *Citrobacter* spp. jako *Salmonella* spp.

Próbki surowego mięsa wołowego, wieprzowego i drobiowego pozyskano z tusz sklasyfikowanych jako zdatne do spożycia przez ludzi. Namnażanie *Salmonella* spp. przeprowadzono z wykorzystaniem selektywnych podłoży (MSRV, MKTTn, XLD, BGA). Serotypowanie przeprowadzono za pomocą aglutynacji szkiełkowej ze swoistymi surowicami. Kolonie o morfologii typowej dla *Salmonella* spp. poddano identyfikacji biochemicznej przy użyciu testów API 20E oraz VITEK® 2 COMPACT. W celu potwierdzenia identyfikacji domniemanej *Salmonella* spp. wykorzystano technikę Real-Time PCR. DNA do Real-Time PCR wyekstrahowano z komórek bakterii za pomocą Kylt® DNA Extraction-Mix II. Do identyfikacji *Salmonella* spp. wykorzystano test Kylt® *Salmonella* spp. Do jednoczesnego oznaczenia *Salmonella* Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium użyto testu Spp-Se-St PCR.

W 180 próbkach mięsa stwierdzono na podstawie morfologii kolonii bakterii wyrosłych na selektywnych podłożach 42 szczepy wskazujące na *Salmonella* spp. Serotypowanie patogenu było utrudnione z uwagi na dość częstą autoaglutynację. Identyfikacja *Salmonella* spp. z wykorzystaniem testu VITEK® 2 COMPACT okazała się bardziej dokładną w porównaniu z testem API20E i potwierdziła przynależność 35 szczepów do *Salmonella enterica* spp. *enterica*; sześć szczepów zidentyfikowano jako *Citrobacter braakii*, a jeden jako *Proteus mirabilis*. Identyfikacja *Salmonella* spp. techniką PCR potwierdziła opisane powyżej wyniki.

Wprowadzenie diagnostyki molekularnej do jednoznacznego potwierdzenia próbek z wynikiem „przypuszczalnie *Salmonella*” powinno być działaniem obowiązkowym nie tylko ze względu na ochronę zdrowia publicznego, ale także w związku z obowiązującymi w UE procedurami postępowania z mięsem. Błędna identyfikacja *Citrobacter braakii* czy *Proteus mirabilis* jako *Salmonella* spp. może bowiem prowadzić do wycofania z rynku podejrzanego mięsa i przez to powodować straty ekonomiczne.

Słowa kluczowe: *Salmonella* spp., *Citrobacter* spp., mięso, bezpieczeństwo żywności, zdrowie publiczne

ZMIANY BĄBLOWCOWE U BYDŁA W BADANIU POUBOJOWYM

**M. Welz¹, K. Barocha², J. Pławińska-Czarnak², M. Żychska², Z. Strzałkowska²,
A. Kaczmarkowska², K. Anusz², O. Martynyuk³, A. Cywińska², L. Witkowski²**

¹Główny Inspektorat Weterynarii, Warszawa, Polska,

²Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

³National University of Life and Environment Sciences of Ukraine, Ukraine

Bąblowica u ludzi obecnie uznawana jest za powracającą zoonozę. Do zakażeń dochodzi w wyniku spożycia jaj lub form larwalnych pasożyta. Wagę zakażeń *Echinococcus* podkreślają coroczne raporty EFSA wskazujące na szerokie rozprzestrzenienie się tego pasożyta w populacji lisa rudego (*Vulpes vulpes*) w prawie całej Europie. W większości krajów europejskich bąblowica występuje powszechnie również u zwierząt gospodarskich, dlatego jest szczególnie ważnym elementem uwagi podczas badania poubojowego zwierząt rzeźnych i mięsa.

W przebiegu badania poubojowego makroskopowo można dostrzec charakterystyczne dla formy larwalnej *Echinococcus* torbielowate zmiany w narządach wewnętrznych. U żywicieli przypadkowych jak przeżuwacze, świnie czy człowiek formy larwalne wielu gatunków tasiemców wywołują bardzo podobne zmiany w obrazie badania makroskopowego. Z uwagi na poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi, szczególnie ważnym elementem badań jest ocena występowania tasiemców *Echinococcus granulosus* i *E. multilocularis*.

Do badania zaklasyfikowano 155 próbek pochodzących od bydła rzeźnego. Próbkę były pobierane przez urzędowego lekarza weterynarii wyznaczonego do badania zwierząt rzeźnych i mięsa. W przypadku stwierdzenia zmian przez lekarza weterynarii przeprowadzającego badanie poubojowe zmieniony fragment narządu (głównie wątroby, rzadziej płuc) był wycinany oraz utrwalany w 70% alkoholu i transportowany do laboratorium.

Wszystkie próbki zostały ocenione makroskopowo pod względem kształtu i wielkości, w przypadku obecności płynu wykonano badanie mikroskopowe. Torbiele miały średnice od 0,5 do 6 cm. Z każdej zmiany pobrano po 3 wycinki do dalszych badań z zastosowaniem technik biologii molekularnej. Następnie po izolacji DNA próbki zbadano przy pomocy PCR ze specyficznymi starterami dla *Echinococcus*. W celu określenia gatunku pasożyta produkt amplifikacji poddano sekwencjonowaniu.

Słowa kluczowe: bąblowiec, *Echinococcus*, bydło, PCR

Badanie częściowo finansowane przez: Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, decyzja 9506/E-385/R/2018.

WYSTĘPOWANIE DROBNOUSTROJÓW PATOGENNYCH W MIĘSIE I MIĘSNYCH PRODUKTACH EKOLOGICZNYCH

M. Sosnowski, I. Kapłon, K. Wieczorek, J. Osek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Celem badań była ocena występowania bakterii patogenicznych w mięsie i mięsnych produktach ekologicznych gotowych do spożycia.

Zbadano łącznie 175 próbek ekologicznego mięsa i produktów mięsnych, dostępnych w handlu detalicznym, w tym 100 próbek mięsa surowego i 75 próbek produktów mięsnych wyprodukowanych bez obróbki termicznej, lub z zastosowaniem niskiej temperatury. Próbkę poddano badaniom mikrobiologicznym z wykorzystaniem metod hodowlanych i molekularnych, w następujących kierunkach: wykrywania obecności *Listeria monocytogenes* wg PN-EN ISO 11290-1:2017-07, wykrywania obecności *Salmonella* spp. wg PN-EN ISO 6579-1:2017-04, wykrywania obecności gronkowców koagulazododatnich (*Staphylococcus aureus* i innych gatunków) wg PN-EN ISO 6888-3:2004+AC:2005, wykrywania obecności *Campylobacter* spp. wg PN-EN ISO 10272-1:2017-08 i identyfikacji gatunkowej metodą molekularną oraz wykrywania obecności shigatoksycznych *Escherichia coli* (STEC) wg ISO/TS 13136:2012. Identyfikację gatunkową wyizolowanych szczepów przeprowadzano również testami biochemicznymi przy użyciu systemu VITEK 2 (bioMérieux).

W wyniku badania 100 próbek mięsa surowego pochodzącego z hodowli ekologicznych, obecność bakterii *L. monocytogenes* stwierdzono w 39 próbkach (39,0%). Bakterie z rodzaju *Salmonella* spp. wykryto w 8 próbkach (8,0%). W dwudziestu próbkach (20,0%) wykryto obecność *Campylobacter* spp., które badaniem PCR zaklasyfikowano do gatunku *C. jejuni* (8 izolatów) lub *C. coli* (12 izolatów). Obecność *S. aureus* stwierdzono w 37 próbkach (37,0%). W 5 próbkach (5,0%) wykryto geny *stx1* i/lub *stx2* odpowiedzialne za tworzenie toksyny Shiga przez patogenne szczepy STEC.

W wyniku badania 75 próbek mięsnych produktów ekologicznych, obecność bakterii *L. monocytogenes* stwierdzono w pięciu próbkach (6,7%). W żadnej próbce nie stwierdzono jednak obecności pozostałych badanych drobnoustrojów patogenicznych: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *S. aureus* lub STEC.

Słowa kluczowe: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, shiga-toksyczne *Escherichia coli*, *Campylobacter*, żywność ekologiczna

BADANIA PROFILU BIAŁKOWEGO I IDENTYFIKACJA GATUNKOWA IZOLATÓW WŁOŚNI PRZY UŻYCIU MALDI-TOF MS

E. Bilska-Zajac, M. Różycki, A. Bełcik, W. Korpysa-Dzirba, M. Włodarczyk-Ramus, A. Gontarczyk, M. Kochanowski, T. Cencek

Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Spektrometria masowa z desorpcją laserową / jonizacją wspomaganą matrycą z czasem przelotu (MALDI-TOF MS) to technika jonizacji umożliwiająca analizę spektrometrii masowej biocząsteczek, takich jak białka. Ponieważ zarówno skład białkowy każdego organizmu, jak i widmo MALDI-TOF MS są unikalne, uzyskane widma można porównywać z bazą danych znanych mikroorganizmów i identyfikować ich przynależność gatunkową.

Celem pracy była analiza widm uzyskanych z terenowych izolatów larw *Trichinella* spp. pozyskanych od dzików i lisów z Polski oraz ocena czy na jej podstawie możliwe jest rozpoznanie gatunków włośni.

Larwy *Trichinella* spp. wyizolowano od 29 dzików i 2 lisów. Białka z zebranych izolatów terenowych wyekstrahowano zgodnie z protokołem „in-house”. Otrzymane widma MALDI TOF MS z polskich izolatów porównano z wzorcową biblioteką widm wygenerowaną w Federal Institute for Risk Assessment (BfR) w Berlinie, przy użyciu oprogramowania Flex Analysis. Wszystkie uzyskane widma z izolatów terenowych zostały zidentyfikowane na poziomie gatunkowym z wysokim prawdopodobieństwem, o czym świadczą wartości „score values” od 2,0 do 2,5.

Larwy z 20 izolatów zidentyfikowano jako *T. spiralis*, a z 11 izolatów jako *T. britovi*. Powyższe wyniki zweryfikowano za pomocą referencyjnej metody multiplex-PCR, która potwierdziła identyfikację gatunkową badanych izolatów.

Podsumowując, analiza wykonana za pomocą metody MALDI TOF MS okazała się przydatna do identyfikacji gatunkowej *Trichinella* spp.

Słowa kluczowe: *Trichinella*, MALDI-TOF MS, identyfikacja gatunkowa

IDENTYFIKACJA GATUNKOWA MIĘSA I PRODUKTÓW MIĘSNYCH

A. Weiner, M. Skowronek, K. Kwiatek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Problem stosowania niedozwolonych praktyk w zakresie fałszowania żywności wykazuje tendencje wzrastającą. Spowodowało to wydanie odpowiednich przepisów prawnych, które nakazują prowadzenie kontroli autentyczności produktu, zgodności jego składu z deklaracją producenta. Najczęściej zafałszowane produkty spożywcze to: oliwa z oliwek, miód, alkohol, soki owocowe, mleko i mleko, mięso i produkty mięsne. Mięso w diecie człowieka jest bardzo ważnym składnikiem, ponieważ zawiera białko, tłuszcz, żelazo, cynk, niacynę i witaminy B6 i B12 i wszystkie są niezbędne dla zdrowia ludzi. Obecnie zafałszowanie gatunków mięsa jest powszechnym problemem na rynku detalicznym. Praktyki te budzą niepokój z powodów takich jak: ekonomiczny (nieuczciwa konkurencja wśród producentów), religijny (konsumpcja pewnych gatunków nie jest dozwolona w niektórych religiach), zdrowie (alergie), etyczne (style życia takie jak wegetarianizm). Z powodu niemożności rozróżnienia składników poprzez kontrolę wzrokową, możliwość sprawdzenia gatunkowości mięsa, która jego jest szczególnie ważna w przypadku jego przetworów.

Metodami, które można wykorzystać do identyfikacji gatunkowej mięsa i jego przetworów są metody biotechnologiczne: konwencjonalny PCR oraz real-time PCR. W Zakładzie Higieny Pasz PIWet-PIB została opracowana metoda PCR do identyfikacji DNA wołowego, wieprzowego i drobiowego. Ponadto została opracowana metoda real-time PCR do wykrywania i identyfikacji DNA białka końskiego i przeżuwaczy. W badaniach wykorzystywane jest DNA mitochondrialne, które jest izolowane z próbek przy użyciu testu komercyjnego Genomic Mini AX Tissue (A&A Biotechnology). Dla każdego gatunku został zoptymalizowany skład mieszaniny reakcyjnej i profil czasowo-temperaturowy reakcji. Metody charakteryzują się bardzo wysoką czułością, ponieważ granica wykrywalności dla DNA białka wołowego wynosi 0,05%, dla DNA białka wieprzowego – 0,1% a dla DNA białka drobiowego – 0,2%. W przypadku metody real-time PCR granice wykrywalności zostały określone na poziomie 0,05% dla DNA przeżuwaczy i 0,1% dla DNA końskiego.

W 2020 roku wykonano analizę 49 próbek mięsa i jego przetworów. W czterech próbkach potwierdzono obecność DNA białka wołowego, w 34 – obecność DNA białka wieprzowego oraz w 11 – DNA białka końskiego. W żadnej próbce nie stwierdzono obecności DNA białka drobiowego.

Słowa kluczowe: zafałszowania, gatunkowość mięsa, przetwory mięsne, PCR

OCENA MIKROBIOLOGICZNA MLEKA OD KLINICZNIE ZDROWYCH OWIEC W KONTEKŚCIE BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOSCI

P. Buras¹, M. Roman¹, A. Didkowska¹, P. Żmuda², K. Wódz³, K. Anusz¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Kraków, Polska

³VET-LAB, Brudzew, Polska

W Polsce owcze mleko jest wykorzystywane do produkcji regionalnych produktów mleczarskich, głównie serów. Ze względu na to, że niektóre z nich (bundz, żentyca) są poddawane obróbce termicznej w temperaturach niższych niż temperatura pasteryzacji, surowiec powinien być najwyższej jakości mikrobiologicznej. Celem badania była analiza mikrobiologiczna próbek mleka od klinicznie zdrowych owiec oraz ocena czy izolowane bakterie mogą stanowić zagrożenie dla konsumentów.

Mleko pobrano od 99 maciorek z pięciu różnych gospodarstw na terenie województwa małopolskiego. Średnia wieku owiec wyniosła 5 lat. Próbkę mleka o objętości 50 ml pobierano do sterylnych pojemników i w temperaturze 4°C dostarczano do laboratorium. Próbkę mleka posiewano na podłoże Columbia Agar z 5% krwią owczą i Columbia CNA Agar z 5% krwią owczą, kolistyną i kwasem nalidysowym oraz na selektywne podłoża do izolacji ziarniaków gram-dodatnich. Inkubację prowadzono przez 24 h w 37°C w zmodyfikowanej atmosferze z dodatkiem 5% CO₂. W przypadku braku wzrostu drobnoustrojów inkubację przedłużano do 48-72 h. Identyfikację drobnoustrojów przeprowadzono na podstawie oceny fenotypowej kolonii, testu katalazy, testu oksydazowego oraz czynnika aglutynacji, białka A i polisacharydu otoczkowego za pomocą szybkiego testu aglutynacji PASTOREX™ STAPH-PLUS. Dodatkowo do identyfikacji enterokoków użyto podłoża BAA (Agar z żółcią eskuliny i azydkiem, Oxoid), a do identyfikacji gronkowców użyto podłoża MSA (Mannitol Salt Agar, Graso). Do ostatecznej identyfikacji mikroorganizmów zastosowano automatyczny system mikrobiologiczny VITEK2 z kartami dla bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

Z 99 przebadanych próbek mleka wyizolowano następujące bakterie: gronkowce koagulazo-ujemne (n=40), *Aerococcus viridans* (n=23), paciorkowce (n=7), *Staphylococcus aureus* (n=3), enterokoki (n=3), *Kocuria varians* (n=1), *Macrococcus caseolyticus* (n=1), *Proteus* sp. (n=1). W pięciu przypadkach badanie mikrobiologiczne wykazało florę mieszaną, a z 13 próbek nie wyhodowano bakterii.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że od zdrowych klinicznie owiec izolowane są bakterie, które mogą być patogenne dla ludzi, szczególnie dla osób z osłabionym układem immunologicznym.

Słowa kluczowe: owce, mleko, badanie mikrobiologiczne, gronkowce koagulazo-ujemne, bezpieczeństwo żywności

WYSTĘPOWANIE I WRAŻLIWOŚĆ NA ŚRODKI PRZECIWDROBNOUSTROJOWE ENTEROKOKÓW IZOLOWANYCH Z SUROWEGO MLEKA KOZIEGO

M. Gołaś-Prądyńska, M. Łuszczyńska, D. Chrzęszcz, J. G. Rola

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Enterokoki są naturalnym składnikiem flory bakteryjnej zarówno ludzi jak i zwierząt. Powszechnie w środowisku naturalnym, występują także na każdym etapie łańcucha żywnościowego. W ostatnich latach zaobserwowano wzrost częstości zakażeń wywoływanych przez enterokoki. Są one także ważnym środowiskowym rezerwuarem genów oporności na antybiotyki. Celem pracy było określenie częstości występowania i wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe szczepów *Enterococcus* spp. wyizolowanych z próbek surowego mleka koziego.

W latach 2019-2020 pobrano łącznie 207 próbek mleka. Enterokoki izolowano na pożywkę selektywnej Slanetz-Bartley i identyfikowano biochemicznie za pomocą systemu VITEK 2 Compact. Do potwierdzenia przynależności gatunkowej *E. faecium* i *E. faecalis* oraz detekcji wybranych genów oporności użyto metody PCR. Oznaczenie lekowrażliwości wyizolowanych szczepów wykonano metodą mikrorozcieńczeń na płycie Sensititre EUVENC i CMV3AGPF (ThermoFisher Scientific).

Z pobranych 207 próbek mleka surowego wyizolowano łącznie 196 szczepów *Enterococcus* spp.. *E. faecalis* stanowiły 40,8% (80 izolatów), a *E. faecium* 15,3% (30 izolatów) wszystkich wyizolowanych enterokoków. Wyizolowane szczepy były wrażliwe na linezolid, penicylinę i tigecyklinę. Zaobserwowano wysoki odsetek szczepów opornych na linkomycynę (52%), chinupristinę/dalfopristinę (51,5%) i tetracyklinę (30%). W przypadku innych antybiotyków odsetek opornych szczepów mieścił się w zakresie 0,5 – 6,6%. W obrębie badanych izolatów nie wykryto genów *VanA*, *VanB*, *tet(L)*, *tet(W)* i *vatD*. Gen *ermB* został wykryty u czterech szczepów *E. faecalis* opornych na erytromycynę. Gen *tet(M)* został wykryty w materiale genetycznym 43 opornych na tetracyklinę szczepów *E. faecalis* (n=80). Wykryto także gen *vgaA* w 15 szczepach *E. faecalis* opornych na chinupristinę/dalfopristinę.

Wyniki badań wskazują na wysoką częstość występowania bakterii z rodzaju *Enterococcus* w surowym mleku kozim, w tym *E. faecalis* i *E. faecium*. W badanych próbkach enterokoki wykazują wrażliwość na antybiotyki istotne klinicznie m.in. gentamycynę i wankomycynę. Jednak obecność w mleku kozim szczepów opornych na antybiotyki, w tym wieloopornych wydaje się być niepokojąca i wymaga dalszego monitorowania zjawiska.

Słowa kluczowe: mleko kozie, enterokoki, antybiotykooporność, geny oporności

Badanie zostało sfinansowane ze statutowej działalności Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach.

OCENA WYSTĘPOWANIA ENTEROTOKSYCZNYCH GRONKOWCÓW KOAGULAZO-UJEMNYCH W ŻYWNOŚCI GOTOWEJ DO SPOŻYCIA

R. Szewczyk, K. Wieczorek, J. Osek

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Celem przeprowadzonych badań była ocena występowania gronkowców koagulazo-ujemnych (CoNS) w żywności gotowej do spożycia (RTE) oraz identyfikacja genów *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, kodujących podstawowe enterotoksyny gronkowcowe.

W okresie od stycznia do sierpnia 2021 r. przebadano 118 próbek żywności RTE, które obejmowały: 76 produktów garmażeryjnych, 32 wyroby mięsne w tym: 17 konserw, 10 szynki dojrzewających i 5 wędlin (wędzonki, kabanosy). Zbadano ponadto 7 ryb wędzonych oraz 3 przetwory rybne (konserwy, sałatki rybne). Gronkowce koagulazo-ujemne izolowano zgodnie z procedurą opisaną w PN-EN ISO 6888-3:2004. Z każdej próbki pobierano do trzech kolonii, które na agarze Baird Parker z dodatkiem plazmy króliczej nie posiadały charakterystycznej dla gronkowców koagulazo-dodatnich strefy. Identyfikację gatunkową przeprowadzono z wykorzystaniem techniki MALDI-TOF. W celu oznaczenia genów kodujących enterotoksyny SEA, SEB, SEC, SED oraz SEE zastosowano multipleks PCR.

Obecność gronkowców koagulazo-ujemnych potwierdzono w 71 (60,2%) przebadanych próbkach. W siedmiu produktach stwierdzono występowanie dwóch lub trzech gatunków gronkowców (dwa rodzaje szynki wieprzowej dojrzewającej, hamburger drobiowy, pyzy z mięsem, pstrąg wędzony na zimno oraz dwie konserwy mięsne. W sumie wyizolowano 79 szczepów, spośród których największy odsetek stanowił *Staphylococcus epidermidis* (38; 48,1%), a w dalszej kolejności *S. saprophyticus* (10; 12,7%), *S. warneri* (7; 8,8%), *S. cohnii* (6; 7,6%), *S. carnosus* i *S. simulans* po 4 izolaty (5,0%), *S. xylosus* i *S. capitis* po 2 izolaty (2,5%) oraz po jednym szczepie (1,3%) gatunków: *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. condimentii*, *S. nepalensis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*.

Wyniki testu multipleks PCR wykazały, że 6 (7,6%) szczepów posiadało gen *sec*, odpowiedzialny za wytwarzanie enterotoksyny C. Cztery z nich należały do gatunku *S. epidermidis* a pozostałe do *S. warneri*. Biorąc pod uwagę rodzaj żywności, z której wyizolowano gronkowce enterotoksyczne były to produkty garmażeryjne: gulasz wieprzowy, kurczak w sosie curry, cheeseburger drobiowy, penne z kurczakiem i pyzy z mięsem, które były zanieczyszczone zarówno *S. epidermidis* jak i *S. warneri*.

Słowa kluczowe: gronkowce, koagulazo-ujemne, enterotoksyny, MALDI-TOF, żywność RTE

PROMIENIOWANIE GAMMA JAKO METODA KONTROLI *L. MONOCYTOGENES* W SERACH GORGONZOLA, RICOTTA I GOUDA

K. E. Heikkinen¹, M. Tracz¹, D. Gozdowski², M. Puchalska¹, M. Ziarno³, K. Anusz¹,
A. Jackowska-Tracz¹

¹Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Instytut Rolnictwa, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

³Instytut Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

L. monocytogenes jest piątym co do częstości zgłaszania patogenem powodującym zachorowania odżywnościowe w UE. W 2019 r. zgłoszono 2621 inwazyjnych przypadków listeriozy u ludzi. Żywność gotowa do spożycia (RTE), w tym sery, mogą zawierać *L. monocytogenes* jako wynik zanieczyszczenia surowca lub jako zanieczyszczenie w procesie produkcji. W UE, liczba próbek serów miękkich lub półmiękkich z wynikiem dodatnim w latach 2009-2018 wynosiła odpowiednio 0,13 % i 0,37 % w handlu detalicznym i na etapie przetwarzania.

Celem pracy była ocena wykorzystania promieniowania gamma jako interwencji stosowanej w odniesieniu do indywidualnie pakowanych serów wyprodukowanych z mleka pasteryzowanego zapewniającej kontrolę *L. monocytogenes*. Materiał do badań stanowiły dwa rodzaje serów typu półmiękkiego Gorgonzola ($pH=6.08 \pm 0.11$; $a_w=0.98 \pm 0.003$) i Gouda ($pH=5.52 \pm 0.09$; $a_w=0.98 \pm 0.003$) oraz jeden typu miękkiego Ricotta ($pH=5.83 \pm 0.12$; $a_w=0.99 \pm 0.003$). Obecność *L. monocytogenes* zbadano zgodnie z procedurą ISO 11290-1:2017. Do dalszych badań wykorzystano próbki spełniające KBŻ, dla którego limit przyjęto brak *L. monocytogenes* w 25g produktu. Próbki sera (10g) zostały skażone wieloszczepowym koktajlem *L. monocytogenes* (inoculum ca. $8 \log_{10}$ jtk mL^{-1}) i poddane napromieniowaniu w zakresie od 0 do 2,5 kGy w odstępach 0,5 kGy. Następnie wykonano serie dziesięciokrotnych rozcieńczeń i posiewy na pożywkę agarową ALOA.

Kinetyka inaktywacji *L. monocytogenes* we wszystkich rodzajach sera miała charakter liniowy, co pozwoliło na wyliczenie wartości D oraz opracowanie podstawowych modeli matematycznych do przewidywania stopnia redukcji dla każdej innej dawki w zakresie do 2,5 kGy. Stwierdzono, że wrażliwość *L. monocytogenes* na promieniowanie gamma w serach Gorgonzola, Ricotta i Gouda różni się znacząco ($P < 0.05$). Maksymalny poziom inaktywacji wynosił 4,06-log w serze Gorgonzola, 3,06-log w serze Ricotta i 5,59-log w serze Gouda. Wartość D dla *L. monocytogenes* w serze Gouda ($D=0,44$ kGy) była o połowę niższa niż w serze Ricotta ($D=0,80$ kGy) i wyraźnie niższa niż w serze Gorgonzola ($D=0,62$ kGy).

Promieniowanie gamma jest skuteczną metodą kontroli *L. monocytogenes* w serach i jako interwencja po procesie pakowania może zwiększyć bezpieczeństwo serów.

Słowa kluczowe: *L. monocytogenes*, Gorgonzola, Ricotta, Gouda, promieniowanie gamma

TYPOWANIE MOLEKULARNE *LISTERIA MONOCYTOGENES* SEROGRUPY IIA POCHODZĄCYCH Z ŻYWNOSCI I ŚRODOWISKA JEJ PRODUKCJI W POLSCE

B. Lachtara, K. Wieczorek, J. Osek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Listeria monocytogenes wywołuje u ludzi chorobę określaną jako listerioza. Bakterie te dostają się do organizmu człowieka zazwyczaj za pośrednictwem zanieczyszczonej nimi żywności. Celem pracy była charakterystyka molekularna oparta o analizę sekwencjonowania genomu (WGS) szczepów *L. monocytogenes* izolowanych w Polsce.

Materiał do badań stanowiło 100 izolatów serogrupy Ila *L. monocytogenes*, wyizolowanych w latach 2013-2019 z surowego mięsa (n=19), wędlin (n=48) i ze środowiska jej produkcji żywności (n=33). DNA bakteryjne poddano sekwencjonowaniu i analizom z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych dostępnych na platformie BIGSdb-Lm (<http://bigsdb.pasteur.fr/listeria>), pozwalających na typowanie molekularne metodą Multilocus sequence typing (MLST) opartą na analizie siedmiu genów metabolizmu podstawowego oraz core genome MLST (cgMLST), opartą na sekwencjach 1748 genów konserwatywnych.

Badane szczepy należały do sześciu kompleksów klonalnych (CC) MLST: CC155 (33; 33,0% izolatów), CC121 (32; 32,0%), CC8 (28; 28,0%), CC7 (4; 4,0%), CC11 (2; 2,0%) i CC37 (1; 1,0%). W obrębie najliczniej reprezentowanego kompleksu CC155 zidentyfikowano jeden typ sekwencyjny ST155 i dziewięć typów cgMLST. *L. monocytogenes* wyizolowane z surowego mięsa należały głównie do ST155 (73,7%), natomiast izolaty pochodzące z wędlin do ST121 (37,5%) i ST8 (35,4%). Wśród szczepów ze środowiska produkcji żywności najczęściej stwierdzane były ST155 (39,4%) oraz ST8 (30,3%). Analiza oznaczonych ST pod kątem daty izolacji szczepu wykazała, że w obrębie izolatów z mięsa i próbek środowiskowych, *L. monocytogenes* ST155 występowały przez większość lat, w których pobierano próbki. Natomiast, w odniesieniu do wędlin od 2013 do 2016 dominowały izolaty ST121, zaś w latach 2017-2019 szczepy ST8.

L. monocytogenes należące do CC121, zidentyfikowane w niniejszym badaniu były wcześniej odpowiedzialne za infekcje u ludzi w różnych regionach świata, co wskazuje na ich wysoki potencjał zakaźny. Obecność *L. monocytogenes* należących do tych samych typów sekwencyjnych, wyizolowanych z różnych źródeł w różnych latach sugeruje, że mają one zdolność długiego utrzymywania się w środowisku produkcji żywności, co może prowadzić do zanieczyszczenia krzyżowego na różnych etapach jej produkcji.

Słowa kluczowe: *Listeria monocytogenes*, MLST, cgMLST

OPORNOŚĆ NA ŚRODKI PRZECIWDROBNOUSTROJOWE WŚRÓD BAKTERII Z RODZINY *ENTEROBACTERIACEAE* IZOLOWANYCH Z ŻYWNOSCI GOTOWEJ DO SPOŻYCIA

M. Łopatek, E. Denis, K. Wieczorek, J. Osek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Drobnoustroje należące do *Enterobacteriaceae* są szeroko rozpowszechnione w środowisku, w którym łatwo nabywają oporność na antybiotyki i równie szybko przekazują ją innym bakteriom. Celem badań była ocena oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe wśród bakterii *Enterobacteriaceae* wyizolowanych z żywności gotowej do spożycia.

W latach 2019-2020 zbadano łącznie 194 próbki żywności, w tym 96 próbek wędlin, 46 próbek ryb wędzonych oraz 52 próbki serów w kierunku obecności *Enterobacteriaceae* zgodnie z PN-EN ISO 21528-1:2017-08. Uzyskane izolaty bakteryjne były poddawane identyfikacji gatunkowej z wykorzystaniem techniki MALDI-TOF. W kolejnym etapie, przy użyciu płytek Sensititre EUVSEC i EUVSEC2 określano wrażliwość badanych izolatów *Enterobacteriaceae* na wybrane środki przeciwdrobnoustrojowe, stosując metodę najmniejszych stężeń hamujących (MIC). Do dalszych badań nad wykrywaniem genów oporności na różne klasy antybiotyków wybrano 33 izolaty, które poddano sekwencjonowaniu genomowemu i analizowano z wykorzystaniem narzędzi ResFinder ver. 4.1 oraz Mobile Element Finder ver. 1.0.3 dostępnych w bazie Center for Genomic Epidemiology.

Obecność *Enterobacteriaceae* stwierdzono w 159 (82,0%) próbkach, a najwyższy odsetek wyników dodatnich wykazano w serach (94,2%). Z badanych próbek żywności uzyskano 226 izolatów bakteryjnych, najwięcej z wędlin (101 izolatów), a następnie z serów (80 izolatów) oraz z ryb (45 izolatów). Identyfikacja gatunkowa wykazała, że należały one najczęściej do rodzajów *Escherichia* (19,0%), *Enterobacter* (15,9%), *Hafnia*, (11,1%), *Serratia* (10,6%), *Citrobacter* (8,8%) i *Klebsiella* (8,4%). Badanie wrażliwości izolatów *Enterobacteriaceae* na wybrane środki przeciwdrobnoustrojowe wykazało, że wszystkie były wrażliwe na meropenem. Najwięcej izolatów było opornych na ampicylinę (48,7%) i kolistynę (36,3%), a najwyższy odsetek szczepów opornych na w/w antybiotyki wyizolowano z wędlin. U 90,9% izolatów poddanych sekwencjonowaniu wykryto geny oporności na β -laktamy. Niektóre szczepy, w tym *E. coli*, charakteryzowały się obecnością markerów oporności na kilka klas środków przeciwdrobnoustrojowych. Ponadto, u 4 izolatów wykryto plazmidy, na których zlokalizowane były geny oporności.

Słowa kluczowe: *Enterobacteriaceae*, żywność gotowa do spożycia, oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe

ZAWARTOŚĆ HISTAMINY W WYBRANYCH ETAPACH PRODUKCJI KONSERW RYBNYCH

A. Madejska, M. Pawul-Gruba, M. Michalski, J. Osek

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Histamina jest heterocykliczną aminą biogenną, która powstaje w wyniku dekarboksylacji aminokwasu histydyny przy udziale enzymu dekarboksylazy histydynowej produkowanej przez bakterie. Amina ta występuje naturalnie w organizmie i pełni w nim wiele ważnych funkcji, jednak po spożyciu żywności zawierającej znaczne ilości histaminy powoduje zatrucia pokarmowe, szczególnie u osób z brakiem oksydazy diaminowej. Histamina występuje w dużych ilościach w rybach i produktach rybnych, w serach dojrzewających, czy też wyrobach mięsnych fermentowanych długodojrzewających. Rozporządzenie Komisji Europejskiej nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych (załącznik I, rozdział 1 „Kryteria bezpieczeństwa żywności”, pkt. 1.26 i 1.27) wprowadza dopuszczalne limity tej aminy tylko w produktach rybołówstwa o podwyższonym poziomie histydyny. Celem pracy było określenie zawartości histaminy na poszczególnych etapach produkcji konserw rybnych dostępnych w handlu na polskim rynku.

Przebadano 39 serii produkcyjnych konserw rybnych. Oznaczono zawartości histaminy w surowcach z których wyprodukowano konserwy, rybach po solankowaniu oraz w gotowych produktach. Badania wykonano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją DAD. Metoda polega na wyekstrahowaniu histaminy z badanych próbek kwasem tróchlorooctowym, oczyszczeniu za pomocą ekstrakcji do fazy stałej (SPE) na kolumnkach jonowymiennych oraz analizie chromatograficznej w odwróconym układzie faz na kolumnie C18. Zakres metody wyznaczony w procesie walidacji wynosił 3,33-420 mg/kg.

Zawartość histaminy w surowcach, rybach po solankowaniu i konserwach rybnych mieściła się odpowiednio w zakresach 4,55-177,93; 3,94-25,99 oraz 3,89-34,77 mg/kg. Największą ilość histaminy stwierdzono w surowej wątrobie z dorsza (177,93 mg/kg), jednak przeprowadzona obróbka termiczna (sterylizacja) obniżyła zawartość badanej aminy w konserwie do poziomu 10,24 mg/kg. Nie wykazano zależności pomiędzy zawartością histaminy w surowcach, rybach po solankowaniu oraz w konserwach. Przeprowadzone badania dowodzą, że konserwy rybne obecne na polskim rynku są bezpieczne dla zdrowia konsumenta pod względem zawartości histaminy.

Słowa kluczowe: histamina, konserwy rybne, HPLC-DAD

Badania finansowane przez Rząd RP: Program Wieloletni „Ochrona zdrowia zwierząt i zdrowia publicznego”.

ZASTOSOWANIE TECHNIKI *RAPID EVAPORATIVE IONIZATION MASS SPECTROMETRY* (REIMS) DO WYKRYWANIA SUBSTANCJI ZAKAZANYCH W ŻYWNOŚCI POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO

E. Patyra¹, G. Dervilly-Pinel², B. Le Bizec², Y. Guitton², K. Kwiatek¹

¹Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²LABERCA - Laboratory of Food Contaminants and Residue Analysis, École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes-Atlantique, Nantes, Francja

Jedną z nowych technik analitycznych stanowi *technika Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry* (REIMS), która została opracowana i zastosowana na potrzeby medycyny, a szczególnie na potrzeby chirurgii. Geneza jej powstania dotyczyła obserwacji dymu powstającego podczas cięcia elektrochirurgicznego. Obserwacja ta przyczyniła się do pomysłu wykorzystania „dymu” mogącego zawierać szereg informacji, które umożliwią charakterystykę tkanki w czasie rzeczywistym poprzez analizę aerozolu uwalnianego w trakcie cięcia elektrochirurgicznego w połączeniu ze spektrometrią mas. To połączenie elektroskalpela z detekcją spektrometrii mas nazwano inteligentnym nożem „iKnife”. Opracowana technologia początkowo wykorzystywana była w chirurgii onkologicznej, gdzie służyła jako narzędzie do określenia krawędzi guza nowotworowego w trakcie cięcia elektrochirurgicznego. Zasada działania tej technologii polega na różnicowaniu otrzymanych widm profili lipidowych pomiędzy zdrową, a zmienioną chorobowo tkanką. Pomysłodawcą tego rozwiązania był prof. Zoltan Takats, węgier, pracujący w Royal College of London. W 2014 r. firma Waters wykupiła prawa do inteligentnego noża i podjęła próby przeniesienia tej techniki analitycznej do prac laboratoryjnych. Stworzyli oni nowe rozwiązanie poprzez połączenie iKnife ze spektrometrią mas z szybką jonizacją wyparną (REIMS), która umożliwia bezpośrednią jonizację próbki w połączeniu z analizą spektrometrii masowej. Technika REIMS służy do określenia strukturalnego profilu lipidowego pochodzącego z różnych matryc biologicznych za pomocą analizy on-line dymu elektrokoagulacyjnego i wykorzystuje te informacje do szybkiej charakteryzacji poddawanych analizie matryc. Analiza zajmuje tylko kilka sekund i gwarantuje analizę typu point-of-control. Obecnie technika REIMS stanowi szybką metodę skriningową do stwierdzania m.in. zafałszowań żywności pochodzenia zwierzęcego i roślinnego lub pochodzenia geograficznego, a także do stwierdzania nielegalnego stosowania leków weterynaryjnych. W przyszłości może stać się przydatną techniką do szybkich celów przesiewowych próbek różnego pochodzenia stosowaną m.in. w kontroli granicznej czy laboratoriach medycznych i weterynaryjnych.

Celem pracy jest omówienie zasady działania techniki REIMS oraz możliwości jej zastosowania do celów analiz laboratoryjnych. W prezentowanej pracy skupiono się również nad przedstawieniem uzyskanych przez autorów wstępnych wyników badań wykrywania stosowania nielegalnych substancji w produkcji zwierzęcej takich jak: raktopamina, selektywne modulatory receptora androgenowego oraz estradiolu i nandronolu.

Słowa kluczowe: iKnife, REIMS, raktopamina, SARMS, estradiol, nanadronol

ZAWARTOŚĆ SELENU W KAWIORZE I WYBRANYCH SUBSTYTUTACH KAWIORU

M. Maćkowiak-Dryka, M. Ziomek, K. Szkucik

Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Kawior jest znanym na świecie przykładem żywności luksusowej o właściwościach prozdrowotnych. Zgodnie z zapisami rozporządzenia Komisji Europejskiej termin kawior zastrzeżony jest tylko dla solonej ikry ryb gatunków należących do jesiotrokształtnych (*Acipenseriformes spp.*). Obecnie dostępne na rynku produkty kawiorowe w zależności od rodzaju surowca podzielono na kilka kategorii, a jedną z nich są substytuty kawioru w których wyróżnia się dwie grupy: substytuty kawioru produkowane z jaj innych gatunków ryb niż jesiotrowate oraz produkowane z jaj innych gatunków zwierząt niż ryby. Do produkcji tych substytutów wykorzystuje się ikrę ponad 38 gatunków ryb oraz trzy gatunki innych zwierząt w tym jajeczka ślimaków szarych.

Celem badań było porównanie poziomu selenu w wybranych trzech rodzajach produktów kawiorowych dostępnych na polskim rynku.

Materiał do badań stanowiło 18 próbek o masie 30 g pochodzących z trzech rodzajów produktów: kawioru i dwóch substytutów kawioru. Surowcem do produkcji kawioru była ikra jesiotra syberyjskiego (*Acipenser baerii*), surowcem do produkcji dwóch rodzajów substytutów była ikra kety (*Oncorhynchus keta*) i jajeczka ślimaka szarego (*Cornu aspersum*). Zawartość selenu oznaczono metodą spektrometrii mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej JCP- MS Varian 820- MS Mass Spectrometer.

Analizując zawartość selenu stwierdzono, iż poziom tego pierwiastka istotnie różnił się pomiędzy wszystkimi badanymi produktami. Największą zawartość selenu wykazano w substytucie kawioru którego surowiec stanowi ikra kety – 1,59 mg/kg. W kawiorze z jesiotra syberyjskiego poziom tego pierwiastka wyniósł 0,48 mg/kg. Najmniejszą zawartość selenu wykazano w substytucie kawioru wyprodukowanego z jajeczek ślimaka szarego – 0,26 mg/kg.

Podsumowując przeprowadzone badania wykazały zróżnicowany poziom selenu w produktach kawiorowych w zależności rodzaju surowca. Na podstawie wysokiej zawartości selenu w przetworzonej ikrze kety można stwierdzić, iż ten rodzaj substytutu jest dobrym źródłem tego prozdrowotnego pierwiastka w diecie człowieka.

Słowa kluczowe: kawior, substytuty kawioru, selen

Badania finansowane z dotacji dla młodych naukowców Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie nr WKH/MN/5.

OCENA JAKOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ WYSOKOBIAŁKOWYCH BATONÓW MIĘSNYCH

P. Pniewski, E. Hać-Szymańczuk, E. Lipińska, M. Puchalska, M. Tracz, M. Ziarno, K. Anusz, A. Jackowska-Tracz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Ocena jakości mikrobiologicznej produktów jest zasadniczym elementem zapewniania bezpieczeństwa żywności.

Celem badań było określenie liczby/obecności drobnoustrojów stanowiących kryteria higieny procesu (OLD, Enterobacteriaceae, drożdże i pleśnie) oraz kryteria bezpieczeństwa żywności (*Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*) w nowych produktach mięsnych o zwiększonym udziale białka pozyskanego z osocza wieprzowego. Materiał do badań stanowiły surowce (osocze krwi i elementy mięsne) oraz gotowe produkty wieprzowe – wysokobiałkowe podsuszane batony mięsne (50 g) pakowane próżniowo gotowe do spożycia (RTE, ready-to-eat), dostarczane w dniu produkcji z zakładu przetwórstwa mięsnego. Badania poszerzono o pomiary aktywności wody i pH celem określenia możliwości wzrostu *L. monocytogenes* w żywności RTE (Rozp. 2073/2005).

Ocenie jakości mikrobiologicznej poddano łącznie 66 próbek surowca (60 elementów mięsnych, po 20 próbek schabu, polędwiczek i szynki, oraz 6 próbek osocza krwi) oraz 41 próbek gotowego produktu. Produktową grupę badawczą stanowiły 34 batony mięsne z różnym udziałem osocza (zawartość osocza od 50 do 150 g/kg) i substancji smakowych (różne kombinacje: Combivit 3 g/kg, burak wiórki 3 g/kg, burak słodki 3 g/kg, papryka ostra wędzona 5 g/kg) pochodzące z 3 różnych serii produkcji.

Badaniom fizykochemicznym poddano łącznie 27 próbek z 3 serii produkcji – batony z mięsem z suchym osoczem 50 g/kg i dodatkiem konserwantu (ocet jabłkowy, sok cytrynowy, kwas mlekowy w stęż. 5, 10 i 20 ml/kg).

Elementem mięsnym o najwyższym poziomie czystości mikrobiologicznej był schab. Potwierdzono obecność *L. monocytogenes* w 1 próbce batonu oraz 4 osocza. Wykazano obecność *Salmonella* spp. w 1 próbce batonu. Liczba bakterii z rodziny Enterobacteriaceae oraz liczba drożdży i pleśni była niższa niż 1 log jtk/g w każdym batonie, zaś dla osocza wyniosła 3,6 log jtk/g i 3,7 log jtk/g. Pomiary fizykochemiczne wszystkich serii ($a_w = 0.9207$ i $pH = 6.11$) wskazują, że batony mięsne z osoczem powinny zostać zaklasyfikowane jako żywność RTE, w której możliwy jest wzrost *L. monocytogenes*.

Słowa kluczowe: żywność RTE, bezpieczeństwo żywności, *L. monocytogenes*, *Salmonella*, produkty wysokobiałkowe, osocze

Badania finansowane z Mazowieckiej Jednostki Wdrażania Programów Unijnych (Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego): RPMA.01.02.00-14-b496/18.

WRAŻLIWOŚĆ SMAKOWA STUDENTÓW MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ Z POLSKI, LITWY I UKRAINY

M. Gomółka-Pawlicka, J. Wojtacka, A. Wiszniewska-Łaszczych, B. Wysok, M. Sołtysiuk

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Zawód lekarza weterynarii oznacza coraz wyższe wymagania. Dotyczą one również kondycji zmysłów, umożliwiającej prawidłową ocenę jakości produktów spożywczych. Zbadano wrażliwość smakową studentów weterynarii z trzech krajów; łącznie 1434 osób (z Olsztyna, Kowna i Lwowa). Badani wypełniali anonimowo ankiety dotyczące: płci, wieku, BMI, diety i stanu zdrowia. Przebadano 812 kobiet i 622 mężczyzn w wieku do 27 lat; z podziałem na grupy: ≤ 25 lat i >25 lat. Niepalący stanowili 57,11% badanych. Badania wykonano w pracowni sensorycznej, spełniającej wymagania PN ISO 8589 (Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne projektowania pracowni analizy sensorycznej). Zastosowano test do badania zdolności rozpoznawania rodzajów smaków i ich różnicowania między sobą - PN ISO 3972 (Analiza sensoryczna. Metodologia. Metoda sprawdzania wrażliwości smakowej.). Oceniano 10 zakodowanych próbek w postaci wodnych roztworów substancji wzorcowych reprezentujących smaki: słodki, słony, kwaśny, gorzki, umami, metaliczny i wody. Każdy smak występował w zestawie co najmniej raz, próbki badano bez pośpiechu, metodą sip-and-spit.

Wyniki badań wskazują, że 49,51% badanych kobiet i 32,25% mężczyzn rozpoznało prawidłowo smak $>$ połowy próbek poddanych ocenie, z czego 10,59% kobiet rozpoznało smak $\geq 90\%$ badanych próbek, a 0,74% kobiet nie rozpoznało ich wcale; u badanych mężczyzn wartości te wynosiły odpowiednio: 3,38 % i 2,41%. Odsetek próbek rozpoznanych prawidłowo przez osoby niepalące był o 19,4% wyższy niż przez palące. Kobiety niepalące rozpoznały prawidłowo 62,3% badanych próbek, a palące 41,05%. U mężczyzn niepalących i palących odsetek prawidłowych rozpoznań wynosił odpowiednio: 51,9% i 35,2%. Średnia liczba prawidłowych rozpoznań u kobiet wynosiła $5,34 \pm 2,28$ i wahała się w zależności od wieku i palenia tytoniu od $6,39 \pm 2,28$ do $3,81 \pm 2,21$. W grupach mężczyzn liczba ta wahała się od $5,30 \pm 1,98$ do $2,61 \pm 2,38$, wynosząc średnio $4,45 \pm 1,98$. Najwyższą średnią liczbę prawidłowych rozpoznań odnotowano w grupach niepalących polskich kobiet i mężczyzn powyżej 25 roku życia, a najniższą w grupie kobiet palących z Litwy i Ukrainy, oraz w grupie polskich mężczyzn palących powyżej 25 roku życia. Smakami rozpoznawalnymi najlepiej były: słodki, kwaśny i słony; kobiety rozpoznawały je lepiej od mężczyzn, osoby niepalące od palących, a studenci polscy od litewskich i ukraińskich. Najgorzej rozpoznawano smak metaliczny.

Słowa kluczowe: wrażliwość smakowa, studenci weterynarii, podstawowe smaki



SESJA ZWIERZĄT NIEUDOMOWIONYCH I FUTERKOWYCH



MONITORING GRUŻLICY U JELENIOWATYCH (POŁUDNIOWA POLSKA)

B. Orłowska¹, A. Didkowska¹, M. Krajewska-Wędzina², K. Anusz¹

¹Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Polska jest krajem wolnym od gruźlicy bydła, jednak każdego roku stwierdza się pewną liczbę przypadków gruźlicy zwierząt (TB). Wśród zwierząt wolno żyjących w Polsce większość opisanych przypadków TB dotyczy żubrów i dzików z terenu Bieszczad. Nie notowano tej choroby u wolno żyjącej zwierzyny płowej na terenie Polski (oprócz TB u jednej sarny w 1956 r). W 2013 roku prątki gruźlicy *Mycobacterium caprae* wyizolowano od sarny (*Capreolus capreolus*) - kozła, w wieku około 7 lat, potrąconego przez samochód w okolicach miejscowości Wetlina (Bieszczady). *M. caprae* jest prątkiem z grupy prątków gruźliczych (*Mycobacterium tuberculosis* complex) i może być chorobotwórczy dla człowieka. Charakterystyka molekularna szczepów wyizolowanych od badanej sarny i dzików z Bieszczad wskazuje na wspólny łańcuch transmisji. Izolacja *M. caprae* od sarny skłoniła do dalszych badań w kierunku TB u zwierzyny płowej, szczególnie że zarówno jeleni szlachetny jak i sarna są istotnymi gatunkami w grupie zwierząt łownych w Polsce.

Do badań w kierunku gruźlicy pobrano węzły chłonne od wolno żyjących jeleniowatych z 9 polskich województw: 53 jeleni szlachetnych (*Cervus elaphus*) i 36 saren (*Capreolus capreolus*). Materiał poddano typowej procedurze mikrobiologicznej izolacji prątków. Do hodowli użyto podłoży Löwenstein-Jensena i Stonebrinka. Do analizy molekularnej zastosowano: test GenoType®MTBC, spoligotyping i MIRU-VNTR.

Z materiału od jeleni i saren nie wyizolowano prątków gruźlicy. Nie zaobserwowano zmian anatomopatologicznych charakterystycznych dla gruźlicy.

Wiadomo, że jeleni szlachetny i sarna europejska to gatunki podatne na zakażenie prątkami gruźlicy, mogące stanowić rezerwuuar tych patogenów w środowisku. Zalecany jest dalszy monitoring TB u jeleniowatych. Ponieważ, zachodzi transmisja międzygatunkowa TB, należy szczególnie uwzględnić tereny, gdzie opisuje się przypadki TB u dzików czy bydła.

Słowa kluczowe: sarna europejska, jeleni szlachetny, *Capreolus capreolus*, *Cervus elaphus*, *Mycobacterium caprae*

ZARAŻENIE DZIKICH JELENIOWATYCH W POLSCE NICIENIAMI TRAWIEŃCA O SZEROKIM I WĄSKIM SPEKTRUM ŻYWICIELSKIM

W. Vetter, K. Anusz, A. Pyziel-Serafin

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Zarażenie dzikich jeleniowatych nicieniami żołądkowymi znacząco wpływa na stan zdrowia zwierząt i może prowadzić do upadków. Dane literaturowe podają, że inwazje nicieni żołądkowych u zwierząt dzikich cechują się wyższą intensywnością zarażenia i bogatszym składem gatunkowym w porównaniu ze zwierzętami udomowionymi. U jeleni szlachetnych i saren europejskich z terenu Polski opisano dotychczas ponad 60 gatunków helmintów, największą grupę stanowią nicienie żołądkowo-jelitowe.

Celem pracy było określenie różnorodności gatunków nicieni trawieńca u wolno żyjących jeleni szlachetnych i saren europejskich z terenu różnych nadleśnictw w Polsce, określenie prevalencji i intensywności zarażenia oraz opracowanie charakterystyki morfometrycznej i graficznej gatunków na podstawie budowy szczecinek kopulacyjnych samców nicieni. Sekcji parazytologicznej poddano 14 trawieńcy od zwierząt pozyskanych od myśliwych w sezonach łowieckich 2018 i 2021. Wyizolowano 8147 dorosłych nicieni metodą dekantacji.

Prewalencja zarażenia saren wynosiła 80%, a jeleni 100%. Do gatunków występujących u obu żywicieli należały: *Ashworthius sidemi*, *Mazamastrongylus dagestanica*, *Ostertagia antipini*, *O. kolchida*, *O. leptospicularis*, *Spiculopteragia asymmetrica*, *S. boehmi*. Inwazyjny gatunek *A. sidemi* został po raz pierwszy zdiagnozowany na terenie Nadleśnictwa Strzałowo, w woj. warmińsko-mazurskim. Wyłącznie u jeleni stwierdzono gatunki: *Haemonchus contortus*, *Nematodirus roscidius*, *S. mathevossiani*, *Trichostrongylus axei*. Tylko u saren stwierdzono inwazje: *O. lyrata*, *T. capricola*, *T. vitrinus*. Dzięki badaniom dokonano pierwszej w Polsce rejestracji gatunku *T. vitrinus* u sarny europejskiej. Intensywność zarażenia niecieniami trawieńca była różnorodna, wahała się od 1 do 2927 osobników. Najczęściej występującym gatunkiem u saren i jeleni był *S. boehmi*, oznaczenia morfologiczne potwierdzono analizą molekularną.

Dokonano pomiaru 2067 szczecinek kopulacyjnych oraz 114 ciał samców nicieni. Zaobserwowano różnice pomiędzy wartościami parametrów u poszczególnych gatunków. Długości szczecinek kopulacyjnych różniły się również w zależności od gatunku żywiciela, w którym bytowały nicienie.

Słowa kluczowe: nematoda, abomasum, *Cervus elaphus*, *Capreolus capreolus*, Trichostrongylidae, *Ashworthius sidemi*

STĘŻENIA BIAŁEK OSTREJ FAZY W SUROWICY ŻUBRÓW KLINICZNIE ZDROWYCH ORAZ ELIMINOWANYCH Z POWODÓW ZDROWOTNYCH – BADANIA WSTĘPNE

K. Libera¹, M. Pomorska-Mól¹, M. Krzysiak^{2,3}, M. Larska⁴

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

²Białowiecki Park Narodowy, Białowieża, Polska

³Politechnika Białostocka, Białystok, Polska

⁴Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

W wyniku działania cytokin na receptory obecne na komórkach, dochodzi do uogólnienia procesu zapalnego i wywołania ogólnej reakcji zapalnej określanej jako reakcja ostrej fazy (ROF). Celem ROF jest przywrócenie zaburzonej równowagi poprzez ograniczenie odczynu zapalnego i usunięcie czynnika, który go wywołał. Szczególną cechą ROF jest skoordynowana synteza szeregu białek ostrej fazy (BOF). Ponieważ podwyższone stężenia BOF po zadziałaniu bodźca uszkodzającego, utrzymują się we krwi do kilku dni mogą być bardziej użyteczne diagnostycznie niż cytokiny. Dotychczasowe wyniki badań wykazały, że odpowiedź BOF (rodzaj reagujących białek i stopień zmiany koncentracji) jest różna u zwierząt towarzyszących, gospodarskich i ludzi. Do chwili obecnej brak jest w piśmiennictwie informacji dotyczących tego zagadnienia w odniesieniu do żubrów (*Bison bonasus*).

Celem badań było oznaczenie stężeń trzech BOF: haptoglobiny (Hp), surowiczego amyloidu A (SAA) oraz α 1-kwaśnej glikoproteiny (AGP) w surowicy żubrów klinicznie zdrowych ($n = 40$) oraz eliminowanych ze względu na zły stan zdrowia ($n = 47$).

W badaniach wykorzystano próbki krwi pobrane od 87 zwierząt reprezentujących różne populacje żubra w Polsce. Biorąc pod uwagę bliskie pokrewieństwo międzygatunkowe, do analiz laboratoryjnych wykorzystano komercyjne zestawy ELISA dedykowane dla bydła domowego.

Koncentracja Hp oraz SAA była statystycznie istotnie wyższa ($p < 0.01$) w grupie żubrów klinicznie zdrowych niż eliminowanych ze względu na zły stan zdrowia. W przypadku AGP nie odnotowano różnic statystycznie istotnych pomiędzy grupami, jednakże średnie stężenia AGP także były wyższe w grupie osobników eliminowanych.

Uzyskane wyniki pilotażowe stanowią podstawę do dalszych badań nad fizjologią żubra, a także wskazują na potencjalną możliwość wykorzystania monitoringu stężeń BOF w bardziej precyzyjnej ocenie stanu zdrowia tych zwierząt. Stwierdzone istotne różnice surowiczych stężeń BOF w grupie osobników klinicznie zdrowych i eliminowanych wstępnie typują te białka jako biomarkery w przyżyciowej ocenie stanu zdrowia żubrów, co może być pomocne np. w podjęciu decyzji co do eliminacji danego osobnika. Szczególnie obiecujące są w tym kontekście SAA oraz Hp. Warto podkreślić, iż te same białka są uznawane za najbardziej przydatne jako biomarkery w diagnostyce stanu zdrowia bydła domowego.

Słowa kluczowe: żubry, białka ostrej fazy, zwierzęta nieudomowione

PORÓWNANIE SKUTECZNOŚCI METODY WILLISA I MCMASTERA W KOPROSKOPOWEJ DIAGNOSTYCE ZARAŻENIA ŻUBRÓW, *BISON BONASUS*, PASOŻYTAMI WEWNĘTRZNYMI

M. Gałązka^{1,2}, D. Klich¹, K. Anusz¹, A. M. Pyziel-Serafin¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Miejski Ogród Zoologiczny w Warszawie, Warszawa, Polska

Diagnostyka parazytologiczna jest zasadniczym elementem monitoringu zdrowia żubra. Celem badań było porównanie efektywności i czułości dwóch metod stosowanych w diagnostyce zarażenia żubrów pasożytami wewnętrznymi. Były to metoda Willisa (MW) i McMastera (MM). Łącznie obiema metodami zbadano próbki kału 166 żubrów. W badanym materiale najczęściej stwierdzano obecność oocyst kokcydiów z rodzaju *Eimeria* (prewalencja: 84.3 % w MW i 71.1 % w MM) oraz nicieni z rodziny Trichostrongyloidae (prewalencja: 82.5 % w MW i 53.6 % w MM). Oprócz tego notowano obecność jaj *Capillaria* sp. (prewalencja: 13.9 % w MW i 3.61 % w MM), *Nematodirus* sp. (prewalencja: 18.1 % w MW i 4.8 % w MM) oraz *Trichuris* sp. (prewalencja: 12.7 % w MW oraz MM). Najrzadziej obserwowano obecność jaj tasiemców *Moniezia* sp. (prewalencja: 5.4 % w MW i 3.0 % w MM).

Stwierdzona prewalencja zarażenia była w każdym przypadku wyższa w MW niż w metodzie MM, niemniej jednak wyniki obydwu metod były silnie dodatnio skorelowane. Zaobserwowano, że przy niskiej prewalencji w MW jaja i oocysty mogą nie zostać wykryte przy użyciu MM (niższa czułość tej metody). Wyprowadziliśmy wzory pozwalające na obliczenie przewidywalnej prewalencji dla MM na podstawie rzeczywistego wyniku MW ($y=0.796x - 3.392$, gdzie y – przewidywalna prewalencja dla MM, x – rzeczywista prewalencja w MW) oraz przewidywalnego wyniku MW na podstawie rzeczywistego wyniku MM ($y=1.178x + 5.443$, gdzie y – przewidywalna prewalencja dla MW, x – rzeczywista prewalencja w MM).

Zastosowanie MW zapewnia wyższe prawdopodobieństwo wykrycia jaj i oocyst pasożytów w kale badanego żubra niż MM, w której jaja i oocysty wykryte w MW nie zawsze są stwierdzane. Pomimo uznania MM za metodę referencyjną w weterynaryjnej diagnostyce zarażeń pasożytami wewnętrznymi, to ze względu na wyższą wykrywalność jaj i oocyst różnych rodzajów pasożytów (wyższą czułość metody) oraz znacznie mniejszą pracochłonność do rutynowej kontroli zarażenia pasożytami żubrów należy polecić MW.

Słowa kluczowe: metoda McMastera, metoda Willisa, żubr, koproskopia, przewidywalna prewalencja

NOWY GENOTYP NICIENI PŁUCNYCH Z RODZAJU *Dictyocaulus* U JELENI W POŁUDNIOWO-WSCHODNIEJ I POŁUDNIOWO-ZACHODNIEJ POLSCE

A. M. Pyziel-Serafin¹, Z. Laskowski², A.W. Demiaszkiewicz², S. Kaczor³, D. Merta⁴, J. Kobielski⁵, Ż. Steiner-Bogdaszewska², J. Werszko², K. Anusz¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego PAN, Warszawa, Polska

³Powiatowy Inspektorat Weterynarii w Sanoku, Sanok, Polska

⁴Uniwersytet Pedagogiczny im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie, Kraków, Polska

⁵Nadleśnictwo Ruszów, Ruszów, Polska

Dotychczasowe wyniki badań parazytologicznych jeleni szlachetnych z terenu północno-wschodniej Polski doprowadziły w 2017 r. do opisu nowego gatunku nicieni płucnych - *Dictyocaulus cervi*, będącego przyczyną odoskrzelowego zapalenia płuc zarażonych osobników. W konsekwencji podjęto dalsze badania jeleni w innych rejonach kraju, włączając w to Bory Dolnośląskie oraz Bieszczady. W latach 2017/2018 wykonano sekcję parazytologiczną dróg oddechowych 65 jeleni z Borów Dolnośląskich oraz 83 jeleni z Bieszczadów. Dodatkowo kontrolnie pobrano płuca wraz z tchawicami od 18 jeleni z Puszczy Piskiej, gdzie poprzednio notowano jeden gatunek nicieni płucnych z rodzaju *Dictyocaulus* (*D. cervi*). Tchawicę, oskrzelą i oskrzeliki rozcinano, płukano w wodzie, dekantowano i izolowano dorosłe osobniki *Dictyocaulus* spp., które zabezpieczano w 70% etanolu. Izolowano DNA samców nicieni i prowadzono PCR z użyciem poprzednio zaprojektowanych starterów, specyficznych dla rejonu 18S rRNA oraz cytB. Produkty reakcji PCR oczyszczono i zsekwencjonowano, a następnie poddano analizie filogenetycznej metodą wnioskowania bayesowskiego z wykorzystaniem oprogramowania MrBayes.

Prewalencja zarażenia *Dictyocaulus* spp. wyniosła 41,5% u jeleni z Borów Dolnośląskich, 31,3% u jeleni w Bieszczadach oraz 57,9% u jeleni w Puszczy Piskiej. Analiza uzyskanych sekwencji nukleotydowych wykazała występowanie nowego genotypu nicieni płucnych w populacji jeleni w Borach Dolnośląskich i Bieszczadach. Uzyskane częściowe sekwencje markera 18S rRNA tych pasożytów (MH756629) były identyczne z sekwencją *Dictyocaulus* sp. od danieli ze Szwecji (AY168860), natomiast różniły się od sekwencji *D. cervi* (MH756628). Częściowe sekwencje markera cytB nowego genotypu nicieni (MN503298) różniły się znacznie od *D. cervi* (MN503302). Wszystkie zbadane jelenie z terenu Puszczy Piskiej były zarażone wyłącznie gatunkiem *D. cervi*, natomiast w populacji jeleni z Borów Dolnośląskich i Bieszczadów występują inwazje mieszane *D. cervi* i nowym *D. sp.* *Dictyocaulus* sp. występował u 6,1% zbadanych jeleni z Borów Dolnośląskich oraz 9,6% u jeleni z Bieszczadów. W obydwu rejonach przeważały inwazje *D. cervi*. Po przeprowadzeniu analiz morfologicznych nicieni płucnych o nowym genotypie, planowany jest opis nowego gatunku – *D. hoglundae*.

Słowa kluczowe: *Dictyocaulus*, jelenie, Bory Dolnośląskie, Bieszczady

ROPIEŃ MIĘŚNIA SKRONIOWEGO U ALPAKI (*VICUGNA PACOS*) – OPIS PRZYPADKU

B. Orłowska, A. Didkowska, W. Bielecki, A. Pyziel-Serafin, K. Anusz

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Alpaki (*Vicugna pacos*), południowoamerykańskie ssaki należące do rodziny wielbłądowatych, są coraz częściej hodowane w Polsce. Alpaki utrzymuje się nie tylko ze względu na wyjątkową wełnę, ale też jako zwierzęta towarzyszące. Ważnymi problemami zdrowotnymi alpak są m. in. inwazje pasożytnicze i choroby niedoborowe. Często niebezpieczną zoonozą stwierdzaną u alpak (również w Polsce) jest gruźlica.

Alpaka rasy Huacaya (samiec, około 18 miesięcy, 17,7 kg) została przywieziona do lecznicy weterynaryjnej w bardzo złym stanie. W badaniu klinicznym stwierdzono m.in. znaczne wychudzenie i biegunkę. Mimo podjętego leczenia zwierzę szybko padło. Zdecydowano wykonać badanie w kierunku gruźlicy. Wykonano sekcje zwłok, pobrano materiał do badań histopatologicznych i mikrobiologicznych. Do badania w kierunku gruźlicy użyto podłoży Löwenstein-Jensena i Stonebrinka.

Sekcja zwłok wykazała wyniszczenie, zanik mięśni szkieletowych, ropień mięśnia skroniowego prawego, penetrujący do stawu skroniowo-żuchwowego, płyn przebiegający w worku osierdziowym, w jamie opłucnej i jamie otrzewnej, przekrwienie płuc, wątroby i nerek.

Przyczyną śmierci było wyniszczenie organizmu. Prawdopodobną przyczyną wyniszczenia był masywny ropień mięśnia skroniowego prawego, co w dużym stopniu uniemożliwiło zwierzęciu pobieranie pokarmu. Z narządów wewnętrznych wyhodowano *E.coli* n. hem., z ropnia wyhodowano *Corynebacterium* sp. Z jelita nie wyhodowano bakterii chorobotwórczych. Z badanego materiału nie wyizolowano prątków gruźlicy.

U alpak objawy choroby bywają trudne do zaobserwowania. Zwierzęta te mogą długo nie pokazywać objawów choroby. Gęsta wełna powoduje, że opiekun zwierzęcia może nie zauważyć złego stanu odżywienia. Warto więc regularnie kontrolować stan zdrowia alpak np. oceniając ich kondycję (BCS).

Słowa kluczowe: wielbłądowate Nowego Świata, ropień, staw skroniowo-żuchwowy

LIS RUDY (*Vulpes vulpes*) NIEDOCENIONE ŹRÓDŁO PASOŻYTÓW JELITOWYCH W ŚRODOWISKU CZŁOWIEKA

M. Welz¹, J. Pławińska-Czarnak², J. Wiśniewski², A. M. Pyziel-Serafin², Z. Strzałkowska², K. Anusz², A. Cywińska³, L. Witkowski²

¹Główny Inspektorat Weterynarii, Warszawa, Polska

²Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

³Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń, Polska

Lis rudy (*Vulpes vulpes*) do niedawna mieszkaniem terenów leśnych i wiejskich, obecnie coraz częściej można go zobaczyć na terenach mocno zurbanizowanych. Lis jest najpopularniejszym drapieżnikiem w Polsce. Pełni ważną rolę w usuwaniu padliny oraz reguluje liczebność populacji leśnych i polnych gryzoni. Podawanie lisom doustnych szczepionek przeciwko wściekliźnie, od lat 90. XX wieku, znacznie zwiększyło stan ich populacji i średnią długość życia. Ponieważ bytuje w miastach, gdzie ma łatwy dostęp do pokarmu, jednocześnie może przyczynić się do wzrostu pasożytów u ludzi.

Materiałem do badań było 28 sztuk jelit cienkich lisów pozyskanych w drodze odstrzału w ramach monitoringu skuteczności szczepienia przeciwko wściekliźnie. Zwierzęta pochodziły z terenu 2 województw: mazowieckiego i kujawsko-pomorskiego. Zamrożone fragmenty przewodów pokarmowych przewożono do laboratorium.

Metoda izolacji pasożytów polegała na rozcięciu jelit, zagłaskaniu błony śluzowej jelit w wodzie destylowanej, z której po sedymentacji izolowano pasożyty i ich jaja.

Wszystkie wyizolowane pasożyty zaliczono do poszczególnych gromad: nicienie (*Nematoda*), tasiemce (*Cestoda*) i przywry (*Trematoda*).

Wśród analizowanego materiału w przypadku 6 lisów nie zaobserwowano żadnych pasożytów i ich jaj. W 17 przypadkach wyizolowano tasiemce w tym 3 z rodzaju *Echinococcus*, oraz w 19 próbkach wykryto pasożyty z gromady nicieni. Na podstawie morfologicznej oceny jaj zidentyfikowano włosogłówki i przywry. W 75% przypadków inwazje pasożytnicze były mieszane. Intensywność zakażeń od pojedynczych osobników po kilkadziesiąt osobników różnych gatunków. Kolejnym etapem badań będzie morfologiczna i molekularna klasyfikacja wyizolowanych pasożytów.

Nasze wstępne badania pokazują, że zwierzęta wolno żyjące w aglomeracjach miejskich, takie jak lis rudy, mogą być rezerwuarem wielu endopasożytów stanowiących zagrożenie dla zdrowia i życia ludzkiego.

Słowa kluczowe: lis rudy (*Vulpes vulpes*), nicienie (*Nematoda*), tasiemce (*Cestoda*), przywry (*Trematoda*)

ZASTOSOWANIE TRENINGU MEDYCZNEGO ŻYRAF PRZY WYKONANIU TUBERKULINIZACJI

P. Plewako, M. Kalicki, I. Krause

Gdański Ogród Zoologiczny, Gdańsk, Polska

Trening medyczny żyraf jest przeprowadzany u żyraf w Gdańskim Ogrodzie Zoologicznym od roku 2009 r.

Dzięki treningowi udało się pobrać krew od żyraf, dokonać korekty racic, wykonać drobne zabiegi weterynaryjne oraz podać leki iniekcyjnie.

Udało się również przygotować i przeprowadzić z sukcesem zabieg tuberkulinizacji u wszystkich rezydujących żyraf. Treningowi zostały poddane żyrafy w wieku młodzieńczym, jak i w pełni dorosłe, wszystkie płci męskiej. Przygotowanie żyrafy do zabiegu tuberkulinizacji zajmowało od dwóch do około ośmiu tygodni.

Zgodnie z instrukcją Głównego Lekarza Weterynarii z dnia 8 lutego 2016r., w Gdańskim Ogrodzie Zoologicznym zastosowano monitoring u nowo przybyłych żyraf na obecność *Mycobacterium Bovis* z wykorzystaniem testu alergicznego (tuberkulinizacji). W badaniu tym wykorzystuje się stan zwiększonej wrażliwości organizmu zwierzęcego zakażonego gruźlicą wobec prątków i ich produktów przemiany materii.

Celem badań było przeprowadzenie zabiegu tuberkulinizacji u żyraf przebywających w Gdańskim Ogrodzie Zoologicznym. Do badania wykorzystano tuberkulinę bydlęcą, suwmiarkę, strzykawkę tuberkulinową zaopatrzoną w igłę. Żyrafy zostały w toku szeregu treningów medycznych przyuczone do przyjmowania iniekcji śródskórnej w okolicy śródpiersia/szyi i pozwolenia na zmierzenia fałdu skórniego przy użyciu suwmiarki. U wszystkich żyraf rezydujących udało się przeprowadzić test, a następnie odczytać wynik po 72 h. Wszystkie wyniki były „ujemne”.

Na przestrzeni ostatniego dziesięciolecia stwierdzano u żyraf na terenie Unii Europejskiej obecność prątków gruźlicy. Wyniki uzyskiwano głównie w badaniach post mortem.

Testy tuberkulinowe mają pomóc w eliminacji osobników zakażonych prątkiem gruźlicy jeszcze przyżyciowo i zarazem ograniczyć rozprzestrzenianie się choroby na terenie UE. Jest to przydatny test, zapewniający bezpieczną wymianę zwierząt pomiędzy Ogrodami Zoologicznymi na całym Kontynencie i nie tylko.

Przyuczenie żyraf do testu z zastosowaniem treningu medycznego jest bardzo skuteczną i nie inwazyjną metodą z ograniczeniem stresu manipulacyjnego do minimum. Wykrycie osobników zarażonych gruźlicą i ich eliminacja ma istotny wpływ w ochronie zdrowia publicznego. Wg danych polskich i WHO, gruźlica wywołana przez prątek typu bydlęcego stanowi znaczny odsetek zakażeń wśród ludzi.

WSTĘPNE BADANIA PRZESIEWOWE W KIERUNKU CHOROBY ALEUCKIEJ U FRETEK Z RÓŻNYCH CZĘŚCI POLSKI

A. Blank, P. Foksiński, E. Kaczorek-Łukowska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Mimo rosnącej popularności fretek jako zwierząt domowych, w dalszym ciągu ich populacja jest niewielka w porównaniu do innych częściej wybieranych gatunków zwierząt towarzyszących, takich jak psy i koty. Mniejsza popularność tych zwierząt skutkuje znacznie mniejszą ilością specjalistów zajmujących się fretkami, a co za tym idzie słabszą diagnostyką różnych schorzeń, w tym choroby aleuckiej. Wirus choroby aleuckiej (ADV) należy do rodziny *Parvoviridae*, rodzaju *Amdoparvovirus* i zawiera jednoniciowe DNA. Wyróżnia się szczepy norcze i fretkowe, które są względem siebie homologiczne w 90%. Choroba aleucka należy do wolno rozwijających się chorób wirusowych. Po zakażeniu wirus krąży w organizmie w postaci kompleksów immunologicznych, które odkładają się w naczyniach krwionośnych narządów, prowadząc do ich uszkodzenia, co powoduje późne wystąpienie niespecyficznych objawów i utrudnia odpowiednią diagnostykę i leczenie. Jedynym objawem patognomonicznym zakażenia ADV u fretek jest hipergammaglobulinemia.

Celem tej pracy było oznaczenie występowania przeciwciał jak i samego wirusa u fretek z różnych rejonów Polski.

Do badań użyto próbek krwi oraz wymazy z odbytu pozyskanych od fretek (n=61) żyjących na terenie województw mazowieckiego i dolnośląskiego. Obecność przeciwciał została stwierdzona przy użyciu szybkiego testu paskowego – Mink Aleutian Disease Test Kit (Ring Biotechnology, Beijing, China), a wirusa za pomocą real-time PCR.

W przypadku badań serologicznych u 30 (49%) osobników stwierdzono obecność przeciwciał przeciwko ADV. Żadne z badanych zwierząt nie wykazało obecności DNA wirusa przy użyciu metody real-time PCR.

Uzyskane wyniki mogą świadczyć o obecności wirusa w pośród analizowanej populacji, nie mniej nie potwierdzono występowania osobnika trwale zakażonego. Na podstawie zebranych danych przypuszczamy, że osobniki seropozytywne musiały mieć kontakt z wirusem w przeszłości, na przykład poprzez zanieczyszczone przedmioty użytku codziennego (klatki, sprzęt do pielęgnacji), a niekoniecznie z powodu kontaktu z innymi chorymi zwierzętami, na przykład norkami. Możliwe również jest wystąpienie zjawiska odporności krzyżowej na skutek szczepienia fretek na parowirozę, która należy do tej samej rodziny co ADV.

Słowa kluczowe: fretki, choroba Aleucka, ADV, *parvoviridae*

Badania finansowane przez: Stowarzyszenie Przyjaciół Fretek.

ZAKAŻENIA SARS-COV-2 U NOREK W POLSCE

**K. Domańska-Blicharz¹, A. Orłowska², M. Smreczak², K. Niemczuk³, E. Iwan⁴, P. Trębas²,
A. Lisowska¹, J. Rola²**

¹Zakład Chorób Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

³Dyrektor, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

⁴Zakład Analiz Omicznych, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Pierwsze zakażenia SARS-CoV-2 u norek stwierdzono w kwietniu 2020 r. w Holandii, a następnie w innych krajach. Większość zakażeń SARS-CoV-2 u norek przebiegała bezobjawowo lub obserwowano łagodne objawy ze strony układu oddechowego oraz biegunkę. Źródłem zakażenia norek byli ludzie, ale stwierdzono również przypadki przeniesienia SARS-CoV-2 z norki na człowieka. Na skutek wykrycia w Danii wariantów wirusa zagrażających skuteczności prowadzonej immunoprofilaktyki u ludzi i wybicia całej populacji norek (ok. 17 mln) Polska stała się liderem branży futrzarskiej w Europie. Aktualnie w kraju funkcjonuje ok. 360 ferm (ponad 6,3 mln norek).

W ramach prowadzonego monitoringu, od października 2020 r., przebadano 245 ferm (ok. 5150 norek). Materiał do badań stanowiły wymazy z gardła. SARS-CoV-2 wykrywano metodą „in house” real-time RT-PCR, a uzyskane RNA wirusa poddano głębokiemu sekwencjonowaniu z wykorzystaniem technologii Illumina. Obecność specyficznych przeciwciał wykrywano komercyjnymi testami ELISA.

RNA wirusa wykryto u norek na 3 fermach. W styczniu 2021 r. na fermie w województwie pomorskim SARS-CoV-2 stwierdzono w 70% (n=35/50) wymazów z gardła pobranych od norek. Obecność specyficznych przeciwciał wykryto w 30% (n=45/150) badanych surowic. Wszystkie norki na fermie, zgodnie z wówczas obowiązującymi przepisami, poddano eutanazji. Analiza filogenetyczna pełnego genomu SARS-CoV-2 wykazała przynależność do kladu GR i O, linii B.1.1.464 (klasyfikacja Pango v.3.1.11 2021-08-09). W lipcu br. wirus wykryto u norek na dwóch fermach w województwie lubelskim. Zwierzęta dwukrotnie poddano badaniu. W pierwszym próbkobranii SARS-CoV-2 wykryto odpowiednio w 10% (n=2/20) i 5% (n=1/20) badanych prób, natomiast w drugim po miesiącu, tylko na jednej fermie w 1% (n=1/90) badanych wymazów. Obecność przeciwciał wykryto w 96,7% badanych surowic (n=29/30) na obu fermach. Charakterystyka molekularna SARS-CoV-2 wykazała przynależność do kladu GR, linii B.1.1.464 (klasyfikacja Pango v.3.1.11 2021-08-09). Zidentyfikowano szereg zmian w sekwencji aminokwasów SARS-CoV-2 wykrytych u polskich norek, w tym mutację Y453F w domenie wiążącej receptor, wykrywaną wcześniej u ludzi, ale także u norek w Holandii, Danii i Litwie.. Wirusy wyizolowane od norek z ferm z obu województw mimo przynależności do tej samej linii Pango leżą na odrębnych gałęziach drzewa filogenetycznego.

BETACORONAVIRUS (PODRODZAJ: MERBECOVIRUS) PO RAZ PIERWSZY POTWIERDZONY U JEŻY W POLSCE

J. Ruszkowski¹, M. Pomorska-Mól¹, M. Gogulski¹, K. Domańska-Blicharz²

¹Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

²Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Będąc gatunkiem silnie synantropijnym, który można spotkać w większości europejskich miast, jeże coraz częściej stają się obiektem zainteresowania naukowców. Są ważnym wektorem wielu chorób pasożytniczych, bakteryjnych oraz wirusowych. Obecne doniesienia na temat występowania koronawirusów spokrewnionych z MERS-CoV u dzikich jeży w Niemczech, Francji, Wielkiej Brytanii, Chinach i Włoszech mogą świadczyć o tym, że zwierzęta te mogą być ważnym nosicielem/wektorem wirusów z rodzaju *Betacoronavirus*.

Celem pracy była wstępna ocena występowania koronawirusów w krajowej populacji jeży. Badaniami objęto 26 osobników młodych (65%) i 14 (35%) osobników dorosłych. 67,5% stanowiły samice (27/40), natomiast 32,5% samce (13/40). Średnia masa ciała zwierząt młodych wynosiła $264,42 \pm 104,81$ (zakres 83-467g), natomiast w grupie dorosłych osiągnęła wartość $740,07 \pm 200,12$ (490-1150g). Badania prowadzono na podstawie zezwolenia Regionalnej Dyrekcji Ochrony Środowiska w Poznaniu (WPN-II.6401.366.2020.TE). CoV RNA wykryto w 10 z 40 badanych próbek wymazów z prostnicy oraz w 1 na 18 badanych próbek płuc. Nie wykryto wirusowego RNA w dwunastnicy i nerkach. Nie stwierdzono korelacji między stanem klinicznym, płcią i wiekiem jeży a detekcją CoV RNA u danego osobnika.

Badania po raz pierwszy potwierdziły obecność betakoronawirusów (bCoV), podrodzaju *Merbecovirus* u jeży w Polsce. Analiza genetyczna materiału pokazała podobieństwo opisanego wirusa do innych, opisanych wcześniej przedstawicieli *Hedgehog coronavirus 1* zidentyfikowanych w zachodniej Europie. Uzyskane przez nas wyniki to kolejny dowód na to, że jeże są naturalnymi nosicielami wirusów z podrodzaju *Merbecovirus*. Biorąc pod uwagę wysoką zdolność koronawirusów do mutacji oraz potencjalną zdolność do przekraczania barier gatunkowych, należy zachować szczególną ostrożność podczas bliskiego obcowania z dzikimi jeżami, szczególnie w miejscach o dużym ich zagęszczeniu, jak ośrodki rehabilitacji dzikich zwierząt. Nie można wykluczyć, że opisane merbekowirusy mogą rekombinować z innymi koronawirusami, tworząc nowe wirusy o potencjalnym znaczeniu zoonotycznym.

ŻUBR (*BISON BONASUS*) JAKO GATUNEK WSKAŹNIKOWY DLA WYSTĘPOWANIA WIRUSA KLESZCZOWEGO ZAPALENIA MÓZGU (TBEV) W ŚRODOWISKU SYLWATYCZNYM

M. Krzysiak¹, K. Anusz², J. Rola³, M. Larska³

¹*Instytut Nauk Leśnych, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Politechnika Białostocka, Białystok, Polska*

²*Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

³*Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska*

Kleszczowe zapalenie mózgu (KZM) jest jedną z najczęstszych chorób odzwierzęcych w Europie, przenoszoną przez wektory z rodziny Ixodidae. Podczas gdy małe ssaki i kleszcze stanowią główny rezerwuuar transmisji wirusa, duże gatunki zwierząt sylwatywnych są źródłem pożywienia dla kleszczy. Jeleniowate, takie jak sarny i jelenie są uważane za gatunki wskaźnikowe KZM w naturalnym środowisku. Ponadto, wzrost wielkości populacji i zagęszczenia dużych dzikich ssaków na danym obszarze odpowiada wzrostowi obciążenia kleszczy i ryzyka ekspozycji na wirus kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV) u ludzi. Ludzie są uważani za żywicieli przypadkowych. Występowanie kleszczowego zapalenia mózgu zależy od interakcji pomiędzy żywicielem, wektorem i środowiskiem. W celu określenia ekspozycji żubrów na zakażenie TBEV przebadano 335 zwierząt z 13 polskich populacji wolnych i zamkniętych. Na podstawie testu IMMUNOZYM FSME ELISA (PROGEN), ogólna seroprewalencja TBEV wynosiła u żubrów 62,7%. Wyniki testu ELISA zostały potwierdzone testem neutralizacji wirusa (VNT), uzyskując 98,7% zgodność między ELISA a złotym standardem, a co za tym prawdziwą prewalencję 63,5%. Seroprewalencja TBEV była związana z pochodzeniem, grupą wiekową, płcią, typem populacji (wolno żyjąca/zamknięta) i statusem sanitarnym (zdrowe/selektywnie eliminowane/znalezione martwe/padłe w wyniku wypadku komunikacyjnego) żubrów w analizie jednoczynnikowej. Najwyższą seroprewalencję TBEV obserwowano w trzech największych, północno-wschodnich wolno żyjących populacjach żubrów (Puszcza Białowieska, Borecka i Knyszyńska). Na tych terenach występuje również najwyższa zachorowalność na KZM u ludzi w kraju. Do czynników ryzyka wyznaczonych na podstawie analizy wieloczynnikowej należały wiek, płeć żubrów oraz typ populacji. Ryzyko wykrycia przeciwciał dla TBEV rosło z wiekiem i było wyższe u samic i żubrów żyjących na wolności. Na podstawie przeprowadzonej analizy epizootycznej można stwierdzić, że wolno żyjące żubry mogą być doskonałym wskaźnikiem zakażeń TBEV w środowisku sylwatywnym.

OKREŚLENIE ROLI ŻUBRA (*BISON BONASUS*) JAKO SYLWATYCZNEGO REZERWUARU WIRUSA ZAPALENIA WĄTROBY TYPU E

I. Kozyra¹, M. Larska¹, M. Krzysiak^{2,3}, J. Rola¹, A. Rzeżutka¹

¹ Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

² Białowiecki Park Narodowy, Białowieża, Polska

³ Instytut Nauk Leśnych Politechniki Białostockiej, Białystok, Polska

Wolno żyjące przeżuwacze mogą stanowić rezerwuariusz wirusa zapalenia wątroby typu E (HEV) dla człowieka, zwierząt gospodarskich i związanych ze środowiskiem sylwatyicznym. Badania serologiczne i molekularne przeprowadzone w Europie wykazały obecność zakażeń HEV u wolno żyjących przeżuwaczy m.in. jeleni szlachetnych, saren europejskich, łosi, danieli, jeleni wirginijskich (mulaków białogonowych), jeleni wschodnich (sika), muflonów, kozic północnych i koziorożców alpejskich. Prevalencja zakażeń HEV u tych gatunków zwierząt w Europie, jest zróżnicowana i wynosi od 0% do 34,4 %. Obecnie brak jest danych naukowych dotyczących występowania zakażeń HEV u żubrów, największych wolno żyjących ssaków Europy.

Celem badań była ocena występowania zakażeń HEV u żubrów w Polsce.

Materiał do badań stanowiło 291 surowic, 273 próbek wątroby i 138 próbek kału pobranych łącznie od 301 żubrów. W przypadku 50 zwierząt analizowano zestawy próbek składające się z surowicy, wątroby i kału. Od 137 osobników pobierano pary próbek tj. surowicę i wątrobę lub surowicę i kał. Wyłącznie surowicę pozyskano od 114 zwierząt. Serologiczną ocenę zakażeń HEV u żubrów wykonano w oparciu o zestaw ELISA ID Screen® Hepatitis E Indirect Multi-species (ID Vet). Wirusowe RNA z próbek wątroby i kału izolowano zestawem QIAamp Viral RNA mini kit, Qiagen. Detekcję RNA HEV przeprowadzono metodą real-time duplex (RT)qPCR z zastosowaniem kontroli wewnętrznej amplifikacji.

Swoistych przeciwciał anty-HEV IgG nie wykryto w żadnej spośród 291 badanych próbek surowic żubrów. Również badania molekularne nie wykazały obecności materiału genetycznego HEV w próbkach wątroby i kału żubrów. Pomimo, że wyniki badań wstępnych nie wskazują na występowanie HEV u żubrów nie można wykluczyć ich wrażliwości na zakażenie wirusem. Dlatego dalsze badania populacyjne pozwolą ustalić rzeczywistą prevalencję zakażeń HEV u tego gatunku zwierząt.

Słowa kluczowe: wirus zapalenia wątroby typu E, żubr, ELISA, qRT-PCR, prevalencja zakażeń

Badania finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego: projekt badawczy nr S/381.

WYSTĘPOWANIE SHIGA-TOKSYCZNYCH *ESCHERICHIA COLI* (STEC) W POPULACJI LISÓW FERMOWYCH (*ALOPEX LAGOPUS*)

A. Szczerba-Turek, J. Siemionek, W. Szweda

Katedra Epizootiologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Fermy zwierząt futerkowych wywierają wpływ na środowisko. Do gleby, wody i powietrza wprowadzane są w dużej liczbie różne drobnoustroje, w tym patogenne. Shiga-toksyczne *Escherichia (E.) coli* (STEC) to niebezpieczny dla ludzi patogen powodujący m. in. zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS). Wg. FAO i WHO patogenność STEC zależy od występowania wybranych czynników zjadliwości: toksyny Shiga 1 (*stx1*), Shiga 2 (*stx2*), intyminy (*eae*) i regulatora transkrypcji wielu genów wirulencji (*aggR*). Geny toksyny Shiga dzielą się na 3 podtypy *stx1*: a, c, d i 7 *stx2*: a, b, c, d, e, f i g, najniebezpieczniejsze dla ludzi szczepy zawierają: *stx2a* lub *stx2d* oraz *eae* lub *aggR*.

Celem badań była ocena występowania STEC w kale pochodzącym od lisów polarnych (*Alopex lagopus*). Materiał do badań stanowił świeży kał pobrany w latach 2017-2018 z dwóch ferm: jednej zlokalizowanej w woj. wielkopolskim i jednej w kujawsko-pomorskim. Fermy zostały wybrane w sposób nielosowy, metodą doboru przypadkowego. Liczyły odpowiednio 340 i 320 samic, z każdej fermy pobrano w sposób systematyczny po 60 próbek kału. Wykonano badania bakteriologiczne i molekularne obejmujące: preinkubację w buforowanej wodzie peptonowej (BWP), izolację DNA, DNA służyło jako matryca do łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR), mającej na celu wykrycie głównych genów wirulencji STEC - *eae*, *aggR*, *stx1* i *stx2*. Dla kolonii bakteryjnych, w których stwierdzono fragmenty genów *eae*, *aggR*, *stx1* i *stx2*, przeprowadzono molekularną serotypizację i typowanie genu *vtx2*.

Obecność STEC wykazano w 2 (3.33%, 95% CI = 0.41 - 11.53) próbkach kału pochodzących z fermy zlokalizowanej w woj. wielkopolskim, profil wirulencji *stx2*, nie udało się określić podtypu *stx2*, ani serotypu szczepów. Ponadto wyizolowano 5 (8.33%, 95% CI = 2.76 - 18.39) enteropatogennych *E. coli* (EPEC) (*eae*+), w tym jeden O103/HNM. Obecności szczepów STEC nie wykazano na fermie w woj. kujawsko-pomorskim, ale wyizolowano 9 (15%, 95% CI = 7.1 - 26.57) szczepów EPEC (*eae*+), z których 2 (3.33%, 95% CI = 0.41 - 11.53) zidentyfikowano jako O157/H7 i po jednym O103/H7 i O26/H7.

Uzyskane wyniki wymagają dalszej analizy. W kale pochodzącym od hodowlanych lisów polarnych (*Alopex lagopus*) wykazano obecność potencjalnie patogennych dla ludzi szczepów *E. coli*.

Słowa kluczowe: zoonozy, lis polarny (*Alopex lagopus*), Shiga-toksyczne *Escherichia (E.) coli* (STEC), Polska

CHIRURGICZNE ROZWIĄZANIE CIĄŻY PRZENOSZONEJ U BOA LEŚNEGO (*CORALLUS HORTULANUS*) – PRZYPADEK KLINICZNY

K. Buczak¹, S. Lachowska¹, P. Kucharski¹, P. Prządka¹, J. Bieżyński¹, A. Sowińska¹,
Z. Kiełbowicz¹, S. Mulica²

¹Katedra i Klinika Chirurgii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Studenckie Koło Naukowe Chirurgii Weterynaryjnej „LANCET”, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Boa leśny (*Corallus hortulanus*) to gatunek nadrzewny węży z rodziny dusicieli, który prowadzi nocny tryb życia. Cechą charakterystyczną tego gatunku jest żyworodność (*viviparia*). Po zapłodnieniu wewnętrznym i ciąży trwającej średnio 175-200 dni, samica podobnie do ssaków rodzi w pełni samodzielne potomstwo. Nieliczna ilość gatunków żyworodnych wśród węży wymusza u lekarzy weterynarii zajmujących się medycyną zwierząt egzotycznych znajomość problemów dotyczących tematyki rozrodu i monitoringu ciąży u tych zwierząt.

Do Kliniki zgłosił się opiekun dorosłej samicy boa leśnego. Wąż był znacznie wychudzony i miał bardzo osłabione napięcie mięśniowe, a jego masa ciała wynosiła 520 g. Opiekuna zaniepokoiła narastająca od dłuższego czasu apatia i brak apetytu. Na dnie terrarium zaobserwował 2 martwe płody w formie rozkładu – samica była dopuszczana do samca, a od momentu kopulacji minęło ponad 250 dni. Po zaobserwowanej kopulacji nie był prowadzony regularny monitoring ciąży.

Na podstawie informacji uzyskanych z wywiadu oraz badania klinicznego pacjenta, a także ze względu na specyfikę rozrodu tego gatunku podejrzewano obumarcie płodów, które w dalszym ciągu mogły pozostawać wewnątrz ciała samicy. W wyniku potwierdzenia wstępnego rozpoznania poprzez badanie ultrasonograficzne i rentgenowskie zdecydowano o przeprowadzeniu interwencyjnej celiotomii leczniczej. Nacięcia powłok ciała zostały wykonane 1 cm powyżej łusek brzusznych po stronie bocznej na wysokości jajników i doogonowej części jajowodu. Z powodu zmian strukturalnych w obrębie dróg rodnych, podjęto decyzję o całkowitej resekcji jajników i jajowodów. Naczynia krwionośne i wolny fragment jajowodu został podwiązany nicią wchłanialną (Monosyn® 4/0, Bayer). Powłoki jamy ciała zostały zespolone piętrowo w sposób typowy. Zwierzę po zakończonym 3-tygodniowym okresie rekonwalescencji powróciło do pełnej aktywności.

Rosnąca ilość hodowanych w Polsce gadów, w tym rzadkich gatunków żyworodnych narzuca na lekarzy weterynarii obowiązek stałego pogłębiania wiedzy z zakresu biologii i medycyny tych zwierząt. Przed przystąpieniem do diagnostyki i leczenia chorób bardzo ważne jest poznanie charakterystyki danego gatunku. U samic boa leśnego, które miały kontakt z samcem i nie urodziły potomstwa przez co najmniej 200 dni należy przeprowadzić badanie obrazowe, aby potwierdzić bądź wykluczyć prawidłowy rozwój ciąży. Tego typu monitoring powinien być prowadzony regularnie w opiece nad rozrodem gatunków żyworodnych.

Słowa kluczowe: celiotomia, poronienie, ciąża, żyworodność, boa leśny, zwierzęta egzotyczne

MORFOLOGIA NADNERCZY PANTERY MGLISTEJ (*NEOFELIS NEBULOSA* GRIFFITH, 1821) (PANTHERINAE)

K. Goździewska-Harłajczuk¹, K. Barszcz², P. Hamouzová³, J. Klećkowska-Nawrot¹, P. Čížek³

¹Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

³University of Veterinary Sciences Brno, Brno, Czechy

Pantera mglista (*Neofelis nebulosa*) należy do podrodziny Pantherinae. Według Międzynarodowej Unii Ochrony Przyrody (IUCN) aktualnie pantera mglista jest gatunkiem narażonym na wyginięcie (VU) na Czerwonej Liście Gatunków Zagrożonych.

Celem obecnej pracy było scharakteryzowanie cech morfologicznych nadnerczy pantery mglistej. Materiał do badań pobrano *post-mortem* od jednej dorosłej samicy *Neofelis nebulosa* pochodzącej z Wrocławskiego Ogrodu Zoologicznego. Wykonano analizę makroskopową oraz badanie mikroskopowe struktury nadnerczy. Zastosowano następujące metody barwienia: hematoksylina & eozyna, picro-Mallory oraz Azan trichrome. Otrzymane próbki analizowano za pomocą mikroskopu świetlnego Zeiss Axio Scope.A1 (Carl Zeiss, Jena, Niemcy).

Prawe i lewe nadnercze charakteryzowały się bladoróżowym kolorem. Prawe nadnercze było wydłużone w porównaniu do nadnercza lewego, które posiadało sercowaty kształt. Długość prawego i lewego nadnercza wynosiła odpowiednio 25 mm i 23 mm, natomiast szerokość prawego i lewego nadnercza wynosiła 13 mm i 15 mm. W badaniu mikroskopowym nadnerczy zaobserwowano torebkę łącznotkankową, korę nadnerczy oraz rdzeń nadnerczy. Grubość torebki łącznotkankowej nadnercza wynosiła $64,85 \pm 13,47 \mu\text{m}$. Włókna tkanki łącznej będące pochodną torebki nadnercza wnikały w kierunku kory nadnercza. W obrębie kory nadnerczy zidentyfikowano 3 warstwy: warstwa kłębkowata (*zona glomerulosa*), warstwa pasmowata (*zona fasciculata*) oraz warstwa siatkowata (*zona reticulata*). Komórki warstwy kłębkowatej były wysokie, cylindryczne i ułożone w łukowaty wzór. Komórki warstwy pasmowatej zawierały piankową cytoplazmę. Pomiędzy warstwą siatkowatą kory nadnerczy a rdzeniem zaobserwowano wyraźną warstwę tkanki łącznej z licznymi naczyniami krwionośnymi. W rdzeniu nadnerczy obecna była duża żyła centralna.

Budowa histologiczna nadnerczy *Neofelis nebulosa* była porównywalna z cechami tych gruczołów endokrynnych u innych przedstawicieli rodziny Felidae. Nie można jednak wykluczyć istnienia różnic w wielkości i budowie histologicznej nadnerczy związanych z płcią lub/i cyklem rozrodczym analizowanego gatunku.

Słowa kluczowe: *Neofelis nebulosa*, nadnercza, morfologia, histologia

UŻYCIĘ ŚRODKÓW FARMAKOLOGICZNYCH W STABILIZACJI STANU KLINICZNEGO KRÓLIKA Z WYTRZESZCZEM OCZU I PROBLEMAMI ODDECHOWYMI SPOWODOWANYMI GRASICZAKIEM – OPIS PRZYPADKU

A. Wichtowska^{1,2}

¹Katedra Nauk Podstawowych i Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń, Polska

²Przychodnia weterynaryjna Vet-Med, Toruń, Polska

Grasiczaki (*thymoma*) stanowią 8% nowotworów występujących u królików domowych. Wśród objawów klinicznych występują trudności w oddychaniu, wynikające z zajęcia przez guza obszaru w śródpiersiu. Jednym z najbardziej widocznych objawów może być obustronny wytrzeszcz gałek ocznych spowodowany uciskiem żyły głównej, który powoduje przekrwienie pozagałkowego spłotu żylnego. Wśród rekomendowanych metod leczenia wymienia się chirurgiczne usunięcie guza oraz zastosowanie radioterapii, jednak zastosowanie glikokortykoidów również powodowało redukcję objawów klinicznych oraz wydłużenie czasu przeżycia w stosunku do zwierząt, które nie otrzymały leczenia.

Cel pracy: Przedstawienie opisu przypadku grasiczaka u królika domowego.

Opis przypadku: Pacjent: królik, mieszaniec królika lwiego, samiec, 7 lat, trafił do przychodni weterynaryjnej z powodu wytrzeszczu gałek ocznych (*exophthalmus*) i duszności (*dyspnoe*). Podczas badania klinicznego stwierdzono obustronny *exophthalmus* z wypadnięciem III powieki. Osluchowo stwierdzono *dyspnoe* z ciężkimi i płytkimi oddechami. Ciśnienie tętnicze krwi zbadane metodą dopplerowską wynosiło 180/80 mmHg w warunkach gabinetu. Pobrano próbki krwi z żyły odpiszczelowej bocznej w celu wykonania badań morfologicznych i biochemicznych. Wykonano badanie RTG klatki piersiowej i głowy oraz USG (TFAST).

Wyniki i omówienie: Stwierdzono leukocytozę z limfocytozą, odnotowano spadek poziomu albumin oraz białka całkowitego, a także stwierdzono wzrost aktywności AST (aminotransferaza asparaginianowa).

RTG klatki piersiowej wykazało cieniującą masę, znajdującą się przedsercowo oraz uniesienie tchawicy. Obecność masy na terenie śródpiersia potwierdzono w badaniu ultrasonograficznym. Ponadto badanie to wykazało artefakty linii B świadczące o obecności płynu na terenie płuc (obrzęk). Opiekunowie królika nie zgodzili się na pobranie biopsji ze zmiany. Biorąc pod uwagę objawy kliniczne a także obecność masy guzowatej przedsercowo na terenie klatki piersiowej stwierdzono grasiczaka (*thymoma*).

Opiekunowie nie zdecydowali się na radioterapię i poprosili o leczenie farmakologiczne. Zalecono furosemid (Libeo 10mg, Ceva) w dawce 2 mg/kg m.c. p.o. 1x dziennie oraz prednizolon (Prednicortone 5mg, Dechra) 1 mg/kg m.c. 2x dziennie. Ze względu na nadciśnienie dołączono także enalapril (Enarenal 10mg, Polpharma) 0,5mg/kg m.c. 1xdziennie

Po tygodniu stosowania leków opiekunowie zauważyli poprawę stanu klinicznego. Królik stał się bardziej aktywny, wytrzeszcz gałek ocznych ustąpił. Postanowiono zredukować dawkę sterydu do jednej dawki dziennie a furosemid i enalapril podawać co 48godzin. Pacjent przeżył w dobrym stanie klinicznym 6 miesięcy, jednak przerost koron zębodołowych żuchwy, doprowadził do zaburzeń spożywania pokarmu i decyzji właścicieli o eutanazji królika.

Słowa kluczowe: grasiczak, królik, wytrzeszcz, duszność, prednizolon

BADANIA HISTOLOGICZNE POWIEKI GÓRNEJ I DOLNEJ U NIEDŹWIEDZIA HIMALAJSKIEGO (*URSUS THIBETANUS* CUVIER, 1823) (CARNIVORA: URSIDAE)

J. Klećkowska-Nawrot¹, K. Goździewska-Harłajczuk¹, K. Barszcz², K. Stegmann³

¹Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

³Zoo Wrocław, Wrocław, Polska

Niedźwiedź himalajski (*Ursus thibetanus*) to ssak drapieżny występujący w Azji. Według Czerwonej Listy Zagrożonych Gatunków IUCN (2019) niedźwiedź himalajski jest gatunkiem narażonym na wyginięcie (VU).

Celem badań była analiza histologiczna powieki górnej i powieki dolnej u dorosłego niedźwiedzia himalajskiego pochodzącego z Wrocławskiego Ogrodu Zoologicznego. Materiał badawczy pobrano *post-mortem*. Zastosowano następujące metody barwień histologicznych: H&E, trichrome Picro-Mallory i Movat pentachrome. Budowę struktury powieki analizowano z użyciem mikroskopu świetlnego Zeiss Axio Scope.A1.

Powierzchnia skórna powieki górnej i dolnej pokryta była nabłonkiem wielowarstwowym płaskim rogowaciejącym zbudowanym z 9-23 warstw komórek. Pod nabłonkiem zlokalizowana była cienka blaszka właściwa złożona z tkanki łącznej wiotkiej. Liczne gruczoły łojowe i potowe znajdowały się głęboko w zrębie obu powiek. Ponadto zrąb powiek cechowała obecność nieregularnej tkanki łącznej gęstej z siecią włókien kolagenowych i elastycznych, naczyń krwionośnych i włókien nerwowych. W powiece górnej i dolnej zaobserwowano także wyraźną warstwę mięśni, składającą się z pęczków mięśnia okrężnego oka, mięśnia dźwigacza kąta przyśrodkowego gałki ocznej i mięśnia policzkowego. Tarczka powieki górnej i dolnej zbudowana była z tkanki łącznej włóknistej. Gruczoły tarczkowe miały kształt wydłużony. Powierzchnia spojówkowa obu powiek pokryta była nabłonkiem wielowarstwowym walcowatym zbudowanym z 3 do 6 warstw komórek i składała się z dwóch części – strefy brzeżnej i strefy oczodołowej. W strefie brzeżnej powierzchni spojówkowej odnotowano nabłonek wielowarstwowo walcowaty (8-15 warstw). Natomiast strefę oczodołową pokrywało od 6 do 7 warstw komórek nabłonka z licznymi komórkami kubkowymi.

Budowa struktury powieki górnej i dolnej u niedźwiedzia himalajskiego była porównywalna do budowy histologicznej powiek u innych gatunków zwierząt mięsożernych.

Słowa kluczowe: niedźwiedź himalajski, powieka górna, powieka dolna, histologia

PIERWSZE UDOKUMENTOWANE ZNIECZULENIE Z ZASTOSOWANIEM NISKICH DAWEK TYLETAMINY–ZOLAZEPAMU U JAJOŻYWORODNEGO BOA LEŚNEGO (*CORALLUS HORTULANUS*) PODDANEGO CELIOTOMII – OPIS PRZYPADKU

S. Lachowska, K. Buczak, P. Kucharski, A. Sowińska, A. Antończyk, P. Prządka, B. Liszka, Z. Kiełbowicz

Katedra i Klinika Chirurgii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Polska

Połączenie tyletaminy z zolazepamem jest coraz częściej stosowane w anestezjologii weterynaryjnej u dzikich zwierząt, w tym również u węży. W dostępnej literaturze brak jest jednak informacji na temat znieczulenia tą mieszaniną leków u węży jajożyworodnych. Badania wskazują jedynie na możliwość zastosowania kombinacji w dawce 20 mg/kg lub większej do unieruchomienia węży jajorodnych. W poniższej pracy przedstawiono protokół znieczulenia z użyciem kombinacji tyletaminy - zolazepamu w dawce 10 mg/kg podanej domięśniowo oraz podtrzymanie znieczulenia gazem wziewnym-izofluranem.

Celem niniejszego badania była ocena przydatności protokołu anestezjologicznego do przeprowadzenia celiotomii u boa leśnego.

Pacjentką była pięcioletnia, dwukolorowa samica węża boa leśnego (*Corallus hortulanus*) skierowana na zabieg ze względu na ciążę przenoszoną i zamarcie płodów. Meloksykam (1 mg/kg) i tramadol (10 mg/kg) podano podskórnie, a pacjentkę umieszczono w inkubatorze z dostępem do świeżego tlenu. Cztery godziny później, w celu indukcji znieczulenia podano domięśniowo kombinację tyletaminy - zolazepamu (10 mg/kg). Wąż został zaintubowany i podłączony do aparatu do znieczulenia wziewnego. Do podtrzymania znieczulenia zastosowano izofluran w czystym tlenie. W trakcie zabiegu oceniano parametry krążeniowo-oddechowe (HR, RR, SPO₂, ETCO₂, ETISO): przed indukcją znieczulenia, 30 min, 1 godzinę oraz 2 godziny po indukcji. Parametry mieściły się w granicach normy, jednak ze względu na pojawienie się bezdechu, który wystąpił 30 minut po indukcji, zdecydowano o włączeniu respiratora.

15 minut po indukcji zaobserwowano utratę napięcia mięśniowego od głowy do końca ogona. Indukcję znieczulenia ogólnego oceniono więc jako dobrą również ze względu na możliwość intubacji.

Okres rekonwalescencji trwał około 4 godzin po zakończeniu znieczulenia ogólnego. Wąż zaczął oddychać spontanicznie w 1,5 godziny po zakończeniu znieczulenia ogólnego.

Protokół znieczulenia ogólnego z kombinacją tyletaminy-zolazepamu w dawce 10 mg/kg w podtrzymaniu izofluranem w tlenie jest przydatny oraz bezpieczny do przeprowadzenia pilnej celiotomii. Niezbędne są jednak dalsze badania nad wpływem kombinacji tyletaminy-zolazepamu na parametry oddechowe oraz czas trwania rekonwalescencji.

Słowa kluczowe: anestezjologia, *Corallus hortulanus*, jajożyworodny, wąż, tyletamina-zolazepam



SESJA FIZJOLOGII I PATOLOGII KONIA

POSTANÓWKOWE ZAPALENIE BŁONY ŚLIZOWEJ MACICY – PROBLEM CIĄGLE AKTUALNY

R. Kozdrowski

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń, Polska

Choroby macicy u klaczy występują znacznie częściej niż zaburzenia funkcji jajników i stanowią duże wyzwanie dla lekarza weterynarii zważywszy na fakt, że stanówka niejednokrotnie jest związana z dużymi nakładami finansowymi ponoszonymi przez właściciela konia na zakup nasienia pochodzącego od wybitnych ogierów, co wywala na lekarza weterynarii dużą presję. Postanówkowe zapalenie błony śluzowej macicy (PZBSM) jest reakcją *endometrium* na wprowadzone nasienie oraz zanieczyszczenia i charakteryzuje się napływem neutrofili trwającym dłużej niż 48 godzin od zdeponowania nasienia. U klaczy opornych na tę chorobę przejściowy proces zapalny *endometrium* ma na celu oczyszczenie macicy z zanieczyszczeń i przygotowanie jej na przyjęcie zarodka. PZBSM od strony klinicznej charakteryzuje się akumulacją płynu zapalnego w macicy, który utrzymuje się dłużej niż 12-24 godz. od krycia. Jednym z czynników zaburzających kurczliwość mięśniówki macicy może być nadmierna produkcja NO w *endometrium* klaczy predysponowanych do PZBSM. Czynniki predysponujące do wystąpienia choroby to: wiek klaczy, przebyte ciążę, obwisła macica, zaburzenia w ukształtowaniu zewnętrznych narządów płciowych, zaburzenia anatomii i funkcji szyjki macicy, gromadzenie płynu w macicy podczas rui, zwyrodnienie *endometrium* oraz infekcje macicy. Ustalenie czynników ryzyka pozwoli lepiej przygotować klacz do stanówki oraz umożliwi podjęcie decyzji o sposobie stanowienia klaczy – krycie, inseminacja nasieniem świeżym, schłodzonym lub mrożonym. W przypadku akumulacji płynu w macicy po kryciu/sztucznej inseminacji konieczne jest usprawnienie mechanizmów odpowiedzialnych za oczyszczanie się macicy. Podstawową metodą leczenia jest stosowanie środków kurczących macicę oraz jej płukanie. W pewnych sytuacjach konieczna może być antybiotykoterapia. W ostatnich latach przeprowadzono badania w zakresie stosowania kortykosteroidów, niesteroidowych leków przeciwzapalnych oraz wlewów domacicznych osocza bogatopłytkowego w celu modulacji procesu zapalnego.

STĘŻENIE REZYSTYNY W OSOCZU KRWI KONI WYŚCIGOWYCH I RAJDOWYCH

W. Kędzierski, S. Kowalik

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Rezystyna jest polipeptydowym hormonem tkankowym odkrytym w 2001 roku, nazwa wywodzi się od udziału tego białka w rozwoju oporności na insulinę: „for resistance to insulin”. Rezystyna pełni funkcję m.in. regulatora przemian węglowodanów i lipidów oraz prawdopodobnie odpowiada za oporność na leptynę prowadzącą do nadwagi. Synteza rezystyny zachodzi głównie w tkance tłuszczowej, stąd zaliczana jest do tzw. adipokin, a także w innych tkankach, w tym w mięśniach szkieletowych. W dostępnej literaturze brak jest informacji na temat wydzielania i znaczenia tej adipokiny u koni. Podjęto zatem badania zmierzające do określenia spoczynkowego stężenia rezystyny w osoczu krwi koni oraz wpływu prób wysiłkowych o różnym charakterze (wysiłek krótki, intensywny i długotrwały o umiarkowanej intensywności). Badaniami objęto łącznie 28 koni rasy czysta krew arabska, w tym 12 koni w wieku 3-5 lat, trenowanych na torach wyścigowych oraz 16 koni w wieku 5-13 lat, startujących w rajdach długodystansowych. Trening wyścigowy składa się z rozgrzewki i galopu z prędkością ok. 12 m/s na dystansie 1600 m. Podczas rajdów konie pokonywały dystans 20 – 80 km w stępie i kłusie, w czasie od 2 do 8 godzin. Materiał do badań stanowiły próbki krwi pobierane w spoczynku, tuż po zakończeniu wysiłku oraz 30 minut po zakończeniu próby wysiłkowej. W uzyskanym osoczu krwi oznaczano stężenie rezystyny i kortyzolu testami ELISA oraz poziom kwasu mlekowego testem enzymatycznym. Uzyskane wyniki poddano wieloczynnikowej analizie wariancji z użyciem testu Tukey’a i współczynnika korelacji.

Stężenie rezystyny oznaczanej w spoczynku było wprost proporcjonalne do stężenia kortyzolu ($r=0,79$; $p<0,05$). W próbach powysiłkowych odnotowano wzrost stężenia rezystyny. Stwierdzono także istotną zależność pomiędzy wzrostem poziomu kortyzolu i rezystyny we krwi po wysiłku, zarówno u koni wyścigowych, jak i rajdowych, mimo iż charakter wysiłku w tych dwóch grupach różnił się diametralnie. Wnioski: 1) niezależnie od intensywności i czasu trwania, wysiłek u koni prowadzi do wzrostu wydzielania rezystyny; 2) wzrost ten jest silnie skorelowany z nasileniem wydzielania kortyzolu; 3) stężenie kortyzolu w osoczu krwi jest prawdopodobnie głównym czynnikiem stymulującym wydzielanie rezystyny.

Słowa kluczowe: konie rasy arabskiej, metabolizm, trening, wysiłek

ZALEŻNOŚĆ STĘŻENIA MIOSTATYNY W OSOCZU KRWI OD RASY I SPOSOBU UŻYTKOWANIA KONI

S. Kowalik, W. Kędzierski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Znajomość zagadnień dotyczących wpływu różnego rodzaju czynników na prawidłowy wzrost i rozwój układów kostnego i mięśniowego u koni jest z punktu widzenia ich wykorzystywania sportowego coraz istotniejsza. Obecnie uważa się, że nie tylko prawidłowo prowadzony proces treningowy jest czynnikiem warunkującym sukcesy koni startujących w różnych dyscyplinach hippicznych. Coraz większą uwagę zwraca się na czynniki genetyczne oraz metaboliczne mogące istotnie modyfikować wydolność wysiłkową koni. Stosunkowo niedawno w kręgu zainteresowań pojawiły się nieznane dotychczas biologicznie aktywne białka zwane miokinami. Jedyną z nich, wywierającą szczególnie istotny wpływ na procesy fizjologiczne tkanki mięśniowej jest miostatyna, znana również jako GDF8 (growth differentiation factor 8). Z punktu widzenia biochemicznego, miostatyna jest polipeptydem składającym się z 376 aminokwasów, należącym do jednej z największej rodziny białek, tzw. transformujących czynników wzrostu - TGF- β . Białka te są jednym z najbardziej wszechobecnych regulatorów wzrostu oraz różnicowania komórek zarówno w procesie embriogenezy, jak również utrzymania homeostazy dojrzałego organizmu ssaków. Fizjologicznie, GDF8 pełni istotną rolę w zapobieganiu przerostowi tkanki mięśniowej w różnych stadiach rozwoju organizmu. Badania wykazały bowiem, że im większy jest jej poziom tym trudniej o wzrost masy mięśniowej. Odwrotnie, u zwierząt pozbawionych genu kodującego tę miokinę (MSTN) dochodzi do dramatycznego, bo nawet 3-krotnego zwiększenia masy mięśni szkieletowych, wynikającego zarówno z hiperplazji jak i hipertrofii włókien mięśniowych, niezależnie od wieku i płci zwierząt. W 2009 roku badaniami genetycznymi potwierdzono iż pewne mutacje genu MSTN u koni czystej krwi arabskiej i pełnej krwi angielskiej, istotnie wpływają na ich predyspozycje wyścigowe. Miostatyna wykazuje ekspresję przede wszystkim w obrębie włókien mięśniowych, lecz badania ostatnich lat potwierdziły jej występowanie również w osoczu krwi. Mimo tej wiedzy, w dostępnej literaturze nie ma prac dotyczących badań nad określeniem fizjologicznego stężenia miostatyny w surowicy koni w zależności od ich użytkowości.

Dlatego, celem naszych badań o charakterze pilotażowym było określenie i porównanie poziomu miostatyny w surowicy krwi różnych ras i różnej użytkowości. Do badań zakwalifikowano łącznie 56 koni rasy Polski Koń Sportowy (SP, $n=26$) użytkowany sportowo-rekreacyjnie, Konik Polski (KP, $n=10$) użytkowany rekreacyjnie oraz Czystej Krwi Arabskiej (A, $n=20$) użytkowany wyścigowo. Materiał do badań stanowiły próbki krwi pobierane w spoczynku. W uzyskanej surowicy krwi stężenie miostatyny oznaczano testem ELISA. Uzyskane wyniki poddano wieloczynnikowej analizie wariancji z użyciem testu Tukey'a i współczynnika korelacji. Najwyższe osoczowe stężenie miostatyny wykazano w grupie KP o małej aktywności fizycznej ($8,16 \pm 2,3$ pg/ml), a najniższe w grupie A ($4,44 \pm 2,2$ pg/ml) poddanej największym obciążeniom treningowym. W grupie SP stężenie badanej miokiny kształtowało się na pośrednim poziomie, wynoszącym $5,68 \pm 2,0$ pg/ml.

Podsumowując, badania wykazały iż poziom surowiczej miostatyny u koni różni się istotnie w zależności od rasy oraz użytkowości.

Słowa kluczowe: GDF8, mięśnie, miokiny, trening

CZY BŁONOWY RECEPTOR ESTROGENOWY – GPER ODGRYWA ROLĘ W POWSTAWANIU WNĘTROSTWA U KONI?

L. Pardyak¹, M. Witkowski^{2,3}, P. Pawlicki¹, M. Profaska-Szymik², S. Kantor², Z. Arent^{1,2}, M. Kotula-Balak²

¹Centrum Medycyny Eksperymentalnej i Innowacyjnej, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Kraków, Polska

²Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Kraków, Polska,

³Szpital Koni Służewiec, Warszawa, Polska

Chociaż wnętrostwo u koni jest powszechnie występującą wadą rozwojową, etiologia tej patologii wciąż pozostaje nie w pełni poznana. Ponadto pochodzenie wewnątrzjądrowego wysokiego poziomu estrogenów u kryptorchicznych osobników wciąż jest niejasne. Badania prowadzone w ostatnich latach wskazują, że zaburzenia równowagi hormonalnej negatywnie wpływają na płodność zwierząt i ludzi sprzyjając powstawaniu wad rozwojowych lub zmian patologicznych w narządach układu rozrodczego, a podwyższony poziom endogennych estrogenów wykrywany jest często u osobników ze strukturalnymi i funkcjonalnymi zaburzeniami układu rozrodczego. Liczne badania dowodzą, że ich przyczyną w układzie rozrodczym mogą być także środowiskowe związki o aktywności hormonalnej (estrogennej i/ lub antyandrogennej), które aktywują szybkie pozagenomowe mechanizmy sygnalizacyjne komórek z udziałem min. błonowego receptora estrogenowego sprzężonego z białkiem G (GPER). Należy zaznaczyć, że istnieje wiele niewiadomych na temat roli tego receptora w komórkach somatycznych gonady i innych tkankach męskiego układu rozrodczego ssaków, w tym koni. Zatem, celem niniejszych badań było uzyskanie nowych informacji na temat roli regulacji estrogenowej z udziałem GPER w jądrach koni zdrowych oraz z wnętrostwem.

W badaniach wykorzystano tkanki jąder koni arabskich pobrane od kryptorchicznych (n=3) oraz zdrowych (n=2) osobników, które analizowano z użyciem technik takich jak: SEM, immunohistochemia, testy ELISA, Western blotting i qRT-PCR.

U osobników z wnętrostwem wykazano zmiany w rozkładzie zawartości polisacharydów wewnątrzjądrowych, z ich jednoczesną translokacją z przedziału interstycjalnego do przedziału kanalikowego gonady. Ponadto, wykazano korelację pomiędzy wyraźnie obniżoną ekspresją receptora GPER, a obniżonym poziomem jego drugorzędowych przekaźników tj. cAMP i Ca²⁺, w porównaniu do osobników zdrowych. Wskazuje to na potencjalny udział estrogenów poprzez GPER w inicjacji i rozwoju wnętrostwa. Zaburzenia te mogą mieć związek z ekspozycją na środowiskowe estrogeny jak i wyższą endogenną syntezą estrogenów u koni z wnętrostwem.

Podsumowując, nasze dane wskazują że GPER może odgrywać znaczącą rolę w utrzymaniu prawidłowej struktury i czynności jąder. Równocześnie, dalsze badania przedkliniczne są konieczne w kierunku potencjalnego wykorzystania GPER w rozpoznawaniu przyczyn i typów zaburzeń funkcji jądra u koni.

Słowa kluczowe: wnętrostwo, estrogeny, GPER, konie

Finansowanie: URK: SUB/2020-080100-D016.

POZYSKIWANIE I HODOWLA KERATYNOCYTÓW KONIA – MODEL DO BADAŃ PORÓWNAWCZYCH I TRANSLACYJNYCH

A. Pawlak¹, P. Kupczyk², P. Serek², M. Rykała³, A. Niedźwiedź³

¹Katedra Farmakologii i Toksykologii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław, Polska

³Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Choroby skóry stanowią istotny problem u koni. Do najczęściej spotykanych należą nowotwory skóry (rak płaskonabłonkowy, czerniak), sarkoidy oraz inne choroby zapalne, w tym pęcherzyca liściasta i alergiczne sezonowe zapalenie skóry. Ponadto istotnym problemem są urazy skóry, które często prowadzą do rozwoju przewlekłych i trudno gojących się ran. Prowadzenie badań *in vivo* jest trudne i kosztowne dlatego konieczne jest opracowanie prostych i skutecznych modeli *in vitro*. Celem naszej pracy było opracowanie metody izolacji i hodowli końskich keratynocytów.

Próbki skóry pobrano przy pomocy biopsji z okolicy śródreżcza zdrowych koni poddanych ubojowi (n = 15). W celu zainicjowania hodowli pierwotnej keratynocytów, po dostarczeniu do laboratorium i wypłukaniu, bioptaty skóry przeniesiono do roztworu dispazy II i inkubowano w 37°C przez 3 godziny w celu mechanicznego rozdzielania naskórka od skóry właściwej. Następnie naskórek pocięto na małe kawałki i inkubowano w 0,25% roztworze trypsyny z 0,05% EDTA. Po odwirowaniu osad komórkowy ponownie zawieszono w medium hodowlanym i komórki wysiewano na 6-dołkowej płytce hodowlanej. Keratynocyty hodowano w Epidermal Keratinocyte Medium (CnT-09, CellnTec) uzupełnionym CnT-IsoBoost Supplement (CnT-ISO-50) i 1% roztworem antybiotyków w 37°C i 5% CO₂. Po osiągnięciu konfluencji na poziomie 80%, komórki pasażowano do kolejnych naczyń hodowlanych. Aby uniknąć zanieczyszczenia hodowli keratynocytów innymi komórkami skóry, głównie fibroblastami, zastosowano różne czasy oddzielenia fibroblastów od pozostałych komórek nabłonka. Obecność jednorodnej populacji keratynocytów w hodowli potwierdzano z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej i specyficznego przeciwciała wobec szeregu cytokeratyn 1–8, 10, 14, 16 oraz 19.

Zastosowana metoda pozwoliła na sprawną i skuteczną izolację keratynocytów konia przy zachowaniu wysokiej żywotności komórek. Zastosowane odczynniki do hodowli zapewniły szybką selekcję keratynocytów, co pozwoliło na uzyskanie jednorodnej populacji komórek. Hodowla pierwotna charakteryzowała się równym, intensywnym wzrostem komórek. Po zamrożeniu i rozmrożeniu komórki zachowywały zdolność do dalszej proliferacji (mrożono komórki po 2-3 pasażu).

Słowa kluczowe: keratynocyty, naskórek, hodowle pierwotne, koń

IDENTYFIKACJA UKŁADU RECEPTORÓW ENDOKANNABINOIDOWYCH W SKÓRZE I MÓZGU KONI

M. Rykała¹, P. Kupczyk², P. Serek³, A. Pawlak⁴, B. Słowikowski⁵, M. Hołysz⁵, G. Chodaczek⁶, P. Ziółkowski², A. Niedźwiedź¹

¹Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska,

²Katedra Patomorfologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław, Polska

³Katedra Biochemii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław, Polska

⁴Katedra Farmakologii i Toksykologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

⁵Katedra Biochemii i Biologii molekularnej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań, Polska

⁶Sieć Badawcza ŁUKASIEWICZ - PORT Polski Ośrodek Rozwoju Technologii, Wrocław, Polska

Receptory kannabinoidowe (ang. *Cannabinoid Receptors, CBRs*) należą do przedstawicieli dużej rodziny białek, które po związaniu ligandu - endogennego neuroprzekaźnika, egzogenego fitokannabinoidu bądź syntetycznego analogu - inicjują transmisję sygnału za pośrednictwem białek G. Reprezentowane są przez dwa typy receptorów kannabinoidowych - typu 1 i typu 2 (ang. *Cannabinoid Receptor, CBR: CBR type 1 - CBR1 and type 2 - CBR2*). CBRs kontrolują homeostazę tkankową od procesów neurobiologicznych po mechanizmy immunologiczne. Badania molekularne nad identyfikacją CBRs dotyczą struktur układu nerwowego kręgowców, gdzie potwierdzono ich wysoką oraz heterogenną ekspresję. Ponadto zidentyfikowano je w peryferyjnych tkankach - keratynocytach naskórka i fibroblastach skóry właściwej. Tego typu badań nie przeprowadzano dotychczas u koni.

Fragmety skóry okolicy śródreżca oraz kory mózgowej pobrano sterylnie *post mortem* od 15 zdrowych koni. Materiał utrwalono. Celem potwierdzenia prawidłowości pozyskanych biopsji skórnych wykonano badanie histologiczne. Z blozków mrożeniowych OCT wykonano sekcje o grubości 12 µm i przygotowano do immunofluorescencji pośredniej. Uzyskane preparaty poddano ocenie z użyciem mikroskopii konfokalnej. Przeprowadzona procedura pozwoliła na wykonanie analizy ekspresji i dystrybucji tkankowej receptorów kannabinoidowych CBR1 i CBR2 w obrębie skóry. Materiał przeznaczony do oznaczenia ekspresji genów i białek poddano homogenizacji. Następnie wyizolowano z niego RNA i podano reakcji odwrotnej transkrypcji. Wykonano analizę ekspresji genów z wykorzystaniem starterów dla końskich genów *CBR1* i *CBR2* oraz *ACTB*, *GAPDH* i *B2M* jako genów referencyjnych metodą real-time PCR i Western Blott.

Uzyskane wyniki potwierdziły obecność transkryptów genów CBR oraz ich ekspresję w materiale wyizolowanym zarówno ze skóry, jak i z mózgu.

Aktualna wiedza na temat kannabinoidów wykorzystywana w weterynarii dotyczy głównie psów i kotów. Opisano je w obrębie skóry i naskórka, gdzie notowano znacznie wyraźniejszą ekspresję w stanach chorobowych. Badania te stały się podstawą do wykorzystania CBRs jako punktu uchwytu terapeutycznego w chorobach zapalnych skóry. Dzięki identyfikacji CBRs w mózgu i skórze konia udowodniono, że może on stanowić alternatywny i innowacyjny uchwyt terapeutyczny również w klinice tych zwierząt, zwłaszcza w aspekcie dermatologicznym.

WPŁYW OTYŁOŚCI NA HISTOLOGICZNĄ STRUKTURĘ TKANKI UKŁADU SERCOWO-NACZYNIOWEGO I NARZĄDÓW MIĘSZKOWYCH KONI

N. Siwińska¹, A. Żak-Bochenek², I. Janus³, A. Noszczyk-Nowak¹

¹Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

³Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Jednymi z najczęstszych i najbardziej poznanych konsekwencji otyłości u koni są zaburzenia endokrynologiczne. Powszechnie wiadomo, że u ludzi otyłość prowadzi również do zmian strukturalnych i funkcjonalnych wielu narządów. Celem pracy była ocena wpływu otyłości na budowę histologiczną narządów mięsnych, tkanki mięśnia sercowego oraz tętnic dużych i obwodowych u koni.

Do oceny histopatologicznej pobrano próbki serca, tętnic (aorty, tętnicy płucnej, naczyń wieńcowych, tętnic palcowych), wątroby i nerek od: 6 koni z kondycją (BCS) ocenioną na 4-5/9 w skali Henneke – grupa kontrolna i 11 otyłych koni (BCS 9/9) – grupa badana. Materiał pobrany został w rzeźni zaraz po poddaniu zwierząt ubojowi. Wszystkie próbki po odpowiedniej obróbce i barwieniu, zostały poddane ocenie histopatologicznej pod mikroskopem świetlnym. Ocenie poddano: obecność i nasilenie zwyrodnienia mięszu, nacieku tkanki tłuszczowej i tkanki włóknistej w próbkach mięśnia sercowego, zaburzenia w architekturze włókien, obecność i nasilenie wakuolizacji, pogrubienie błony wewnętrznej w naczyniach krwionośnych. Ponadto zmierzono grubość tętnic wieńcowych i palcowych oraz średnicę światła i całkowitą średnicę tętnic palcowych.

Konie otyłe wykazywały bardziej intensywne zwyrodnienie mięszu wątroby oraz zwyrodnienie mięszu i otłuszczenie nerek w porównaniu z końmi o prawidłowym BCS. Tkanka sercowa, aorta i tętnica płucna wykazywały bardziej nasilone zaburzenia architektury i wakuolizacji w porównaniu z grupą kontrolną. Błona wewnętrzna w tętnicy płucnej, tętnicach wieńcowych i palcowych była grubsza u koni otyłych niż u koni z prawidłowym BCS. Tętnice palcowe u koni otyłych miały większą średnicę światła i stosunek światła do całkowitej średnicy w porównaniu z grupą kontrolną.

Przedstawione badania wykazały istotny wpływ otyłości na narządy wewnętrzne oraz naczynia centralne i obwodowe u koni. Daje to podstawę do głębszej refleksji nad wpływem otyłości na organizm konia, a także rzuca światło na potrzebę jej zapobiegania.

Słowa kluczowe: otyłość, serce, tętnice palcowe, narządy wewnętrzne

WYSTĘPOWANIE ORAZ ZMIENNOŚĆ GENETYCZNA WIRUSA ZAKAŻNEGO ZAPALENIA TĘTNIC (EAV) U TRWALE ZAKAŻONYCH OGIERÓW W STADZIE KONI RASY HUCULSKIEJ

W. Socha¹, P. Sztromwasser², M. Dunowska³, B. Jaklińska⁴, J. Rola¹

¹ Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

² Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź, Polska

³ School of Veterinary Science, Massey University, Palmerston North, New Zealand

⁴ Stadnina Koni Huculskich „Gładyszów”, Regietów, Polska

Zakażne zapalenie tętnic koni (EVA) jest jedną z najistotniejszych chorób zakaźnych koniowatych na świecie. Ogiery trwale zakażone odgrywają kluczową rolę w utrzymywaniu się wirusa w populacji. U tych ogierów, mimo braku objawów, dochodzi do stałego namnażania się i siewstwa wirusa w nasieniu. W efekcie są one stałym źródłem wirusa w środowisku i przyczyniają się do jego zmienności. W ostatnich latach dowiedziono, że podatność na trwałe zakażenia może być związane z występowaniem określonego wariantu genu EqCXCL16 u gospodarza. Celem badań był monitoring rozprzestrzenienia się EAV w stadzie koni huculskich, analiza zmienności genetycznej wirusa oraz określenie częstości występowania wariantów genu EqCXCL16 wśród badanych koni.

Przebadano 221 próbek surowicy od 62 koni (46 klaczy i 16 ogierów) oraz próbki nasienia od 11 ogierów. Probki pobrano w latach 2010-2013. Probki surowicy przebadano testem seroneutralizacji na obecność przeciwciał specyficznych dla EAV natomiast próbki nasienia badano testem real time RT-PCR specyficznym dla EAV. Wybrane izolaty EAV uzyskane z próbek nasienia poddano sekwencjonowaniu nowej generacji (NGS). Dodatkowo materiał pochodzący od każdego z ogierów wykorzystano do sekwencjonowania metodą Sangera genu EqCXCL16.

Badanie serologiczne potwierdziło obecność EAV w badanym stadzie, przy czym pomiędzy 2010 a 2013 rokiem zaobserwowano znaczący wzrost odsetka serododatnich klaczy (z 7 do 92%) podczas gdy odsetek ten dla ogierów pozostał na zbliżonym poziomie (wzrost z 64 do 71%). Zidentyfikowano 6 ogierów - siewców wirusa z czego u 4 potwierdzono trwałe zakażenie EAV. Wszystkie uzyskane izolaty wirusa wykazywały wysoki procent podobieństwa sekwencji nukleotydowej (94,7 do 99,6%) i były zbliżone genetycznie do polskich i europejskich szczepów izolowanych w ostatnich dwóch dekadach. U trwale zakażonych ogierów stwierdzono liczne (41 do 310) pozycje zmienne (SNV) zlokalizowane głównie w regionach kodujących glikoproteiny powierzchniowe oraz białko nsp2. Liczba SNP rosła wraz z okresem trwania zakażenia. U większości (4/6) z badanych siewców stwierdzono obecność wariantu Sa/R genu EqCXCL16 skorelowanego z podatnością na zakażenia trwałe wirusem EAV. Ogiery, u których siewstwo EAV nie wystąpiło posiadało wariant odporny (R/R) genu EqCXCL16.

Słowa kluczowe: wirus zapalenia tętnic koni, NGS, SNV, EqCXCL16

ZMIENNOŚĆ GENETYCZNA SZCZEPÓW HERPESWIRUSA KONI TYPU 5 W POPULACJI KONI W POLSCE

K. Stasiak¹, M. Dunowska², S. Trewick³, J. Rola¹

¹*Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska*

²*School of Veterinary Science, Massey University, Palmerston North, New Zealand*

³*School of Agriculture and Environment, Massey University, Palmerston North, New Zealand*

Herpeswirus koni typu 5 (EHV-5) jest jednym z dwóch gammaherpeswirusów, które powszechnie występują u koni różnych ras na całym świecie. Dokładna rola EHV-5 w wywoływaniu klinicznej postaci zakażenia nie jest dokładnie poznana, z tego względu, że obecność wirusa jest stwierdzana u koni zdrowych jak i u chorych, u których zakażenie przebiega w postaci ostrej. Objawy kliniczne, jeżeli wystąpią to mają na ogół postać łagodnego zapalenia górnych dróg oddechowych, zapalenia płuc, zapalenia rogówki i spojówek, a także ogólnego osłabienia organizmu. Ponadto EHV-5 jest uważany za czynnik etiologiczny wywołujący wieloguzkowe zwłóknienie płuc u dorosłych koni. Celem podjętych badań było określenie zmienności genetycznej szczepów EHV-5 występujących w populacji koni w Polsce oraz porównanie otrzymanych sekwencji z sekwencjami szczepów zagranicznych.

Materiał do badań stanowiło 100 próbek DNA wyizolowanego z wymazów z nosa, pobranych od koni należących do dziewięciu różnych ras użytkowych i pochodzących z 13 państwowych stadnin zlokalizowanych na terenie całej Polski. Próbkę te pochodziły z ogólnej puli 540 wymazów, w których wcześniej testem real-time PCR potwierdzono obecność materiału genetycznego EHV-5. Próbkę DNA badano testem PCR z zastosowaniem starterów specyficznych dla glikoproteiny B. Produkty PCR oczyszczano, a następnie sekwencjonowano metodą Sangera. Otrzymane sekwencje zostały złożone i przycięte tak, aby odpowiadały fragmentowi sekwencji nukleotydowej (404–1621) australijskiego szczepu referencyjnego EHV-5. 2-141/67 dostępnego w bazie GenBank. Określono procent identyczności sekwencji między sobą oraz w stosunku do sekwencji szczepów zagranicznych. Sekwencje poddano analizie filogenetycznej oraz analizie wariancji molekularnej (AMOVA), która została wykorzystana do oceny korelacji między populacyjną strukturą genetyczną sekwencji EHV-5, pochodzeniem geograficznym próbek i wiekiem koni.

Stopień identyczności otrzymanych 92 sekwencji nukleotydowych EHV-5 mieścił się w zakresie od 89,9%–100%, natomiast w przypadku sekwencji aminokwasowych wartość ta wyniosła 88,1%–100%. Z kolei stopień identyczności polskich sekwencji EHV-5 w porównaniu do sekwencji szczepów zagranicznych mieścił się w zakresie od 89,5%–99,8% (sekwencje nukleotydowe) oraz 87,5%–100% (sekwencje aminokwasowe). W oparciu o analizę filogenetyczną wykazano, że sekwencje polskich szczepów EHV-5 należą do dwóch grup genetycznych. Stwierdzono także, że struktura sieci haplotypów nie wykazuje korelacji z pochodzeniem geograficznym szczepów oraz z wiekiem koni.

Słowa kluczowe: herpeswirus koni typu 5, glikoproteina B, zmienność genetyczna, analiza filogenetyczna

ROLA MEDIATORÓW ZAPALNYCH W PROCESACH ZWIĄZANYCH Z ROZWOJEM ENDOMETRIOSIS U KLACZY – BADANIA *IN VITRO*

A. Z. Szósteck-Mioduchowska¹, A. Wójtowicz¹, A. Sadowska¹, G. Ferreira-Dias²,
D. J. Skarżynski¹

¹*Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Olsztyn, Polska*

²*CIISA - Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Lisbon, Portugal*

Endometrosis u klaczy charakteryzuje się włóknieniem zrębu *endometrium* oraz wokół gruczołów macicznych. W jej przebiegu dochodzi do nadmiernego odkładania składników macierzy pozakomórkowej (ECM) takich jak kolagen typu 1 i 3, fibronektyna, co prowadzi do zmian w strukturze tkanki i upośledzenia jej funkcji, a w konsekwencji wpływa na płodność. W procesie włóknienia dochodzi do zaburzenia równowagi w ekspresji i aktywności metaloproteinaz macierzy (MMP) i ich tkankowych inhibitorów (TIMP), a także do aktywacji miofibroblastów. Wyniki badań dotyczące włóknienia innych tkanek wskazują, że komórki układu immunologicznego biorą udział w jego rozwoju. Celem badań było określenie wpływu mediatorów uwalnianych przez limfocyty T pomocnicze (IL-4, IL-13, IL-17) oraz makrofagi (TGF- β 1) na ekspresję MMPs i ich inhibitorów na poziomie genu w komórkach zrębu łącznotkankowego endometrium, ekspresję markera różnicowania miofibroblastów - α -aktyny mięśni gładkich (α -SMA) oraz proliferację fibroblastów. Fibroblasty wyizolowane z endometrium klaczy (n=5) hodowano w systemie hodowli dwuwymiarowej (2D) i stymulowano IL-4 (10 ng/mL), IL-13 (10 ng/mL), IL-17 (ng/mL), TGF- β 1 (5 ng/mL) przez 48 godz. Następnie przy użyciu metody qPCR określono poziom ekspresji genów *Mmp2*, *-9*, *Timp1*, *-2* oraz α -SMA w fibroblastach. Proliferacja fibroblastów została określona przy użyciu metody MTT.

Transformujący czynnik wzrostu- β 1 oraz IL-4 zwiększały proliferację fibroblastów wyizolowanych z endometrium klaczy ($P<0.05$). Wykazano, wzrost ekspresji genu α -SMA w odpowiedzi na działanie IL-17 i TGF- β 1 oraz obniżenie ekspresji genu α -SMA w odpowiedzi na działanie IL-4 i IL-13 w fibroblastach wyizolowanych z endometrium klaczy ($P<0.05$). Interleukina-4 i IL-13 obniżały ekspresję genów *Mmp2*, *Mmp9* oraz *Timp2* ($P<0.01$). Ponadto IL-4 oraz podnosiły ekspresję genu *Timp1* ($P<0.05$), TGF- β 1 ekspresję genu *Mmp9* ($P<0.05$), IL-17 ekspresję genu *Mmp2* ($P<0.01$). Wykazano, również że IL-17 zwiększyła ekspresję genu *Mmp2* ($P<0.01$).

Nasze wyniki wykazały, że mediatory procesów zapalnych uwalniane przez limfocyty Th2, Th17 oraz makrofagi regulują ekspresję MMP i TIMP w fibroblastach z endometrium klaczy, a także wpływają na proliferację fibroblastów i różnicowanie miofibroblastów, co sugeruje ich udział w rozwoju endometriosu u klaczy.

Słowa kluczowe: endometrosis, limfocyty, makrofagi, klacz

Badania finansowane przez NCN: 2019/35/D/NZ9/02989.

WPŁYW CYTOKIN UWALNIANYCH PRZEZ LIMFOCYTY TH1, TH2 ORAZ TH17 NA EKSPRESJĘ METALOPROTEINAZ I ICH TKANKOWYCH INHIBITORÓW W KOMÓRKACH NABŁONKA ENDOMETRIUM KLACZY Z ENDOMETROSIS

A. Wójwicz¹, A. Sadowska¹, G. Ferreira-Dias², A. Z. Szóstek-Mioduchowska¹

¹Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Olsztyn, Polska

²CIISA - Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Lisbon, Portugal

Endometrosis to postępujące włóknienie zrębu *endometrium* macicy u klaczy. Prowadzi do zaburzeń różnicowania i proliferacji nabłonka gruczołowego oraz tworzeniem tzw. gniazd gruczołowych, co skutkuje zmianami w architekturze tkanki i upośledzeniem funkcji endometrium klaczy, a w konsekwencji wczesną utratą zarodków. Podczas włóknienia endometrium dochodzi do nadmiernego odkładania składników macierzy pozakomórkowej (ECM), takich jak kolageny i fibronektyna oraz zwiększenia liczby miofibroblastów. Kluczową rolę w przebudowie ECM odgrywają metaloproteinazy macierzy (MMP) i ich tkankowe inhibitory (TIMP). Limfocyty T pomocnicze (Th) zaangażowane są w rozwój włóknienia w płucach, nerkach i wątrobie u ludzi i gryzoni. Wykazano, że komórki Th1 wykazują działanie antyfibrotyczne, a Th2 profibrotyczne, Th17 natomiast wykazują działanie zarówno pro-, jak i antyfibrotyczne w sposób zależny od narządu. Jednakże rola komórek Th1, Th2 i Th17 oraz ich mediatorów – IFN- γ , IL-4, -13 i -17 w rozwoju endometrosis u klaczy jest nieznana. Celem badania było określenie wpływu IFN- γ , IL-4, -13 i -17 na ekspresję MMP i TIMP w komórkach nabłonkowych pochodzących z endometrium klaczy w IIB i III kategorii wg Kenney'a i Doiga (zaawansowane włóknienie). W tym celu, komórki nabłonka wyizolowane z endometrium macicy (n=3) klaczy, hodowano w systemie hodowli dwuwymiarowej (2D), a następnie traktowano IFN- γ (10 ng/mL), IL-4 (10 ng/mL), IL-13 (10 ng/mL) i IL-17 (10 ng/mL) przez 48 godzin. Poziom ekspresji genów zaangażowanych w rozwój włóknienia (*Mmp-2*, -3, -9, *Timp-1*, -2) określono za pomocą qPCR.

Stymulacja IFN- γ obniżyła poziom ekspresji genu *Mmp3* (kat. III) oraz *Timp1* (kat. IIB, $p<0,05$). Interleukina 4 obniżyła poziom ekspresji genu *Mmp2* w komórkach izolowanych z endometrium kategorii IIB ($p<0,05$) i III ($p<0,001$) a także, w komórkach z kategorii IIB obniżyła ekspresję genu *Mmp9*, *Timp1* i *Timp2* ($p<0,05$). Stymulacja IL-13 wpłynęła na obniżenie poziomu ekspresji genu *Mmp2*, *Mmp9* i *Timp2* w obu badanych kategoriach endometrosis oraz *Mmp3* w kategorii IIB ($p<0,05$). Interleukina 17 zwiększyła poziom ekspresji genu *Mmp3* ($p<0,001$) i *Timp1* ($p<0,05$) w kategorii IIB.

Uzyskane wyniki wskazują na wpływ mediatorów wydzielanych przez Th1, Th2 i Th17 na ekspresję MMPs i TIMPs w komórkach nabłonka endometrium pochodzących od klaczy z zaawansowanym rozwojem endometrosis, co sugeruje ich rolę w rozwoju włóknienia poprzez regulację enzymów zaangażowanych w przebudowę ECM.

Słowa kluczowe: endometrosis, nabłonek, limfocyty, czynniki profibrotyczne, klacz

WYSTĘPOWANIE ZMIAN RADIOLOGICZNYCH W STAWACH PĘCINOWYCH ORAZ TRZESZCZKACH PĘCINOWYCH KOŃCZYN PIERSIOWYCH U KONI RAJDOWYCH W ZJEDNOCZONYCH EMIRATACH ARABSKICH

B. Giercuskiewicz-Hecold¹, M. Hecold², A. Cywińska³, K. Marycz⁴

¹*Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

²*Mateusz Hecold Gabinet Weterynaryjny, Konstancin-Jeziorna, Polska*

³*Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Mikołaja Kopernik w Toruniu, Toruń, Polska*

⁴*Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska*

Kulawizny u koni biorących udział w sportowych rajdach konnych są diagnozowane znacznie częściej niż ma to miejsce w przypadku koni startujących w innych dyscyplinach sportowych. Stanowią one najczęstszy powód eliminacji koni rajdowych podczas rozgrywanych zawodów, jak również nie-rzadko przekreślają bezpowrotnie ich karierę sportową. Uszkodzenia w obrębie układu mięśniowo-szkieletowego, które często występują u koni biegających w wyścigach płaskich, są również obserwowane u koni rajdowych, a częstość ich występowania wzrasta wraz ze zwiększaniem dystansu i prędkości w kolejnych startach.

W dostępnej literaturze istnieje niewiele informacji dotyczących urazów ortopedycznych u koni rajdowych, dlatego celowość badań w tym obszarze jest zasadna. Radiogramy wykonano w ramach prywatnej praktyki weterynaryjnej, jednakże ze względu na ich wartości poznawcze wykorzystano do przeprowadzenia szerszej analizy, której celem jest dostarczenie informacji na temat częstości występowania zmian radiologicznych w odcinku dystalnym kończyn piersiowych oraz ich umiejscowienia. Badania przeprowadzono w latach 2016-2019 u koni startujących i trenujących sportowe rajdy konne na terenie Zjednoczonych Emiratów Arabskich. Obejmowały one łącznie 70 koni: 28 klaczy, 42 wałachy, w przedziale wiekowym między 7 a 11 lat. Ponad 48% stanowiły konie czystej krwi arabskiej, pozostałe to konie gorąckokrwiste w których rodowodach dominowały konie czystej krwi. Radiogramy obejmowały 5 standardowych projekcji odcinków meta – i akrodpodialnych obydwu kończyn piersiowych. Opisowa analiza danych dotyczących stawów śródrečno-palcowych wykazała, iż u ponad 50% koni zaobserwowano zmiany radiologiczne w ich obrębie, przy czym większość była obustronna. Ponadto u 30% koni stwierdzono odstępstwa od normy w obrazie radiologicznym trzeczeczek palcowych bliższych.

Pozyskane dane na temat występowania i rozmieszczenia zmian radiologicznych umożliwią w przyszłości lekarzom weterynarii, trenerom, właścicielom i opiekunom koni rajdowych lepszą selekcję zwierząt angażowanych w ten sport oraz dobór optymalnych metod treningowych, ograniczając tym samym ryzyko wystąpienia kontuzji czy też pogłębiania się zmian struktur już radiologicznie zmienionych.

Słowa kluczowe: konie rajdowe, radiologia, staw pęciny, trzeczeczki pęciny

PRÓBA LECZENIA SYNDROMU EOTRH ZA POMOCĄ SZYNOWANIA ZĘBÓW SIECZNYCH U KONIA

K. Górski¹, B. Turek¹, P. Polasik², O. Drewnowska-Szczepakowska¹, A. Bereznowski¹,
I. Polkowska³

¹*Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

²*Woolfeyes, Mianów, Polska*

³*Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska*

Zaburzenia w obrębie siekaczy u koni stanowią około 11% przypadków problemów stomatologicznych u tego gatunku. Jednym z takich zaburzeń jest Equine Odontoclastic Tooth Resorption and Hypercementosis (EOTRH). Objawy kliniczne choroby opisane zostały po raz pierwszy w 2004 roku przez Klugh jako rzadka i nierozpoznana choroba kłów i siekaczy koni. Nazwę choroby EOTRH zaproponował w 2008 r. Staszuk i wsp., co stanowi odzwierciedlenie zachodzących w niej dwóch patologicznych procesów – resorpcji tkanek zęba i nadmiernym odkładaniem się cementu. Chorują głównie konie powyżej piętnastego roku życia. Przyczyna choroby nie została określona.

Dotychczas nie opracowano skutecznej metody leczenia tej choroby i postępowaniem z wyboru jest ekstrakcja zainfekowanych zębów, choć skrócenie siekaczy oraz modyfikacja diety może przynieść chwilową poprawę stanu zwierzęcia.

Nadzieją może być metoda szynowania zębów siecznych dotkniętych chorobą na wczesnym etapie. Ma ona na celu ustabilizować poszczególne siekacze, zabezpieczając je przed nadmiernym odginaniem zęba, co obciąża więzadła zębodołowe i pogłębia proces chorobowy. Ta forma leczenia może zapobiec lub opóźnić rozwój choroby, a tym samym uchronić przed ubytkiem zęba/ów. Podobne rozwiązania wykorzystuje się w stomatologii ludzi oraz psów i kotów. Zabieg polega na szynowaniu ligaturą metalową, ligaturą z włókna szklanego lub kompozytowego siekaczy konia.

Próbę szynowania siekaczy za pomocą włókna kompozytowego podjęto u 20 letniego wałacha, rasy NN, o masie ciała ok. 500 kg., u którego na podstawie badania klinicznego i radiologicznego stwierdzono umiarkowane stadium Syndromu EOTRH. Zabieg przeprowadzono w warunkach klinicznych. Pomimo użycia właściwej techniki i materiałów, założona szyna utrzymała się na powierzchni wargowej siekaczy przez 24 godziny. Niezbędne jest ulepszenie techniki i przeprowadzenie kolejnych badań/zabiegów. Niemniej jednak jest to pierwsza opisana próba wykorzystania techniki szynowania siekaczy za pomocą włókna kompozytowego w leczeniu Syndromu EOTRH.

Słowa kluczowe: siekacze konia, EOTRH, stomatologia koni, szynowanie zębów

STATUS SZCZEPIEŃ U KONI W POLSCE NA PODSTAWIE INTERNETOWEJ ANKIETY SKIEROWANEJ DO WŁAŚCICIELI KONI

M. Rykała, M. Jasiak, A. Niedźwiedź

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Przerwanie łańcucha epidemiologicznego jest najistotniejszym elementem z punktu widzenia prewencji chorób zakaźnych. Osiągnięcie odporności u odpowiedniej liczby osobników w danej populacji jest kluczem do przerwania szerzenia się danej jednostki chorobowej i zapobiegnięcia wybuchu epidemii. Granica wschodnia państwa polskiego jest jednocześnie wschodnią granicą Unii Europejskiej, za którą znajdują się "państwa trzecie" (nienależące do UE) takie jak Białoruś czy Ukraina. Na tych obszarach nie obowiązuje prawo unijne dotyczące monitoringu chorób zakaźnych ani identyfikowalności zwierząt gospodarskich. Stwarza to ryzyko wybuchu ognisk chorób zakaźnych blisko Polski, z czym wiąże się ryzyko dalszego jej szerzenia w kierunku zachodnim. Z tego też powodu niezmiernie istotna jest informacja na temat bieżącej sytuacji szczepień u krajowej populacji koni, jak również świadomości właścicieli tych zwierząt odnośnie istotności prowadzenia immunoprofilaktyki.

Informacje na temat szczepień koni w krajowej populacji zostały zebrane w dwojaki sposób. Aby uzyskać informacje od właścicieli koni użytkowanych rekreacyjnie i sportowo posłużono się elektroniczną ankietą, która została zamieszczona na grupach tematycznych na portalach społecznościowych (Facebook). Pytania w niej zawarte dotyczyły między innymi informacji na temat posiadanych koni, prowadzonych szczepień, wiedzy właściciela na temat immunoprofilaktyki i dokumentacji przeprowadzonych szczepień. Dodatkowo przeanalizowano informacje zawarte w paszportach koni przeznaczonych na ubój w największej rzeźni w Polsce znajdującej się w Rawiczu (dane dotyczące konia i szczepienia jakie były przeprowadzone w ciągu jego życia).

Większość ankietowanych zadeklarowała, że stosuje immunoprofilaktykę u swoich koni poczynając od szczepienia podstawowego (najczęstszymi chorobami przeciwko którym zwierzęta były immunizowane były grypa i tężec). Procedury te były dokumentowane w paszportach. Osoby nie decydujące się na profilaktykę u swoich zwierząt podawały szereg powodów takiego postępowania jak strach przed poszczepiennymi komplikacjami, aspekt ekonomiczny szczepień czy konieczność pamiętania daty ponownego szczepienia. Wśród koni hodowanych z przeznaczeniem na ubój tylko niewielki procent miało udokumentowane aktualne szczepienia, które były zapoczątkowane szczepieniami podstawowymi.

Słowa kluczowe: status szczepień, profilaktyka, choroby zakaźne, internetowa ankieta

SABULOUS CYSTIS U KONIA – OPIS PRZYPADKU

N. Kozłowska, M. Wierzbicka

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Wstęp: Piaskowe zapalenie pęcherza u koni (*Sabulous cystitis*) związane jest ściśle z neurologiczną dysfunkcją mięśnia wypieracza pęcherza (*m.detrusor*). Objawia się zaburzeniami mikcyjnymi, może predysponować do infekcji układu moczowego, zatrzymania moczu oraz gromadzenia się osadu, którego główną składową są węglany wapnia naturalnie w nim występujące. Etiologia choroby jest wieloczynnikowa. **Opis przypadku:** Wałach w wieku 24 lat został skierowany do kliniki z powodu inkontynencji. Objaw ten występował od około 3 miesięcy. Koń bezwiednie oddawał mocz, szczególnie podczas ruchu. Nie obserwowano parcia podczas mikcji. W badaniu USG pęcherza moczowego zobrazowano znaczącą ilość silnie hiperechogenicznego osadu. Za pomocą cewnika ewakuowano około 4l moczu z dużą zawartością piasku. Pęcherz wypłukano, usuwając cały zalegający osad. Badanie cystoskopowe uwidoczniało rozległy stan zapalny błony śluzowej pęcherza z ogniskami nadżerek. Badanie biochemiczne i morfologiczne krwi nie odbiegało od normy. Badanie moczu wykazało silny stan zapalny oraz obecność licznych kryształów węglanu wapnia. Leczenie obejmowało antybiotykoterapię, niesterydowe leki przeciwzapalne oraz leczenie wspomagające, opierające się na zwiększonej podaży wody, zakwaszeniu moczu oraz ograniczeniu podaży wapnia w paszy. Po tygodniu przeprowadzono kontrolną cystoskopię podczas której uwidoczniono zmniejszenie stanu zapalnego błony śluzowej pęcherza moczowego, obecne były pojedyncze ogniska nadżerek w fazie gojenia. Na dnie pęcherza zalegała niewielka ilość osadu. Przyuczono właścicieli do wykonywania cewnikowania raz w tygodniu. Po miesiącu kontrolna cystoskopia uwidoczniała miejscowe, zapalenie pęcherza z nadżerkami ograniczone do dna pęcherza moczowego, gdzie zalegał osad. Zwiększono częstotliwość cewnikowania do 2x w tygodniu po niewielkim ruchu. W ostatnim kontrolnym badaniu błona śluzowa pęcherza moczowego była całkowicie wygojona. **Podsumowanie:** Piaskowe zapalenie pęcherza moczowego stanowi istotny problem kliniczny, leczenie obejmujące regularne cewnikowanie konia najczęściej musi być wykonywane do końca życia, stanowiąc wyzwanie dla właściciela. Zabiegi te predysponują do nawracających infekcji układu moczowego oraz wymagają współpracy z pacjentem.

WPŁYW KONDYCJI CIAŁA NA SEZONOWĄ AKTYWNOŚĆ JAJNIKÓW ORAZ STĘŻENIE LEPTYNY WE KRWI U KLACZY RASY ŚLĄSKIEJ

Ł. Oktawiec¹, A. Niedźwiedź²

¹Gabinet weterynaryjny MEGAVET horse lek. wet. Łukasz Oktawiec, Grzegorzów, Polska

²Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Klaczce to zwierzęta sezonowo poliestralne. Czas rozpoczęcia sezonowej aktywności jajników jest ważnym aspektem w hodowli koni rasy śląskiej i nie tylko. Im szybciej aktywność jajników się rozpocznie tym dłuższy okres klaczy wykazuje cykliczne ruje. Żrebięta urodzone w pierwszym kwartale roku są wyżej oceniane. Celem pracy była ocena wpływu kondycji ciała na sezonową aktywność jajników oraz stężenie leptyny we krwi rasy śląskiej.

Badania prowadzono na trzech grupach klaczy rasy śląskiej: I (n-11) klaczce w kondycji poniżej optymalnej BCS ≤ 4 , II (n-7) klaczce w kondycji optymalnej BCS $=5$, III (n-7) klaczce w kondycji powyżej optymalnej BCS ≥ 6 . Klaczce kwalifikowane były na podstawie: wywiadu, badania klinicznego, badania ginekologicznego, USG narządów płciowych (aparat SIUI 900CTS) oraz wykluczeniu syndromu metabolicznego koni (EMS). Badania rozpoczęto około połowy grudnia, przy czym ocenę ultrasonograficzną wykonywano w odstępach dziesięciodniowych oceniając stan i aktywność jajników. Po stwierdzeniu rui i prawidłowego jej zakończenia tj. widocznego w badaniu USG ciała żółtego, pobrano krew w celu oceny stężenia progesteronu. W krwi pobranej podczas kwalifikacji klaczy badano stężenie leptyny oraz greliny.

Badania wykazały zależność pomiędzy kondycją ciała (BCS) a datą pierwszej owulacji w sezonie rozrodczym klaczy. W grupie II odnotowano najszybsze rozpoczęcie sezonowej aktywności jajników. Nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniem leptyny lub greliny a ocenianą kondycją ciała.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że w celu uzyskania optymalnego czasu owulacji, zleca się utrzymywanie klaczy w zakresie kondycji optymalnej, wyrażającej się oceną BCS pomiędzy 4,5-5,5.

Słowa kluczowe: aktywność jajników, kondycja ciała(BCS), leptyna, grelina

PILOTAŻOWE BADANIA VIDEODERMOSKOPOWE WŁOSA I SKÓRY U KONI CZYSTEJ KRWI ARABSKIEJ W SEZONIE ZIMOWYM

A. Pomorska-Zniszczyńska¹, M. Szczepanik², G. Kalisz³

¹Zakład Chorób Wewnętrznych Zwierząt Gospodarskich i Koni, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Zakład Diagnostyki i Dermatologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

³Zakład Biofarmacji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, Polska

Wideodermoskopia jest nowoczesną, nieinwazyjną metodą oceny skóry oraz jej wytworów. Jednym ze licznych sposobów wykorzystywania wideodermoskopii jest badanie włosa (trichoskopia). Metoda ta umożliwia dokładne uwidocznienie, budowy włosa oraz umożliwia ocenę takich jego cech jak grubość, długość, gęstość, sposób ułożenia, nasilenie pigmentacji, ewentualne zniekształcenia oraz nieprawidłowości. Do tej pory w medycynie weterynaryjnej wideodermoskopia stosowana była przede wszystkim u zwierząt towarzyszących. Publikacje dotyczące oceny wideodermoskopowej u innych gatunków w tym koni są nieliczne. Celem naszych badań, była ocena określonych parametrów dermoskopowych w wybranych okolicach ciała. Badania zostały prowadzone u 21 klaczy czystej krwi arabskiej w wieku od 3 do 21 lat. Ocenę wykonano w sezonie zimowym. Wideodermoskopową ocenę włosa i skóry przeprowadzono w wytypowanych 7 okolicach ciała, tj.: czoło, grzywa, szyja, klatka piersiowa, okolica łabizny, zad, ogon. Następujące parametry zostały ocenione: grubość włosów, ich gęstość oraz pigmentację, ponadto oceniono barwę skóry, ujścia mieszków włosowych, oraz obecności naczyń włosowatych. W ocenie dermoskopowej zastosowano włoski aparat Video-Dermascope 7 (Medici Medical SRL z kamerą 3 VIDIX 5Mpx camera, oraz nakładkę VX1 – Contact type cap Ø 3,5 cm). Zdjęcia wykonano w powiększeniu 30x przy użyciu światła spolaryzowanego. Dla obliczenia średniej grubości włosów oraz ich gęstości zastosowano oprogramowanie Cellsens Olympus do analiz obrazów mikroskopowych. Cechą charakterystyczną u koni arabskich zwłaszcza maści siwej była wysoka osobnicza zmienność dotycząca pigmentacji włosa. Videodermoskopia umożliwia uwidocznienie naczyń krwionośnych na niepigmentowanej skórze. Odnośnie grubości włosa stwierdzono występowanie licznych statystycznie istotnych różnic w zależności od ocenianej okolicy. Najgrubsze włosy obecne były na grzywie i ogonie, najcieńsze na klatce piersiowej. Największą gęstość włosów stwierdzono na klatce piersiowej i głowie, najmniejszą natomiast na zadzie i ogonie.

Podsumowując, videodermoskopia jest metodą przydatną w dermatologicznej ocenie jakościowej i ilościowej włosów oraz w ocenie jakościowej skóry koni. Badanie to umożliwia dokładną ocenę pigmentacji włosa oraz ilościową ocenę gęstości i grubości włosów. Umożliwia także uwidocznienie ujść mieszków włosowych, ocenę występowania lub nie pigmentacji skóry i ewentualną obecności widocznych naczyń krwionośnych.

Słowa kluczowe: wideodermoskopia, koń, czysta krew arabska, włosy, skóra

OKREŚLENIE POWTARZALNOŚCI OCENY OGÓLNEJ KONDYCJI KONI PRZY ZASTOSOWANIU 9-STOPNIOWEJ SKALI BCS NA PRZYKŁADZIE RASY ŚLĄSKIEJ

P. Pyrek¹, N. Siwińska¹, A. Żak-Bochenek²

¹Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Kontrola ogólnej kondycji stanowi ważny aspekt hodowli zwierząt. Prawidłowa ocena umożliwia zachowanie dobrostanu oraz prowadzenie odpowiedniej opieki weterynaryjnej. Ogólną kondycję określa się przy wykorzystaniu wskaźnika BCS (Body Condition Score), który opiera się na palpacyjnej i wizualnej ocenie stopnia otluszczenia zwierząt w miejscach predylekcyjnych. U koni najszersze zastosowanie znajduje 9-stopniowa skala opracowana przez Henneke. Mimo, że każdy z punktów skali zawiera dokładny opis, ostateczna ocena dokonywana jest zawsze na podstawie subiektywnych odczuć badającego.

Celem pracy było określenie powtarzalności oceny ogólnej kondycji koni przy zastosowaniu 9-stopniowej skali BCS na przykładzie rasy śląskiej. Dodatkowym celem pracy było określenie ogólnej kondycji oraz występowania otyłości i nadwagi w badanej populacji zwierząt. Ocenie poddano 49 dorosłych koni rasy śląskiej obu płci. Pomiarów dokonali przeszkoleni wcześniej studenci 4. i 5. roku weterynarii w ciągu dwóch kolejnych dni. Pierwszego dnia ocena BCS dokonywana była przez dwa niezależne, trzyosobowe zespoły (Zespół 1 i Zespół 2), a kolejnego przez indywidualne osoby, z których jedną była losowo wybrana osoba z zespołów (Osoba 1), a drugą nowy student (Osoba 2). Następnie porównano uzyskaną punktację między zespołami, indywidualnymi osobami, Zespołem 1 a Osobą 1 oraz sumą wyników obu zespołów i obu osób. Z uwagi na porządkową skalę pomiaru, do porównania przeciętnych wartości oceny BCS zastosowano nieparametryczny test kolejności par Wilcoxona. Średnią wartość BCS wszystkich koni wyliczono na podstawie średniej arytmetycznej uzyskanych wyników.

Nie wykazano istotnych różnic porównując oceny obu zespołów ($p=0,230$), osób i zespołów ($p=0,649$) oraz Zespołu 1 i Osoby 1 ($p=0,525$). Istotne różnice wykazano natomiast porównując oceny osób indywidualnych ($p=0,009$). Średnia wartość BCS badanych koni wyniosła 5,17. Brak istotnych różnic w ocenie BCS poszczególnych zespołów oraz osób i zespołów świadczy o dużej powtarzalności metody. Przeprowadzona ocena BCS badanej grupy koni rasy śląskiej świadczy o ich dobrej kondycji.

Słowa kluczowe: BCS, Body Condition Score, konie śląskie, ogólna kondycja ciała

ZMIANY ULTRASONOGRAFICZNE OBSERWOWANE W PŁUCNEJ POSTACI RODOKOKOZY ŻREBIĄT

A. Rakowska, A. Bereznowski, M. Żychska, L. Witkowski

Samodzielny Zakład Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Rodokokoza jest chorobą występującą endemicznie w ośrodkach hodowli koni na całym świecie u źrebiąt w okresie przedodsadzeniowym i generującą każdego roku bardzo duże straty, zarówno hodowlane jak i ekonomiczne. Odpowiedzialny za nią patogen – *Rhodococcus equi* – należy do bardzo powszechnie występujących, Gram +, wewnątrzkomórkowych saprofitów glebowych. Wywoływana przez niego choroba, choć popularna i opisywana od wielu lat, wciąż stanowi poważne wyzwanie kliniczne, zarówno w kwestii poprawnej diagnostyki, jak i skutecznego leczenia oraz satysfakcjonującej profilaktyki.

Badania dotyczące usprawnienia obecnie dostępnej diagnostyki rodokokozy były prowadzone w pięciu stadninach koni, u źrebiąt trzech ras: czystej krwi arabskiej, pełnej krwi angielskiej oraz rasy małopolskiej. Doświadczenie obejmowało wywiad, badanie kliniczne oraz badanie ultrasonograficzne klatki piersiowej wybranych źrebiąt w okresie największego narażenia na kliniczną formę choroby (pomiędzy 3-cim tygodniem a 3-cim miesiącem życia lub do zakończenia monitoringu). Badania prowadzono przez 3 kolejne sezony wyżrebień w dwóch ośrodkach hodowlanych oraz w jednej dodatkowej stadninie w każdym sezonie. Łącznie przebadano 121 źrebiąt.

U badanych zwierząt w obrazie ultrasonograficznym najczęściej obserwowano linie B, (tzw. ogony komety), świadczące zwykle o obecności niewielkich zmian zapalnych opłucnej. Wśród większych zmian ogniskowych dominowały ropnie o średnicy 1-3 cm., dające hipo- lub hiperechogeniczny obraz, w zależności od stadium ich dojrzałości. W najbardziej zaawansowanych przypadkach obserwowano bardzo liczne i szerokie (pow. 1cm) ogony komet oraz ropnie wielojamiste, kilkucentymetrowe, obejmujące znaczny obszar płuc oraz obecność płynu w jamie opłucnej.

Zastosowanie monitoringu ultrasonograficznego, choć w Polsce wciąż stosunkowo mało rozpowszechnione, stanowi obecnie najbardziej rekomendowaną opcję diagnostyczną rodokokozy źrebiąt ze względu na jej wygodę, szybkość i bezpieczeństwo. Jej wprowadzenie oraz poprawna interpretacja pozwalają na ustalenie najbardziej skutecznego planu terapeutycznego, co w przypadku tej choroby jest szczególnie problematyczne

Słowa kluczowe: rodokokoza, choroby źrebiąt, ultrasonografia klatki piersiowej

CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA PROCES ZATRZYMANIA BŁON PŁODOWYCH U KLACZY

A. Rapacz-Leonard

Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Zatrzymanie błon płodowych (in. zatrzymanie łożyska) jest jedną z najczęstszych komplikacji podczas porodu, zwłaszcza u klaczy ras zimnokrwistych. Stan ten wymaga natychmiastowego leczenia, ponieważ w ciągu kilku godzin może doprowadzić do poważnych konsekwencji zdrowotnych, a nawet do zejścia śmiertelnego.

Sam proces odklejenia błon płodowych, nie jest do końca wyjaśniony. Wstępnym etapem jest najprawdopodobniej rozpoznanie antygeny łożyskowego. W badaniach własnych stwierdzono istotne zwiększenie ekspresji białka głównego kompleksu zgodności tkankowej klasy I podczas porodu w porównaniu z ciążą.

Rozpoznanie antygeny łożyskowego doprowadza do szeregu interakcji immunologicznych w obrębie tkanek łożyska, które stymulują kaskadę procesu zapalnego, charakterystycznego dla porodu. Natomiast brak takiego sygnału, może doprowadzić do nieprawidłowego rozpoznania tkanek łożyska i do jego zatrzymania. Mechanizm ten sugerują wyniki w postaci zaburzeń przebiegu procesu zapalnego podczas porodu u klaczy, u których w ciągu kolejnych 3 godzin rozwinęło się zatrzymanie błon płodowych. Te zaburzenia były odzwierciedlone głównie w postaci istotnie niższej ekspresji syntazy endoperoksydu prostaglandyn-2.

Zaburzenia odpowiedzi prozapalnej mogą kolejno upośledzać aktywność enzymów proteolitycznych, doprowadzając do nieprawidłowej przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej. Takie zmiany obserwowane były u dużej populacji klaczy zimnokrwistych z zatrzymaniem łożyska. U klaczy tych błony płodowe były objęte rozległym procesem zwłóknienia i przerostu tkanki łącznej, co najprawdopodobniej spowodowało zgrubienie i zeszywnienie tych tkanek, a w następstwie uniemożliwiło ich wydalenie.

Poznanie procesu doprowadzającego do zatrzymania błon płodowych pomoże nie tylko zrozumieć sam jego mechanizm, ale również nacelować terapię na konkretne jego przyczyny.

Słowa kluczowe: koń, MHC, ECM, antygen, ciąża

Badania zostały współfinansowane przez NCN, projekt nr 2012/07/D/NZ5/04290.

DIAGNOSTYKA SUBKLINICZNEJ POSTACI OCHWATU U KONI

M. Senderska-Płonowska¹, P. Zielińska², T. Stefaniak¹

¹Zakład Immunologii, Patofizjologii i Prewencji weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra i Klinika Chirurgii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Ochwat to syndrom chorobowy powodujący dolegliwości od strony kopyt. Ochwat jest rezultatem SIRS, mechanicznego uszkodzenia lub chorób metabolicznych. Te ostatnie są najczęstszą przyczyną ochwatu u koni w krajach wysokorozwiniętych (~90%). Literatura zgodna jest co do dwóch form ochwatu: ostrej i chronicznej. Wielu autorów wyróżnia jeszcze trzecią postać ochwatu subkliczny (OS).

Występowanie OS najlepiej jest poznane u bydła i diagnozuje się go podczas korekcji racic poprzez: zażółcenie podeszwy, krwinkami podeszwy, infekcje w szparze racicowej poszerzenie linii białej, pierścienie wzrostu, pogorszenie jakości się rogu racicowego. Podobne zmiany można znaleźć u wielu koni. Celem tej pracy jest: ocena zmian makroskopowych, określenie zmian widocznych podczas badania radiologicznego, analiza wybranych parametrów morfometrycznych w badaniu histologicznym, wskazanie zależności między zmianami radiologicznymi, makroskopowymi i histologicznymi.

Badania zostały przeprowadzone kopytach koni poddanych ubojowi. Wszystkie kopyta oraz zostały poddane takim samym badaniom.

Konie klasyfikowano do grup na podstawie badania radiologicznego. Konie u których zanotowano jednocześnie: kąt rotacji powyżej 2°, ściana pogrubiona powyżej 28% oraz odległość opuszczenia kości kopytowej (CE) powyżej 10 mm, były zaliczone do grupy z ochwatem chronicznym. Konie z 1 lub 2 wyżej wymienionymi cechami do grupy koni z OS, a konie bez jakichkolwiek zmian do grupy koni zdrowych. Do grupy koni z klinicznym ochwatem chronicznym zaliczono 5 koni, do grupy koni z OS 33 koni, a do grupy koni zdrowych 17.

Istniejące radiologiczne zależności między grupami dotyczą CE, rotacji oraz stosunku grubości przedniej ściany do dłoniowej długości (HWT:PCL) – jednak to właśnie wymienione parametry były czynnikiem decydującym o znalezieniu się danego konia w grupie. Pomiędzy grupami nie zanotowano różnic w zmianach makroskopowych. CE, HWT:PCL oraz kąt rotacji nadają się do klasyfikowania koni z ochwatem, ale nie do klasyfikacji koni z OS.

Odnaleziono ważne z punktu widzenia praktyki korelacje. Cienka podeszwę można podejrzewać u koni z prążkami wzrostu, infekcją strzałki i z poszerzoną linią białą. Wklęsła przednia ściana kopyta może być związana z rotacją P3 i z poszerzoną linią białą.

Słowa kluczowe: ochwat subkliczny, EMS, korekcja kopyt

OCENA PRZYDATNOŚCI WYBRANYCH BIOMARKERÓW SUROWICY KRWI DO WYKRYCIA OSTREGO USZKODZENIA NEREK U KONI

N. Siwińska¹, A. Żak-Bochenek², U. Paślawska³

¹Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

³Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń, Polska

Ostre uszkodzenie nerek (AKI) to zespół kliniczny objawiający się gwałtownym pogorszeniem czynności nerek, spowodowanym strukturalnym uszkodzeniem narządu. Jest on powikłaniem choroby pierwotnej, stanowi konsekwencją hipowolemii oraz stosowania leków potencjalnie nefrotoksycznych. Częstość występowania AKI u koni objętych intensywną terapią jest podobna do tej u ludzi. Diagnostyka AKI wciąż stanowi wyzwanie, a powszechnie stosowane biomarkery nie są wystarczająco czułe. Celem badania było przedstawienie i porównanie stężeń wybranych biomarkerów u koni zdrowych, zagrożonych AKI oraz z klinicznym AKI. W ramach badania starano się ustalić, który z biomarkerów można wykorzystać do wykrywania AKI.

Badania przeprowadzono na 71 dorosłych koniach. Zwierzęta podzielono na trzy grupy: grupa koni zdrowych (n=30); grupa ryzyka rozwoju AKI (n=30), do której włączono 10 koni kolkowych, 10 koni otrzymujących gentamycynę oraz 10 koni otrzymujących fentylbutazon; oraz grupa III - grupa z klinicznym AKI (n=11). U badanych zwierząt w surowicy krwi oceniono stężenie kreatyniny oraz nowych biomarkerów AKI, tj. symetrycznej dimetyloargininy (SDMA), cystatyny C i lipokalina neutrofilowa związana z żelatynazą (NGAL). Badanie to wykonano z zastosowaniem komercyjnych testów ELISA, specyficznych gatunkowo.

Konie zdrowe miały stężenie SDMA podobne do innych gatunków zwierząt. U koni z kliniczną postacią AKI wykazano podwyższenie wartości wszystkich badanych biomarkerów krwi. Jedynie SDMA poprawnie rozpoznał wszystkie konie z azotemią, a jego wartość korelowała z nasileniem choroby. Konie z grupy ryzyka miały nieprawidłowe pojedyncze wskaźniki w surowicy, ale poziom SDMA pozostawał u nich w granicach normy fizjologicznej, co sugeruje, że parametr ten może nie sprawdzać się do wykrywania podklinicznej formy AKI u tych zwierząt.

Słowa kluczowe: ostre uszkodzenie nerek, cystatyna C, nefrotoksyczność, NGAL, NLPZ, SDMA

Badania finansowane z programu „Innowacyjny Doktorat” D220/0002/18.

BADANIA *IN VITRO* NAD MOŻLIWOŚCIĄ WYKORZYSTANIA URZĄDZENIA ODCIĄŻAJĄCEGO WŁASNEJ KONSTRUKCJI W LECZENIU SKOMPLIKOWANYCH ZŁAMAŃ KOŚCI PĘCINOWEJ U KONI

B. Turek¹, M. Pawlikowski², O. Drewnowska¹, K. Górski¹, T. Szara¹, M. Turemka²

¹*Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

²*Instytut Mechaniki i Poligrafii, Politechnika Warszawska, Warszawa, Polska*

Złamania kości pęcinowej (pierwszy człon palcowy) u koni stanowią dość obszerną grupę złamań. Większość z nich jest leczona z użyciem metod operacyjnych a uzyskiwane wyniki można określić, jako dobre, co oznacza powrót do poprzednio wykonywanej pracy. Pomimo dużego postępu, jaki się dokonał w medycynie w ciągu ostatnich dekad nadal borykamy się z wieloma problemami. Leczenie złamań wieloodłamowych kości pęcinowej jest trudne i często uzyskiwany wynik nie jest zadowalający. W wielu przypadkach szczególnie złamań otwartych i zakażonych istnieje zagrożenie życia pacjenta.

Złamania podłużne strzałkowe bliższe leczone są z użyciem śrub ortopedycznych metalowych a uzyskiwane wyniki są zazwyczaj dobre i bardzo dobre. Zupełnie inaczej wygląda sytuacja w przypadku złamań podłużnych przebiegających w płaszczyźnie czołowej. Zespoleń przeprowadzone z użyciem śrub metalowych nie jest tak wytrzymałe jak w poprzednio wymienionych złamaniach. Natomiast w przypadkach złamań wieloodłamowych zastosowane śruby są w stanie zbliżyć odłamy do siebie, ale nie zapewniają wystarczającej wytrzymałości, aby umożliwić obciążenie kończyny podczas wstawiania po operacji. Stąd konieczne jest zastosowanie metod, które spowodują przeniesienie obciążeń na części kończyny powyżej miejsca złamania.

Jedną z propozycji możliwych do zaakceptowania w leczeniu skomplikowanych złamań kości pęcinowej jest zastosowanie opracowanego przez nas urządzenia odciażającego na bazie stabilizatora zewnętrznego przeznaczonego do leczenia złamań trzonu kości śródręcza III.

Do badań wykorzystano 8 kończyn piersiowych (4 pary) pozyskanych od koni poddawanych eutanazji z różnych powodów, ale w żadnym przypadku niezwiązanych ze zmianami w układzie kostnym. Wiek koni wahał się w przedziale 6-10 lat o masie ciała około 450-500 kg. Wcześniej odcinano obwodowe odcinki kończyn na wysokości stawu śródręczno-nadgarstkowego. Na tak przygotowane kończyny montowano urządzenie odciażające i przeprowadzano badania wytrzymałościowe za pomocą maszyny MTS Bionics w celu określenia wartości siły maksymalnej podczas testu obciążania kończyny wzdłuż długiej osi kości MC III, na której zamontowano urządzenie odciażające. Badanie kończono po zaobserwowaniu deformacji urządzenia i braku wzrostu wartości siły maksymalnej.

Uzyskane wartości sił pozwalają wyciągnąć wniosek, że urządzenie jest na tyle wytrzymałe, aby pozwolić koniowi na wstanie po operacji bez ryzyka destrukcji zespoleń.

Słowa kluczowe: koń, złamania kości pęcinowej, urządzenie odciażające, badania wytrzymałościowe

ZASTOSOWANIE LASEROTERAPII WYSOKOENERGETYCZNEJ W LECZENIU URAZÓW ŚCIĘGIEN U KONI

P. Zielińska¹, J. Nicpoń¹, Z. Kiełbowicz¹, M. Soroko²

¹Katedra i Klinika Chirurgii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Zakład Hodowli i Jeździectwa, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Anatomicznie ścięgna łączą mięśnie z kośćmi w efekcie czego odpowiadają za przenoszenie dużych sił w układzie mięśniowo-szkieletowym konia. Uszkodzenia w obrębie ścięgien zginaczy palców u koni są efektem przeciążeń i nadmiernego, ponad wytrzymałość fizjologiczną ich rozciągnięcia. Trudności związane z leczeniem urazów w obrębie ścięgien związane są z brakiem regeneracji tkanki łącznej włóknistej zbitej, w której zachodzą jedynie mechanizmy naprawcze, a uszkodzenia goją się za pomocą tkanki łącznej bliznowatej, która charakteryzuje się ograniczoną wytrzymałością w stosunku do włókien kolagenowych zdrowego ścięgna.

Laseroterapia polega na zastosowaniu promieniowania laserowego na tkankę w celach leczniczych i regeneracyjnych. Ze względu na klasę zastosowanego lasera laseroterapię podzielono na laseroterapię niskoenergetyczną- LLLT (ang. Low Level Laser Therapy), w której wykorzystywane są lasery klasy 3B, oraz laseroterapię wysokoenergetyczną- HILT (ang. High Intensity Laser Therapy), wykorzystującą lasery klasy 4. W trakcie HILT następuje rozgrzanie tkanek, co zwiększa intensywność procesów metabolicznych w komórkach, a dzięki odpowiedniej długości fali i wysokiej mocy szczytowej impulsu HILT umożliwia głębszą penetrację tkanek i stymulację takich struktur organizmu jak duże, głębokie stawy i obszerne ścięgna zginaczy palców u koni.

Badaniami objęto 26 koni różnych ras, obu płci, w wieku od 5 do 24 lat, u których zdiagnozowano uszkodzenie jednego ze ścięgien zginaczy palców lub mięśnia międzykostnego. Konie podzielono na grupę badaną (n=23) i kontrolną (n=6). Konie z obu grup zostały poddane 40-dniowemu planowi rehabilitacji, w ramach którego zastosowano program aktywności ruchowej i zabiegi zimnolecznictwa. Dodatkowo u koni w grupie badanej zastosowano serię zabiegów HILT. Przed rozpoczęciem leczenia, w trakcie leczenia oraz po zakończeniu leczenia u każdego z koni przeprowadzono badanie ortopedyczne w celu oceny wielkości obrzęku, stopnia bolesności i kulawizny, oraz badanie ultrasonograficzne w celu oceny zmian w wielkości i echogeniczności uszkodzenia ścięgna.

W badaniu ortopedycznym przeprowadzonym po zakończeniu leczenia stwierdzono istotną statystycznie różnicę w redukcji wielkości obrzęku, oraz stopnia bolesności i kulawizny pomiędzy grupą badaną i kontrolną ($p = 0.008$, 0.023 i 0.044 , odpowiednio). Nie znaleziono różnic pomiędzy obiema grupami w wielkości uszkodzenia ścięgna w badaniu ultrasonograficznym przeprowadzonym w trakcie leczenia ($p = 0.188$), oraz po zakończeniu leczenia ($p = 0.070$). W ocenie echogeniczności uszkodzenia stwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy obiema grupami w badaniu ultrasonograficznym przeprowadzonym w trakcie ($p = 0.038$) i po zakończeniu leczenia ($p = 0.019$).

Zabiegi HILT wspierają działanie przeciwobrzękowe i przeciwbólowe w terapii uszkodzonego ścięgna wraz z widoczną redukcją stopnia kulawizny. Dodatkowo HILT wpływa korzystnie na poprawę echogeniczności ścięgna w miejscu uszkodzenia, lecz nie redukuje wielkości uszkodzenia.

Słowa kluczowe: koń, fizjoterapia koni, laseroterapia wysokoenergetyczna, HILT, USG

ANALIZA ZAPISU EEG DO OCENY PROCESU WYBUDZANIA U KONI ZE ZNIECZULENIA OGÓLNEGO

O. Drewnowska-Szczepakowska¹, B. Turek¹, B. Lisowska², K. Górski¹

¹Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Narodowy Instytut Geriatrii, Reumatologii i Rehabilitacji, Warszawa

Znieczulenie ogólne koni jest związane z wysokim ryzykiem anestetycznym, a jednym z kluczowych problemów stanowią powikłania występujące po znieczuleniu ogólnym. Podczas procesu wybudzenia koni dochodzi do usuwania metabolitów leków anestetycznych i stopniowego powrotu przytomności zwierzęcia poprzez zwiększenie aktywności OUN. Monitoring takiej aktywności jest obiecującą metodą, która może pozwolić na przewidzenie zarówno czasu jak i gwałtowności wstawania zwierzęcia. Te informacje są niezbędne by zapobiec ewentualnym wypadkom (np. złamania kończyn) lub podjąć decyzję o zmianie sposobu asysty.

EEG jest badaniem nieinwazyjnym i od wielu lat stosowanym w anestezjologii ludzi do analizy aktywności OUN. Ze względu na brak dedykowanego sprzętu dla zwierząt do badań zastosowano monitor przeznaczony dla ludzi. Massimo Root with Sedline dokonuje analizy na żywo mierzonego sygnału, przedstawiając go w postaci widma DSA, obrazującego aktywność fal o różnych częstotliwościach – alfa, beta, gama i delta. Przyjmuje się, że niska częstotliwość fal jest równoznaczna z niską aktywnością OUN.

Badania przeprowadzono na 20 koniach. Konie poddawane były różnym typom zabiegów oraz zbliżonym schematom znieczulenia (znieczulenie zrównoważone). Analiza EEG prowadzona była od położenia konia na stole operacyjnym do pierwszych oznak powrotu przytomności (ruch ciała). Rejestrację zapisu EEG wykonywano poprzez elektrody przyklejane nieinwazyjnie na czołowej części czaszki (6 elektrod), podłączone do monitora. Na monitorze analizowano surową falę EEG oraz widmo DSA podczas zabiegu i zapisywano do późniejszej analizy.

Analizę wykonywano za pomocą obserwacji zmiany jakości fal (siły fali w danych zakresach częstotliwości) odzwierciedlonej przez skalę kolorystyczną (DSA) oraz sumaryczną częstotliwość fal w danym momencie (SEF). Wyodrębniono trzy główne schematy procesu powrotu wyższej aktywności OUN: stopniowe zwiększanie się częstotliwości fal mózgowych, nagłe zwiększanie się częstotliwości fal oraz zmiany mocy fal o różnej częstotliwości. Zauważalne ruchy zwierzęcia były widoczne dopiero po znaczącym wzroście SEF oraz pojawieniu się frakcji fal o wysokich częstotliwościach.

Przeprowadzone badania wyodrębniają różne schematy powrotu do przytomności tych zwierząt. Ze względu na gwałtowność tego procesu pozwoli to osobom asystującym na bezpieczne wybudzenie zwierzęcia w asyście oraz przewidzenie niebezpiecznego wydłużania się czasu wybudzenia.

Słowa kluczowe: EEG, znieczulenie ogólne, anestezjologia koni, monitoring znieczulenia

Badania finansowane przez grant Stowarzyszenia IVAPM, USA.

ANALIZA KRĄŻĄCYCH KOMPLEKSÓW IMMUNOLOGICZNYCH U KONI SPORTOWYCH I ZIMNOKRWISTYCH

R. Gołda, W. Krumrych

Katedra Mikrobiologii i Immunobiologii, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, Bydgoszcz, Polska

Krążące kompleksy immunologiczne (KKI) są wynikiem reakcji układu odpornościowego na pojawianie się w organizmie antygenów różnego pochodzenia. Mogą to być antygeny zewnątrzpochodne np. uwolnione białka wirusowe, bakteryjne, złuszczone białka z błon komórkowych pasożytów itp., autoantygeny np. produkty rozpadu komórek, tkanek oraz inne elementy białkowe będące konsekwencją zjawisk fizjologicznych i odpornościowych toczących się w organizmie. Badanie poziomu oraz charakterystyka frakcji białkowych krążących kompleksów immunologicznych może stanowić cenny element oceny stanu immunologicznego i fizjologicznego zwierząt.

Celem pracy była ocena KKI w surowicach klinicznie zdrowych koni sportowych oraz zimnokrwistych.

Materiałem do badań była krew żylna pobrana od 10 koni zimnokrwistych (6 klaczy, 3 ogiery, 1 wałach) w wieku 3-8 lat oraz od 8 koni sportowych szlachetnej półkrwi (4 klacze, 4 ogiery) w wieku 4-10 lat. Oznaczenie poziomów KKI przeprowadzono wg. metody Haskovej. Z badanych surowic izolowano frakcje białkowe KKI oraz przeprowadzono ich dysocjację mającą na celu uwolnienie białek stanowiących część antygenową od przeciwciał. Dalszą analizę jakościową przeprowadzono przy użyciu elektroforezy SDS-PAGE w celu określenia profili białkowych w obu badanych grupach.

Wykazano, że konie sportowe odznaczały się wyższą średnią wartością ekstynkcji (E_{450}) w porównaniu z końmi zimnokrwistymi, odpowiednio: $0,335 \pm 0,088$ oraz $0,215 \pm 0,017$. Analiza statystyczna nie potwierdziła jednak istotności różnicy między tymi wartościami. W wyniku rozdziału elektroforetycznego stwierdzono występowanie frakcji białkowych krążących kompleksów w przedziale mas cząsteczkowych od 11kDa do 286kDa. Badanie elektroforetyczne wykazało różnice w profilach frakcji białkowych KKI u koni sportowych i zimnokrwistych.

Analiza poziomu i profilu białkowego KKI w surowicy może być wykorzystywana w badaniach eksperymentalnych oraz stanowić dodatkowe narzędzie do monitorowania statusu immunologicznego koni, aczkolwiek konieczne są dalsze badania przeprowadzone na większej liczbie zwierząt.

Słowa kluczowe: krążące kompleksy immunologiczne, konie zimnokrwiste, konie sportowe

WPŁYW WYBRANYCH CZYNNIKÓW EGZO- I ENDOGENNYCH NA CHEMILUMINESCENCJĘ KRWI OBWODOWEJ U KLINICZNIE ZDROWYCH KONI

W. Krumrych, R. Gołda

Katedra Mikrobiologii i Immunobiologii, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, Bydgoszcz, Polska

Jedną z metod umożliwiających ocenę aktywności bakteriobójczej fagocytów (głównie neutrofilów) jest metoda chemiluminescencji (CL). Uważa się, że oznaczenia CL w krwi pełnej lepiej odzwierciedlają homeostazę organizmu aniżeli badania prowadzone na izolowanych komórkach, a co za tym idzie, są bardziej przydatne w badaniach klinicznych. Nie wymagają przy tym żadnych procedur laboratoryjnych w celu izolacji neutrofilów, co może wpływać na przeżywalność, aktywność i ekspresję receptorów tych komórek.

Celem badań była analiza spontanicznej i stymulowanej aktywności CL krwi obwodowej klinicznie zdrowych koni, z uwzględnieniem sposobu ich użytkowania, wieku oraz płci.

Badania przeprowadzono na 119 koniach szlachetnej półkrwi w wieku 4-20 lat, reprezentujących różne formy użytkowania (66 zwierząt rekreacyjnych oraz 53 konie sportowe). Materiał do badań stanowiła krew żylna, którą pobierano w warunkach spoczynkowych, tzn. przed podjęciem aktywności fizycznej związanej z użytkowaniem tych zwierząt. W próbkach krwi oznaczano CL spontaniczną oraz stymulowaną zymosanem (Z) oraz mirystynianem forbolu (PMA).

Stwierdzono, że regularny wysiłek treningowy zwiększa potencjał prooksydacyjny krwi, czego wyrazem były istotnie wyższe wartości CL u koni sportowych, w porównaniu ze zwierzętami użytkowymi rekreacyjnie.

Analiza wieku badanych koni wykazała wyraźną tendencję do spadku CL krwi wraz z ich starzeniem się. Zjawiska tego nie potwierdzono jednak statystycznie z powodu, jak się wydaje, dużego zróżnicowania międzysobniczego w zakresie wartości CL, a także braku koni starszych, w wieku powyżej 20 lat, wśród których należałoby spodziewać się największego upośledzenia aktywności czynnościowej fagocytów.

Najwyższe wartości CL stwierdzono u ogierów, aczkolwiek w porównaniu z klaczami i wałachami nie były to różnice statystycznie istotne.

Rezultatem przeprowadzonych badań jest także sugestia potrzeby optymalizacji wyników pomiarów CL krwi, uwzględniająca liczbę neutrofilów (np. 1000) oraz stężenie Hb w krwi badanych zwierząt. Analiza „surowych” (nieoptymalizowanych) wyników CL krwi może bowiem prowadzić do zbyt pochopnych wniosków.

Słowa kluczowe: konie, chemiluminescencja, krew, neutrofile

METODA IZOLACJI I CHARAKTERYSTYKA METABOLIZMU IZOLOWANYCH ADIPOCYTÓW KONIA – WSTĘP DO BADAŃ NAD OTYŁOŚCIĄ GATUNKU

**N. Leciejewska¹, E. Małek², A. Łukomska², M. Sassek¹, T. Nowak³, M. Majewski⁴,
K. Mielnik¹, P. Kołodziejki¹, E. Pruszyńska-Oszmałek¹**

¹Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

²Pracownia Patomorfologii Zwierząt, Katedra Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

³Pracownia Rozrodu Zwierząt, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

⁴Pracownia Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, Katedra Hodowli Zwierząt i Oceny Surowców, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Tkanka tłuszczowa jest miejscem gromadzenia lipidów, ale jednocześnie jest także bardzo ważnym narządem hormonalnym, który może wpływać na pracę całego organizmu. Jednak nadmierne nagromadzenie tłuszczu w organizmie prowadzi do wielu komplikacji zdrowotnych, takich jak otyłość czy zespół metaboliczny. Choroby te występują coraz częściej nie tylko u ludzi, ale także u zwierząt domowych i towarzyszących, w tym również u koni. Adipokiny, substancje biologicznie czynne wydzielane przez komórki tkanki tłuszczowej, oddziałują nie tylko na adipocyty, ale mają wpływ na funkcjonowanie ustroju. Przy zaburzonej sekrecji związków te mogą przyczyniać się do rozwoju niekorzystnych stanów, takich jak insulinooporność czy cukrzyca. Jednakże rola adipokin w metabolizmie koni nie jest do końca poznana.

Celem badań było sprawdzenie, jak główne modulatory funkcjonowania tkanki tłuszczowej takie jak deksametazon, insulina czy adrenalina wpływają na intensywność lipolizy i lipogenezy, procesów zachodzących w izolowanych adipocytach konia.

W badaniach wykorzystano trzewną tkankę tłuszczową koni pobraną poubojowo, z której następnie wyizolowano adipocyty bazując na metodzie Rodbell i wsp. uwzględniając modyfikacje własne. Następnie scharakteryzowano aktywność metaboliczną wyizolowanych komórek tłuszczowych poprzez zbadanie wpływu w/w modulatorów na intensywność podstawowych procesów zachodzących w tej tkance, czyli lipolizy i lipogenezy.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że opracowany sposób izolacji pozwala na uzyskanie w pełni funkcjonalnych komórek tłuszczowych, które mogą posłużyć do badań nad metabolizmem tkanki tłuszczowej konia. Ponadto wykazano różnice w działaniu insuliny pochodzącej od różnych gatunków zwierząt, jako stymulatora procesu lipogenezy.

Słowa kluczowe: adipocyty, koń, metabolizm

PIASKOWE ZAPALENIE PĘCHERZA (*SABULOUS CYSTITIS*) U KONI JAKO CORAZ CZĘSTSZY PROBLEM DIAGNOZOWANY PODCZAS CYSTOSKOPII. OMÓWIENIE NA PODSTAWIE PIĘCIU PRZYPADKÓW KLINICZNYCH

A. Biazik¹, M. Sobuś², R. Henklewski¹

¹Katedra Chirurgii Weterynaryjnej, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń, Polska

²Gabinet Weterynaryjny ROSS, Toruń, Polska

Piaskowe zapalenie pęcherza (*sabulous* - gr. *piaszczysty*) występujące u koni dotyczy akumulacji drażniącego, zagęszczonego osadu na dnie pęcherza moczowego w wyniku jego niecałkowitego opróżniania. Uważa się, iż patogenezą schorzenia jest brak kontroli nad mięśniem odpowiedzialnym za opróżnianie pęcherza, dlatego też wspomniana jednostka chorobowa bywa określana syndromem idiopatycznego paraliżu pęcherza. Gęsty moczu jest fizjologiczny dla koni, zawiera dużo mukoprotein i kryształów węglanu wapnia, których nadmierna akumulacja jest konsekwencją dysfunkcji pęcherza, a nie jej przyczyną.

W literaturze opisanych jest tylko kilka przypadków omawianej jednostki chorobowej. Wszystkie ze wspomnianych koni wykazywały podobne objawy kliniczne, przede wszystkim problemy z utrzymaniem moczu, szczególnie podczas ruchu. U żadnego z pacjentów badanie laboratoryjne moczu nie było rozstrzygające i konieczna była dalsza diagnostyka. Sprowadzała się ona do wykonania USG pęcherza moczowego oraz cystoskopii, która jest złotym standardem w diagnostyce *sabulous cystitis*. Autorzy niniejszego opracowania mieli do czynienia z pięcioma przypadkami wałachów skierowanych na cystoskopię z powodu problemów z oddawaniem moczu w trakcie ruchu. U wszystkich endoskopia potwierdziła obecność piaskowego osadu na dnie pęcherza.

Z powodu niejasnej etiologii trudno jest mówić o leczeniu przyczynowym, w związku z tym postępowanie sprowadza się do leczenia objawowego oraz prób zapobiegania nawrotom choroby. Podstawową czynnością po wykonanej endoskopii jest wypłukanie osadu z pęcherza. Pacjenci po takim zabiegu zostawali pod osłoną antybiotykową oraz dostawali NLPZ. Z powodu niedostępności w Polsce betanecholu, który podaje się w celu stymulacji skurczów mięśni gładkich aby ułatwić opróżnianie pęcherza, u przebadanych koni zalecono zmianę diety. Dąży się do unikania w diecie składników tworzących osad (zmniejszenie podaży wapnia) oraz do zakwaszania moczu. Można stosować dodatki w postaci otręb pszennych. Wskazane jest stymulowanie koni do zwiększonego pobierania wody.

Pomimo, iż zmiany neurologiczne są nieodwracalne to istnieją doniesienia o przypadkach, które przy odpowiednim zaangażowaniu właścicieli i modyfikacji diety wracały do normalnego funkcjonowania. U zdiagnozowanych przez autorów koni zauważono poprawę po wdrożeniu zaleceń, dzięki czemu mogą być dalej użytkowane.

Słowa kluczowe: cystoskopia, węglan wapnia, piaskowe zapalenie pęcherza

PIERWSZA MÓZGOWA POSTAĆ ANAPLAZMOZY U KONIA W POLSCE – OPIS PRZYPADKU

B. Nowicka¹, I. Polkowska¹, Ł. Adaszek², W. Łopuszyński³, R. Komsta¹, A. Korolczuk⁴,
J. Jackow-Nowicka⁵

¹Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

³Katedra Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

⁴Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, Polska

⁵Zakład Radiologii Ogólnej, Zabiegowej i Neuroradiologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Prezentowano i opisano pierwszy przypadek kliniczny konia z anaplazmą, u którego wystąpił zawał mózgu i zawał pnia mózgu. Neurologiczne objawy były nasilone i skorelowane ze zidentyfikowanymi w tomografii komputerowej zmianami hipodensyjnymi mózgowia.

Obecność wewnątrzkomórkowej bakterii *Anaplasma phagocytophilum* (A. ph.), potwierdzono dodatnim wynikiem PCR z krwi obwodowej i płynu mózgowo-rdzeniowego.

W związku ze wzrostem liczby infekcji chorób odkleszczowych, zarówno wśród ludzi jak i zwierząt, można rozpatrywać A. ph. jako możliwą przyczynę infekcji ośrodkowego układu nerwowego. Obecnie wyzwaniem jest szybkie rozpoznanie zakażenia A. ph. z uwagi na często niespecyficzne objawy kliniczne oraz wewnątrzkomórkowy charakter patogenu.

Bakteria może być również uwzględniana w diagnostyce różnicowej jak potencjalny powód niespecyficznych objawów neurologicznych szczególnie na terenach endemicznych u zwierząt wystawionych na ekspozycję kleszczy.

Słowa kluczowe: tomografia komputerowa, anaplazmoza, koń, objawy neurologiczne

GŁĘBOKI URAZ ROGÓWKI U KONIA – PRZYPADEK KLINICZNY – TERAPIA ZACHOWAWCZA/FARMAKOLOGICZNA

M. Słowikowska, N. Siwińska, A. Niedźwiedź

Katedra Chorób Wewnętrznych z Klinika Koni, Psów i Kotów, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Głębokie uszkodzenia rogówki mogą prowadzić do utraty wzroku a nawet skutkować koniecznością enukleacji gałki ocznej. Pacjenci podlegają zwykle zabiegowi chirurgicznemu w celu oczyszczenia uszkodzenia i w zależności od typu urazu zastosowaniu: szycia rogówki, fragmentu spojówki/membrany naszytej w miejscu uszkodzenia, leczenia pod soczewką.

Pacjent, kary wałach, 20letni NN w typie szlachetnym. Utrzymywany w stajni przydomowej. Uszkodzenie gałki miało miejsce 24.12. koń został zabezpieczony przez lekarza pierwszego kontaktu. Pacjent nie współpracował podczas prób podawania leków miejscowo. Właściciel nie wyraził zgody na transport do kliniki.

30.12. przeprowadzono badanie okulistyczne w sedacji i znieczuleniu okołonerwowym. Obrzęk spojówek, obrzęk rogówki, uszkodzenie w linii pionowej z rozchodzącymi się brzegami, rogówka w większości nieprzezierna. W przedniej komorze widoczny włóknik. Podczas obrazowania ultrasonograficznego brak zmian w części tylnej gałki ocznej. Zdecydowano o założeniu podpowiekowego kateteru do podawania leków oraz czasowej tarsorafii. Pacjenta zaopatrzono przeciwbólowo lekami ogólnoustrojowymi. Terapia miejscowa opierała się na surowicy pacjenta, lekach przeciwbakteryjnych, przeciwwgrzybiczych oraz EDTA. Leki podawane były początkowo co 1,5/2 godziny, stopniowo redukując. Kontrole przeprowadzano co 7-14 dni. Przez pierwszy miesiąc terapii widoczna była znaczna neowaskularyzacja z utrzymującym się obrzękiem całej rogówki, w tym silnym obrzękiem brzegów uszkodzenia. Następnie zaobserwowano stopniowe zmniejszenie się obrzęku rogówki oraz waskularyzacji. Powierzchnia uszkodzenia zmniejszała się. W marcu widoczna była znacznych rozmiarów blizna i niewielki ubytek ok. 2/3 mm średnicy który nie reagował na leczenie. Odświeżono brzeg ubytku mechanicznie wiertarką okulistyczną, po tym zabiegu nabłonek rogówki pokrył całkowicie ubytek. Blizna pozostała nieprzezierna z widocznymi drobnymi naczyniami krwionośnymi. Pozostała część rogówki stopniowo odzyskiwała przezierność.

Proces leczenia głębokich i obszernych uszkodzeń rogówki może być czasochłonny i trudny dla opiekunów. Szczególnie w przypadku potencjalnie długiej terapii i/lub pacjentów którzy nie współpracują w zakresie podawania leków powinno się zalecać stosowanie kateteru podpowiekowego dla bezpieczeństwa zwierzęcia i opiekunów. Mimo że ich stosowanie jest szeroko rozpowszechnione na zachodzie, w Polsce nadal lekarze dość rzadko decydują się ich użycie.

Słowa kluczowe: koń, okulistyka, uraz, rogówka

KOMENSALNA MIKROFLORA WORKA SPOJÓWKOWEGO U ZDROWYCH OSŁÓW – CHARAKTERYSTYKA

A. Żak-Bochenek¹, N. Siwińska², K. Frączkowska³, K. Rypuła⁴, K. Płoneczka-Janeczko⁴

¹Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

³Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

⁴Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Skład mikroflory zasiedlającej powierzchnię spojówki zwierząt zdrowych jest kontrolowany przez szereg wrodzonych i nabytych mechanizmów odpornościowych, które utrzymują homeostazę między populacjami drobnoustrojów i zapobiegają niekontrolowanym przerostom jakiegokolwiek gatunku. Flora komensalna chroni błony śluzowe przed drobnoustrojami chorobotwórczymi m. in. poprzez ograniczanie powierzchni dostępnej dla wzrostu innych mikroorganizmów, zużywanie składników odżywczych na powierzchni nabłonka i wytwarzanie substancji przeciwdrobnoustrojowych. O ile flora bakteryjna worka spojówkowego koni została dość dobrze opisana i poznana, znajomość tego zagadnienia u osła domowego (*Equus asinus*) pozostaje praktycznie nierozpoznana i jest poparta jedynie jedną publikacją.

Do badania zakwalifikowano 14 osłów, równej płci, wieku i rasy, które nie wykazywały nieprawidłowości w badaniu klinicznym i okulistycznym. Od każdego osobnika pobrano wymazy z worka spojówkowego oka prawego i lewego.

W badaniu mikrobiologicznym spośród 28 próbek w 23 wymazach (82,14%) uzyskano wzrost bakterii, a tylko w 1 (3,57%) wzrost grzybów (*Penicillium spp.*). W oparciu o właściwości hodowlane, biochemiczne i morfologię, zidentyfikowano dziesięć różnych gatunków bakterii. Mikroflorę mieszaną zaobserwowano u 7 (50%) zwierząt. Gatunkami dominującymi były *Pantoea agglomerans*, a następnie *Moraxella lacunata*. U zdrowych osłów wykazano również: *Pseudomonas stutzeri*, *Staphylococcus cohnii*, *saprophiticus* i *sciuri*. U wszystkich osobników nie zaobserwowano zbieżności występowania uzyskanych izolatów między prawym i lewym okiem.

Analiza wyników potwierdziła, że bakterie zasiedlające worek spojówkowy osłów w warunkach fizjologicznych reprezentują zarówno drobnoustroje komensalne, jak i warunkowo patogenne. Ich występowanie może zależeć od warunków środowiskowych, na co wskazuje rozbieżność pomiędzy wynikami uzyskanymi w warunkach krajowych, prowadzonymi w innych warunkach klimatycznych i geograficznych. Znajomość komensalnej flory worka spojówkowego osłów ma ogromne znaczenie kliniczne, ze względu na większą niż u koni, spowodowaną uwarunkowaniami anatomicznymi ekspozycję oka tych zwierząt na uszkodzenia i wtórne infekcje rogówki.

Słowa kluczowe: osły, flora komensalna, worek spojówkowy

STAN ZAPALNY DRÓG ODDECHOWYCH JAKO PRZYCZYNA DOGRZBIETOWEGO PRZEMIESZCZENIA PODNIEBIENIA MIĘKKIEGO U KONI – OPIS PRZYPADKU

N. Kozłowska, M. Wierzbicka

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Wstęp: Dogrzbietowe przemieszczenie podniebienia miękkiego (*Dorsal Displacement of soft palate- DDSP*) jest uważane za najczęściej występujące schorzenie dynamiczne górnych dróg oddechowych. Szczególnie na jej występowanie narażone są konie wyścigowe ale diagnozowane jest również u koni rekreacyjnych. DDSP często ujawnia się podczas wysiłku, kiedy brzeg doognowy podniebienia miękkiego przykrywa nagłośnię, prowadząc do ograniczenia wymiany gazowej. Objawy kliniczne to najczęściej spadek tolerancji wysiłkowej oraz kaszel pojawiający się podczas lub na koniec pracy. **Opis przypadku:** Wałach, lat 18 użytkowany rekreacyjnie, trafił do kliniki z powodu epizodów kaszlu oraz gęstego wypływu z nosa. Przeprowadzono badanie endoskopowe wraz z popłuczynami (TW i BAL), oraz wykonano posiew. Zdiagnozowano bakteryjne zapalenie górnych dróg oddechowych. Zastosowano antybiotykoterapię, leczenie przeciwzapalne oraz wspomagające układ oddechowy. Po kilku tygodniach od ustąpienia objawów właścicielka zaczęła uskarżać się na natarczywy, występujący podczas jedzenia oraz jazdy kaszel. Ponownie wykonano badanie endoskopowe. Lekarz terenowy zastosował sterydoterapię bez efektu klinicznego. Następnie wykonano endoskopie dynamiczną, która zobrazowała przemieszczające się podniebienie miękkie podczas występujących epizodów kaszlu. **Podsumowanie:** Stan zapalny górnych dróg oddechowych często może prowadzić do obrzęku oraz zwiotczenia mięśniówki gardła i krtani. W następstwie może dochodzić do wystąpienia niestabilności podniebienia miękkiego, dogrzbietowego przemieszczenia podniebienia miękkiego lub uwięźnięcia nagłośni. Patofizjologia jak i dokładna etiologia tej choroby nie jest dokładnie poznana, jednak istnieją doniesienia mówiące o możliwym wpływie stanów ostrych jak i przewlekłych na częstość ich występowania.

NIESPECYFICZNE OBJAWY NEUROLOGICZNE JAKO KONSEKWENCJA PRZEWLEKŁEGO ZAPALENIA ZATOK U KONIA - PRZYPADEK KLINICZNY

**B. Nowicka¹, I. Polkowska¹, R. Komsta¹, W. Łopuszyński², A. Korolczuk³,
J. Jackow-Nowicka⁴**

¹Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Katedra Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

³Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, Polska

⁴Zakład Radiologii Ogólnej, Zabiegowej i Neuroradiologii Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Przedmiotem doniesienia jest opis przypadku klinicznego konia z przewlekłym zapaleniem zatok, powstałego wtórnie do pozostawionego po ekstrakcji korzenia zęba. Nierozpoznany i nieleczony, długotrwały stan chorobowy doprowadził do szeregu powikłań, w tym wewnątrzczaszkowych i oczodołowych.

Zidentyfikowano zmiany śródczaszkowe w obrębie opon o charakterze nieropnym. Obserwowano niespecyficzne objawy neurologiczne między innymi: brak reakcji źrenic na światło, otępienie, ataksja, niedowład połowiczny.

U pacjentów z niewyrażonymi jednoznacznie symptomami i podejrzeniem powikłań wewnątrzczaszkowych lub oczodołowych metodą diagnostyczną, z wyboru, może być tomografia komputerowa (CT) lub scyntygrafia. W opisanym przypadku, zastosowano pośmiertnie, obrazowanie CT głowy i szyi zwierzęcia.

Konsekwencje neurologiczne przewlekłego zapalenia zatok u koni są rzadkie, a brak leczenia związany z trudnością zdiagnozowania potencjalnego pacjenta, prowadzić może do nieodwracalnych zmian w obrębie struktur wewnątrzczaszkowych i oczodołowych.

Słowa kluczowe: choroby zatok, tomografia komputerowa, choroby, objawy neurologiczne



SESJA FIZJOLOGII I PATOLOGII PRZEŻUWACZY



METABOLICZNE I IMMUNOLOGICZNE UWARUNKOWANIA POPORODOWYCH ZABURZEŃ ROZRODU U KRÓW MLECZNYCH

T. Janowski

Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

W okresie poporodowym 50% krów wykazuje kliniczne i podkliniczne zaburzenia rozrodu. Masowe ich występowanie wskazuje na związki z metaboliczno-immunologicznymi procesami adaptacyjnymi krów do rozpoczynającej się laktacji. Głównym zjawiskiem w tym okresie jest negatywny bilans energetyczny (NEB), związany z utratą apetytu i obniżoną wydajnością mleczną oraz zaburzeniami stężeń glukozy, insuliny, jonów Ca, wolnych kwasów tłuszczowych i ciał ketonowych. Wtórnie powoduje on zaburzenia funkcji układów immunologicznego i endokrynnego oraz kolejno macicy i jajników, poprzez wiele czynników regulatorowych takich jak cytokiny (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8), antyoksydanty, witaminy oraz hormony gonadotropowe, sterydowe i prostaglandyny. Zależności te są skomplikowane, jednakże ich istotnym elementem jest metaboliczny stan zapalny o różnym przebiegu i nasileniu (immunosupresja, hyperstymulacja). Stany te mają silny wpływ na procesy regeneracji układu rozrodczego i jego powrót do fizjologicznej funkcji po porodzie oraz na występowanie klinicznych stanów zapalnych gruczołu mlekowego (mastitis) i macicy (metritis, endometritis), subklinicznego endometritis i niektórych zaburzeń jajników. Sekrecja wybranych cytokin jest uznawana za główny czynnik integrujący funkcje metaboliczne i immunologiczne.

Zaburzenia jajnikowe charakteryzują się głównie anowulacją (anoestrus I i II typu, torbiele jajnikowe) lub cichą rują. Są one wynikiem zaburzeń sekrecji FSH, LH, GH, IGF-1, follikulogenezy, owulacji oraz sekrecji ciałek żółtych. Generalnie, dysfunkcje jajników mają wspólne metaboliczne (glukoza, IGF-1) i endokrynnie (LH) przyczyny, natomiast ich forma kliniczna zależy od głębi tych zaburzeń, czasu występowania oraz współistniejących czynników. Istotnym mechanizmem negatywnego oddziaływania na rozród omawianych czynników jest także ich wpływ na jakość oocytów, zapłodnienie oraz wczesny rozwój zarodków. Mają także miejsce zaburzenia procesów macicznego rozpoznawania ciąży (produkcja interferonu tau i progesteronu). Łącznie obniża to znacznie odsetek zacięć w stadach.

Podsumowując, masowe występowanie zaburzeń rozrodu, niezależnie od ich charakteru klinicznego, ma silne związki z subklinicznymi, metabolicznymi i immunologicznymi zmianami adaptacyjnymi organizmu do laktacji. Dlatego są one uznawane za element sygnalizujący nieadekwatne żywienie, środowisko i zarządzanie w stadach.

Słowa kluczowe: zaburzenia rozrodu, okres poporodowy, metabolizm, procesy immunologiczne

ROLA SELENU W UTRZYMANIU ZDROWIA MAŁYCH PRZEŻUWACZY

P. Sobiech

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Selen jest dosyć słabo rozpowszechniony w przyrodzie, zalicza się go do pierwiastków śladowych i stanowi około 0,00008% masy skorupy ziemskiej. Bioprzyswajalność selenu zależy zarówno od formy występowania i składu paszy, jak i od indywidualnych właściwości organizmu. Najłatwiej przyswajalne są seleniany (SeO_3) oraz aminowe związki. Zawartość Se w organizmie małych przeżuwaczy jest bardzo zróżnicowana. Największe powinowactwo selen wykazuje do mózgu, gruczołów dokrewnych i narządów biorących udział w reprodukcji. Mają one pierwszeństwo w pobieraniu tego pierwiastka, przed wątrobą, sercem, mięśniami szkieletowymi i erytrocytami, co przy niedoborze warunkuje powstawanie zaburzeń najpierw w tych tkankach i narządach. Selen hamuje glikolizę, działa antagonyście w stosunku do kadmu, ołowiu, arsenu oraz organicznych i nieorganicznych związków rtęci, jak również chroni organizm przed szkodliwym działaniem promieni jonizujących i nitrozoaminami. Związki selenu powodują wzrost zawartości immunoglobulin klasy M, a dodatek Se do paszy zwiększa aktywność fagocytarną granulocytów obojętnochłonnych i makrofagów, a po stymulacji mitogenami przyczynia się do wzrostu liczby limfocytów T. Selen jest niezbędny do produkcji czynnika hamującego migrację leukocytów oraz interleukiny 2. Limfocyty T pod wpływem interleukiny ulegają proliferacji, dochodzi do ich przyspieszonego dojrzewania i zwiększenia aktywności. Najbardziej znaną chorobą wywołaną przez niedobór selenu i wit. E jest pokarmowa dystrofia mięśni (PDM), zwana również chorobą białych mięśni. Istotą schorzenia jest zwyrodnienie szkliste komórek mięśniowych w mięśniach szkieletowych, niekiedy w mięśniu sercowym oraz w przeponie. Najczęściej na PDM zapadają koźlęta i jagnięta w wieku do 3 miesięcy, najczęściej chorują zwierzęta 2-6 tygodniowe. Zachorowania na PDM występują zimą lub wczesną wiosną. Można wyróżnić dwie podstawowe postaci choroby: powodująca zmiany w mięśniach szkieletowych – występująca częściej, oraz powodująca zmiany w mięśniu sercowym – występująca znacznie rzadziej. W obrazie klinicznym pierwszej postaci dominują zaburzenia ruchowe. Koźlęta i jagnięta mogą przybierać nieprawidłową postawę z szeroko rozstawionymi kończynami. W zaawansowanych przypadkach choroby zwierzęta zalegają z wyprostowanymi kończynami, a przy zajęciu procesem chorobowym mięśni żuchwy i szyi wykazują trudności w ssaniu i polykaniu. Przy dłuższej trwającej chorobie śmiertelność może przekroczyć 50%. Druga postać choroby występuje przede wszystkim u koźląt i jagniąt tuż po urodzeniu i prowadzi do szybkiego zejścia śmiertelnego. Jej objawy to ostra niewydolność serca z gwałtownym osłabieniem, wzrostem tętna i pogorszeniem jego jakości, dusznością, sinicą błon śluzowych, a także obrzękiem płuc. Śmiertelność może być bardzo wysoka i sięgać nawet 80%. Najczęstszym skutkiem niedoboru selenu i witaminy E u dorosłych zwierząt jest osłabienie płodności. Niedoborom selenu przypisuje się również wpływ na powstawanie ropnych zapaleń błony śluzowej macicy, trudne porody związane ze słabym napięciem mięśniówki macicy oraz porażenie poporodowe. Niedobór tego pierwiastka może być przyczyną zwiększonej zamieralności zarodków w czasie 3-4 tygodni od zapłodnienia.

Selen wraz z witaminą E stymuluje migrację neutrofilów do gruczołu mlekowego oraz zwiększa ich zdolność do zabijania bakterii. Uzupełnianie dawek pokarmowych w Se i wit. E skraca czas trwania klinicznego mastitis oraz łagodzi jego przebieg (jednak dotyczy to stad, w których stwierdzono niedobór tych składników).

Słowa kluczowe: selen, rola fizjologiczna, małe przeżuwacze, skutki niedoboru

EKSPRESJA mRNA RECEPTORÓW PROGESTERONOWYCH I ESTROGENOWYCH W ENDOMETRIUM KRÓW PODCZAS PROGESTERONOWEJ TERAPII ANESTRUS TYPU II

M. Trela¹, O. Witkowska-Piłaszewicz¹, D. Domańska¹, M. Domino¹, M. Kaczmarek², Z. Gajewski³, B. Pawliński¹

¹Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, Olsztyn, Polska

³Centrum Medycyny Translacyjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Zaburzenia cyklu rujowego są jednym z głównych problemów przyczyniających się do strat ekonomicznych w stadzie bydła. Anestrus jest szerokim pojęciem określającym brak zmian behawioralnych i fizjologicznych charakterystycznych dla rui. Obecnie wyróżnia się cztery typy anestrus w oparciu o charakterystykę powstawania fal pęcherzykowych, różnicowania i dominacji pęcherzyków. W przypadku anestrus typu II falowy wzrost pęcherzyków jajnikowych oraz selekcja pęcherzyka dominującego przebiegają prawidłowo, jednakże nie dochodzi do owulacji pęcherzyka dominującego.

Badania przeprowadzono na bioptatach macicy pobranych od dojrzałych płciowo krów (n=33) w wieku 2-8 lat z anestrus typu II zdiagnozowanego na podstawie badania ultrasonograficznego. Wyselekcjonowane zwierzęta przydzielono losowo do grupy badanej (n=23) leczonej w oparciu o standardowy protokół (progesteron 1,55 g; eCG 500 j.m./zwierzę; dinoprost 25 mg/zwierzę) i grupy kontrolnej nie poddanej leczeniu (n=10). Oceniono wartości ekspresji genów ESR1 (kodującego ER α), ESR2 (kodującego ER β), PGAB (kodującego PR AB) i PGB (kodującego PR B) w endometrium z wykorzystaniem techniki RealTime-PCR. Oznaczono również stężenie hormonów steroidowych E₂ (17 β -estradiolu) i P₄ (progesteronu) w osoczu krwi metodą radioimmunologiczną (RIA). Próbkę krwi oraz biopaty macicy pobierano w dniu 0 przed rozpoczęciem leczenia i 9 dnia zgodnie ze standardowym protokołem leczenia.

Przeprowadzono wieloczynnikową analizę wyników standardowego protokołu leczenia anestrus typu II na poziomie obwodowym w oparciu o stężenie steroidowych hormonów jajnikowych we krwi oraz molekularnym poprzez ocenę ekspresji mRNA receptorów estrogenowych i progesteronowych w endometrium. W badaniu wykazano, że u krów z anestrus typu II w odpowiedzi na terapię progesteronową, ekspresja badanych izoform mRNA PR oraz ER jest od siebie zależna ($p < 0,05$). W grupie kontrolnej takich zmian nie odnotowano, zwierzęta pozostały w anestrus.

Obwodowe, stężenie 17 β -estradiolu i progesteronu, wpływa na ekspresję ER i PR na poziomie mRNA, a co za tym idzie reguluje wrażliwość i odpowiedź błony śluzowej na działanie hormonów obwodowych.

Słowa kluczowe: anestrus typu II, progesteron, estrogeny, produkcja mleczna, rozród

OCENA WYBRANYCH SUBPOPULACJI LEUKOCYTÓW, W KRWI OBWODOWEJ ORAZ WYPŁUCZYNACH Z MACICY KRÓW Z *ENDOMETRITIS*, PRZED I PO DOMACICZNYM ZASTOSOWANIU CEFAPIRYNY I METHISOPRINOLU

P. Brodzki, U. Lisiecka, M. Szczubiał, R. Dąbrowski, L. Krakowski, M. Bochniarz

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy, Lublin, Polska

Celem pracy była ocena wybranych subpopulacji limfocytów T, B, integryn (CD11b+, CD18+) i komórek prezentujących antygen (MHCII), w krwi obwodowej i wypłuczynach z macicy krów, przed i po domacicznym zastosowaniu cefapiryny i methisoprinolu. Badania przeprowadzono na 28 krowach z *endometritis clinica*, w okresie pomiędzy 21 a 33 dniem po porodzie. Zwierzęta podzielono na 4 grupy po 7 krów w każdej, w zależności od zastosowanego domacicznie preparatu: Grupa A – cefapiryna. Grupa B – methisoprinol. Grupa C – jednoczesne podanie, cefapiryny i methisoprinolu. Grupa kontrolna – nie stosowano żadnych preparatów. Materiał do badań stanowiła krew i wypłuczyny z macicy. Materiał pobrano trzykrotnie w dniu rozpoznania *endometritis clinica* (dzień 0) oraz w 3 i 10 dniu po rozpoznaniu. U wszystkich wytypowanych do badań krów w krwi obwodowej oraz wypłuczynach z macicy, metodą cytometrii przepływowej wykonano analizę cząstek powierzchniowych (fenotypowanie) leukocytów: CD4, CD8, CD11b, CD18, CD21, CD25 i MHCII przy użyciu mysich przeciwciał monoklonalnych. Wyniki uzyskane w wypłuczynach z macicy wykazały, że u krów grupy A, wystąpił spadek odsetka limfocytów TCD4+ oraz CD8+ w 3 dniu badań ($P<0.01$). Ponadto wykazano wzrost odsetka leukocytów CD11b+ i MHCII+ (3 dzień), granulocytów z receptorem CD18+ i limfocytów BCD21+ (3 i 10 dzień). W macicy krów grupy B, obserwowano wzrost ilości limfocytów TCD4+, BCD21+ i CD25+ w 3 i 10 dniu badań ($P<0.05$). W macicy krów grupy C, obserwowano istotny wzrost ilości limfocytów TCD4+ oraz limfocytów BCD25+ (3 i 10 dzień). Ponadto widoczny był spadek odsetka limfocytów BCD21+ oraz komórek prezentujących antygen MHCII w 3 dniu badań. Domaciczna infuzja cefapiryny powodowała osłabienie efektorowej fazy lokalnej odpowiedzi immunologicznej macicy, jednak wzmacniała chemotaksję leukocytów i prezentację antygeny. Po domacicznym podaniu methisoprinolu obserwowano pobudzenie głównie swoistych mechanizmów odporności macicy. Podsumowując, domaciczne podanie substancji immunomodulujących, może aktywować swoiste miejscowe mechanizmy odporności macicy a w konsekwencji przyspieszyć likwidację stanu zapalnego macicy.

Słowa kluczowe: *endometritis*, integryny, komórki prezentujące antygen, subpopulacje leukocytów

SYTUACJA EPIZOOTYCZNA W ZAKRESIE GORĄCZKI Q U BYDŁA W POLSCE W LATACH 2017-2020

M. Szymańska-Czerwińska, A. Jodełko, K. Niemczuk

Zakład Chorób Bydła i Owiec, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Gorączka Q jest kosmopolityczną zoonozą wywoływaną przez wewnątrzkomórkową, Gram-ujemną bakterię – *Coxiella burnetii*. Bydło oraz małe przeżuwacze uważane są za najistotniejszy rezerwuar tego patogenu i główne źródło zakażeń dla człowieka. Gorączka Q podlega w Polsce obowiązkowi rejestracji, a sytuacja epizootyczna w kraju jest oceniana między innymi na podstawie wyników badań Programu Wieloletniego oraz badań kontrolnych prowadzonych zgodnie z rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 czerwca 2010 roku.

W ramach realizacji Programu Wieloletniego pt. „Ochrona zdrowia zwierząt i zdrowia publicznego” Krajowe Laboratorium Referencyjne ds. gorączki Q (KRL) wykonało w latach 2017-2020 badania serologiczne 2180 surowic pobranych z 756 stad bydła. Badanie metodą ELISA potwierdziło występowanie swoistych przeciwciał u 6,7% osobników, zaś odsetek stad serododatnich wynosił 10,84%. Ponadto, KRL otrzymało do badań potwierdzających 214 próbek surowic pobranych w ramach monitoringu choroby. Wyniki dodatnie potwierdzono dla 194 badanych próbek (90,7%).

Badania molekularne, wykonane metodą real-time PCR, wykazały obecność specyficznej sekwencji DNA *C. burnetii* w 21,36% spośród 730 badanych próbek oraz w 41 ze 134 badanych stad bydła. Dominujący materiał do badań PCR stanowiły indywidualne próbki mleka (89,6%). Badaniom poddano również próbki mleka zbiorczego (6,98%), wymazów z dróg rodnych (1,64%), nasienia (1,1%) i łożysk (0,7%).

Próbki o odpowiedniej czystości i ilości DNA bakteryjnego wykorzystano do genotypowania szczepów terenowych patogenu z wykorzystaniem technik multiple-locus variable number tandem repeat analysis (MLVA) oraz multispacer sequence typing (MST). Analiza genotypowa metodą MLVA wykazała przynależność szczepów terenowych do 7 genotypów, w tym dwóch nigdy wcześniej nieopisanych. Za pomocą techniki MST zidentyfikowano, że badane próbki należą do typów sekwencyjnych: ST16 oraz jednego nowego, który sklasyfikowano jako ST61.

Niektóre ze stwierdzanych w badanych próbkach genotypów oraz typów sekwencyjnych, zidentyfikowano w innych krajach w materiale pochodzącym od ludzi chorujących na ostrą i chroniczną postać gorączki Q. Żaden z badanych szczepów nie przynależał do tego samego genotypu, co wysoce patogenne dla człowieka szczepy *C. burnetii* stanowiące czynnik etiologiczny epidemii choroby w Holandii.

Słowa kluczowe: gorączka Q, *Coxiella burnetii*, bydło, ELISA, real-time PCR, MST, MLVA

OCENA STĘŻENIA TRYPTOFANU, KYNURENINY I KWASU KYNURENINOWEGO ORAZ AKTYWNOŚCI 2,3-DIOKSYGENAZY INDOLOAMINY W MLEKU I SUROWICY KRÓW CHORYCH NA MASTITIS WYWOŁANE PRZEZ *STREPTOCOCCUS*

M. Bochniarz¹, R. Dąbrowski¹, M. Szczubiał¹, P. Brodzki¹, L. Krakowski¹, I. Vasiu²

¹Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt UP Lublin, Polska

²Department of Surgery, Anesthesiology and Intensive Care, Faculty of Veterinary Medicine University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca, Romania

Tryptofan (TRP) należy do grupy egzogennych aminokwasów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. W warunkach fizjologicznych tryptofan ulega różnym przemianom: dekarboksylacji do postaci tryptaminy, hydroksylacji do postaci serotoniny oraz katabolizmowi polegającemu na rozerwaniu pierścienia indolowego do postaci aktywnych produktów zwanych kynureninami, które indukują reakcje przeciwzapalne w przebiegu różnych infekcji, w tym mastitis bydła.

Celem badań była ocena stężenia tryptofanu, kynureniny (KYN), kwasu kynureninowego (KYNA) oraz aktywności IDO w surowicy i mleku krów chorych na mastitis wywołane przez drobnoustroje z rodzaju *Streptococcus sp.* TRP i kynureniny oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Badania wykazały istotnie niższy poziom TRP zarówno w surowicy jak i w mleku krów chorych na zapalenie wymienia w porównaniu do zwierząt zdrowych (25,25 i 40,08 μ M oraz 2,56 i 7,22 nM). Koncentracja KYN w mleku nie różniła się znacząco w przypadku obu badanych grup zwierząt (0,85 i 1,13 μ M), natomiast jej poziom w surowicy był istotnie niższy u krów chorych w porównaniu z grupą kontrolną (0,22 i 0,32 μ M). Niemalże na tym samym poziomie kształtowało się stężenie KYNA w surowicy krów zdrowych i chorych (29,15 i 29,90 nM). Statystycznie istotnej różnicy nie stwierdzono także w poziomie tego kwasu w mleku obu badanych grup krów (2,17 i 1,80 nM). Znaczącą różnicę stwierdzono natomiast w dynamice aktywności enzymu 2,3-dioksygenazy indoloaminy. Aktywność IDO w mleku krów chorych na mastitis była 3,5-krotnie wyższa w porównaniu z surowicą tych krów (111,62 i 33,61) i 3,4-krotnie wyższa w porównaniu z mlekiem krów z grupy kontrolnej (111,62 i 32,51).

Aktywacja IDO, która przesuwa metabolizm tryptofanu w kierunku szlaku kynureninowego w mleku krów wskazuje na uruchomienie odpowiedzi immunologicznej w wymieniu zakażonym przez *Streptococcus sp.* Wyniki te mogą mieć istotne znaczenie w diagnostyce mastitis u krów, ponieważ wzrost aktywności IDO oraz zmiany poziomu tryptofanu i jego metabolitów w mleku mogą stać się potencjalnym markerem zapowiadającym wystąpienie choroby co stwarza możliwość zastosowania leczenia we wczesnym stadium zakażenia.

Słowa kluczowe: mastitis, tryptofan, kynureniny, szlak kynureninowy *Streptococcus sp.*

Badania finansowane przez NCN: Miniatura 1 DEC-2017/01/X/NZ4/01769.

WYKORZYSTANIE NANOSREBRA W LECZENIU MASTITIS U BYDŁA

A. Opałka¹, J. Twardoń¹, J. Król², E. Adamczyk³

¹Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Zakład Mikrobiologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

³Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Mastitis jest najczęstszym problemem zdrowotnym bydła mlecznego na świecie i jest główną przyczyną strat produkcji mlecznej. Standardowe leczenie opiera się na podaży leków przeciwzapalnych oraz antybiotyków, które często podawane są bez przeprowadzenia badania mikrobiologicznego z antybiogramem. W wyniku tego leczenie *mastitis* staje się coraz trudniejsze i zmusza lekarzy do szukania nowych terapii. Jednym z takich rozwiązań jest użycie nanosrebra, znanego już od dawna ze swoich właściwości biobójczych.

Działanie nanosrebra opiera się na kilku mechanizmach i jest skuteczne w zwalczaniu bakterii gram-dodatnich i gram-ujemnych. Miejscami uszkodzonymi przez nie są ściana i błona komórkowa, białka funkcyjne cytozolu oraz łańcuchy DNA bakterii.

Przedstawione powyżej czynniki sprawiły, że nanosrebro stało się alternatywą dla antybiotyków, bardzo często wykorzystywanych w medycynie weterynaryjnej zwierząt gospodarskich. Dlatego też powstanie preparatów opartych na działaniu nanosrebra było kwestią czasu. Dzięki współpracy Katedry Rozrodu Zwierząt z Kliniką Zwierząt Gospodarskich i Zakładu Mikrobiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu zostały przeprowadzone terenowe badania preparatu ArgoMast® zawierającego opisywaną substancję.

Selekcja krów do podania preparatu została oparta na wykonaniu badania TOK i na podstawie otrzymanego wyniku było pobierane mleko do badań mikrobiologicznych, a następnie podawano preparat. Wśród najczęściej izolowanych patogenów znajdowały się: *Streptococcus uberis* oraz *Staphylococcus aureus*. Po zalecanym okresie przeprowadzano badanie TOK w celu sprawdzenia zmian w wymieniu i pobierane było mleko na ponowne badanie mikrobiologiczne. W wyniku przeprowadzonej selekcji zostało wybranych 21 ćwiartek zakażonych *S. uberis* oraz 15 ćwiartek u których było stwierdzone *mastitis* na tle *S. aureus*.

Zauważono spadek ilości *S. aureus* w ćwiartkach, do których podano preparat. Na dwóch fermach, gdzie zidentyfikowano ten patogen zmniejszenie ilości kolonii bakterii wystąpiła w 60% przypadków. W przypadku *S. uberis* reakcja na podany preparat była gorsza i poprawa dotyczyła 15% ćwiartek do których podano ArgoMast®. Ponowne badanie TOK wykazywało obecność komórek somatycznych w mleku co świadczyło o ciągłym podrażnieniu wymienia po zapaleniu. Sugeruje to potrzebę łączenia terapii nanosrebrem z lekami przeciwzapalnymi, ale są to rozważania do kolejnych badań.

Słowa kluczowe: nanosrebro, *mastitis*, preparat dowymieniowy

WYKORZYSTANIE SUROWICY ALLOGENICZNEJ W ODCHOWIE CIELĄT RAS MIĘSNYCH

P. Jawor, J. Bajzert, T. Stefaniak

Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

W odchowcie cieląt ras mlecznych i mięsnych poszukiwane są metody pozwalające utrzymać ich zdrowie, a przez to ograniczenie stosowania antybiotyków. Surowice odpornościowe mogą być stosowane w profilaktyce chorób układu oddechowego cieląt.

Celem badań było uzyskanie i zastosowanie surowicy odpornościowej w 3 gospodarstwach zajmujących się odchowem cieląt ras mięsnych. W gospodarstwie I utrzymywano krowy rasy Charolaise, w gospodarstwie II Limousine, a w gospodarstwie III mieszańce krow rasy mlecznych z mięsnymi. Uzyskano surowicę odpornościową przez immunizację krow dawczyń 5 krotnie w odstępach ok. 14 dniowych mieszaniną białek rHsp60 *H. somni* i rOMP40 *H. somni* z Emulsigenem. W trakcie immunizacji kontrolowano testem ELISA reaktywność przeciwciał w surowicy krow z białkami użytymi do immunizacji. Po 4 i 5 immunizacji pobrano od krow krew i wyprodukowano surowicę odpornościową dla każdego z gospodarstw. Surowicę podawano cielętom od krow wieloródek w ilości 100ml s.c. dwukrotnie, po raz pierwszy między 24-114 h życia (P1), a następnie między 21 a 28 dniem życia (P2). W tych terminach badano cielęta doświadczalne i kontrolne i pobierano krew do badań. Cielęta kontrolne nie otrzymały surowicy. Badania przeprowadzono na 37 cielętach w gospodarstwie I (19 doświadczalnych), 34 cielętach w gospodarstwie II (17 dośw.), oraz 17 w gospodarstwie III (8 dośw.). W pełnej krwi oznaczono wartość hematokrytu (Ht), stężenie fibrynogenu (Fb) a w surowicy oznaczano stężenie IgG₁, IgG₂ oraz IgM oraz aktywność przeciwciał anty- rHsp60 i rOMP40 *H.somni*. Podczas każdego pobrania krwi cielę było badane oraz ważone.

Grupa doświadczalna nie różniła się od grupy kontrolnej w zakresie: Ht, Fb, stężenia IgG₁, IgG₂ oraz IgM oraz ocenianych parametrów klinicznych i przyrostów. Stwierdzono istotnie wyższą aktywność przeciwciał IgG₁ anty rOMP40 w P2 u cieląt doświadczalnych w porównaniu do grupy kontrolnej w gospodarstwie II ($P < 0.05$). Również w P2 aktywność przeciwciał IgG₂ anty rOMP40 była istotnie wyższa w grupie doświadczalnej, niż kontrolnej we wszystkich gospodarstwach ($P < 0.05$). Aktywność przeciwciał IgG₂ anty rHSP60 była istotnie wyższa w grupie doświadczalnej w stadach I i II ($P \leq 0.001$).

Zachorowania i przypadki leczenia oraz upadki występowały sporadycznie w obu grupach w jednym z gospodarstw.

Słowa kluczowe: cielę, charolaise, limousine, odchów, zdrowie

Badania finansowane z projektu nr 00006/DDD.6509.00003.2018.01.

SELENINOTRIGLICERYDY – NOWE MOŻLIWOŚCI W PROFILAKTYCE NIEDOBORU SELENU U OWIEC

K. Cebulska

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmiński – Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Jedną z chorób występujących w stadach owiec jest pokarmowa dystrofia mięśni. Jej profilaktyka polega na suplementacji selenu w formie iniekcyjnej, dość kłopotliwej w podażu. Niestety, znane do tej pory formy doustne preparatów selenowych, nie wchłaniały się w sposób wystarczający z przewodów pokarmowych małych przeżuwaczy. Stąd też próba znalezienia innej, doustnej formy selenu, która mogłaby być zastosowana w profilaktyce wyżej wymienionego schorzenia. Taką substancją mogą być seleninotriglicerydy. W pracy zbadano wpływ doustnej suplementacji nowym organicznym preparatem selenu (seleninotriglicerydy) na grupę 10-dniowych owiec Kamienieckich z północno-zachodniej Polski ze zdiagnozowanym niedoborem selenu. Doświadczenie przeprowadzono na 12 owcach, które podzielono na 2 grupy – kontrolną ($n = 6$) i doświadczalną ($n = 6$). Drugą grupę suplementowano doustnie roztworem seleninotriglicerydów – 0,5 mg seleninotriglicerydów na kilogram masy ciała dziennie przez 7 dni, a następnie monitorowano przez 30 dni. Próbkę krwi do badań pobierano 6 razy (w dniach 0, 2, 7, 14, 21, 30) i oznaczano następujące parametry: poziom selenu, aktywność transaminazy asparaginianowej (AST), gamma- transpeptydaza glutamylowa (GGTP), dehydrogenaza mleczanowa (LDH), kinaza kreatynowa (CK), aktywność peroksydazy glutationowej (POX) oraz stężenie białka całkowitego, glukozy, mocznika i kreatyniny. We krwi pełnej oznaczono następujące parametry hematologiczne: liczbę białych krwinek (WBC), liczbę neutrofilów (NEUT), liczbę limfocytów (LYMPH), liczbę monocytów (MONO), liczbę eozynofiliów (EOS), liczbę bazofilów (BASO), liczbę krwinek czerwonych (RBC), poziom hemoglobiny (HGB), liczba płytek krwi (PLT) i objętość upakowanych komórek (PCV).

Poziom selenu w surowicy u owiec po 30. dniach doświadczenia wynosił u owiec suplementowanych $136.63 \pm 22.59 \mu\text{g/l}$ ($p < 0.001$), a u owiec z grupy kontrolnej $87.35 \pm 15.13 \mu\text{g/l}$ ($p < 0.001$). Obserwacje kliniczne i analiza parametrów hematologicznych, parametrów czynności wątroby i nerek nie wykazały negatywnego wpływu seleninotriglicerydów na zdrowie zwierząt.

Wyniki wskazują, że seleninotriglicerydy mogą być bezpieczną i skuteczną metodą suplementacji selenu u owiec.

WPŁYW INIEKCJI PEGBOWIGRASTYMU U CIELĄT NA AKTYWNOŚĆ FAGOCYTARNĄ LEUKOCYTÓW KRWI OBWODOWEJ

K. Dudek, E. Szacawa, D. Bednarek

Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów bydlęcych (bG-CSF) jest naturalnie występującą cytokiną o właściwościach immunomodulujących, która posiada zdolność do stymulowania produkcji dojrzałych granulocytów obojętnochłonnych w szpiku kostnym oraz pobudzania aktywności fagocytarnej tych komórek. Badania prowadzone w tym zakresie wykazały wyraźne zmniejszenie częstości występowania klinicznych przypadków zapaleń gruczołu mlekowego u krów po podaniu rekombinowanej formy bG-CSF – pegbowigrastymu (PEG bG-CSF). Jak dotychczas nie badano wpływu PEG bG-CSF na kształtowanie się zmian w liczbie leukocytów oraz ich funkcji u cieląt. Celem badań było zatem ocenić wpływ iniekcji PEG bG-CSF na zmiany w liczbie granulocytów i monocytów krwi obwodowej oraz aktywność fagocytarną tych komórek u cieląt.

Badania przeprowadzono na cielętach ($n = 12$), które podzielono na dwie równe grupy: doświadczalną i kontrolną. Cielęta doświadczalne poddano podskórnej iniekcji PEG bG-CSF dwukrotnie w odstępie 7-dniowym, z kolei zwierzętom grupy kontrolnej w analogiczny sposób podano placebo (PBS). Próbkę krwi pełnej do planowanych badań laboratoryjnych pobierano bezpośrednio przed pierwszą iniekcją PEG bG-CSF (dzień 0) oraz po niej w 2, 5 i 7 dniu, który wypadał tuż przed drugim podaniem PEG bG-CSF, a następnie w 2, 5 i 7 dniu po tym podaniu oraz co 7 dni aż do 4 tygodnia po drugiej iniekcji PEG bG-CSF. We krwi pełnej oznaczono następujące parametry: ogólną liczbę granulocytów i monocytów z użyciem weterynaryjnego analizatora hematologicznego, a także aktywność fagocytarną granulocytów i monocytów, wyrażoną jako średni odsetek fagocytylujących komórek, średnią intensywność fluorescencji (MFI) i index fagocytarny, za pomocą cytometrii przepływowej.

W odpowiedzi na iniekcję PEG bG-CSF obserwowano istotny ($P < 0,05$) wzrost ogólnej liczby granulocytów i monocytów, który utrzymywał się do 14 dnia po pierwszym jego podaniu. W przypadku obydwu badanych frakcji leukocytów wykazano wyraźne zwiększenie ich liczby po drugiej iniekcji PEG bG-CSF. Pomiędzy badanymi grupami cieląt nie obserwowano natomiast znaczących różnic w odsetku fagocytylujących granulocytów. Z kolei wartości MFI i indeksu fagocytarnego dla granulocytów uległy istotnemu ($P < 0,05$) podwyższeniu w 2 i 5 dniu po pierwszej iniekcji PEG bG-CSF. W przypadku odsetka fagocytylujących monocytów nie wykazano znaczących różnic między badanymi grupami cieląt w wartościach tego parametru w odpowiedzi na pierwszą iniekcję PEG bG-CSF. Z kolei wartości MFI i indeksu fagocytarnego dla monocytów uległy istotnemu podwyższeniu między 2 a 7 dniem po pierwszym podaniu PEG bG-CSF. W przypadku obydwu tych parametrów wykazano dalszy wzrost ich wartości po drugiej iniekcji PEG bG-CSF, a stan ten utrzymywał się na statystycznie istotnym poziomie aż do 5 dnia po tym podaniu. Reasumując, iniekcja rekombinowanej formy bG-CSF wykazała wyraźną stymulację nieswoistych mechanizmów odpowiedzi immunologicznej cieląt, co znalazło potwierdzenie w podwyższonej liczbie badanych frakcji leukocytów oraz stymulacji ważnych funkcji tych komórek, do których niewątpliwie należy aktywność fagocytarna.

Słowa kluczowe: cielęta, pegbowigrastym, PEG bG-CSF, granulocyty, monocyty, aktywność fagocytarna

PORÓWNANIE LICZBY POBRANYCH OOCYTÓW I WSPÓŁCZYNNIKA BLASTOCYST POMIĘDZY WYSOKOWYDAJNYMI KROWAMI W 30 – 50 DNIU LAKTACJI A DOJRZAŁYMI PŁCIOWO JAŁÓWKAMI

A. Nowicki¹, A. Siergiej², M. Kupa³, N. Nowicka⁴, W. Barański¹, I. Woławek-Potocka²

¹Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

²Polska Akademia Nauk, Olsztyn, Poland

³Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

⁴Wydział Lekarski Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, Olsztyn, Polska

Celem powyższych badań przedwstępnych było porównanie liczby uzyskanych oocytów *in vivo* oraz blastocyst od krów wysokowydajnych i dojrzałych płciowo jałówek. Do badań wybrano krowy 30–50 dni po porodzie (n=21) i jałówki dojrzałe płciowo w wieku 12–13 m-cy (n=24). Zwierzęta były zdrowe, nie stwierdzano objawów chorób metabolicznych, kulawizn, zaś w macicy nie było widocznego płynu. Na decyzję o włączeniu do doświadczenia nie wpływały struktury obecne na jajnikach. Oocyty pobierano pod kontrolą USG (OPU Dramiński) oraz pompy. Sesje były wykonywane co 4–5 dni, a zwierzęta nie były stymulowane hormonalnie. Natychmiast po pobraniu oocyty były wyszukiwane i umieszczane w medium do dojrzewania. Bez względu na jakość oocytów wszystkie były przypisane do dalszej części doświadczenia. Po 24 godzinach od pobrania były zapładniane *in vitro*, a następnie hodowane przez 7 dni. Po tym czasie wyliczano współczynnik blastocyst, jako ich stosunek do zapłodnionych oocytów. U 6 krów w momencie rozpoczęcia doświadczenia stwierdzano obecność torbieli jajnikowych.

Średnia liczba pozyskanych oocytów w grupie krów wynosiła 7,69 (od 1 do 20), a w grupie jałówek 7,36 (od 0 do 21). Wyniki uzyskane w obu grupach nie różniły się statystycznie. Natomiast współczynnik blastocyst wynosił u krów 20,1% a w grupie jałówek 26,2% i jest to wynik statystycznie istotny (p<0.05). Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że liczba pozyskanych oocytów od losowo wybranych zdrowych krów w początkowym okresie laktacji i jałówek dojrzałych płciowo jest porównywalna, ale jakość komórek jajowych rozumiana jako zdolność do zapłodnienia i rozwoju jest zdecydowanie gorsza. Konieczne są dalsze prace porównujące liczbę i jakość uzyskanych blastocyst pomiędzy wyselekcjonowanymi krowami wysokowydajnymi (bez problemów okołoporodowych i patologicznych zmian na jajnikach), a jałówkami dojrzałymi płciowo aby odpowiedzieć na pytanie czy hodowla zarodków *in vitro* z przyżyciowo pobranych oocytów od krów daje szansę na szersze stosowanie tej metody biotechnicznej w polskich warunkach hodowli bydła mlecznego.

Słowa kluczowe: OPU, *in vitro*, krowy mleczne, jałówki, oocyty, blastocysty

Badania finansowane przez NCN: 2016/23/N/NZ9/01554 oraz sfinansowano ze środków dotacji KNOW Konsorcjum Naukowego „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność”, decyzja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 05-1/KNOW2/2015.

WPLYW LECZENIA TORBIELI JAJNIKOWYCH PRID DELTA NA PŁODNOŚĆ KRÓW

M. Rudowska, S. Zduńczyk, W. Barański, A. Nowicki, Z. Polak

Katedra Rozrodu Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Torbiele jajnikowe są jedną z najczęstszych przyczyn niepłodności u krów mlecznych. Określa się je jako twory pęcherzykopodobne, występujące na jednym lub obu jajnikach, o średnicy ponad 20 mm i trwające na jajnikach przynajmniej 10 dni przy braku aktywnej tkanki lutealnej. Występowanie torbieli u krów powoduje poważne straty ekonomiczne, dlatego istnieje duże zainteresowanie tym problemem. Torbiele jajnikowe są uznawane za wieloprzyczynowe schorzenie, o złożonej patogenezie, występujące z reguły u krów mlecznych o dużej wydajności. Leczenie torbieli jajnikowych oparte jest głównie o terapię hormonalną (GnRH, hCG, progesteron, PGF₂α, Ovsynch), ale dane o skuteczności leczenia są sprzeczne i zależą m.in. od okresu wystąpienia torbieli. Celem badań było określenie wpływu leczenia torbieli jajnikowych występujących po okresie poporodowym (> 60 dnia po porodzie) progesteronowymi wkładkami dopochwowymi PRID Delta na płodność krów.

Materiał badawczy stanowiło 38 krów mlecznych z torbielami jajnikowymi i 38 krów zdrowych. Dwadzieścia trzy krowy z torbielami jajnikowymi leczono wkładkami PRID Delta przez 7 dni, w 6 dniu terapii podano im PGF₂α. Otrzymane wyniki leczenia porównano z krowami u których nie leczono torbieli (n = 15) oraz z krowami zdrowymi. Okres międzyciążowy u krów z torbielami jajnikowymi, zarówno leczonymi PRID Delta (183,3 dni), jak i nieleczonymi (277,6 dni) był istotnie dłuższy (p < 0,05) porównaniu do krów bez torbieli jajnikowych (114,5). Krowy z torbielami leczone PRID Delta miały jednak istotnie (p < 0,05) krótszy okres międzyciążowy niż krowy nieleczone.

Potwierdzono negatywny wpływ torbieli jajnikowych występujących po okresie poporodowym na płodność krów mlecznych. Leczenie torbieli jajnikowych wkładkami dopochwowymi PRID Delta doprowadziło do istotnego skrócenia okresu międzyciążowego u krów.

Słowa kluczowe: krowy, torbiele jajnikowe, PRID Delta, wskaźniki płodności

WPŁYW STRESU CIEPLNEGO NA WYNIKI PRODUKCYJNE I STATUS METABOLICZNY KRÓW MLECZNYCH

B. Stefańska¹, P. Sobolewska¹, E. Pruszyńska-Oszmałek², M. Gąsiorek³, W. Nowak³

¹Katedra Łękarstwa i Krajobrazu Przyrodniczego, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

²Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

³Katedra Żywienia Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Ocieplenie klimatu jest jednym z większych wyzwań, z którym borykają się producenci mleka w wielu regionach świata, w tym również w Polsce. Krowy mleczne są zwierzętami szczególnie wrażliwymi na stres cieplny (*ang. heat stress*; HS, definiowany indeksem temperatury i wilgotności; THI), który bezpośrednio obniża ich dobrostan termiczny. HS powoduje podobne zmiany w szlakach metabolicznych jak podczas wystąpienia ujemnego bilansu energii w newralgicznym dla statusu metabolicznego krowy okresie przejściowym. Jednakże, aktualnie nadal mało poznany jest biologiczny mechanizm wpływu HS na wyniki produkcyjne i status metaboliczny krowy. Dlatego celem badań było określenie wpływu stresu cieplnego na wyniki produkcyjne i wskaźniki biochemiczne krwi.

Eksperymentem został objęty okres przejściowy po porodzie (od 1 do 30 dni) oraz laktacja (od 31 do 305 dni). Materiał badawczy stanowiło 100 krów rasy Polskiej Holsztyńsko-Fryzyjskiej żywionych dawką kompletną TMR, wybranych na podstawie poprzedniej wydajności laktacyjnej (>10 000 kg mleka), numeru laktacji (pierwiastki $n = 40$, wieloródki $n = 60$) o zbliżonej masie ciała (650 ± 20 kg) oraz klinicznie dobrym stanie zdrowia. Pomiary temperatury i wilgotności niezbędnych do obliczenia wskaźnika THI monitorowano *on-line* przez loggery monitoringu mikroklimatu (WatchDog A-Series) zamontowane w budynku inwentarskim. Materiał badawczy podzielono na 3 grupy doświadczalne w oparciu o wartość wskaźnika THI jako stres cieplny (HS, THI>72), umiarkowany stres cieplny (MHS, THI 68-72) oraz dobrostan termalny (LHS, THI<68).

Zgodnie z przyjętymi kryteriami wyznaczenia grup doświadczalnych wykazano wpływ THI na wydajność oraz skład chemiczny mleka. Stwierdzono negatywną oraz pozytywną liniową zależność między wartością indeksu THI a koncentracją odpowiednio glukozy, FSH, LH oraz insuliny, IGF-I, wolnych kwasów tłuszczowych, TNF- α , IL-6 oraz HSPA1A.

Słowa kluczowe: stres cieplny, krowy mleczne, status metaboliczny

WYSTĘPOWANIE ZAKAŻEŃ BCoV U BYDŁA W POLSCE

W. Socha¹, J. Rola¹, D. Bednarek²

¹Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Zakład Chorób Bydła, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Koronawirus bydła (Bovine Coronavirus - BCoV) jest wirusem z rodzaju *Betacoronavirus*, z rodziny *Coronaviridae* powszechnie występującym w populacji bydła na całym świecie. Jest jednym z czynników etiologicznych zespołu oddechowego bydła (BRDC – Bovine Respiratory Disease Complex) oraz chorób układu pokarmowego (biegunka cielaków oraz zimowa dyzenteria bydła). Pomimo, że zakażenia tym wirusem wykrywano w wielu krajach europejskich dotychczas brak było danych na temat występowania BCoV w Polsce. Dlatego celem prowadzonych badań była ocena serologiczna rozprzestrzenienia BCoV na terenie Polski oraz identyfikacja polskich szczepów wirusa.

Do badania wykorzystano próbki surowicy oraz wymazów z nosa pobrane od 296 sztuk bydła pochodzącego z 29 stad z 5 województw (mazowieckiego, pomorskiego, opolskiego, podlaskiego oraz wielkopolskiego). Materiał był pobierany w latach 2014-2015. Próbkę poddano badaniu z wykorzystaniem testu ELISA do wykrywania przeciwciał dla BCoV (surowica) oraz real time RT-PCR specyficznego dla genu kodującego białko S (wymazy z nosa). Ponadto materiał RNA pozyskany z wymazów dodatkowych dla BCoV poddano sekwencjonowaniu Sanger'a z wykorzystaniem starterów specyficznych dla genu białka S.

Badania serologiczne wykazały obecność przeciwciał specyficznych dla wirusa BCoV u 215 badanych osobników (72,6%). Najwyższy odsetek osobników serododatnich - 84,4% stwierdzono u zwierząt z województwa podlaskiego, natomiast najniższy - 60,0% w województwie podlaskim. Ponadto potwierdzono obecność materiału genetycznego wirusa u 31 (10,5%) osobników. Największy odsetek zakażonych osobników stwierdzono w województwie wielkopolskim - 21,8%, natomiast najmniejszy w pomorskim - 3,3%. Na podstawie wyników sekwencjonowania fragmentu genu S, stwierdzono wysoką zgodność sekwencji genetycznej uzyskanych izolatów wirusa (98,3 - 100%) oraz ich bliskie pokrewieństwo ze szczepami pochodzącymi z krajów europejskich (Chorwacji, Francji, Danii i Słowacji).

Słowa kluczowe: koronawirus bydła, seroprewalencja, real time RT-PCR, analiza filogenetyczna

MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA BAKTERIOFAGÓW W ZWALCZANIU ZAKAŻEŃ U ZWIERZĄT – BADANIA WŁASNE

R. Urban-Chmiel, A. Wernicki, A. Marek, M. Dec, A. Nowaczek, A. Puchalski, E. Pyzik,
D. Stępień-Pyśniak

Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Powszechny wzrost lekooporności wśród patogenów, brak skutecznych metod kontroli zakażeń oraz ograniczenia prawne stosowania antybiotyków w produkcji zwierzęcej, przyczyniły się do rozwoju metod alternatywnych dla antybiotyków, w których istotną rolę odgrywają terapie fagowe. Mając powyższe na uwadze celem opracowania była ocena efektu terapeutycznego i prewencyjnego eksperymentalnych terapii fagowych w eliminacji infekcji u bydła.

W przedstawionych badaniach wykorzystano koktajle fagowe do eliminacji bakteryjnych zakażeń dróg oddechowych u cieląt wywołanych przez *M. haemolytica*, zastosowano również terapię fagową w zwalczaniu infekcji *E.coli* u cieląt noworodków przy użyciu trzech fagów zmieszanych z trzema szczepami probiotycznymi *Lactobacillus* spp. w postaci czopków. Trzeci eksperyment prowadzono z użyciem fagów swoistych dla bakterii wywołujących infekcje racic u krów mlecznych. W tym ciągle trwającym eksperymencie wykorzystano koktajl fagowy jako zawiesinę do kąpieli racic u krów mlecznych z objawami kulawizny lub jako bezpośrednie kompresy na zainfekowane kończyny.

Wyniki uzyskane w pierwszym eksperymencie potwierdziły znaczny wpływ zawiesiny fagowej na redukcję klinicznych objawów ze strony układu oddechowego u cieląt, oraz istotne zmniejszenie liczby bakterii *M. haemolytica* izolowanych z górnych dróg oddechowych. W przypadku leczenia chorób z objawami biegunki uzyskano znaczące ograniczenie klinicznych objawów, zmniejszenie temperatury rektalnej i redukcję liczby patogennych szczepów *E. coli* w kale. Zastosowana terapia była również korzystna w procesie stymulacji swoistych i nieswoistych mechanizmów odpowiedzi immunologicznej u cieląt, na podstawie wzrostu poziomu IFN gamma, lizozymu, oraz przeciwciał IgG i sIgA. Z kolei terapia fagami u krów mlecznych w infekcji racic, potwierdziła znaczący wpływ działania przeciwbakteryjnego zastosowanego koktajlu w eliminacji bakterii izolowanych z przypadków kulawizn. Są to badania stanowiące pierwszy etap i niezbędna jest ich kontynuacja w różnych typach gospodarstw.

W badaniach uzyskano korzystny wpływ terapii bakteriofagami w zwalczaniu różnych zakażeń u cieląt i krów mlecznych. Prowadzone badania mają charakter eksperymentalny i wymagają dalszych działań klinicznych w celu określenia efektu terapeutycznego i profilaktycznego.

Słowa kluczowe: bakteriofagi, terapie fagowe, cielęta, krowy mleczne

WYSTĘPOWANIE PRZECIWCIAŁ ANTY HSP60 I OMP40 *H.SOMNI* ORAZ ANTY PEŁNYM KOMÓRKOM *E.COLI* W SUROWICACH PRZEDISIAROWYCH CIELĄT MARTWO I ŻYWO URODZONYCH

R. Baran¹, J. Bajzert², T. Stefaniak², P. Jawor²

¹Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Termin cielę „martwo urodzone” oznacza przypadek w którym cielę urodziło się po ciąży trwającej przynajmniej 260 dni, a umarło przed, w trakcie porodu bądź w pierwszych 24-48 godzinach życia. Odsetek cieląt martwo urodzonych różni się między fermami, w Polsce średnio wynosi 8,1% dla jałówek i 4,8% dla wieloródek. Najczęściej stwierdzaną przyczyną śmierci cielęcia jest trudny poród, infekcje jako przyczyna śmierci diagnozowane są rzadziej w porównaniu do innych przyczyn. Celem pracy było sprawdzenie czy w surowicach cieląt uzyskanych przed odpojeniem siałą można wykryć przeciwciała reagujące z konserwatywnymi białkami rekombinowanymi Hsp60 oraz OMP40 *Histophilus somni* oraz całymi komórkami *Escherichia coli* w testach ELISA (badano reaktywność podklas IgG₁ i IgG₂ oraz klasy IgM) oraz określenie (w przypadku silnej reakcji z *E. coli*) jakie masy białek są rozpoznawalne (metodą Western blot). Badania przeprowadzono na cielętach rasy holsztyńsko-fryzyjskiej lub mieszanów z tą rasą. Grupę badawczą stanowiło 121 cieląt martwo urodzonych, a grupę kontrolną 21 żywo urodzonych cieląt.

Spośród 121 cieląt martwo urodzonych 25 wykazywało reakcje z antygenami bakteryjnymi, mimo, że jedynie u 10 z tych 25 cieląt zdiagnozowano we wcześniejszych badaniach czynnik infekcyjny. Najczęściej reakcję wykrywano w podklasie IgG₁, następnie IgM, tylko w 1 przypadku była to reakcja w podklasie IgG₂. W analizie immunoblottingu wykazano reakcje przeciwciał IgG₁ oraz IgM z antygenami bakteryjnymi *E. coli*.

Uzyskane wyniki wykazują, że u cieląt, u których nie zdiagnozowano infekcyjnego czynnika, występuje swoista reakcja z badanymi białkami oraz *E. coli*, co świadczy o kontakcie z tymi lub podobnymi antygenami w życiu płodowym. W tych przypadkach, gdzie wcześniej wykryto obecność czynnika infekcyjnego stwierdzona reaktywność mogła być wynikiem reakcji krzyżowych. Niewielka reaktywność występująca u pojedynczych przypadków cieląt z grupy kontrolnej, sugeruje że macica nie jest środowiskiem jałowym, a prawdopodobnie intensywność kontaktu może mieć wpływ na przeżycie cielęcia.

Słowa kluczowe: infekcja śródmacicza, reaktywność krzyżowa, ELISA, western blot, odpowiedź płodu, martwe urodzenia, bakterie

Badania finansowane przez z B010/0029/21 (Utrzymanie i rozwój potencjału badawczego katedr i instytutów - Subwencja 2021).

ELIMINACJA ZAPALENIA GRUCZOŁU MLEKOWEGO WYWOŁYWANEGO PRZEZ *S. AUREUS* U KRÓW MLECZNYCH NA FERMIE W WOJEWÓDZTWIE MAZOWIECKIM

M. Dziekiewicz-Mrugasiewicz, D. Chrobak-Chmiel

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Zapalenie gruczołu mlekowego krów wywołane przez *Staphylococcus aureus* stanowi duży problem dla hodowców oraz powoduje znaczne straty ekonomiczne w hodowli bydła mlecznego. *S. aureus* ze względu na łatwość rozprzestrzeniania się, zdolność przetrwania w gruczole mlekowym i środowisku oraz antybiotykooporność jest trudny do leczenia i eliminacji ze stada.

W badaniu analizowano występowanie *mastitis* wywoływanych przez *S. aureus* na fermie bydła mlecznego w województwie mazowieckim. Sprawdzano wpływ poprawy chowu i doju na występowanie zakażeń wywoływanych przez wspomniany drobnoustroj. W latach 2003-2004 ze stada 150 krów mlecznych rasy polska czarno-biała i Holsztyńsko-Fryzyjska pobierano i przebadano 24 próbki mleka ćwiartkowego. Materiał kliniczny pobierano od krów z klinicznymi i podklinicznymi objawami *mastitis*. Badania mleka przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi procedurami. W 10 (41,66 %) badanych próbkach mleka stwierdzono obecność *S. aureus*. U krów ze stwierdzonym zakażeniem *S. aureus* wdrożono leczenie antybiotykiem dobranym według antybiogramu. Próbkę mleka pobierano od krów dwukrotnie i u 6 krów pomimo leczenia ponownie wyizolowano *S. aureus*. W latach 2019 przeprowadzono badania kontrolne. Stado liczyło 350 krów mlecznych. Od 34 krów wykazujących kliniczne lub podkliniczne objawy *mastitis* pobrano próbki mleka do badania mikrobiologicznego. W żadnej z próbek nie wyizolowano *S. aureus*, dominującymi drobnoustrojami były: gronkowce koagulazoujemne, *E. coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus* spp. oraz w jednym przypadku wyizolowano *Trueperella pyogenes*.

S. aureus mają zdolność przetrwania w gruczole mlekowym a także przez długi czas w środowisku. Izolowano je ze ściółki, podłoża oraz elementów urządzeń udojowych, stanowią tym samym źródło zakażeń dla zwierząt. W badanym gospodarstwie przeprowadzono w latach 2004-2006 restrukturyzację fermy - wprowadzono plan 5-punktowy, polegający na przeprowadzeniu dezynfekcji przed i poudojowej, dokładnej konserwacji i dezynfekcji urządzeń udojowych, a chore zwierzęta poddawano leczeniu lub eliminowano ze stada. Zastosowanie tych rozwiązań umożliwiło eliminację *S. aureus* i przyczyniło się do ograniczenia występowania *mastitis* u krów.

Słowa kluczowe: *S. aureus*, *mastitis*, bydło mleczne, plan 5-punktowy

ROLA ADIPOKIN W REGULACJI PODSTAWOWYCH FUNKCJI ŻYCIOWYCH KOMÓREK NABŁONKA GRUCZOŁU SUTKOWEGO BYDŁA

Ż. Dziegielewska-Sokołowska, M. Gajewska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Gruczoł sutkowy to narząd podlegającym naturalnym cyklom proliferacji, różnicowania oraz inwolucji wielokrotnie podczas życia samicy. Udowodniono, że adipocyty stanowiące jeden z głównych typów komórek zrębu gruczołu, wydzielają substancje biologicznie aktywne, nazywane adipokinami, do otaczającego mikrośrodowiska. Celem badań było zbadanie wpływu trzech adipokin (leptyny, chemeryny i adipokiny) na bydlące komórki nabłonka gruczołowego. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem komórek nabłonkowych gruczołu sutkowego kultury pierwotnej (bMEC) i ustalonej linii komórkowej BME-UV1.

Komórki bMEC oraz BME-UV1 hodowano w pożywce wzrostowej DMEM/F12 z dodatkiem 10% FBS. Na podstawie danych literaturowych oraz wstępnych wyników testu MTT wytypowano do doświadczeń niskie i wysokie dawki leptyny (10 ng/mL, 100 ng/mL), chemeryny (10 ng/mL, 100 ng/mL) oraz adiponektyny (10 ng/mL, 500 ng/mL), nie wykazujące działania cytotoksycznego. Komórki bMEC i BME-UV1 hodowano w pożywce wzrostowej z dodatkiem wybranych stężeń adipokin przez 24 godziny. Następnie oceniano potencjał proliferacyjny bydlących komórek nabłonkowych z użyciem testu CyQUANT Cell Proliferation Assay oraz określono liczbę komórek apoptotycznych metodą testu z aneksyną V i jodkiem propidyny (PI), przy użyciu cytometrii przepływowej.

Otrzymane wyniki pokazały, że stosowane dawki adipokin nie wpływają istotnie na potencjał proliferacyjnych komórek nabłonka gruczołowego. Jedynie wysokie stężenie leptyny (100 ng/ml) spowodowało istotny spadek aktywności proliferacyjnej komórek bMEC (średnio o 17%). Warunki doświadczalne nie wpłynęły również istotnie na liczbę komórek apoptotycznych, natomiast obserwowano istotnie wyższą liczbę komórek nekrotycznych (wybarwionych jednocześnie aneksyną V oraz PI) pod wpływem chemeryny (w obu dawkach) oraz adiponektyny (w stężeniu 500 ng/ml). Uzyskane wyniki sugerują, że leptyna, adiponektyna oraz chemeryna nie odgrywają istotnej roli w regulacji podstawowych funkcji życiowych bydlących komórek nabłonka gruczołu sutkowego. Dalsze badania są konieczne w celu sprawdzenia wpływu tych adipokin na funkcjonalne różnicowanie komórek nabłonka gruczołowego, związane z syntezą białek mleka i aktywnością wydzielniczą tych komórek.

Słowa kluczowe: adipokiny, bydlące komórki nabłonka gruczołu sutkowego

Badania finansowane przez NCN, nr projektu: 2018/29/N/NZ9/00746.

ANALIZA ZMIENNOŚCI IZOLATÓW PROWIRUSOWEGO DNA WIRUSA BIAŁACZKI BYDŁA (BLV) WYSTĘPUJĄCYCH U BYDŁA W POLSCE METODĄ GŁĘBOKIEGO SEKWENCJONOWANIA

M. Rola-Łuszczak¹, E. Iwan², A. Bomba², J. Kuźmak¹

¹Zakład Biochemii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Zakład Analiz Omicznych, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Zmienność genetyczna i antygenowa wirusów jest podstawowym elementem pozwalającym na uniknięcie kontroli mechanizmów odpowiedzialnych za odporność immunologiczną wrodzoną i nabytą w przebiegu naturalnego zakażenia. Wirus białaczki bydła (BLV) charakteryzuje się stosunkowo niskim stopniem zmienności genetycznej. Pomimo to badania polegające na porównaniu sekwencji genu *env*, kodującej glikoproteinę powierzchniową gp51 wykazały na istnienie zmienności wirusa pomiędzy osobnikami (*inter-host*), skorelowanej z geograficznym występowaniem zainfekowanego bydła i pozwoliły na identyfikację 11 genotypów. Jednakże do tej pory nie ma literaturowych danych dotyczących zmienności wirusa białaczki bydła na poziomie gospodarza (*intra-host*).

W badaniach wykorzystano próbki genomowego DNA wyizolowane z leukocytów krwi, śledziony, węzłów chłonnych kreskowych i tkanki limfatycznej błony śluzowej jelita cienkiego 4 krów, dodatnich serologicznie oraz z potwierdzoną obecnością prowirusowego DNA BLV. Metodą NGS zaa-
nalizowano fragment genu *env* kodujący białko Env, białka regulacyjne Rex, G4 i R3 oraz region miRNA.

W przypadku trzech spośród czterech zwierząt otrzymano dane, wiarygodne pod względem pokrycia w reakcji NGS oraz częstości występowania poszczególnych alleli genu. Mutacje występowały w regionie kodującym białko Rex i w obrębie genu *env* (krowa 002, częstotliwość zmiany 9% i 7% odpowiednio). W genie *env* zlokalizowana była też mutacja zidentyfikowana w DNA BLV zwierzęcia 12_1 i występowała w 14% otrzymanych sekwencji. W przypadku obydwu tych zwierząt nr 002 i 12_1 opisane zmiany dotyczyły DNA pochodzącego z węzłów chłonnych. W materiale pochodzącym od krowy nr 12_2 zidentyfikowano następujące mutacje: w regionie genu *env*, mutacja ta występowała w DNA pochodzącym zarówno z leukocytów krwi jak i śledziony (8%); następnie dwie mutacje we fragmencie kodującym miRNA (częstość 46%, DNA izolowanym z błony śluzowej jelita cienkiego oraz 25% w DNA węzłów chłonnych).

Otrzymane wyniki wskazują na występowanie heterogenności wirusa w obrębie gospodarza, co może wskazywać na istnienie form *quasispecies*. Można też wnioskować o wyodrębnieniu form dominujących wirusa, zasiedlających poszczególne tkanki lub narządy (zjawisko tzw. kompartmentalizacji wirusa, dotychczas nie opisywane dla BLV). Wyniki badań przeprowadzonych na większej grupie zwierząt są w trakcie analizy.

Słowa kluczowe: BLV, NGS, zmienność genetyczna

Badania współfinansowane przez KNOW2015/PIWet-PIB/LAB1/6.

REPLIKACJA WYSELEKCJONOWANYCH *IN VITRO* WARIANTÓW SPUMAWIRUSA BYDŁA U DOŚWIADCZALNIE INOKULOWANYCH CIELĄT

M. Materniak-Kornas¹, P. Kubis¹, B. Sell², G. Pougialis³, M. Löchelt³, J. Kuźmak¹

¹Zakład Biochemii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

³Division Molecular Diagnostics of Oncogenic Infections, Research Focus Infection, Inflammation and Cancer, German Cancer Research Center, Heidelberg, Niemcy

Spumawirus bydła (BFV), podobnie jak inne spumawirusy, jest ściśle związany z komórką. Ostatnie badania *in vitro* wykazały jednak, że dzięki zmianom genetycznym nabytym podczas wielokrotnych pasażów może on przystosować się do replikacji charakteryzującej się produkcją wysokiego miana wolnych cząstek wirusa. Tak uzyskany wariant HT-BFV i jego pochodne pozbawione kasety miRNA wirusa zostały dobrze scharakteryzowane w hodowlach komórkowych. Jednak w ostatnich latach w badaniach *in vitro* coraz bardziej zwraca się uwagę na fakt, że ustalone linie komórkowe, pochodzące głównie z nowotworów lub eksperymentalnie unieśmiertelniane i transformowane różnymi metodami, często wykazują aberracyjne cechy dotyczące np. wzrostu, metabolizmu i genetyki, przez co nie mogą odzwierciedlać mechanizmów odporności wrodzonej i adaptacyjnej w zakażonym organizmie. Dlatego, w celu określenia potencjału replikacyjnego wariantów HT-BFV, niosącego i nieposiadającego kasety miRNA przeanalizowano parametry zakażenia tymi wariantami u eksperymentalnie inokulowanych cieląt i porównano z zakażeniem oryginalnym izolatem BFV Riems. Wszystkie trzy warianty BFV są zdolne do zakażenia cieląt, co potwierdzono poprzez obecność prowirusa w komórkach PBMC oraz indukcję przeciwciał specyficznych dla białka Gag BFV. Jednakże, zakażenie mutantem HT-BFV z delecją miRNA charakteryzowało się niższym poziomem prowirusowego DNA i przeciwciał, zwłaszcza u jednego z inokulowanych zwierząt.

Dodatkowo analizowano ekspresję wybranych genów związanych z wrodzoną odpornością gospodarza w 1. i 3. dniu po zakażeniu (p.z.) w komórkach PBMC. W 1. dniu p.z. znaczne podwyższenie ekspresji genów CXCL10, IRF7, RIG-I oraz obniżenie ekspresji genu CD8A notowano we wszystkich grupach zwierząt zakażonych. Ponadto, w 1. dniu p.z. obserwowano wzrost ekspresji TLR7 tylko u zwierząt zakażonych HT-BFV i BFV Riems, ale nie u zwierząt inokulowanych wariantem z delecją miRNA. W 3. dniu p.z. geny RIG-I i IRF7 nadal wykazywały podwyższoną ekspresję u wszystkich badanych zwierząt, jednak na niższym poziomie, podczas gdy ekspresja CXCL10 była podwyższona tylko u cieląt zakażonych oryginalnym izolatem BFV Riems. Uzyskane wyniki wskazują, że delecja kasety miRNA może obniżać kompetencje replikacyjne wirusa, o czym świadczy słabsza indukcja genów zaangażowanych we wrodzoną odporność nieswoistą. Jednak potwierdzenie uzyskanych wyników i identyfikacja mechanizmów oddziaływania pomiędzy komórką gospodarza a BFV wymaga dalszych badań.

ANALIZA SEKRECJI CYTOKIN PRZEZ KOMÓRKI MACIERZyste BYDŁA ZAKAŻONEGO WIRUSEM ENZOOTYCZNEJ BIAŁACZKI BYDŁA (BLV)

M. Szczotka, J. Kuźmak

Zakład Biochemii, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Czynnikiem etiologicznym enzootycznej białaczki bydła jest deltaretrowirus - bovine leukemia virus (BLV). Komórki macierzyste obecne w dorosłych organizmach są w większości komórkami uni-lub multipotencjalnymi. Ich główną rolą jest udział w procesach wzrostu i regeneracji tkanek. Komórki macierzyste wykorzystywane są w terapii chorób onkologicznych, neurodegeneracyjnych i kardiologicznych. Celem badań była ocena ekspresji cytokin w hodowli *in vitro* hematopoetycznych komórek macierzystych (HSCs), które charakteryzuje obecność markeru powierzchniowego CD34+. Populację HSCs izolowano z krwi, szpiku kostnego, węzłów chłonnych i śledziony krów zakażonych BLV: BLV+ oraz zdrowych zwierząt kontrolnych BLV-. Izolację wykonano przy użyciu mikrokuleczek magnetycznych opłaszczonych przeciwciałem monoklonalnym CD34 (Miltenyi) i separowano w polu magnetycznym. Otrzymane komórki w odpowiedniej koncentracji hodowano *in vitro* w kompletnym płynie RPMI 1640 z dodatkiem antybiotyków i 10% surowicy płodowej cielęcej. Hodowlę prowadzono przez 7 dni w temperaturze 37°C, w atmosferze 5% CO₂. W supernatancie z hodowli komórek badano poziom cytokin: IL-6, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, TNF-α oraz IFN-γ, wykorzystując zestaw FlexSet. Ocenę ekspresji cytokin wykonano metodą Cytometric Bead Array (CBA) i zestawu Multiplexed BD FlexSet (Biosciences Pharmingen, USA). Do mieszaniny (capture beads) dodawano przeciwciała detektorowe sprzężone z fikoerytryną (PE). Pomiar i analizę stężenia poszczególnych substratów wykonano w cytometrze przepływowym z programem do analizy CBA. Poziom sekrecji cytokin przez komórki CD34+ wyrażono w pg/ml. Koncentrację cytokin wyliczano na podstawie krzywej standardowej w programie Win MDI 2.8. Analizę statystyczną wykonano w programie Statistica 10.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono różnice w ekspresji cytokin przez komórki macierzyste CD34+ zwierząt BLV+ oraz BLV-. W grupie krów BLV+ statystycznie istotną wyższą ekspresję cytokin IL-6, IL-12p70 oraz TNF-α stwierdzono: w hodowli CD34+ izolowanych z krwi. Komórki macierzyste szpiku wykazały statystycznie istotny wyższy poziom IL-12p40, IL-12p70, TNF-α oraz IFN-γ. W hodowli komórek CD34+ śledziony statystycznie istotny wzrost ekspresji dotyczył cytokiny IL-10, natomiast w supernatancie CD34 węzłów chłonnych stwierdzono zwiększoną ekspresję IL-6, IL-10, IL-12p40 oraz IL-12p70, ale różnice statystycznie nie istotne.

Słowa kluczowe: BLV, komórki macierzyste CD34+

„KURDZIEL” I „WSPÓŁCZESNE” METODY JEGO ZWALCZANIA

M. Florek ¹, J. Kaba ²

¹Stowarzyszenie „Górale Karpat”, Łomnica Zdrój, Polska

²Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Karpaty to rejon geograficzny o najdłuższej w Polsce historii chowu i hodowli owiec. Nic więc dziwnego, że tutejsi owczarze mają także swoje tradycyjne metody diagnozowania i leczenia chorób.

Na północnych stokach Karpat jedną z częściej rozpoznawanych chorób jest kurdziel. Kurdziel objawia się zmianami głównie w obrębie racic. Czasami objawy te nazywane są także ccycą. Seweryn Udziela pisze: „w ziemi żyje robak biały, cieniutki jak niteczka nazywa się kurdziel, albo ccycą”. Naturalnym środowiskiem bytowania i rozwoju kurdziela są młaki [tereny podmokłe, bagienne]. Owca pasąc się na młacnym [podmokły teren] ma rozmiękczone ratki [racice], co ułatwia kurdzielowi ich przegryzienie. Gdy kurdziel wejdzie zwierzęciu między ratki to wygryza dziurę. Powstaje ropień, owca kuleje i następuje obieranie ratki [zrzucie puszeki rogowej racicy]. Dawniej leczono kurdziela na kilka sposobów. Radzono, aby kurdziela zalać moczem, naftą, witriolem [stężony kwas siarkowy] bądź terpentyną. Inny sposobem jest przykładanie kału dziecka, które jeszcze ssie matkę. Można także zasypać go siwym kamieniem [siarczan miedzi], bądź żytnią mąką wymiecioną z żaren albo posmarować miodem. Jeśli uda się znaleźć kurdziela należy go wysuszyć, zetrzeć i zasypać nim dziurę w ratce. Współcześnie owczarze zalecają ratkę dobrze wyczyścić, obciąć ile się da, tak by usunąć robaka, a następnie zalać, krawliną [kreoliną], formaliną, bądź też zasypać siwym kamieniem. Leczenie kurdziela w przypadku, gdy zmiany są jedynie powierzchowne trwa tydzień, a w przypadku głębokich zmian ponad miesiąc. Jeśli kupimy owcę, która ma już kurdziela to wyleczenie jest prawie niemożliwe. W takim przypadku pomoc może tylko przestęp [roślina rosnąca w głowie żmij], który obecnie ze względu na ochronę żmii zygawkowej jest niedostępny.

Jak widać leczenie kurdziela nie jest łatwe. Należy więc zapobiegać chorobie. Doświadczeni owczarze radzą, aby kupować zwierzęta jedyne ze zdrowych stad. Nie paść owiec na młakach i dbać o ich dobrą kondycję.

Kurdziel może być także niebezpieczny dla ludzi. Dzieci bawiące się w błocie przestrzegają się, żeby tego nie robiły, bo kurdziel wejdzie im pod paznokcie.

Warto porównać powyższe obserwacje i doświadczenie karpaccich owczarzy dotyczące kurdziela z obecną wiedzą na temat kulawki zakaźnej. Ze zdziwieniem będziemy musieli dojść do wniosku, że wprawdzie nasze poglądy na etiologię choroby znacznie się zmieniły, jednak tradycyjne metody leczenia i zapobiegania w sporej mierze są wciąż aktualne.

Słowa kluczowe: owce, kurdziel, kulawka zakaźna

TRZĘSAWKA MAŁYCH PRZEŻUWACZY W POLSCE

M. Polak, W. Rożek, M. Kwaśnik, J. Rola

Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Trzęsawka (z ang. scrapie) to choroba prionowa małych przeżuwaczy zaliczana do pasażowalnych gąbczastych encefalopatii (z ang. TSEs). Charakteryzuje się długim okresem inkubacji, objawami klinicznymi głównie ze strony układu nerwowego (niepokój, panika, pobudzenie, nadwrażliwość na bodźce zewnętrzne, zgrzytanie zębami, agresja, nasilony świąd) oraz 100% śmiertelnością. Poza postacią klasyczną choroby diagnozowana jest także postać atypowa, określana jako NOR98. W jej przebiegu nie stwierdza się objawów świądu, chorują pojedyncze zwierzęta, a profil glikozylacji białka prionowego jest odmienny od profilu postaci klasycznej.

Polska do stycznia 2009 r. była krajem wolnym od trzęsawki chociaż badania monitoringowe rozpoczęto w 2002 r. wraz z rozpoczęciem badań bydła w kierunku BSE przy użyciu szybkich testów. Od 2002 do 2020 zbadano 293144 próbki pnia mózgu od owiec i kóz, uzyskując 109 wyników dodatnich. Dominowały próbki od owiec - 88%. W przypadku kóz uzyskano jedynie 3 wyniki dodatnie. W latach 2009-2015 wykryto 31 przypadków trzęsawki u owiec z importu, co stanowiło 28% wyników dodatnich. Dominowała postać klasyczna (18 przypadków), głównie u owiec z Rumunii, natomiast postać atypowa wykrywana była głównie u owiec ze Słowacji (11 przypadków). Rodzime przypadki trzęsawki diagnozowano jako postać atypowa (NOR98) z wyjątkiem jednej kozy, u której potwierdzono nową odmianę postaci klasycznej choroby. U pozostałych dwóch kóz pochodzenia rodzimego wykryto postać atypową. Od 2016 trzęsawka w Polsce diagnozowana jest wyłącznie w populacji rodzimej małych przeżuwaczy gdzie występuje jedynie postać atypowa choroby (roczna liczba przypadków oscyluje między 5 a 9).

W Polsce, pomimo rosnącej z każdym rokiem liczby wykonywanych badań, corocznie diagnozuje się zaledwie kilka przypadków atypowej postaci trzęsawki, głównie u owiec. Niska liczba przypadków u kóz wynika z niskiej liczby wykonanych badań (12% zbadanych próbek). Jedyny przypadek klasycznej trzęsawki, zdiagnozowany w rodzimej populacji małych przeżuwaczy, wykryto u kozy i charakteryzował się on unikalnymi właściwościami patologicznej formy białka prionowego w badaniach molekularnych.

Słowa kluczowe: trzęsawka, prion, diagnostyka, postać atypowa, NOR98

CASE REPORT: *MYCOPLASMA AGALACTIAE* IN ASSOCIATION WITH *STAPHYLOCOCCUS* SPP. AND *E. COLI* IN A DAIRY GOAT HERD FROM ROMANIA

A.-V. Potârniche^{1*}, S. Zablău^{1*}, D. Olah¹, M. Spînu¹, A. Moroz², M. Mickiewicz²,
M. Czopowicz², J. Kaba²

¹Department of Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Cluj-Napoca, Cluj, Romania

²Division of Veterinary Epidemiology and Economics, Institute of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences, Warsaw, Poland

*These authors contributed equally to this work

Background and aims: Mastitis is an important disease of goats because it decreases the amount and quality of milk production. Clinical signs of mastitis include hard and swollen udder, enlarged supramammary lymph nodes, and sometimes fever. Clinical mastitis is usually limited to sporadic cases, but occasional flock outbreaks can occur. The main causes of clinical mastitis in the dairy production system are bacterial pathogens such as *Mycoplasma* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterobacter* spp., and *Pseudomonas* spp.

Mycoplasma agalactiae is one of the causing agents of contagious agalactia (CA), an infectious disease of small ruminants that causes considerable economic losses worldwide. The disease is characterized by high morbidity, drastic reduction of milk production and interstitial mastitis (in 90% of cases). Little information is available regarding the occurrence of CA in goats from Romania. This is the first report of a CA outbreak in association with *Staphylococcus* spp. and *E. coli* in goats in Romania.

Materials and methods: Blood and milk samples were collected from 32 adult goats which showed clinical signs of mastitis. Serum samples were tested using a commercial ELISA kit (ID Screen® *Mycoplasma agalactiae* indirect). All milk samples were directly cultured using standard bacteriological techniques, and the bacterial pathogens were identified by VITEK 2 Compact System (version 9.02).

Results: *Mycoplasma agalactiae* antibodies were found in 13 samples (40.6%). Five different species of *Staphylococcus* (*S. xylosus*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. chromogens*, and *S. caprae*) and *E. coli* were identified in milk samples based on their biochemical properties..

Conclusions: The diagnosis of CA alone is fastidious and expensive, which justifies our assumption that the disease is under-reported in our country. An overview of all the infectious agents involved in the outbreak, with interest in applying an effective therapy, proves even more so. This study provides the first report of a CA outbreak in association with *Staphylococcus* spp. and *E. coli* in goats in Romania.

WPŁYW DIMETYLOSULFOTLENKU (DMSO) NA ROZWÓJ LARW NICIENI ŻOŁĄDKOWO-JELITOWYCH W TEŚCIE ROZWOJU LARW

**M. Mickiewicz, M. Czopowicz, A. Moroz, O. Szaluś-Jordanow, T. Nalbert,
I. Markowska-Daniel, J. Kaba**

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Inwazje pasożytnicze, zwłaszcza wywołane przez nicienie żołądkowo-jelitowe, są jedną z głównych przyczyn strat ekonomicznych w hodowli kóz na całym świecie. Ich zwalczanie opiera się głównie na stosowaniu środków przeciworobaczych. Powszechne stosowanie tych produktów doprowadziło do pojawienia się lekoopornych szczepów pasożytów. Jednym z dostępnych testów służących do wykrywania lekooporności pasożytów jest test rozwoju larw (ang. larval development test) wykonywany w warunkach *in vitro*. Dimetylosulfotlenek (DMSO) wykorzystywany jest w teście rozwoju larw, jako rozpuszczalnik leków i potencjalnie może wpływać na rozwój larw nicieni żołądkowych oraz uzyskane wyniki badania.

Jaja nicieni żołądkowo-jelitowych wyizolowano z próbek kału pobranych od 2 kóz zarażonych naturalnie. Test rozwoju larw wykonano zgodnie z standardową procedurą. Zamiast wzrastających stężeń leków przeciworobaczych użyto wyłącznie DMSO w następujących stężeniach: 0% (woda destylowana – kontrola), 0,6%, 1,3%, 2,6%, 5,2%, 10,4% i 20,8%. Następnie policzona została liczba rozwiniętych larw inwazyjnych i procentowy rozwój larw w każdym stężeniu. Do porównania procentowego rozwoju larw przy rosnących stężeniach DMSO z procentowym rozwojem larw w próbie kontrolnej (0% DMSO) zastosowano analizę wariancji z powtarzanym pomiarem oraz test post-hoc Dunnetta. Przyjęto poziom istotności (α) równy 0,05.

Wyniki przedstawiono w tabeli. Procent rozwoju larw podano w tabeli jako średnia, odchylenie standardowe oraz zakres, a na wykresie jako średnia i 95% przedział ufności. Wyniki istotne statystycznie oznaczono gwiazdką.

Stężenie DMSO	n	Procent rozwoju larw [%]	Wartość p w porównaniu z próbą kontrolną (0% DMSO)
Kontrola (woda destylowana)	30	95.5 ± 3.1 (87.5 - 100)	-
0,6%	30	97.0 ± 2.6 (89.2 - 100)	0.859
1,3%	30	92.8 ± 4.4 (81.0 - 100)	0.342
2,6%	30	76.3 ± 8.8 (50.0 - 91.8)*	<0.001
5,2%	30	27.6 ± 10.4 (10.8 - 50.0)*	<0.001
10,4%	30	5.7 ± 6.6 (0 - 33.7)*	<0.001
20,8%	30	0 ± 0.2 (0 - 1.2)*	<0.001

Wyniki badania wykazały, że procentowa redukcja rozwoju larw w stężeniu 1,3% DMSO nie jest istotnie niższa od procentowego rozwoju larw w próbie kontrolnej (woda destylowana; 0% DMSO). Zastosowanie w teście rozwoju larw stężenia DMSO powyżej 1,3% może wpływać hamująco na rozwój larw, a tym samym na wyniki testu.

Słowa kluczowe: kozy, lekooporność, nicienie żołądkowo-jelitowe, test rozwoju larw, dimetylosulfotlenek

Badania finansowane przez NCN: UMO-2020/37/B/NZ6/00457, oraz Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego: decyzja nr 9506/E-385/R/2018.

CZY INWAZJA WĘGORKÓW MOŻE PROWADZIĆ DO WYŁYSIEŃ U KÓZ?

M. Mickiewicz, M. Czopowicz, O. Szaluś-Jordanow, A. Moroz, L. Witkowski, T. Nalbert, I. Markowska-Daniel, J. Kaba

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Inwazje węgorków *Strongyloides papillosus* są szczególnie groźne dla kózłąt do 6 miesiąca życia, ale objawy inwazji mogą również występować u zwierząt dorosłych. Inwazja może prowadzić do zapalenia płuc oraz objawów ze strony układu pokarmowego. Pojawia się biegunka (czasami krwotoczną), utrata apetytu, utrata wagi, a w przypadku intensywnych inwazji choroba może prowadzić do śmierci. Larwy migrujące przez skórę mogą powodować stany zapalne skóry przebiegające z intensywnym świądem. Brak jest w piśmiennictwie doniesień, że inwazja *Strongyloides papillosus* objawiać się może także wyłysieniami.

U dwóch dorosłych kóz rasy anglonubijskiej zaobserwowano umiarkowany świąd oraz liczne, rozległe plackowate wyłysienia występujące nieregularnie na powierzchni całego ciała, a szczególnie na małżowinach usznych. Wyłysienia te nie miały związku ze świądem i nie były następstwem ocierania się zwierząt o przedmioty. Z miejsc zmienionych pobrano zeskrobinę oraz włosy, które poddano rutynowemu badaniu mikrobiologicznemu. Kał do badania parazytologicznego pobrano bezpośrednio z prostnicy. Badanie parazytologiczne przeprowadzono za pomocą zmodyfikowanej metody McMastera, dekantacji oraz metody Baermanna.

W badaniu mikrobiologicznym zeskrobiny oraz włosów nie wyhodowano bakterii oraz grzybów chorobotwórczych. Badanie parazytologiczne kału wykazało obecność pojedynczych jaj nicieni z rodzaju *Trichostrongylidea* oraz bardzo licznych jaj nicieni *Strongyloides papillosus*. Na podstawie wyników badania parazytologicznego zastosowano doustnie albendazol w dawce 10 mg/kg. W ciągu 10 dni od podania leku świąd stopniowo ustąpił. Wyłysienia porosły włosami w ciągu 6 tygodni po leczeniu.

Wyniki niniejszych obserwacji mogą sugerować, że inwazja nicieni *Strongyloides papillosus* może się objawiać nie tylko świądem, ale także rozległymi wyłysieniami.

Słowa kluczowe: kozy, nicienie żołądkowo-jelitowe, *Strongyloides papillosus*, węgorki

Badania finansowane przez NCN: UMO-2020/37/B/NZ6/00457, oraz Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego: decyzja nr 9506/E-385/R/2018.

OCENA TRAFNOŚCI DIAGNOSTYCZNEJ KOMPETYCYJNEGO TESTU IMMUNOENZYMATYCZNEGO DO DIAGNOSTYKI WIRUSOWEGO ZAPALENIA STAWÓW I MÓZGU KÓZ

M. Czopowicz, A. Moroz, M. Mickiewicz, M. Samoilenko, O. Szaluś-Jordanow, L. Witkowski, T. Nalbert, I. Markowska-Daniel, J. Kaba

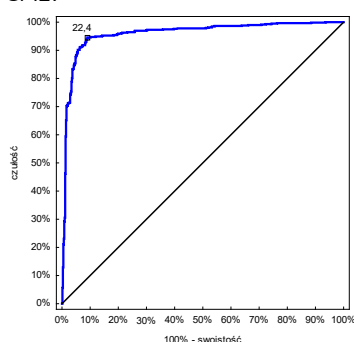
Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Wirusowe zapalenie stawów i mózgu kóz (ang. caprine arthritis-encephalitis, CAE), wywoływane przez lentiwirusa małych przeżuwaczy (ang. small ruminant lentivirus, SRLV), jest chorobą o długim (nawet kilkuletnim) okresie inkubacji, w trakcie którego dochodzi do rozprzestrzeniania się zakażenia między zwierzętami. Z tego względu diagnostyka CAE opiera się na metodach laboratoryjnych, z których najważniejszą rolę odgrywają immunoenzymatyczne testy serologiczne. Obecnie dostępnych jest na rynku kilka testów ELISA o charakterze pośrednim i jeden kompetencyjny test ELISA – Small Ruminant Lentivirus Antibody Test Kit, cELISA (VMRD, USA). Ze względu na ograniczony zakres informacji dostępnych w literaturze przeprowadzono badania mające na celu ocenę trafności diagnostycznej testu cELISA w diagnostyce serologicznej CAE.

Badanie przeprowadzono na próbie 1211 kóz z 16 stad. Próbkę krwi pobrane od kóz zbadano dwoma komercyjnymi pośrednimi testami ELISA – ID Screen MVV/CAEV Indirect (IDvet, France) i IDEXX MVV/CAEV p28 Ab Screening (IDEXX Laboratories, USA). Na tej podstawie uznano 589 kóz (48.6%) za chore a 622 kóz (51.4%) za wolne od CAE.

Pole pod krzywą ROC dla testu cELISA wynosiło 96,0% (95% PU: 94,8% – 97,2%) (wykres 1). Przyjmując punkt odcięcia zalecany przez producenta ($PI > 35\%$) czułość diagnostyczna wynosiła 87,6% (95% PU: 84,7% – 90,0%) a swoistość diagnostyczna – 95,0% (95% PU: 93,0% – 96,5%). Dodatni iloraz wiarygodności wynosił 17,6 (95% PU: 12,5 – 24,8), ujemny – 0,13 (95% PU: 0,11 – 0,16). Optymalny punkt odcięcia przy którym wartość indeksu Youdena była najwyższa (85,4%; 95% PU: 83,9% – 86,9%) wynosił $PI > 22,4\%$. Przy takiej wartości granicznej czułość diagnostyczna wynosiła 94,4% (95% PU: 92,2% – 96,0%) a swoistość diagnostyczna – 91,0% (95% PU: 88,5% – 93,0%). Dodatni iloraz wiarygodności wynosił 10,5 (95% PU: 8,2 – 13,5), ujemny – 0,06 (95% PU: 0,04 – 0,09).

Badanie potwierdziło, że test cELISA jest wysoce trafną metodą do serologicznej diagnostyki CAE.



Wykres 1. Krzywa ROC dla kompetencyjnego testu ELISA do diagnostyki serologicznej CAE

Słowa kluczowe: ELISA, krzywa ROC, lentiwirus małych przeżuwaczy, serologia

Badania finansowane częściowo przez NCN: 2013/09/B/NZ6/03514 i NCBR: ICRAD/I/CAE-RAPID/02/2021.

ANALIZA EKSPRESJI KATELICYDYN I BIAŁEK OSTREJ FAZY W LEUKOCYTACH KRWI KOZIOŁKÓW W PRZEBIEGU ZAPALENIA STAWÓW I MÓZGU KÓZ (CAE) OD URODZENIA DO WIEKU 2 LAT

E. Bagnicka¹, D. Urbańska¹, M. Czopowicz², J. Kaba²

¹Zakład Biotechnologii i Nutrigenomiki, Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN, Jastrzębiec, Polska

²Samodzielny Zakład Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Celem badań było określenie poziomu ekspresji genów katelicydyn i białek ostrej fazy (BOF) w leukocytach krwi koźlątków zakażonych wirusem małych przeżuwaczy (SRLV) vs. koźlęta wolne od zakażenia. Badania prowadzono na 60 wykastrowanych w wieku 4 miesięcy koźlątkach ras mlecznych w ciągu dwóch lat. Co roku 15 koźlątków odchowywano przy matkach zakażonych SRLV. Druga grupa 15 koźląt odłączana była natychmiast po urodzeniu i odchowywana na sianie krowiej (4 dni) i preparacie mlekozastępczym (3 miesiące). Od trzeciego tygodnia życia koźlęta miały dostęp do siana, a od miesiąca do całego ziarna owsa do woli. Koźlęta z grupy eksperymentalnej po odsadzeniu były dokarmiane preparatem mlekozastępczym mając dostęp do siana i ziarna owsa. Wszystkim koźlętom podawano mieszankę mineralno-witaminową dla koźląt. Koźlęta z obu grup utrzymywane były w innych pomieszczeniach. Do badań pobierano pełną krew na EDTA2K tuż po urodzeniu, w 7, 14, 30, 60, 140, 190, 365 i 720 dniu życia. Metodą RT-qPCR, przy zastosowaniu genu *GAPDH* jako referencji, określono poziom ekspresji genów katelicydyn (*BAC5*, *BAC7.5*, *MAP28*, *MAP34*) oraz BOF (*SAA3*, *Hp*, *LALBA*, *CRP*, *AGP4*). Wyniki poddano analizie wariancji z uwzględnieniem w modelu rasy i grupy koźląt oraz roku i terminu pobrania próbek. Relatywną ekspresję genów analizowano jako logarytm naturalny. Wpływ zakażenia stwierdzono jedynie w przypadku *lnLALBA*, zatem ekspresję tego genu przeanalizowano stosując w modelu interakcję grupa*termin pobrania.

Stwierdzono wpływ terminu pobrania na ekspresję wszystkich, z wyjątkiem *SAA*, genów. Ekspresja genów ulegała znacznym fluktuacjom wskazując na wpływ wieku zwierząt i być może warunków środowiska na poziom ich ekspresji. Przy czym ekspresja katelicydyn obniżała się (z niewielkimi wahaniem) wraz z wiekiem zwierząt, a ekspresja BOF, włączając *LALBA*, była na podobnym poziomie do 14 dnia życia, następnie rosła do 60 dnia i spadała, osiągając najniższy poziom ok. 190 dnia życia, pozostając na zbliżonym poziomie w 365 i 720 dniu. Mimo niższego poziomu ekspresji *LALBA* w grupie eksperymentalnej, w obu grupach zaobserwowano podobny kierunek zmian w poszczególnych terminach pobrań.

OBRAZ HISTOPATOLOGICZNY PŁUC W PRZEBIEGU ZAKAŻENIA LENTIWIRUSEM MAŁYCH PRZEŻUWACZY U KÓZ

A. Moroz, M. Czopowicz, M. Mickiewicz, O. Szaluś -Jordanow, L. Witkowski, T. Nalbert, I. Markowska-Daniel, J. Kaba

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Choroby układu oddechowego są jednym z najczęstszych problemów zdrowotnych w stadach kóz. Choroby te mają etiologię bakteryjną, wirusową i pasożytniczą. Jedną z chorób wirusowych powszechnie występujących u kóz w Polsce jest zapalenie stawów i mózgu kóz (CAE) wywoływane przez lentiwirusa małych przeżuwaczy (ang. small ruminant lentivirus, SRLV). W przebiegu tej choroby rozwija się przewlekłe zapalenie stawów, wymienia i śródmiąższowe zapalenie płuc, które mogą predysponować do wtórnych zakażeń bakteryjnych. Celem pracy była ocena zmian histopatologicznych w przebiegu zapalenia płuc u kóz zakażonych SRLV.

Przeprowadzono sekcje 148 kóz, u których serologicznie potwierdzono zakażenie SRLV i które wykazywały kliniczne objawy CAE. Pośmiertnie pobrano 148 fragmentów tkanki płucnej, które utrwalono 4% roztworem formaliny, a następnie poddano badaniu histopatologicznemu. Preparaty barwiono trzema metodami: barwienie hematoksyliną i eozyną (H&E), metodą Massona (w celu zabarwienia tkanki łącznej) oraz metodą Weigerta (w celu zabarwienia fibryny).

Obraz histopatologiczny wskazywał na obecność śródmiąższowego zapalenia płuc o różnym stopniu nasileniu. Obserwowano następujące zmiany histopatologiczne: nacieki zapalne, śródmiąższowe, okołoskrzelowe i okołonaczyniowe, przerost grudek chłonnych wokół naczyń i oskrzelików, pogrubienie przegrody śródmiąższowej w wyniku rozrostu tkanki łącznej i nacieku zapalnego, rozrost mięśni gładkich w oskrzelikach, proliferację pneumocytów oraz ich złuszczenie do światła pęcherzyków. U osobników u których obecne były wtórne zakażenia bakteryjne obraz histopatologiczny wskazywał na nieżytowo-ropne, ropne lub ropno-ziarniniakowe zapalenie płuc. Obserwowano następujące zmiany histopatologiczne: silny okołoskrzelowy naciek zapalny, pogrubienie ścian oskrzeli oraz obecność wysięku lub wysięku ze złuszczonymi komórkami nabłonka i leukocytów w świetle oskrzeli, oskrzelików i pęcherzyków płucnych. W zaawansowanych przypadkach obserwowano również rozedmę, martwicę i przekrwienie.

Badania wskazują, że zakażenie SRLV u kóz powoduje przewlekłe śródmiąższowe zapalenie płuc o różnym nasileniu. W przypadku wtórnego zakażenia bakteryjnego w obrazie histopatologicznym dominuje nieżytowo-ropne, ropne i ropno-ziarniniakowe zapalenie płuc.

Słowa kluczowe: zapalenie płuc, koza, zapalenie stawu i mózgu kóz



SESJA ŻYWIENIA ZWIERZĄT I HIGIENY PASZ

TERENOWE MONITOROWANIE ZEARALENONU I JEGO METABOLITÓW WE KRWI WYSOKOWYDAJNYCH KRÓW MLECZNYCH, W WYBRANYCH MIEJSCACH POBRAŃ, W RÓŻNYCH STANACH CHOROBYCH

M. Gajęcki¹, M. Gajęcka¹, W. Barański²

¹Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmiński – Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

²Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmiński – Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Zearalenon (ZEN) i jego metabolity α -ZEL i β -ZEL są wszechobecne w materiale paszowym wykorzystywanym w żywieniu krów mlecznych. Celem badań było wykonanie rocznych badań monitoringu stada krów mlecznych na obecność ZEN i wybranych metabolitów w próbkach krwi pobranych od zwierząt ze zdiagnozowanym stanem zapalnym wymion, torbielami jajnikowymi i ropomaciczem oraz z wybranych miejsc pobrań (z tzw. układu wrotnego wątroby, wybrano: żyłę jarzmową naczynie typu po wątrobowego; żyłę podskórną brzuszną i środkową żyłę ogonową naczynia typu przed wątrobowego). Mikotoksyny w osoczu krwi były określane łączonymi metodami separacji z zastosowaniem kolumn immunoafinitywnych oraz przy użyciu chromatografii cieczowej z serii Agilent 1260 i systemu spektrometrii masowej. Obecność mikotoksyny macierzystej stwierdzano we wszystkich próbkach pobranych od krów chorych, natomiast obecności α -ZEL i β -ZEL nie stwierdzono w żadnej z pobranych próbek, lub ich wartości mieściły się poniżej granicy wykrywalności. Najwyższe wartości poziomu ZEN odnotowano u krów z ropomaciczem, gdzie udział procentowy średnich wartości stężeń ZEN wyniósł 44%. Udział poszczególnych miejsc pobrań krwi w wartościach poziomu ZEN wykazuje trend wstępujący począwszy od żyły jarzmowej (10.534 ng/mL, co stanowiło 44.07% w tym miejscu pobrań), poprzez uzyskane wartości w próbkach pobranych z żyły podskórnej brzusznej (14.205 ng/mL, co stanowiło 49.59% w tym miejscu pobrań), a skończywszy na wartościach stężeń uzyskanych w próbkach krwi pobranych z żyły środkowej ogonowej (26.677 ng/mL, co stanowiło 67.35% w tym miejscu pobrań). Uzyskane wyniki dokumentują, że próbki krwi do badań toksykologicznych od krów klinicznie zdrowych i/lub w stanach subklinicznych mikotoksykozy zearalenonowej powinno być pobierane z środkowej żyły ogonowej (naczynia krwionośnego przed wątrobowego). Wskazane miejsce pobrań, daje dużo większe prawdopodobieństwo właściwego zdiagnozowania stanu subklinicznego mikotoksykozy zearalenonowej.

Słowa kluczowe: monitorowanie, zearalenon, zapalenie wymion, cysty jajnikowe, ropomacicze, układ wrotny wątroby, krowy mleczne

MIKOTOKSYNY W PASZACH – WSZYSTKO (PRAWIE) CO MUSICIE WIEDZIEĆ A BOICIE SIĘ ZAPYTAĆ ALBO NIE WIECIE A WIEDZIEĆ POWINNIŚCIE

P. Jedziniak

Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Występowanie mykotoksyn w paszach od lat stanowi wyzwanie dla producentów pasz i hodowców zwierząt. Powszechność tych toksyn niemal we wszystkich rodzajach zbóż powoduje, że w praktyce nie ma pasz wolnych od mykotoksyn. Lata badań naukowych skutkują szeroką wiedzę na temat występowania, jak również toksyczności tzw. regulowanych mykotoksyn (aflatoksyny B1, deoksyniwalenolu, fumonizyny B1 i B2, ochratoksyny A, toksyny T-2 i HT-2, zearalenonu). Pasze znajdują się pod kontrolą urzędowych programów monitoringowych. Rozwój technik analitycznych pozwala na szybkie przebadanie dużej liczby próbek pod kątem setek związków. Dynamicznie rozwija się sektor dodatków paszowych, których zadaniem jest wiązanie lub modyfikacja mykotoksyn w paszy. Ten obraz tylko pozornie wydaje się ustabilizowany. Pomimo nakładu środków i pracy ekspertów wydaje się, że jesteśmy dopiero w połowie drogi do rozwiązania problemów związanych z mykotoksynami w paszach.

Badania dostarczają wielu danych, co często prowadzi raczej do wysuwania kolejnych pytań i hipotez niż przybliża nas do odpowiedzi i rozwiązań. Przykładem jest występowanie w paszach tzw. „emerging mycotoxins” czyli nowych związków, których toksyczność nie została ostatecznie określona. Odkrycie mykotoksyn modyfikowanych otworzyło pole do badań naukowych, jednocześnie wskazując, jak bardzo złożony jest obraz narażania organizmów. Wiemy, że mamy do czynienia już nie z pojedynczymi związkami ale z całą ich paletą. Mamy zatem diagnozę problemu, jednak bardzo daleko nam do jego rozwiązania. Brakuje nam narzędzi do oceny toksykologicznej, jak również odpowiednich technologii produkcji paszy i wiązania toksyn.

Doniesienia naukowe skłaniają nas do zadawania kolejnych pytań. Jakie są mechanizmy interakcji nie tylko pomiędzy mykotoksynami ale również ich interakcji z innymi składnikami paszy zarówno odżywczymi jak i toksycznymi? Czy skuteczność zarejestrowanych dodatków paszowych wiążących i modyfikujących mykotoksyny w paszach nie powinna być na nowo zweryfikowana? I w końcu: jak bardzo zmiany klimatyczne zmienią stan naszej wiedzy o występowaniu i toksyczności mykotoksyn?

Szybkość odpowiedzi na te pytania będzie zależała od tego, jak szybko specjaliści z różnych dziedzin zaczną pracować na wspólną strategię walki z mykotoksynami i wdrożą ją jako pakiet praktycznych rozwiązań.

ZATRUCIA INDYKÓW KOKCYDIOSTATYKAMI JONOFOROWYMI

M. Olejnik^{1,2}, K. Pietruk¹

¹Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń, Polska

Stosowanie kokcydiostatyków, w tym kokcydiostatyków jonoforowych (lazalocyd, maduramycyna, monenzyna, narazyna, salinomycyna, semduramycyna) od lat pozostaje jedną z głównych metod walki z kokcydiozą u drobiu. Niektóre z tych związków (narazyna i salinomycyna), choć z powodzeniem stosowane u kurcząt, są toksyczne dla indyków. Zakwalifikowanie kokcydiostatyków do kategorii dodatków paszowych generuje ryzyka związane z zanieczyszczeniem krzyżowym pasz i z niezamierzonym ich spożyciem przez zwierzęta inne niż wymienione w autoryzacji, co może prowadzić do ostrych zatruc.

W latach 2017-2020 w Zakładzie Farmakologii i Toksykologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego podjęto się diagnostyki 32 przypadków podejrzeń zatrucia indyków kokcydiostatykami jonoforowymi: 16 próbek pasz i 27 próbek treści przewodu pokarmowego przebadano metodą chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas. Tylko w jednej paszy nie stwierdzono żadnego kokcydiostatyku, w pozostałych próbkach obecna była monenzyna w stężeniach 0,29-172 mg/kg. Pozostałe kokcydiostatyki jonoforowe były stwierdzane sporadycznie: lazalocyd w jednej próbce, narazyna – w trzech, a salinomycyna – w dwóch. Także w próbkach treści przewodu pokarmowego najczęściej stwierdzano monenzynę (21 próbek), czasem w połączeniu z lazalocydem lub narazyną. Salinomycynę wykryto zaledwie w jednej próbce.

Jednoznaczne potwierdzenie zatrucia kokcydiostatykami jonoforowymi jako przyczyny upadków indyków było możliwe jedynie w jednym przypadku. W pozostałych, stężenia badanych związków w paszy były znacznie niższe niż dawki podawane zwierzętomw kontrolowanych badaniach toksyczności. Ze względu na brak danych dotyczących toksyczności niskich dawek kokcydiostatyków jonoforowych dla indyków, badania w tym zakresie będą prowadzone w nowym projekcie naukowym finansowanym przez NCN, pn. „Mechanizm toksyczności salinomycyny - przyczyny różnic we wrażliwości gatunkowej kurcząt i indyków”.

Słowa kluczowe: kokcydiostatyki jonoforowe, salinomycyna, narazyna, indyki

Badania finansowane przez NCN: UMO-2021/38/E/NZ7/00260.

STOSOWANIE I WYKRYWANIE PRZETWORZONEGO BIAŁKA Z OWADÓW W PASZACH

A. Weiner, M. Skowronek, K. Kwiatek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Stały spadek połowów ryb oraz zwiększone zapotrzebowanie na paszę dla zwierząt gospodarskich i akwakultury spowodowało gwałtowne zmniejszenie dostępności mączki rybnej, oleju rybnego przy jednoczesnym wzroście cen tych materiałów. Z tego względu zostały podjęte działania na rzecz poszukiwania nowych źródeł białek zwierzęcego pochodzenia. Dostępne dane piśmiennictwa wskazują, że przetworzone białko (PAP) owadzie stanowić może alternatywne i potencjalnie ważne źródło białka do wykorzystania w żywieniu zwierząt. Przetworzone białko z owadów charakteryzuje się obecnością łatwo dostępnego źródła białka, lipidów, węglowodanów, niektórych witamin i minerałów, takich jak wapń, żelazo lub cynk.

Początkowo, zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (UE) 2017/893 z dnia 24 maja 2017 r., przetworzone białko pochodzące z owadów oraz mieszanki paszowe zawierające tego rodzaju białko zostało dopuszczone do stosowania jedynie w żywieniu zwierząt akwakultury. W bieżącym roku, na podstawie Rozporządzenia Komisji (UE) 2021/1372 z dnia 17 sierpnia 2021 r. ze względu na fakt, że drób są to zwierzęta owadożerne a trzoda chlewna – wszystkożerne także w żywieniu tych zwierząt zezwolono na stosowanie przetworzonego białka z owadów i mieszanek paszowych zawierających takie białko. Zgodnie z tymi nowelizacjami dopuszczono do stosowania do celów paszowych dla zwierząt przetworzone białko zwierzęce pochodzące od owadów gospodarskich, które uzyskano wyłącznie z następujących gatunków owadów: mucha czarna (*Hermetia illucens*), mucha domowa (*Musca domestica*), mącznik młynarek (*Tenebrio molitor*), pleśniakowiec lśniący (*Alphitobius diaperinus*), świerszcz domowy (*Acheta domestica*), świerszcz bananowy (*Grylloides sigillatus*) oraz świerszcz kubański (*Gryllus assimilis*).

Równocześnie konieczne niezbędne jest opracowanie metod pozwalających na kontrolę stosowania przetworzonych białek z owadów w żywieniu zwierząt gospodarskich. Trwa dostosowanie metod mikroskopowej, rutynowo wykorzystywanej do wykrywania elementów pochodzenia zwierzęcego w paszach, do identyfikacji składników pochodzących z owadów. Dotychczas określono cechy charakterystyczne dla składników przetworzonego białka z owadów: obecność tracheoli, budowa włókien mięśniowych czy oskórka, pozwalających na stwierdzenie obecności dodatku tego rodzaju materiału.

Słowa kluczowe: owady, PAP, zwierzęta gospodarskie

Badania finansowane przez NCBiR 2018–2021 GOSPOSTRATEG 1/385141/16/NCBiR/2018. „Opracowanie strategii wykorzystania alternatywnych źródeł białka owadów w żywieniu zwierząt umożliwiającej rozwój jego produkcji na terytorium RP”, akronim „OWADY”.

WYNIKI BADAŃ PASZ Z UDZIAŁEM BIAŁKA OWADZIEGO NA ZAWARTOŚĆ ORGANIZMÓW GENETYCZNIE ZMODYFIKOWANYCH (GMO)

Z. Sieradzki, M. Mazur, B. Król, K. Kwiatek

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Alternatywą dla białka z soi genetycznie zmodyfikowanej może być przetworzone białko owadzie (PAP). Białko owadzie jest pełnowartościowym i doskonałym źródłem aminokwasów egzogennych, a dodatkowo cechuje się ono wysoką strawnością. Jego zawartość w mączkach pełnotłustych wynosi od 40% do 60 %, a obecność tłuszczu sprawia, że są one bardzo dobrym źródłem energii. Białko owadzie wykazuje działanie antybakteryjne oraz immunostymulujące, co może wpływać na poprawę zdrowotności zwierząt hodowlanych.

Celem pracy była ocena obecności modyfikacji genetycznych w białku z Mącznika młynarka, Muchy afrykańskiej i paszach z ich udziałem. W ramach projektu zbadano 41 próbek białka owadziego i pasz z dodatkiem PAP owadziego w kierunku elementów charakterystycznych dla GMO: promotora wirusa mozaiki kalafiora (CaMV P-35S), terminatora syntazy nopalinozylowej (T-nos), genu fosfotransferazy neomycyny II (nptII), promotora wirusa mozaiki trędownika (pFMV), genu N-acetylotransferazy fosfinotrycyny (pat), genu N-acetylotransferazy fosfinotrycyny (bar), konstruktu sekwencji peptydu chloroplastowego epsps (CTP2) i genu CP4 epsps (CTP2-CP4-EPSPS).

Wyniki badań PAP owadziego wykazały brak obecności wskazanych elementów genetycznych, z wyjątkiem dwóch próbek z Muchy afrykańskiej. Uzyskano wyniki wskazujące na możliwą obecność genu nptII, po sekwencjonowaniu produktów PCR wykluczono obecność genu nptII w tym PAP.

Wyniki badań pasz z dodatkiem PAP owadziego na kilku poziomach zawartości oraz zawierających dodatkowo białko sojowe, w celu uzupełnienia do 100% zapotrzebowania zwierząt na białko, wykazały obecność sekwencji P-35S, T-nos, pFMV, pat i CTP2-CP4-EPSPS. W paszach zawierających 100% mączek owadzie jako źródło białka paszowego nie stwierdzono obecności poszukiwanych elementów genetycznych. Wyniki badań wskazują na brak sekwencji charakterystycznych dla GMO w paszach zawierających wyłącznie białko owadzie, a stwierdzane wyniki pozytywne wskazują na obecność białka sojowego produkowanego z soi zmodyfikowanej genetycznie.

Brak obecności GMO w PAP owadzie wskazuje na możliwość jego zastosowania w produkcji pasz i żywności zwierzęcego pochodzenia certyfikowanych przez producentów znakiem „bez GMO” lub „wyprodukowano bez stosowania GMO”.

Słowa kluczowe: białko owadzie, pasze, GMO

Badania finansowane przez NCBR: 1/385141/16/NCBR/2018.

WPŁYW ODCHOWU JAŁÓWEK W OKRESIE PODAWANIA PASZ PŁYNNYCH NA WYNIKI PRODUKCYJNE W PIERWSZEJ LAKTACJI

B. Stefańska¹, M. Gąsiorek², P. Sobolewska¹, W. Nowak²

¹Katedra Łąkarstwa i Krajobrazu Przyrodniczego, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

²Katedra Żywienia Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Pomimo ukierunkowania w ostatnich latach postępu genetycznego wspartego oceną genomową przede wszystkim na cechy funkcjonalne, krowy mleczne żyją nadal zbyt krótko. Wysoki wskaźnik brakowania w stadach bydła mlecznego wynikający ze skrócenia długowieczności krów jest jedną z przyczyn dużego zapotrzebowania na żeński materiał hodowlany. Optymalizacja programu żywienia cieląt w tym w pierwszych ośmiu tygodniach życia jest szczególnie ważna, gdyż wpływa bezpośrednio na zdrowotność oraz tempo wzrostu determinujące wiek wykonania pierwszego zabiegu inseminacji i wycielenia jałówek oraz ich produktywność. Jednakże, aktualnie w literaturze można znaleźć niewiele rezultatów prezentujących wpływ odchowu jałówek w okresie podawania pasz płynnych na wyniki produkcyjne w pierwszej laktacji. Dlatego celem badań było określenie wpływu koncentracji białka całkowitego (BC) jako biomarkera odporności siarowej cieląt, spożycia mieszanki treściwej typu starter w ostatnim tygodniu pierwszego okresu odchowu oraz średnich dobowych przyrostów masy ciała w okresie podawania pasz płynnych na wskaźniki płodności i wyniki produkcyjne jałówek w pierwszej laktacji.

Materiał badawczy stanowiło 84 cieliczki rasy Polskiej Holsztyńsko-Fryzyjskiej. Doświadczeniem objęto okres podawania pasz płynnych, a następnie badania kontynuowano do zakończenia pierwszej laktacji.

Maksymalizacja odporności siarowej (BC >6.0 g/dL) i spożycia paszy stałej (>1.70 kg/d) wpłynęły pozytywnie na termin wystąpienia pierwszej rui oraz pozwoliła na wykonanie zabiegu pierwszej inseminacji jałówek w wieku 13 miesięcy, skracając tym samym wiek 1. wycielenia o jeden miesiąc. Wykazano potwierdzony statystycznie pośredni wpływ koncentracji BC po pierwszej dobie życia na wyniki produkcyjne jałówek – wyższa wydajność o 1558 kg mleka w porównaniu do zwierząt o słabszej odporności siarowej. Z drugiej strony średni przyrost masy ciała w okresie podawania pasz płynnych (> 800 g/d) wpłynął pozytywnie na wskaźniki płodności w tym skrócenie wieku pierwszego wycielenia o 20 dni oraz wyniki produkcyjne jałówek – wyższa wydajność o 829 kg mleka oraz mleka skorygowanego na zawartość 4% tłuszczu o 863 kg w pierwszej laktacji w porównaniu do zwierząt o niższym potencjale wzrostowym.

Słowa kluczowe: odchow cieląt, płodność, produktywność

WPŁYW DEOKSYNIWALENOLU NA WCHŁANIANIE AMOKSYCYKLINY I DOKSYCYKLINY – BADANIA *EX VIVO*

M. Mendel¹, W. Karlik¹, U. Latek¹, M. Chłopecka¹, E. Nowacka-Kozak², K. Pietruszka², P. Jedziniak²

¹Zakład Farmakologii i Toksykologii, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Pomimo starań producentów pasz, hodowców zwierząt, a także działań regulatorowych narażenie zwierząt na mykotoksyny poprzez spożycie zanieczyszczonych pasz pozostaje powszechnym problemem. Biorąc pod uwagę warunki geograficzne i klimatyczne jedną z mykotoksyn stanowiących największe zagrożenie dla zdrowia i produktywności trzody chlewnej w Polsce jest deoksyniwalenol (DON). Analizując wyniki badań poświęconych częstotliwości występowania DON w paszach należy przyjąć, że świny są narażone na tę toksynę w sposób ciągły, a jedynie intensywność jej spożycia z paszą ulega wahaniom. Mając na uwadze, że DON negatywnie wpływa na integralność i przepuszczalność bariery jelitowej, zasadnym wydaje się weryfikacja wpływu tej mykotoksyny na intensywność wchłaniania antybiotyków powszechnie wykorzystywanych w leczeniu chorób świń, tj. amoksycykliny (AMX) i doksycykliny (DOX).

Badania przeprowadzono wykorzystując alternatywny model doświadczalny *ex vivo*. Wpływ DON (90 μ M) na integralność i przepuszczalność bariery jelitowej oraz transport AMX (200 μ g/ml) i DOX (100 μ g/ml) oceniano wykorzystując świeże eksplanty błony śluzowej izolowane z jelita czczego dorosłych świń, poddając je badaniu w komorach Ussinga podczas 90 min. inkubacji.

Uzyskane wyniki potwierdzają negatywny wpływ DON na szczelność bariery jelitowej. Zarówno pomiar transbłonowego oporu elektrycznego TEER (istotny spadek w obecności DON), jak i przenikanie markera transportu paracellularnego lucifer yellow – LY (około 2-krotny wzrost transportu w obecności DON) wskazują na zmniejszenie integralności oraz zwiększenie przepuszczalności błony śluzowej świni. Jednocześnie na podstawie pomiaru aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) nie zaobserwowano cytotoksycznego działania DON względem komórek budujących barierę jelitową. Obecność DON nie wpłynęła istotnie na transport AMX. Natomiast w przypadku DOX, obecność DON ponad czterokrotnie nasilała transport tego antybiotyku (z 0,73 do 3,83 ng/min/cm²).

Przedstawione wyniki sugerują, że szybkość wchłaniania a być może i całkowita biodostępność DOX podanej doustnie u świń, mogą być znacząco wyższe w przypadku spożywania przez zwierzęta pasz zanieczyszczonych DON. W celu weryfikacji uzyskanych wyników i ich znaczenia dla lekarzy weterynarii opiekujących się stadami trzody chlewnej wskazane jest przeprowadzenie badań *in vivo*.

Słowa kluczowe: deoksyniwalenol, amoksycyklina, doksycyklina, trzoda chlewna, *ex vivo*

Badania finansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki (UMO-2016/23/B/NZ7/02273).

ROLA DEOKSYNIWALENOLU W IMMUNOHISTOCHEMICZNEJ EKSPRESJI JELITOWYCH RECEPTORÓW ESTROGENOWYCH I GENÓW KODUJĄCYCH WYBRANE ENZYMY OKRĘŻNICY U NIEDOJRZAŁYCH PŁCIOWO LOSZEK

M. Gajęcka, Ł. Zielonka, M. Gajęcki

Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Zgodnie z najnowszymi doniesieniami naukowymi (sporadycznymi) deoksyniwalenol może nasilać lub hamować procesy proliferacyjne i apoptotyczne, zakłócać homeostazę hormonów steroidowych i uczestniczyć w procesach metabolicznych w błonie śluzowej jelita grubego. Celem tego badania była ocena wpływu dziennej dawki deoksyniwalenolu (12 µg deoksyniwalenolu / kg masy ciała przez 42 dni) na immunohistochemiczną ekspresję receptora estrogenowego alfa i receptora estrogenowego beta w jelitach oraz ekspresję mRNA wybranych enzymów okrężnicy u niedojrzałych płciowo loszek. Podczas eksperymentu, procesy proliferacji zostały nieco zintensyfikowane ze względu na wzrost ekspresji receptorów estrogenowych (od 0 do 3), w szczególności receptora estrogenowego beta w okrężnicy wstępującej loszek niedojrzałych płciowo oraz spadek ekspresji cytochromu P450 i nieznaczny S-transferazy glutationu genu π , co wskazuje na opóźnione ryzyko zaburzeń metabolicznych. Nasze odkrycia mogą ułatwić mechanistyczne zrozumienie zmian w ekspresji receptora estrogenowego alfa i beta estrogenowego podczas niskodawkowej mikotoksykozy deoksyniwalenolowej.

Słowa kluczowe: deoksyniwalenol, receptory estrogenowe, enzymy kodujące, okrężnica, niedojrzałe płciowo loszki.

Badania finansowane ze środków dotacji KNOW Konsorcjum Naukowego „Zdrowe Zwierzę - Bezpieczna Żywność”, decyzja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 05-1/KONOW2/2015.

OCENA GENOTOKSYCZNOŚCI I MIKROBIOMU JELITOWEGO U NIEDOJRZAŁYCH PŁCIOWO LOSZEK NARAŻONYCH NA NISKIE DAWKI ZEARELENONU

K. Cieplińska¹, M. Gajęcka², A. Nowak³, M. Dąbrowski², Ł. Zielonka², M. Gajęcki²

¹Laboratorium Mikrobiologiczne NZOZ, Olsztyn, Polska

²Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

³Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, Łódź, Polska

Zearalenon jest mikotoksyną o niskiej masie cząsteczkowej, naturalnie wytwarzaną jako wtórny metabolit grzybów pleśniowych. Celem prac było określenie aktywności ZEN w jelitach podczas badań czasowej zmienności genotoksycznej *caecal water* oraz zmienności mikrobioty i mykobioty jelitowej niedojrzałych płciowo loszek narażonych *per os* niskimi dawkami zearalenonu (MABEL, NOAEL i niską dawką LOAEL).

Doświadczenie *in vivo* przeprowadzono na 60 klinicznie zdrowych niedojrzałych płciowo loskach, o początkowej masie ciała (mc) $14,5 \pm 2$ kg. Zwierzęta zostały losowo wybrane do trzech grup doświadczalnych (grupa ZEN5, grupa ZEN10 i grupa ZEN15; n=15) i grupy kontrolnej (grupa C, n=15). Loszkom z grupy ZEN5 podawano *per os* ZEN w dawce 5 µg ZEN/kg mc (dawka MABEL), loszkom z grupy ZEN10 - 10 µg ZEN/kg mc (dawka NOAEL) i loszkom z grupy ZEN15 - 15 µg ZEN/kg mc (dawka LOAEL). W 1. (w 7. dniu narażenia), 2. (w 21. dniu narażenia) i 3. (w 42. dniu narażenia) terminie narażenia ZEN, poddano eutanazji po 5 loszek z każdej z grup doświadczenia. Próbkę do badań mikrobioty i mykobioty jelitowej pobierano po resekcji fragmentu jelit z rejonu: dwunastnicy - części pierwszej tzw. opuszka dwunastnicy oraz z poziomej lub trzeciej części dwunastnicy; jelita czczego; u ujścia jelita ślepego; i zstępującej części okrężnicy - od części środkowej. Do badań genotoksyczności próbkę pobierano z odcinka biodrowo-ślepo-okrężniczego. Segmenty jelitowe zostały zawiązywane na obu końcach przed resekcją. Materiał badawczy składał się z próbek pobranych w sposób sterylny i dostarczanych do specjalistycznych laboratoriów. Stopień genotoksyczności *caecal water* określano wykorzystując test kometowy, który umożliwia analizę modyfikacji DNA. Badania mikrobioty i mykobioty wykonano korzystając z testów mikrobiologicznych.

W trakcie badań genotoksyczności stwierdzano, wzrost stopnia siły korelacji o wysokich wartościach w 1. terminie narażenia w grupie C i ZEN5 (słaba zależność), z silną tendencją spadkową, do braku związku liniowego w grupie ZEN5. W grupach ZEN10 i ZEN15 (umiarkowana zależność) z nieznaną tendencją spadkową w kolejnych terminach narażenia. Badania elektroforetyczne eksponowanych komórek, w grupie C i ZEN5 udokumentowały liczne komety bez ogona, a w grupach ZEN10 i ZEN15 stwierdzono mniej liczne komety, ale o silnie i bardzo silnie wyrażonych ogonach (odpowiednio). Podczas badań mikrobioty jelitowej stwierdzano występowanie różnic w wartościach logarytmicznych między proksymalnym a dystalnym odcinkiem jelit w układzie statycznym (w określonym terminie badań), jak i dynamicznym (w trakcie doświadczenia), a dotyczyło to głównie *Escherichia coli* i *Enterococcus faecalis*. W wyniku przeprowadzonych badań laboratoryjnych stwierdzono, że bardzo niskie dawki ZEN (MABEL, NOAEL i niska dawka LOAEL) w różnych terminach narażenia, są przyczynkiem uszkodzeń DNA proporcjonalnie do dawki badanej mikotoksyny. W efekcie, można postawić wstępną hipotezę, że zaproponowaną dawkę "MABEL" należałoby rozważyć jako dawkę prewencyjną dla młodych rozwijających się loszek.

Słowa kluczowe: Zearalenon, niskie dawki, *caecal water*, genotoksyczność, mikrobiota jelitowa, mykobiota jelitowa, niedojrzałe płciowo loszki

Badania finansowane ze środków dotacji KNOW Konsorcjum Naukowego „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność”, decyzja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 05-1/KNOW2/2015.

WPLYW DODATKU PASZOWEGO NA WYBRANE PARAMETRY ODPORNOŚCI KOMÓRKOWEJ I PRZYROSTY MASY CIAŁA CIELĄT

E. Szacawa¹, K. Dudek¹, D. Bednarek¹, B. Muszyńska², D. Bederska-Łojewska³, M. Pieszka³

¹Zakład Chorób Bydła i Owiec, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków, Polska

³Zakład Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Instytut Zootechniki - Państwowy Instytut Badawczy, Balice, Polska

Żywienie cieląt we wczesnym etapie odchowu jest niezwykle istotne. W tym okresie układ odpornościowy dopiero się kształtuje, a w układzie pokarmowym zachodzą intensywne zmiany rozwojowe. Cielęta są też wyjątkowo wrażliwe na zachorowania spowodowane licznymi drobnoustrojami chorobotwórczymi, co niesie za sobą znaczne straty ekonomiczne. W celu utrzymania właściwego stanu zdrowotnego zwierząt oraz efektywnego wykorzystania składników pokarmowych i poprawy parametrów produkcyjnych stosuje się różnorodne dodatki paszowe. Celem prezentowanych badań było określenie wpływu nowatorskiego dodatku paszowego na wybrane parametry odporności nieswoistej oraz na przyrosty masy ciała cieląt (m.c.).

Cielęta (n=12) w wieku 8-12 tyg. zostały losowo podzielone na dwie równe grupy: doświadczalną (D) otrzymującą paszę zawierającą dodatek paszowy i kontrolną (K) – bez dodatku. Dodatek ten zawierający: liofilizowaną grzybnię *Lentinula edodes*, enzymy egzogenne, chronione kwasy organiczne, maślan sodu i nanocząsteczki dwutlenku krzemu podawany był cielętom raz dziennie przez okres 10 tyg. W badaniach laboratoryjnych oznaczano: liczbę krwinek białych (WBC) i ich subpopulacji: limfocytów (LYM), monocytów (MON) i granulocytów (GRA) we krwi obwodowej oraz monitorowano przyrosty m.c. cieląt w odstępach tygodniowych, tj. tuż przed rozpoczęciem podawania dodatku oraz przez 10 tygodni trwania doświadczenia. W przebiegu doświadczenia obliczano średnie dzienne przyrosty masy ciała (ADG) i wskaźnik zużycia paszy (FCR) cieląt.

Otrzymane wartości WBC, LYM, MON i GRA dla grupy D były porównywalne do tych otrzymanych dla grupy K i utrzymywały się w zakresach referencyjnych. W pierwszych tyg. obserwacji odnotowano nieznaczne różnice w wartościach pomiędzy grupami, zwłaszcza dla MON i GRA, lecz również one nie były statystycznie istotne i zmniejszały się w trakcie trwania doświadczenia. Dla grupy D m.c. w ostatnim, 10 tyg. doświadczenia, wynosiła 154,17 kg, ADG – 598 g i FCR – 3,28, a dla grupy K odpowiednio: 148,67 kg, 574 g i 3,42. Różnice pomiędzy badanymi grupami dla wymienionych wartości nie były statystycznie istotne.

Wyniki badań wykazały, że wartości wybranych parametrów odpornościowych: WBC, LYM, MON oraz GRA u cieląt doświadczalnych utrzymywały się w zakresie wartości referencyjnych nie różniąc się statystycznie od wartości notowanych u zwierząt kontrolnych. Natomiast u cieląt grupy D m.c. oraz ADG były wyższe, a FCR nieco niższe w porównaniu do grupy K. Otrzymane wyniki badań wykazały, że stosowany u cieląt dodatek paszowy nie wywołuje istotnego wpływu na wybrane wskaźniki odporności nieswoistej, obserwuje się natomiast tendencję do zwiększonych przyrostów masy ciała zw. i lepszego wykorzystania paszy.

Słowa kluczowe: cielęta, dodatek paszowy, odporność nieswoista, przyrosty masy ciała

OCENA WYSTĘPOWANIA SUBSTANCJI PRZECIWBAKTERYJNYCH W PASZACH STOSOWANYCH U ZWIERZĄT GOSPODARSKICH

M. Przeniosło-Siwczyńska, E. Patyra, A. Grelik, M. Chyłek-Purchała, B. Kozak, K. Kwiatek

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Substancje przeciwbakteryjne, czyli antybiotyki, sulfonamidy i chinolony znalazły bardzo szerokie zastosowanie w medycynie weterynaryjnej. Pojawiające się doniesienia na temat nadużywania lub nielegalnego stosowania antybiotyków i innych substancji przeciwbakteryjnych w produkcji zwierzęcej powodują, że kontrola stosowania tych substancji u zwierząt gospodarskich jest niezbędna i bardzo istotna, szczególnie w kontekście problemu antybiotykooporności i ochrony zdrowia publicznego, a także występowania pozostałości w żywności pochodzenia zwierzęcego oraz wpływu tych związków na środowisko.

Celem pracy była ocena występowania substancji przeciwbakteryjnych w paszach stosowanych w żywieniu zwierząt gospodarskich. Wyróżnić można dwie główne przyczyny występowania substancji przeciwbakteryjnych w paszach: nielegalne stosowanie przez hodowców zwierząt lub niepożądana obecność w wyniku zanieczyszczenia krzyżowego, np. w wytwórni pasz.

Próbki do badań w kierunku wykrywania substancji przeciwbakteryjnych stanowiły mieszanki paszowe pełnoporcjowe, mieszanki paszowe uzupełniające/premiksy, materiały paszowe oraz pasze niedocelowe (pasze wyprodukowane po wytworzeniu pasz leczniczych) stosowane w żywieniu zwierząt gospodarskich. W latach 2013 - 2020 zbadano łącznie 664 próbki pasz, z czego 220 próbek stanowiły pasze dla trzody chlewnej, 165 - pasze dla drobiu i 65 - pasze dla bydła. Ponadto przebadano 37 próbek mpu/premiksov, 36 materiałów paszowych i 141 pasz niedocelowych. Badania były prowadzone przy zastosowaniu przesiewowej metody mikrobiologicznej oraz przy użyciu metod instrumentalnych opartych na chromatografii cieczowej z różnymi rodzajami detektorów (LC-MS, HPLC-FLD).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że spośród zbadanych próbek w 124 wykryto obecność substancji przeciwbakteryjnych, co stanowiło ogółem 18,7% wszystkich próbek. Uzyskane wyniki wykazały, że w 59 (47,6%) próbkach stwierdzono obecność tylozyny, w 50 (40,3%) obecność antybiotyków tetracyklinowych, a w 15 wykryto obecność substancji przeciwbakteryjnych, takich jak: amoksylicyna, enrofloksacyna, linkomycyna i tiamulina.

Słowa kluczowe: pasze, substancje przeciwbakteryjne, antybiotyki, badanie przesiewowe, badania potwierdzające

BEZPIECZEŃSTWO PASZ LECZNICZYCH STOSOWANYCH U ZWIERZĄT GOSPODARSKICH NA PODSTAWIE BADAŃ LABORATORYJNYCH

M. Przeniosło-Siwczyńska, M. Chyłek-Purchała, B. Kozak, A. Grelik, E. Patyra, K. Kwiatek

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Pasza lecznicza jest specyficznym rodzajem paszy i jednocześnie jest jednym ze sposobów podania leków zwierzętom gospodarskim. Pasze lecznicze mogą być wytworzone jedynie na zlecenie lekarza weterynarii i tylko z udziałem premiksów leczniczych, które są produktami leczniczymi weterynaryjnymi, w wytwórni pasz zatwierdzonej przez właściwego wojewódzkiego lekarza weterynarii. Najważniejszą grupą produktów leczniczych weterynaryjnych, które wchodzi w skład premiksów leczniczych są substancje przeciwbakteryjne. W celu zapewnienia bezpieczeństwa stosowanych w żywieniu zwierząt gospodarskich pasz leczniczych kluczowy jest odpowiedni sposób mieszania i zapewnienie homogeniczności paszy leczniczej, zastosowana dawka substancji czynnej oraz przestrzeganie okresu karencji. Zastosowanie paszy leczniczej musi być uzasadnione biorąc pod uwagę aspekty związane z kwestią antybiotykooporności i związane z tym problemy epidemiologiczne.

Celem pracy była ocena bezpieczeństwa pasz leczniczych stosowanych u zwierząt gospodarskich. Bezpieczeństwo i skuteczność pasz leczniczych gwarantowane są koniecznością zachowania ich homogeniczności i utrzymania stałej zawartości substancji czynnej, co podlega kontroli laboratoryjnej w ramach kontroli producenckiej i urzędowej kontroli pasz.

Próbki do badań stanowiły pasze lecznicze wytwarzane w Polsce i stosowane u zwierząt gospodarskich, głównie u trzody chlewnej. W latach 2014 - 2020 zbadano łącznie 207 pasz leczniczych w kierunku ich homogeniczności ($n=5$) oraz 142 próbki pasz leczniczych na zawartość substancji czynnej. Najwięcej próbek stanowiły pasze lecznicze z tylozyną (26,6%), amoksycyliną (16,3%) oraz sulfonamidami (16%). Badania wykonano przy użyciu metod mikrobiologicznych, dyfuzyjnych, których zasada polega na ekstrakcji badanej próbki odpowiednią mieszaniną ekstrakcyjną, właściwym rozcieńczeniu ekstraktu i oznaczeniu aktywności antybiotyku przez pomiar dyfuzji danej substancji w pożywce inokulowanej zawiesiną szczepu testowego. Ponadto badania prowadzono także przy użyciu metod chromatograficznych (LC-MS, HPLC-DAD) do oznaczania sulfonamidów i fenikoli.

Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki badań stwierdzono, że 19 (9,2%) pasz leczniczych nie spełniało wymagań, co do homogeniczności. Natomiast w 22 próbkach (15,5%) zawartość antybiotyku nie była zgodna z zawartością deklarowaną. Odsetek próbek niespełniających wymagań co do zawartości substancji czynnej lub braku homogeniczności wyniósł ogółem 11,7%.

Słowa kluczowe: pasze lecznicze, substancje czynne, antybiotyki, homogeniczność, urzędowa kontrola

ZASTOSOWANIE METODY MIKROBIOLOGICZNEJ DO WYKRYWANIA SUBSTANCJI PRZECIWBAKTERYJNYCH W BIAŁKU OWADZIM I PASZACH WYTWORZONYCH Z UDZIAŁEM BIAŁKA OWADZIEGO

M. Przeniosło-Siwczyńska, M. Chyłek-Purchała, B. Kozak, K. Kwiatek

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Owady jako źródło pełnowartościowego białka, tłuszczów oraz innych składników odżywczych stanowią alternatywę w stosunku do tradycyjnej żywności pochodzenia zwierzęcego. W związku z rosnącymi niepokojami związanymi z trudnościami z produkcją żywności oraz wpływem hodowli zwierząt gospodarskich na środowisko naturalne, konieczne stało się poszukiwanie nowych, alternatywnych źródeł białka. Gatunki owadów, które zostały uznane za zwierzęta gospodarskie, np. czarna mucha (*Hermetia illucens*) czy mącznik młynarek (*Tenebrio molitor*) spełniają warunki bezpieczeństwa w zakresie produkcji przetworzonego białka owadziego do celów żywnościowych i paszowych, tzn. nie są uznane za chorobotwórcze, nie dają niepożądanych skutków dla zdrowia roślin, zwierząt i ludzi, nie są chronione ani określone jako inwazyjne i są hodowane zgodnie z zasadami rolnictwa ekologicznego, bez stosowania pestycydów, hormonów lub antybiotyków.

Celem pracy była ocena występowania substancji przeciwbakteryjnych w przetworzonym białku owadziego i paszach wytworzonych z udziałem białka owadziego przy użyciu metody mikrobiologicznej, rutynowo stosowanej do badania pasz w kierunku wykrywania substancji przeciwbakteryjnych.

Materiał do badań stanowiło przetworzone białko owadziego pozyskane z mącznika młynarka (5 próbek), przetworzone białko owadziego pozyskane z czarnej muchy (5 próbek), mieszanki paszowe z białkiem owadziego z mącznika młynarka (18 próbek) oraz mieszanki paszowe z białkiem owadziego z czarnej muchy (12 próbek). Łącznie zbadano 40 próbek. Do badań zastosowano metodę mikrobiologiczną, dyfuzyjną, 8-płytkową, która wykorzystuje zasadę hamowania wzrostu szczepów testowych w określonym podłożu agarowym przez substancje przeciwbakteryjne zawarte w badanej próbce.

Na podstawie przeprowadzonych badań uzyskano następujące wyniki: wynik dodatni, czyli obecność stref zahamowania wzrostu szczepów testowych stwierdzono we wszystkich próbkach białka owadziego pochodzącego z czarnej muchy. Natomiast wynik ujemny, czyli brak stref zahamowania wzrostu stwierdzono w próbkach białka owadziego z mącznika młynarka. Ponadto wyniki dodatnie uzyskano dla mieszanek paszowych wytworzonych z udziałem białka owadziego z czarnej muchy. Należy zauważyć, że dane literaturowe wskazują na możliwość wytwarzania przez owady, np. czarną muchę (*Hermetia illucens*) peptydów przeciwbakteryjnych, których obecność mogła spowodować uzyskanie wyników dodatnich w przeprowadzonych badaniach.

Słowa kluczowe: owady, białko owadziego, substancje przeciwbakteryjne, peptydy przeciwbakteryjne

Projekt badawczy finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju 2018-2021 GOSPOSTRATEG 1/385141/16/NCBR/2018 „Opracowanie strategii wykorzystania alternatywnych źródeł białka owadów w żywieniu zwierząt umożliwiającej rozwój jego produkcji na terytorium RP „OWADY”.

PRZETWORZONE BIAŁKA ZWIERZĘCE – MOŻLIWOŚCI STOSOWANIA, WYKRYWANIA I IDENTYFIKACJI W ŚWIELE AKTUALNYCH PRZEPISÓW

A. Weiner, M. Skowronek, K. Kwiatek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Zgodnie z definicją zawartą w Rozporządzeniu Komisji (UE) Nr 142/2011, przetworzone białko zwierzęce oznacza białko zwierzęce otrzymane całkowicie z materiału kategorii 3, poddane obróbce zgodnie z załącznikiem X rozdział II sekcja 1 (w tym mączkę z krwi i mączkę rybną) w celu uczynienia go zdatnym do bezpośredniego zastosowania jako materiał paszowy lub do jakichkolwiek innych zastosowań w paszach, w tym w karmie dla zwierząt domowych, bądź do wykorzystania w nawozach organicznych lub polepszaczach gleby. Jednak nie obejmuje ono produktów z krwi, mleka, produktów na bazie mleka, produktów pochodnych mleka, siary, produktów z siary, osadu z centrifuż lub separatorów, żelatyny, hydrolizatów białkowych ani fosforanu diwapniowego, jaj i produktów jajecznych, w tym skorupki jaj, fosforanu triwapniowego ani kolagenu.

Pierwsze ograniczenie, które dotyczyło stosowania mączek mięsno-kostnych pochodzących od przeżuwaczy w żywieniu bydła, wprowadzono w Wielkiej Brytanii 18 lipca 1988 r. Z początkiem lipca 1994 r. wprowadzono kolejne restrykcje w zakresie karmienia bydła, owiec i kóz mączkami pochodzącymi z przetwarzania tkanek ssaków. Następnie od 2001 r., zgodnie z Rozporządzeniem (WE) Nr 999/2001 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 maja 2001 r., ustanawiającym zasady zapobiegania, kontroli i eliminacji pewnych postaci zakaźnego gąbczastego zwyrodnienia mózgu (TSE), wprowadzono ograniczenia stosowania przetworzonych białek zwierzęcych (tzw. „feed ban”). Od czasu kryzysu związanego z BSE regulacje prawne dotyczące zakazu pasz i wykorzystania białek zwierzęcych w paszach ulegają ciągłym zmianom.

Obecnie obowiązuje Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 2021/1372 z dnia 17 sierpnia 2021 r., zgodnie którym możliwe jest stosowanie: przetworzonego białka zwierzęcego ze świń i drobiu w żywieniu świń i drobiu z zachowaniem zakazu powtórnego przetwarzania wewnątrzgatunkowego, kolagenu i żelatyny pochodzących z przeżuwaczy w żywieniu zwierząt innych niż przeżuwacze oraz przetworzonych białek z owadów gospodarskich w żywieniu drobiu, trzody chlewnej oraz zwierząt akwakultury.

W celu zapewnienia właściwej kontroli stosowania przetworzonych białek pochodzenia zwierzęcego w żywieniu zwierząt dostępne są metody analityczne: metoda mikroskopowa pozwalająca wykryć obecność składników pochodzących z ze zwierząt lądowych i ryb oraz real-time PCR do identyfikacji DNA przeżuwaczy, wieprzowego i drobiowego.

Słowa kluczowe: pasze, PAP, zwierzęta gospodarskie, mikroskop, PCR

ZASTOSOWANIE TECHNIKI REAL-TIME PCR DO WYKRYWANIA I OZNACZANIA ZAWARTOŚCI ORGANIZMÓW GENETYCZNIE ZMODYFIKOWANYCH (GMO) W PASZACH

Z. Sieradzki, M. Mazur, B. Król, K. Kwiatek

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Powierzchnia upraw roślin genetycznie zmodyfikowanych (GM) na świecie wynosi ponad 190 milionów hektarów i są to w większości takie gatunki jak soja, kukurydza, bawełna, rzepak czy ryż. Najpopularniejsze cechy wprowadzone poprzez modyfikacje genetyczne to odporność na herbicydy i szkodniki, jednak coraz częściej rośliny modyfikuje się w celu wprowadzenia kilku nowych cech jednocześnie. Szerokie zastosowanie w produkcji żywności i pasz znajdują produkty otrzymywane z mikroorganizmów genetycznie zmodyfikowanych, jak witaminy czy aminokwasy. Kolejne etapy rozwoju inżynierii genetycznej prowadzić będą do poprawy i uzupełniania składu roślin w niedoborowe związki, czy syntezę obcych gatunkowo związków w roślinach np. antygenów w celu indukowania odporności zwierząt hodowlanych na choroby.

Celem pracy była identyfikacja głównych gatunków roślin GM stosowanych w paszach dla zwierząt w Polsce. W badaniach zastosowano technikę real-time PCR, a metody analityczne dla soi, kukurydzy czy rzepaku GM zostały zaczerpnięte z bazy danych metod EURL GMFF. Od 2004 roku przebadano łącznie ponad 1500 próbek gotowych mieszanek paszowych i materiałów paszowych wyprodukowanych z/lub zawierających soję, kukurydzę lub rzepak. Odsetek próbek dodatnich na obecność GMO w paszach w Polsce kształtuje się na poziomie około 60%, ze słabą tendencją malejącą od kilku ostatnich lat. W większości próbek dodatnich obecna jest soja GM importowana do Polski, jako główne źródło białka paszowego, szczególnie w hodowli świń i drobiu. Ponadto zawartość modyfikacji genetycznych soi w około 70% próbek kwalifikuje je do obowiązkowego etykietowania na zawartość GMO (zawartość GMO > 0,9%). W przypadku kukurydzy i rzepaku odsetek próbek dodatnich nie przekracza odpowiednio kilku i kilkunastu procent, a stwierdzane poziomy zawartości modyfikacji genetycznych w kukurydzy i rzepaku nie przekraczają najczęściej 0,9%. Negatywne wyniki badań dotyczące obecności i zawartości GMO (powyżej 0,9%) zostały zidentyfikowane głównie podczas analiz wykonywanych od 2017 roku. Związane jest to ze stosowanym przez producentów żywności i pasz w Polsce systemem dobrowolnego etykietowania produktów znakiem „bez GMO”, co ma związek z korzystnym postrzeganiem ich jakości przez konsumentów.

Słowa kluczowe: pasze, GMO, organizmy genetycznie zmodyfikowane

WPŁYW UWARUNKOWAŃ ŚRODOWISKOWYCH I TECHNOLOGICZNYCH NA WYSTĘPOWANIE BAKTERII Z RODZAJU *CLOSTRIDIUM* W KISZONKACH STOSOWANYCH W ŻYWIENIU BYDŁA

T. Grenda, B. Kozak, M. Goldsztejn, K. Kwiatek

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy,
Polska

Na jakość mikrobiologiczną kiszonek ma wpływ zanieczyszczenie beztlenowymi laseczkami przetrwalnikującymi z rodzaju *Clostridium*. Większość bakterii wspomnianego rodzaju stanowią saprofity, jednak niektóre mogą stanowić źródło poważnego zagrożenia epidemiologicznego dla zdrowia i produktywności stad bydła. Zapobieganie występowania *Clostridium* spp. w kiszonkach, w znaczny sposób, niweluje wszelkiego rodzaju zagrożenia epidemiologiczne, straty ekonomiczne związane z dobrostanem zwierząt. W pracy zbadano wpływ uwarunkowań środowiskowych i technologicznych na występowanie rodzaju *Clostridium* w kiszonkach stosowanych w żywieniu bydła.

Analizy przeprowadzono na 305 próbkach kiszonek pobranych bezpośrednio z gospodarstw rolnych zlokalizowanych na terenie wszystkich województw Polski. Hodowle bakteryjne i izolaty oceniano fenotypowo i badano pod kątem występowania *Clostridium* spp., w szczególności *C. perfringens* i *C. botulinum* przy zastosowaniu technik PCR. Wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą testu χ^2 oraz testu t-Studenta, w celu oszacowania wpływu wybranych czynników środowiskowych i technologicznych na występowanie *Clostridium* spp.

Uzyskane wyniki wskazały, że najbardziej znaczący wpływ na występowanie *Clostridium* spp. ma zanieczyszczenie materiału paszowego, zależące m.in. od rodzaju nawożenia. *Clostridium* spp. wykryto w 232 (76%) próbkach, a szczepy *C. perfringens*, głównie toksynotyp A, w 79 (26%) próbkach. Nie stwierdzono obecności bakterii z gatunku *C. botulinum*.

Na podstawie uzyskanych wyników można uznać, że pogorszeniu stanu mikrobiologicznego kiszonek można zapobiec poprzez prawidłowo przeprowadzony proces zakiszania. Rozwój *Clostridium* spp. hamuje dodatek kultur starterowych, ale obecność przetrwalników zależy głównie od stopnia zanieczyszczenia materiału paszowego i warunków higienicznych produkcji kiszonek.

Słowa kluczowe: *Clostridium* spp., kiszonka, *C. botulinum*, *C. perfringens*

WYKRYWANIE I OZNACZANIE SUBSTANCJI PRZECIWBAKTERYJNYCH W PRZETWORZONYM BIAŁKU OWADZIM, MĄCZKACH MIĘSNO-KOSTNYCH I PASZACH Z DODATKIEM PAP OWADZIEGO

E. Patyra, K. Kwiatek

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Substancje przeciwbakteryjne, w tym antybiotyki, sulfonamidy i chinolony włączone są w programy kontroli na całym świecie, kontrola obejmuje żywność i produkty pochodzenia zwierzęcego, mieszanki paszowe, materiały paszowe oraz wodę. Kontrola substancji przeciwbakteryjnych ma na celu zapewnienia bezpieczeństwa żywności i produktów pochodzenia zwierzęcego na każdym etapie produkcji żywności zgodnie z koncepcją „od pola do stołu”. W krajach członkowskich UE, w tym w Polsce zostały opracowane i wdrożone do urzędowej kontroli metody pozwalające m.in. na ilościowe oznaczanie substancji przeciwbakteryjnych w paszach, paszach niedocelowych i materiałach paszowych oraz wodzie techniką chromatografii cieczowej.

Nowym kierunkiem podjętych badań była ocena występowania substancji przeciwbakteryjnych w przetworzonym białku owadzi, mączkach mięsno-kostnych oraz paszach wytworzonych z udziałem PAP owadziego. Analiza prowadzona była z zastosowaniem techniki chromatografii cieczowej z detekcją fluorescencyjną i spektrometrią mas w kierunku obecności wybranych substancji przeciwbakteryjnych należących do różnych grup chemicznych, takich jak: tetracykliny (OTC, TC, CTC, DC), sulfonamidy (SGD, SDZ, SMR, SMT, SMK), fluorochinolony (SAR, CIP, ENR) oraz tiamulina i trimetoprim.

Badaniom poddano 10 próbek PAP owadziego otrzymanego z Mącznika młynarka i Czarnej muchy, 30 próbek mieszanek paszowych z dodatkiem PAP owadziego oraz 5 próbek mączek mięsno-kostnych.

Przeprowadzona analiza wykazała, że w PAP owadzi oraz mieszankach paszowych wytworzonych z dodatkiem PAP owadziego nie stwierdzono wyżej wymienionych substancji przeciwbakteryjnych. Natomiast w jednej próbce mączki mięsno-kostnej stwierdzono obecność ciprofloksacyny i enrofloksacyny. Otrzymane wyniki mogą wskazywać, że mączka pochodziła z drobiu, dla którego dopuszczone jest stosowanie enrofloksacyny w dawkach terapeutycznych w wodzie. Otrzymana mączka mogła pochodzić od padłych ptaków, które były trakcie leczenia. Wyniki badań wskazują, że mączki mięsno-kostne, które stosowane są np. jako polepszacze gleby powinny podlegać kontroli w kierunku obecności substancji przeciwbakteryjnych ze względu na możliwość wprowadzania substancji przeciwbakteryjnych do środowiska naturalnego.

Słowa kluczowe: substancje przeciwbakteryjne, przetworzone białko owadzie, mączki mięsno-kostne, pasze, analiza chromatograficzna

ANALIZA NAWOZÓW NATURALNYCH I ORGANICZNYCH JAKO NARZĘDZIE DO OCENY STOSOWANIA ANTYBIOTYKÓW W PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ

E. Patyra, Z. Osiński, M. Przeniosło-Siwczyńska, T. Grenda, K. Kwiatek

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Substancje przeciwbakteryjne, w tym antybiotyki, sulfonamidy i chinolony stosowane są w dużych ilościach w celach terapeutycznych u ludzi oraz w medycynie weterynaryjnej. W leczeniu zwierząt rzeźnych substancje przeciwbakteryjne, należące do różnych grup chemicznych podawane są trzema drogami: w postaci iniekcji lub *per os* w postaci paszy leczniczej lub rozpuszczone w wodzie do pojenia zwierząt. Niezależnie od drogi podania substancji przeciwbakteryjnych zwierzętom gospodarskim, związki te wydalone są z organizmu w ilości od 30 do 90% podanej dawki początkowej, w postaci niezmetylizowanej lub w postaci aktywnych i/lub nieaktywnych metabolitów z moczem lub kałem. Z tego względu staje się oczywiste, że nawet kilka tysięcy ton substancji przeciwbakteryjnych wyłącznie ze stosowania w medycynie weterynaryjnej odprowadzanych jest do środowiska każdego roku wraz z wydaliniami zwierząt, które mogą mieć zastosowanie jako nawozy naturalne lub organiczne na pola uprawne lub użytki zielone. Wskazane nawozy nie podlegają kontroli laboratoryjnej w kierunku obecności substancji przeciwbakteryjnych, przez co mogą stać się potencjalnym zagrożeniem dla środowiska naturalnego.

Celem prezentowanego zagadnienia było opracowanie metody analitycznej opartej o zastosowanie techniki chromatografii cieczowej pozwalającej na oznaczanie substancji przeciwbakteryjnych (tetracyklin, sulfonamidów, fluorochinolonów, tiamuliny, trimetoprimu i tylozyny) w odchodach trzody chlewnej i drobiu, gnojowicy świńskiej oraz osadach pofermentacyjnych powstałych po produkcji biogazu z obornika. W ramach przedstawionej pracy, analizie poddano 26 próbek odchodów pochodzących od świń i drobiu, 4 próbki gnojowicy i 8 próbek pofermentu, które pochodziły z różnych regionów Polski.

Przeprowadzona analiza wykazała, że w 13 z 38 badanych próbek (34,2%) stwierdzono obecność takich substancji przeciwbakteryjnych jak: doksycyklina, enrofloksacyna, oksytetracyklina i tiamulina w stężeniach od 50 do 6000 µg/kg.

Wdrożenie do praktyki laboratoryjnej metod pozwalających na analizę substancji przeciwbakteryjnych w nawozach naturalnych i organicznych może być przydatne w celu monitorowania trendów w stosowaniu antybiotyków w gospodarstwach przy użyciu nieinwazyjnego pobierania próbek, oraz do egzekwowania prawidłowych zasad w stosowaniu antybiotyków. Kontrola substancji przeciwbakteryjnych może ponadto przyczyniać się do zapobiegania nielegalnemu i niezgodnemu z przeznaczeniem stosowaniu środków przeciwbakteryjnych, a po drugie do uzupełnienia cennych informacji na temat rozpowszechnienia antybiotyków w środowisku naturalnym i możliwych skutków ekotoksykologicznych tych leków.

Słowa kluczowe: substancje przeciwbakteryjne, nawozy naturalne, nawozy organiczne, analiza chromatograficzna

ZANIECZYSZCZENIE PASZ DLA ZWIERZĄT GOSPODARSKICH GRZYBAMI PLEŚNIOWYMI

K. Łubiech, I. Ałtyn, E. Soszczyńska

Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Bydgoszcz, Polska

Żywienie zwierząt gospodarskich należy do najważniejszych czynników warunkujących prawidłowy wzrost i rozwój, stan zdrowia zwierząt a także jakość pozyskiwanych produktów pochodzenia zwierzęcego. Monitoring kontaminacji szkodliwymi dla zdrowia mikroorganizmami jest niezwykle istotny zarówno z punktu widzenia dobrostanu zwierząt, bezpieczeństwa żywności jak i ze względów ekonomicznych. Pleśnie mogą znacząco przyczynić się do obniżenia wartości odżywczej paszy ale także wpłynąć na jej toksyczne oddziaływanie. Analizie poddano wyniki badań mikologicznych próbek pasz, trafiających do Laboratorium Badawczego Mikotoksyn Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego, na przestrzeni lat 2016 – 2020.

Badania przeprowadzono w oparciu o metody hodowlane z wykorzystaniem posiewów powierzchniowych na podłożu YGC (zawierające w składzie ekstrakt drożdżowy, glukozę oraz chloramfenikol), stosowane do wykrywania i oceny ilościowej grzybów pleśniowych i drożdży. Wyniki wyrażono w jtk/g.

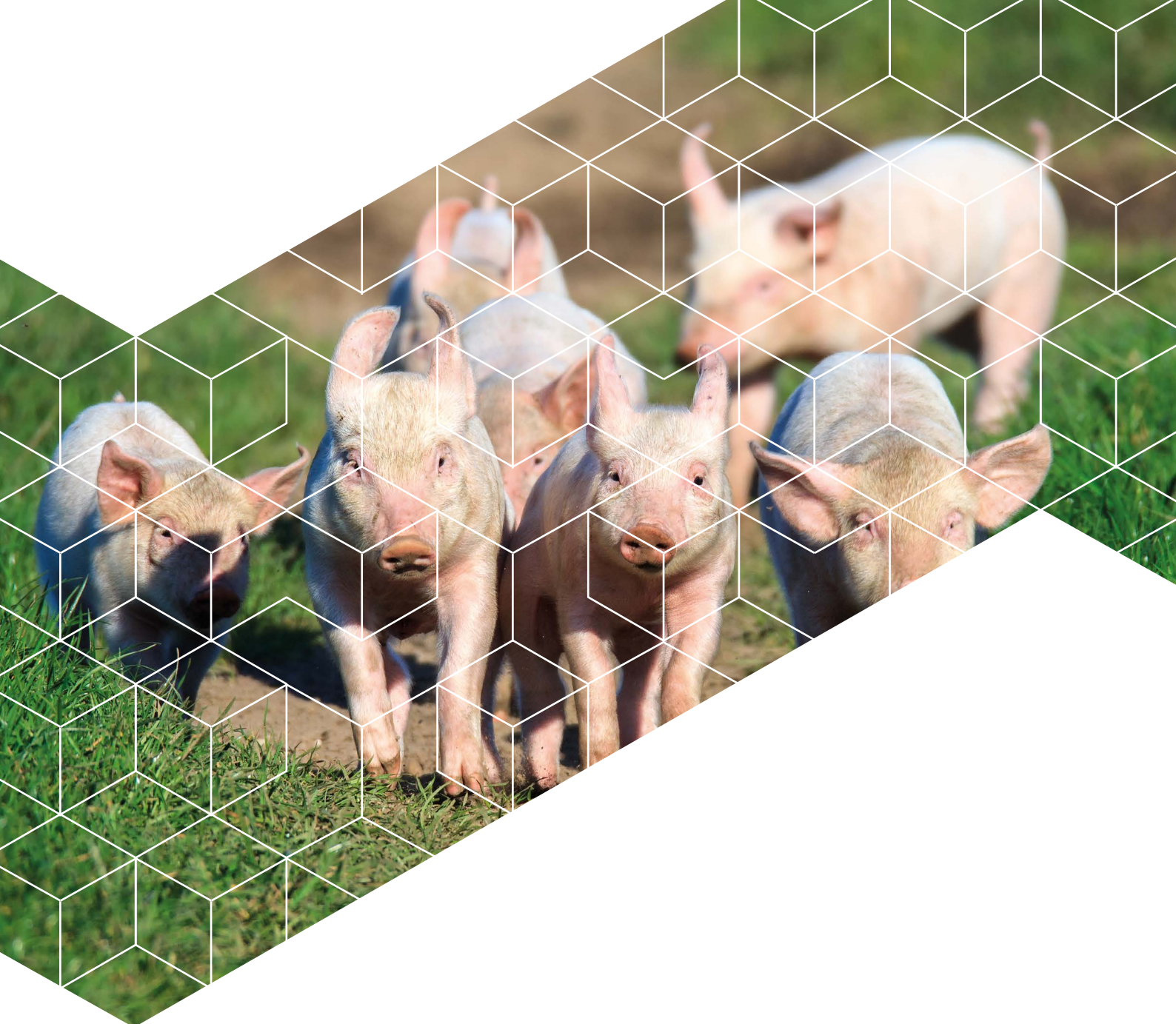
Średnia zawartość grzybów pleśniowych w przebadanym materiale wyniosła $1,4 \times 10^5$ (w tym $1,3 \times 10^5$ drożdży oraz $8,3 \times 10^4$ pleśni). W poszczególnych latach średnia zawartość grzybów pleśniowych w paszach dla zwierząt gospodarskich osiągała wartość: w roku 2016 - $1,1 \times 10^4$; w roku 2017 – $6,7 \times 10^5$; w roku 2018 – $1,7 \times 10^4$; w roku 2019 – $1,4 \times 10^4$; oraz w roku 2020 – $2,7 \times 10^4$. Do najczęściej izolowanych rodzajów grzybów pleśniowych należały: *Penicilium*, *Mucor* oraz *Aspergillus*.

Biorąc pod uwagę brak jednoznacznych limitów zanieczyszczenia mikrobiologicznego pasz trudno o obiektywną ocenę problemu. W Polsce od 2003 roku nie obowiązują obostrzenia dotyczące krytycznej zawartości grzybów pleśniowych w paszach eliminujące je z obrotu.

Uzyskane wyniki wskazują na liczne przypadki zanieczyszczenia pasz grzybami pleśniowymi przekraczające wartość 10^5 co może mieć niekorzystny wpływ na parametry produkcyjne w hodowli zwierząt, dlatego celowa jest analiza skażenia ich wtórnymi metabolitami – mikotoksynami.

Słowa kluczowe: pasze, zanieczyszczenie pasz, grzyby pleśniowe

Badanie uzyskało wsparcie z funduszy statutowych związanych z projektem "Badania nad występowaniem i toksycznością wtórnych metabolitów pleśni oraz identyfikacji organizmów metodami biologii molekularnej" (Ministerstwo Edukacji i Nauki, Rzeczpospolita Polska).



SESJA FIZJOLOGII I PATOLOGII ŚWIŃ

GENETYCZNE PODŁOŻE ZABURZEŃ ROZWOJU PŁCI I PŁODNOŚCI ŚWIŃ

M. Świtoński

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Zaburzenia rozwoju płci (ang. *disorders of sex development* – DSD) klasyfikowane są do trzech głównych kategorii: (1) spowodowane nieprawidłowościami chromosomów płci, (2) obecne u osobników z prawidłowym, żeńskim układem chromosomów płci – XX DSD oraz (3) obecne u osobników z prawidłowym, męskim układem chromosomów płci – XY DSD. Do najczęściej obserwowanych DSD u świń należy wnętrostwo (XY DSD), które jest wadą o złożonym uwarunkowaniu, czyli zależną od nieznannej liczby genów oraz czynników pozagenetycznych. Współczynnik odziedziczalności (h^2) szacowany jest na poziomie nie mniejszym niż 0,3, co świadczy o istotnym wpływie czynników genetycznych. Zastosowanie metody skanowania genomu (ang. *GWAS - genome wide association study*) pozwoliło na wskazanie w chromosomach świni szeregu regionów kandydujących, czyli zawierających warianty DNA predysponujące do powstania wnętrostwa. W przypadku samic (XX DSD) najczęściej obserwowaną wadą jest wirylizacja zewnętrznych narządów płciowych (powiększona łechtaczka), czemu towarzyszy obecność jąder, macicy i nasieniowodów. Dotychczasowe badania genetyczne wskazują, że wystąpienie tej wady jest związane z obecnością wariantów DNA w pobliżu genu *SOX9*, którego nieuprawniona ekspresja w gonadach płodów żeńskich prowadzi do powstania fenotypu DSD. Podobne zaburzenia występują u samic z chimeryzmem leukocytarnym XX/XY, który powstaje w wyniku anastomoz między naczyniami krwionośnymi łożysk płodów różnej płci. Wada ta nie jest dziedziczna i jest dobrze znana u bydła pod nazwą frymartyzmu.

Ważnym mechanizmem odpowiedzialnym za obniżoną płodność (do 50%) są dziedziczne mutacje chromosomowe typu translokacji wzajemnych. Świnie wyróżniają się wysoką ich częstością, która wśród knurów inseminacyjnych może sięgać nawet 2%. Podkreślić należy, że translokacje między chromosomami autosomalnymi nie wywołują zmian w układzie rozrodczym, ani w obrazie nasienia. Przyczyną obniżenia płodności jest powstawanie plemników o normalnej morfologii i ruchliwości, ale z nieprawidłowym zestawem chromosomowym, będącym efektem nieprawidłowej segregacji tetrawalentu, tworzonego przez chromosomy z dwóch par zaangażowanych w translokację, podczas mejozy. Znane są również mutacje genowe, które odpowiadają za nieprawidłową budowę plemników.

Słowa kluczowe: obojnactwo, interseksualizm, frymartyzmu, translokacje chromosomowe

Badania finansowana z potencjału badawczego Katedry Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt UP Poznań, 506.534.05.00.

MARKERY GENETYCZNE ZWIĄZANE Z PREDYSPOZYCJĄ ŚWIŃ DO POWSTAWANIA PRZEPUKLIN PĘPKOWYCH

J. Woźniak¹, W. Loba¹, P. Iskrzak², M. Pszczoła¹, J. Wojtczak³, M. Świtoński¹,
J. Nowacka-Woszek¹

¹Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

²AgriPlus, LLC, Poznań, Polska

³Katedra Hodowli Zwierząt i Oceny Surowców, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Jedną z najczęściej występujących wad wrodzonych świń są przepukliny, które w znaczący sposób wpływają na dobrostan zwierząt przyczyniając się także do strat ekonomicznych hodowców. Częstość występowania przepuklin waha się w zakresie 0,5 do 1,5%, a udział czynników genetycznych (współczynnik odziedziczalności – h^2) na powstawanie tej wady oszacowano na ok. 0,3. Badania naukowe wskazują na pewne regiony chromosomowe i geny kandydujące, których warianty były związane występowaniem przepuklin pępkowych w różnych rasach świń, jednak wskazane geny wyjaśniają niewielką część zmienności fenotypowej. **Celem** niniejszych badań jest weryfikacja związku wcześniej opisywanych polimorfizmów DNA z predyspozycją do przepuklin pępkowych w dwóch krajowych fermach towarowych.

Badaniami objęto łącznie 583 zwierzęta obu płci (291 samic i 292 samce). Z fermy nr 1 pochodziło 212 zwierząt z przepukliną i 200 zwierząt kontrolnych, a z fermy nr 2 badano 86 zwierząt z przepukliną i 85 osobników kontrolnych. Analiza częstości występowania wariantów SNP (pojedyncze podstawienia nukleotydowe) została wykonana za pomocą sekwencjonowania Sangera i obejmowała polimorfizmy w genach *CAPN9*, *OSM* i *ITGAM*. Z kolei wariant typu CNV (polimorfizm zmiennej liczby kopii) w genie *NUGGC* został przeanalizowany metodą emulsyjno-kropelkowego PCR (ddPCR).

Uzyskane wyniki wskazały, że w przypadku zwierząt z fermy nr 1, przepukliny występowały zdecydowanie częściej u samic niż u samców ($p=0,0029$), czego nie obserwowano na fermie nr 2. Stwierdzono także istotnie różne frekwencje poszczególnych wariantów w genie *CAPN9* pomiędzy badanymi grupami zwierząt z fermy nr 1. Warianty tego genu segregowały łącznie (tworząc haplotypy), których częstości różniły się istotnie. W przypadku fermy nr 2 wykazano różnice częstości polimorfizmów dla genów *OSM* i *ITGAM*. Analiza ddPCR wariantu CNV w genie *NUGGC* nie wykazała związku z występowaniem przepuklin.

Podsumowując, należy stwierdzić, że analizowane warianty nie stanowią uniwersalnego markera genetycznego związanego z predyspozycją do występowania przepuklin pępkowych. Obserwowane różnice pomiędzy fermami wskazują, że uwarunkowanie tej wady jest złożone i zależne od udziału poszczególnych ras tworzących daną linię towarową.

Słowa kluczowe: świnia, markery genetyczne, wady wrodzone, przepuklina

Badania finansowane przez NCN: 2019/33/B/NZ9/00654.

PROFIL CYTOKIN W WYBRANYCH ZAKAŻENIACH WIRUSOWYCH UKŁADU ODDECHOWEGO U ŚWIŃ

H. Turlewicz-Podbielska¹, E. Czyżewska-Dors², M. Pomorska-Mól¹

¹Katedra Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

²Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Kluczowymi patogenami w etiologii zespołu oddechowego świń są wirus grypy świń typu A (IAV) i wirus zespołu rozrodczo-oddechowego świń (PRRSV). Jakościowe i ilościowe określenie profilu cytokinowego w tkance płucnej i jego odniesienie do zmian patologicznych w płucach pozwala na zrozumienie odpowiedzi zapalnej podczas infekcji IAV, PRRSV lub koinfekcji IAV+PRRSV.

Badaniem objęto 56 świń. Zwierzęta podzielono na 4 grupy (PRRSV, IAV+PRRSV, IAV, kontrolna). W dniu 0, prosięta z grup IAV oraz IAV+PRRSV zostały zakażone donosowo szczepem SwH1N1 (A/Poland/Swine/13,131/2014) w dawce 10^7 TCID₅₀, prosięta z grup PRRSV oraz IAV+PRRSV zostały zakażone szczepem PL15-33, podtyp PRRSV-1 w dawce 10^5 TCID₅₀, a grupa kontrolna otrzymała placebo. Zwierzęta poddawano codziennemu badaniu klinicznemu od dnia 7 przed inokulacją do eutanazji (dzień 2, 4, 10, 21 po inokulacji (DPI)). Stopień nasilenia objawów klinicznych i zmian patologicznych w tkance płucnej był oceniany w skali punktowej. W pobranej tkance płucnej oznaczono koncentrację IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IFN- α , IFN- γ , TNF- γ wykorzystując ilościowe testy ELISA. Miano IAV w płucach oceniano wykorzystując linię komórkową MDCK. RNA PRRSV izolowano z homogenatu tkanki płucnej, a ilość kopii/g oceniono techniką real-time qPCR.

U świń zakażonych IAV obserwowano wzrost stężenia IFN- α , IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-8 oraz IL-10 w płucach, szczególnie w 2 i 4 DPI. W grupie zakażonej PRRSV wzrosły miejscowe stężenia IFN- α , IFN- γ , TNF- γ , IL-6, IL-8, IL-10, szczególnie w 10 i 21 DPI. W płucach świń z grupy IAV+PRRSV koncentracja wszystkich cytokin była wyższa niż w grupie kontrolnej. Wyniki wskazują, że jednoczesne zakażenie świń PRRSV i IAV lub jednym z patogenów indukują odmienną miejscową odpowiedź zapalną. Przy jednoczesnym zakażeniu IAV i PRRSV nie zaobserwowano efektu synergistycznego w odniesieniu do miejscowej odpowiedzi badanych cytokin, co może być związane z odmienną patogenezą tych infekcji i czasem pojawiania się zmian w płucach. Wykazano silną korelację pomiędzy miejscowym stężeniem IFN- γ , TNF- α , IL-8, oraz TNF- α , IL-8 a odpowiednio, mianem IAV i ilością kopii PRRSV w tkance płucnej. Uzyskane wyniki wskazują, że replikacja zarówno IAV, jak i PRRSV wpływa na miejscową odpowiedź zapalną w płucach świń.

WPŁYW BISFENOLU S NA AKTYWNOŚĆ SKURCZOWĄ MIĘŚNIOŹKI GŁADKIEJ MACICY ŚWINI

A. Zygmuntowicz, W. Markiewicz, J. Jaroszewski

Katedra Farmakologii i Toksykologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

W produktach konsumenckich coraz częściej stosuje się strukturalne analogi bisfenolu A (BPA), takie jak bisfenol S (BPS). Na podstawie aktualnej literatury wiadomo, że BPS jest tak samo aktywny hormonalnie jak BPA i ma działanie zaburzające gospodarkę hormonalną. Badania przeprowadzone na *Daphnia magna* i szczurach wykazały zwiększenie masy macicy, natomiast na danio przegowanym zmniejszenie masy macicy i zaburzenia reprodukcji. Ponieważ wiedza o wpływie BPS na funkcję układu rozrodczego jest fragmentaryczna, podjęto próbę określenia wpływu BPS na aktywność skurczową mięśniówki gładkiej macicy świni.

Doświadczenie przeprowadzono na loszkach niedojrzałych płciowo ($n=10$), swniach cyklicznych będących w 12-14 dniu cyklu ($n=10$) oraz ciężarnych będących w 12-14 dniu ciąży ($n = 10$).

Tkanki pozyskano w rzeźni zaraz po uboju a następnie umieszczono na lodzie i przewieziono do laboratorium, gdzie izolowano skrawki mięśniówki gładkiej (myometrium) do dalszych badań. Wy-cinki zawieszano w 5 ml łażni wodnej zawierającej płyn Krebsa-Ringera o temperaturze 37°C wysycany w sposób ciągły karbogenem (95% O₂ i 5% CO₂). Po 60-90 min. preinkubacji badane skrawki stymulowano BPS w stężeniach (10^{-13} - 10^{-1} M) w 15-minutowych odstępach. Aktywność skurczową mięśniówki gładkiej określano z wykorzystaniem zestawu do pomiaru skurczów izometrycznych Hugo Sachs Elektronik.

BPS zmniejszał amplitudę skurczów mięśniówki gładkiej macicy u niedojrzałych płciowo loszek w stężeniach (10^{-4} - 10^{-1} M) oraz swni ciężarnych w stężeniach (10^{-9} - 10^{-1} M), bez zmian u swni cyklicznych. BPS powodował zmniejszenie częstotliwości skurczów mięśniówki gładkiej macicy u niedojrzałych płciowo loszek w stężeniach (10^{-6} - 10^{-1} M), swni cyklicznych w stężeniach (10^{-4} - 10^{-1} M) oraz ciężarnych w stężeniach (10^{-6} - 10^{-1} M). BPS zmniejszał napięcie skurczów mięśniówki gładkiej macicy u niedojrzałych płciowo loszek w stężeniach (10^{-5} - 10^{-1} M), swni cyklicznych w stężeniach (10^{-6} - 10^{-1} M) i ciężarnych w stężeniach (10^{-9} - 10^{-1} M).

Wyniki wskazują, że BPS istotnie obniżał aktywność skurczową mięśni gładkich macicy swni wpływając na badane parametry (amplitudę, częstotliwość i napięcie) w zależności od statusu hormonalnego zwierząt.

Słowa kluczowe: bisfenol S, kurczliwość, macica, loszki niedojrzałe płciowo, swnie cykliczne, swnie ciężarne

PROJEKT BIOPIGEE: ZAKAŻENIA *SALMONELLA* SPP. W GOSPODARSTWACH TRZODY CHLEWNEJ

E. Skrzypiec¹, D. Wojdat¹, P. Pasim¹, W. Koza¹, R. Kwit¹, E. Mikos-Wojewoda¹, M. Skóra¹, A. Śmiałowska-Węglińska¹, M. Skarżyńska¹, M. Zając¹, D. Wasyl¹, A. Dors², J. Żmudzi²

¹Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Celem projektu BIOPIGEE (OneHealth EJP; <https://onehealth.ejp.eu/>) jest ocena skuteczności stosowanych zasad bioasekuracji w kontekście zapobiegania zakażeniom *Salmonella* i wirusem zakaźnego zapalenia wątroby typu E w stadach świń. Wdrożone w UE programy zwalczania *Salmonella* dotyczą drobiu, jednak świny są również istotnym rezerwuarem drobnoustroju. Celem pracy była realizowana na potrzeby BIOPIGEE ocena występowania *Salmonella* spp. w gospodarstwach trzody chlewnej.

Materiał do badań stanowiło 600 zbiorczych próbek kału pobranych w latach 2020-21 z 30 krajowych ferm trzody chlewnej. Badania wykonano zgodnie z normą PN-EN ISO 6579-1:2017-04 a uzyskane szczepy serotypowano zgodnie ze schematem White-Kauffmann-Le Minor.

Salmonella spp. wykryto w 14,3% (86/600) badanych próbek z 46,7% (14/30) ferm. Intensywność zakażenia na fermach była różna: zwykle *Salmonella* stwierdzano w 1 ÷ 5 badanych próbek, w trzech przypadkach patogen wykryto w ponad połowie przypadków, a na jednej z ferm – aż w 18 z 20 próbek. Uzyskane szczepy (n=86) zakwalifikowano do 6 serowarów: jednofazowy Typhimurium (n=49; 57%), Derby (n=25; 29,1%), a ponadto Rissen (n=4), Bredeney (n=3) i Infantis (n=3). Analizując liczbę wyników dodatnich w odniesieniu do grup produkcyjnych stwierdzono występowanie pałeczek *Salmonella* u tuczników w 16,4% (72/440), loszek pierwiastek w 11,6% (8/69) oraz macior w 6,6% (6/91). W zależności od powyższego podziału odnotowano różnice w częstości występowania serowarów *Salmonella*. U loszek pierwiastek przeważała S. Derby (62,5%), u macior S. Rissen (66,7%) natomiast wśród tuczników dominował jednofazowy szczep S. Typhimurium (68,1%). W 7,7% (2/26) badanych gospodarstw zidentyfikowano dwa różne serowary w obrębie fermy.

Z przeprowadzonych badań wynika, że monitorowanie zakażeń *Salmonella* u świń może odgrywać kluczową rolę w identyfikacji źródeł infekcji oraz zapobieganiu toksykoinfekcji pokarmowej u ludzi. Określenie skali zakażeń *Salmonella* oraz najczęściej występujących serowarów pozwoli znaleźć i opracować najlepsze praktyki zapobiegania zakażeniom na różnych etapach produkcji, t.j. odpowiednie systemy zarządzania, bioasekuracji i standardy higieny.

Słowa kluczowe: świny, *Salmonella*, jednofazowe S. Typhimurium, bioasekuracja

Badania laboratoryjne wykonano w ramach projektu BIOPIGEE: Biosecurity practices for pig farming across Europe – One Health EJP GA nr 773830.

ANTYBIOTYKOWRAŻLIWOŚĆ PATOGENÓW BAKTERYJNYCH UKŁADU ODDECHOWEGO ŚWIŃ

P. Cybulski¹, S. Zębek², A. Nowak², P. Matyba³, E. Kwit⁴, A. Jabłoński³

¹Goodvalley Agro S.A., Przechlewo, Polska

²Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

³Centrum Medycyny Translacyjnej, Warszawa, Polska

⁴Zakład Wirusologii Żywności, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Obecnie jednym z podstawowych problemów w zwalczaniu szeregu chorób o etiologii bakteryjnej jest oporność wielu gatunków patogennych bakterii na powszechnie stosowane antybiotyki. Wyniki badań lekowrażliwości zazwyczaj umożliwiają właściwy dobór antybiotyku w terapii zwierząt. Celem pracy była analiza wyników badań lekowrażliwości bakterii izolowanych z chorobowo zmienionych płuc świń pochodzących z różnych regionów kraju. W ramach realizacji pracy zebrano 158 szczepów *Streptococcus suis*, 133 *Actinobacillus pleuropneumoniae*, 36 *Trueperella pyogenes*, 129 *Pasteurella multocida* oraz dokonana oceny wrażliwości na antybiotyki przy użyciu metody MIC.

Wśród badanych szczepów *Trueperella pyogenes* stwierdzono występowanie niskich wartości MIC które sugerują dużą podatność na antybiotyki. Najniższe wartości MIC uzyskano dla betalaktamów, doksycykliny, tiamuliny i spektynomycyny. Mimo braku granicznych wartości referencyjnych stwierdzono występowanie wysokich wartości MIC wśród szczepów *Streptococcus suis* wobec oksytetracykliny, spektynomycyny, tulatromycyny, tiamuliny, enrofloksacyny, oraz sulfometoksazolu potencjonowanego trimetoprimem. Wśród badanych szczepów *Pasteurella multocida* stwierdzono występowanie wysokich wartości MIC u kilku szczepów wobec sulfometoksazolu potencjonowanego trimetoprimem, spektynomycyny, oksytetracykliny a u pojedynczych szczepów wobec ampicyliny, penicyliny, tulatromycyny, tiamuliny oraz enrofloksacyny. Oceniając lekowrażliwość izolatów *Actinobacillus pleuropneumoniae*, stwierdzono dużą liczbę antybiotyków, które cechowały się niskimi wartościami MIC wobec tego drobnoustroju. Niższą skuteczność wykazywały doksycyklina, gentamycyna oraz spektynomycyna.

Słowa kluczowe: antybiotykowrażliwość, świnię, MIC, układ oddechowy

MOLEKULARNA CHARAKTERYSTYKA SZCZEPÓW WIRUSA EPIDEMICZNEJ BIEGUNKI ŚWIŃ (PEDV) W POLSCE

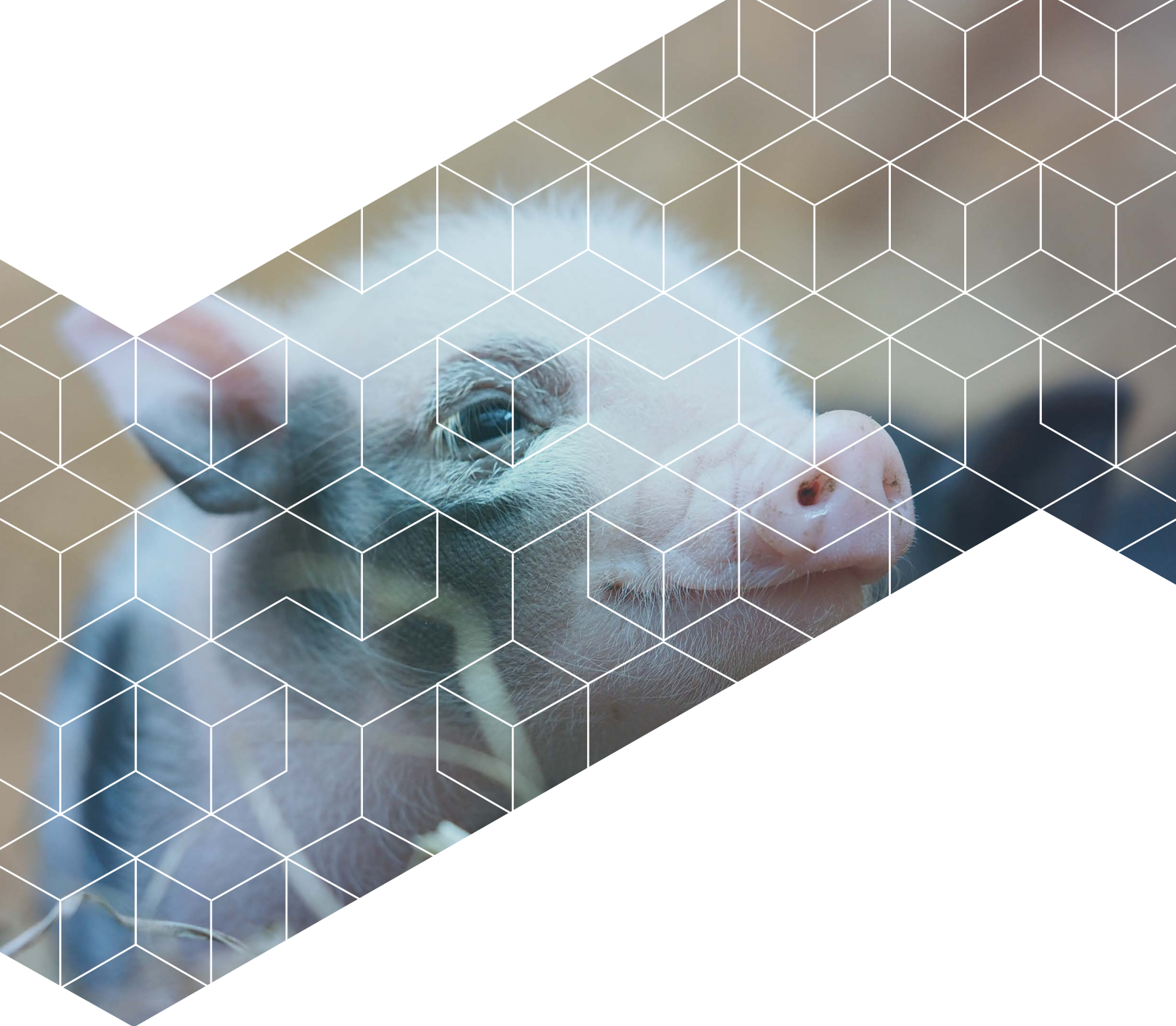
M. Olech, M. Antas, A. Szczotka-Bochniarz

Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Epidemiczna biegunka świń (PED) jest wysoce zakaźną chorobą świń, charakteryzującą się wodnistą biegunką, wymiotami, odwodnieniem, apatią i utratą masy ciała. Choroba dotyka świń w każdym wieku, ale najbardziej podatne na nią są prosięta w okresie noworodkowym, u których śmiertelność może sięgać do 100%. Czynnikiem etiologicznym tej choroby jest wirus epidemicznej biegunki świń (PEDV), który jest otoczkowym, jednonicowym wirusem RNA należącym do rodziny *Coronaviridae*. Celem pracy było otrzymanie sekwencji szczepów PEDV krążących w Polsce oraz ich charakterystyka genetyczna. Badaniu poddano 662 próbek kału, zebranych w latach 2015-2021 i pochodzących z 63 ferm zlokalizowanych w 10 województwach Polski. Wszystkie próbki zostały zbadane metodą RT-qPCR w celu wykrycia materiału genetycznego PEDV. 25 (3,8%) próbek pochodzących z 4 (6,3%) stad wykazało wynik dodatni. Wszystkie próbki zostały poddane sekwencjonowaniu NGS, ale tylko w przypadku 7 udało się uzyskać pełny genom wirusa. RNA pozostałych 18 próbek zostało użyte do amplifikacji genu S metodą Sangera. W przypadku 5 próbek udało się uzyskać cały fragment genu S a w przypadku 5 innych próbek uzyskano tylko częściowe sekwencje genu S. Analiza filogenetyczna przeprowadzona na podstawie całego genomu, jak i fragmentów genu S wykazała, że sekwencje polskich szczepów PEDV należały do podgrupy G1b (S-INDEL), reprezentowanej przez szczepy mało patogenne i wywołujące łagodne objawy choroby. Sekwencje polskich szczepów PEDV były najbliższe spokrewnione z europejskimi szczepami PEDV, pochodzącymi z Hiszpanii, Francji, Węgier, Włoch, Słowenii, Niemiec, Rumunii, Belgii i Austrii, izolowanymi w latach 2014-2019. Ponadto analiza RDP4 wykazała, że polskie szczepy PEDV są rekombinantami posiadającymi fragment (~400 nt) jelitowego koronawirusa świń (SeCoV) na 5' końcu genu S. Polskie szczepy PEDV wykazały wiele różnic w sekwencjach epitopów neutralizujących (COE, 2C10, SS2 and SS6) w porównaniu z prototypowym szczepem CV777 stosowanym do otrzymywania szczepionki, co sugeruje, że opracowanie nowej szczepionki może być konieczne do zwalczania PEDV w Polsce.

Jest to pierwsze doniesienie na temat molekularnej charakterystyki szczepów PEDV w Polsce. Wyniki te dostarczają cennych informacji na temat szczepów PEDV krążących w kraju, co jest szczególnie ważne dla skutecznej kontroli choroby i ograniczenia strat w produkcji trzody chlewnej.

Słowa kluczowe: wirus epidemicznej biegunki świń (PEDV), rekombinacja, gen S, neutralizujące epitopy



SESJA NEONATOLOGII



CALF MORBIDITIES – WHAT HAVE WE LEARNED AND WHAT DO WE NEED TO KNOW IN FUTURE?

J. F. Mee

Teagasc, Animal and Bioscience Research Department, Moorepark Research Centre, Fermoy, Ireland

Calf morbidity, multi-morbidity and mortality are perennial problems. While much has been learned about individual morbidities, e.g. bloat, less is known about their causal web, i.e. why are some calves affected and not others? We have learned much about the infectious pathogens that can cause calf morbidity and mortality, the associated pathology, and in many cases, the appropriate preventive or therapeutic medication. So what do we need to know for the future? Firstly, if we accept that on many farms today, despite all this knowledge, calf morbidity and mortality is still common. This implies either that all this knowledge is inadequate or that the knowledge is sufficient but its application on farm is inadequate.

My hypothesis is that for most common calf diseases we already understand how to control them, however, the translation of this knowledge onto farms is inadequate.

To remedy this deficiency we need to focus more on knowledge transfer (dissemination) than on knowledge generation (research), and I say this as a researcher!, though we obviously need both. Specifically, numerous surveys of farmers internationally highlight the lack of adherence to best practice recommendations on calf health management. Logically, if basic management is inadequate then calf morbidity will naturally follow. Therefore, we need to focus more on improving basic calf health management.

One approach is to develop an industry-led national intellectual and administrative infrastructure devoted to improving animal health on farm. An example is Animal Health Ireland (AHI), an organisation, which provides the national knowledge, education and coordination required to establish effective control programmes for non-regulated diseases of livestock. One of these programmes (CalfCare) is devoted to promoting improvement in calf health in Ireland through a Technical Working Group which evaluates the scientific evidence then produces industry stakeholder and farmer-friendly resources (papers, leaflets, videos, farm talks, etc..). A recent survey of farmers and professional service providers revealed that the vast majority of both groups believed that calf health had improved in the last 10 years since CalfCare began. This appears to be a model of knowledge dissemination, which works on farm.

ZESPÓŁ WEWNĄTRZMACICZNEGO ZAHAMOWANIA WZROSTU PŁODU A GRANICE FIZJOLOGII

K. Ferenc¹, J. Olszewski¹, M. Sady¹, P. Matyba¹, Z. Gajewski¹, R. Zabielski²

¹Centrum Medycyny Translacyjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Zespół wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu płodu (intrauterine growth retardation, IUGR) występuje u noworodków ze stosunkowo dużą częstotliwością, sięgającą 6-8% u większości badanych gatunków ssaków. Rozpoznanie noworodka IUGR polega na zauważeniu szeregu charakterystycznych cech budowy anatomicznej (np. u prosiąt to charakterystyczny kształt głowy) oraz niskiej urodzeniowej masy ciała (np. u prosiąt <1 kg). Część badaczy nie uznaje terminu "zespół" IUGR twierdząc że to określenie sugeruje, że IUGR jest zjawiskiem patologicznym. Z drugiej strony opublikowano wiele badań ukazujących szereg istotnych odstępstw, tak w budowie narządów jak ich czynnościach, które sugerują, że mamy do czynienia ze zjawiskiem co najmniej na pograniczu fizjologii i patofizjologii. Należy zwrócić uwagę, że śmiertelność noworodków IUGR jest bardzo wysoka, szczególnie w okresie okołoporodowym, co świadczy o ich niedostosowaniu do życia pozamacicznego. Badania na ludziach wykazały, że osobnicy IUGR zapadają na choroby zespołu metabolicznego szybciej i kilkakrotnie częściej niż osobnicy bez historii IUGR. Nasze badania na prosiętach IUGR wykazały wiele odmienności w budowie i funkcjach układu pokarmowego (jelita cienkiego, trzustki i wątroby) u nowo narodzonych prosiąt, a wiele z nich utrzymuje się w dorosłym życiu, służąc wyjaśnieniem dla obserwacji nad występowaniem zespołu metabolicznego u ludzi.

DIAGNOSTYCZNA PRZYDATNOŚĆ OZNACZANIA STĘŻENIA IMMUNOGLOBULIN I BIAŁEK OSTREJ FAZY U CIELĄT OD URODZENIA DO 1 MIESIĄCA ŻYCIA

T. Stefaniak¹, P. Jawor¹, J. Bajzert¹, J. F. Mee²

¹Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Teagasc, Animal and Bioscience Research Department, Moorepark Research Centre, Fermoy, Ireland

Układ immunologiczny rozwija się wcześniej w ontogenezie płodu bydłęcego. Zawiązek grasicy pojawia się w 42 dniu, śledziony w 55 dniu, a pojedyncze limfocyty w krwi płodu są obserwowane już w 40 dniu ciąży.

W drugim trymestrze ciąży płód bydłęcy jest zdolny do odpowiedzi produkcją przeciwciał wobec większości antygenów, a immunizacja *in utero* pozwalała na ochronę cieląt noworodków przed zakażeniem doświadczalnym w pierwszych dniach po urodzeniu. Struktura łożyska u bydła uniemożliwia transfer przeciwciał z krwioobiegu matki do płodu. Ten fakt pozwala na diagnostyczne wykorzystanie oznaczania przeciwciał przeciw patogenom, ale także ocenę stężenia immunoglobulin w surowicy noworodków żywych i martwo urodzonych, które nie piły siary, w celu potwierdzenia lub wykluczenia infekcji śródmaciczej płodu. Np. wzrost stężenia IgM okazał się przydatny w diagnozie bakteryjnych przyczyn rodzenia cieląt martwych. Badania Zespołu wykazały, że także białka ostrej fazy (BOF) mogą być jako markery nieswoistej odpowiedzi przydatne w ocenie ryzyka stanu zapalnego. Stężenie surowiczego amyloidu A (SAA) wzrastało u cieląt martwo urodzonych z powodu infekcji bakteryjnych.

Bezpieczeństwo noworodka przed zakażeniami okresu neonatalnego w znaczącym stopniu zależy od efektywności wchłaniania immunoglobulin (Ig) pozyskanych z siarą matki. Losy cieląt determinują się w ciągu pierwszych kilku godzin życia, gdy wchłanianie Ig jest najbardziej intensywne. System utrzymania cieląt raz mlecznych stwarza szereg okazji do powstania niedostatków wchłaniania Ig, diagnozowanych jako niedobór, lub częściowy niedobór transferu odporności biernej. W konsekwencji takie cielęta są bardziej narażone na zakażenia, a dynamika stężenia Ig, w tym porównanie stężeń w drugim dniu życia i w 3-4 tygodniu życia (tzw. indeks immunoglobulin całkowitych) pozwala ocenić adekwatność zabezpieczenia siarowego cieląt w stosunku do istniejących zagrożeń. Wzrost ryzyka infekcji wiąże się ze wzrostem stężenia białek ostrej fazy, z których najczęściej wykorzystywane są w diagnostyce haptoglobina, fibrynogen i SAA.

Na przykładach zostaną omówione propozycje diagnostycznego wykorzystania oznaczania stężenia Ig i BOF w wykrywaniu zagrożeń, zaproponowane też zostaną możliwości wspierania zdrowia cieląt przez doustną i iniekcyjną aplikację przeciwciał.

ROZWÓJ JELITOWEGO UKŁADU IMMUNOLOGICZNEGO U PROSIĄT Z ZESPOŁEM WEWNĄTRZMACICZNEGO ZAHAMOWANIA WZROSTU

M. Sady¹, J. Olszewski¹, T. Skrzypek², Z. Gajewski¹, R. Zabielski¹, K. Ferenc¹

¹Centrum Medycyny Translacyjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Wydział Nauk Ścisłych i o Zdrowiu, Katolicki Uniwersytet Lubelski, Lublin, Polska

Zespół wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu (IUGR) u prosiąt definiuje się poprzez niską masę urodzeniową oraz charakterystyczny kształt głowy. Słaba kondycja ogólna zwierząt i zaburzenia funkcji układu pokarmowego prowadzą do biegunek i śmiertelności z o wiele większą częstotliwością niż u prosiąt u których nie obserwowano objawów zespołu IUGR. Funkcja bariery jelitowej u nowo narodzonych osobników IUGR jest jak dotąd słabo poznana, stąd celem naszych badań była ocena stanu fizycznej bariery jaką stanowi nabłonek jelitowy oraz stanu bariery immunologicznej na którą składa się m in. populacja komórek kubkowych, leukocytów śródnabłonkowych i kępki Peyera. Zgromadzona do tej pory wiedza pozwoliła na lepsze zrozumienie dynamiki rozwoju błony śluzowej oraz struktur jelitowego układu immunologicznego (GALT). Zauważono szereg odmienności w dynamice wzrostu i różnicowania kępek Peyera u nowo narodzonych prosiąt IUGR w porównaniu do rówieśników bez cech IUGR. Jednakże, po 14 dniu życia prosiąt następowało zjawisko kompensacji w procesie rozwoju kępek Peyera. W rozwoju bariery mechanicznej tak szybkiego zjawiska kompensacji nie obserwowano, u miesięcznych prosiąt w odcinku dystalnym jelita cienkiego nadal występowały liczne enterocyty o fenotypie enterocytu płodowego.

CZĘSTOTLIWOŚĆ WYSTĘPOWANIA ZJAWISKA IUGR U PROSIĄT – OBSERWACJE PROWADZONE NA JEDNEJ Z WIELKOPOLSKICH FERM

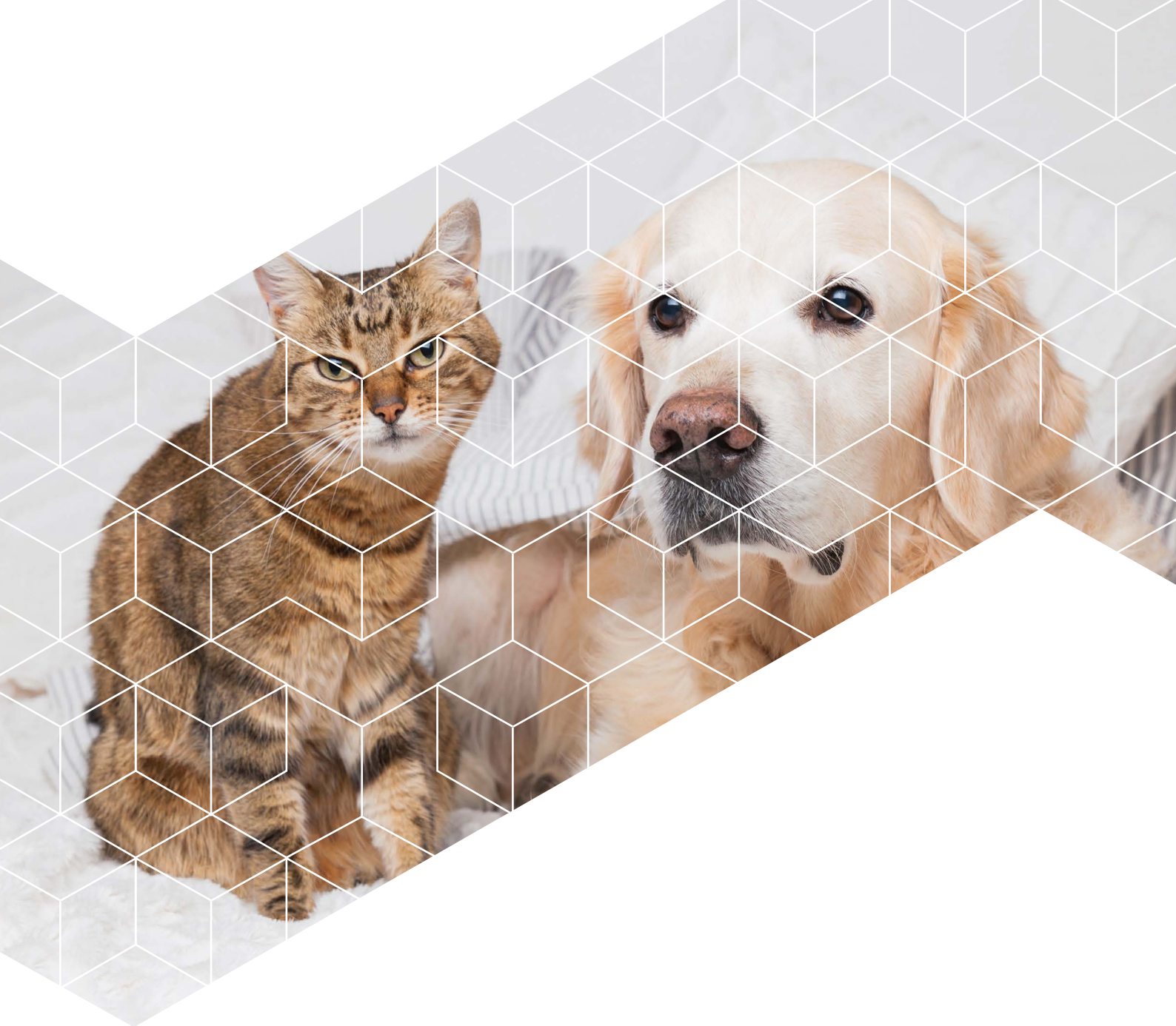
**P. Matyba¹, G. Galemba², K. Ferenc¹, A. Jabłoński¹, T. Florowski³, K. Dasiewicz³,
M. Słowiński³, Z. Gajewski¹, R. Zabielski¹**

¹*Centrum Medycyny Translacyjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

²*Ferma świń, Kiełczew Smużny IV, Polska*

³*Katedra Technologii i Oceny Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

Według danych literaturowych wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrostu płodu występuje u 6-8% nowo narodzonych prosiąt. W części publikacji podawana częstotliwość występowania IUGR na fermach znacznie przekraczała 10%, ale tak zawyżone wyniki uznaje się, jako uzyskane przy nierozróżnieniu pomiędzy osobnikami IUGR, a noworodkami z niską masą przy urodzeniu (czyli small for gestational age, SGA), ale bez anatomicznych cech IUGR. Niemniej obserwowane w literaturze rozbieżności skłoniły nas do przyjrzenia się okołorocznej częstotliwości pojawiania się noworodków IUGR na wielkotowarowej fermie świń. Obserwacje prosiąt z zespołem IUGR i ich rówieśników bez objawów IUGR prowadzono od dnia urodzenia aż do uzyskania masy rzeźnej na fermie wysokotowarowej o dobrym statusie zdrowotnym (PRRS -, grypa świń -, APP -, leptospira - z prowadzonym programem szczepień/leczenia przeciwko PCV2, *Mycoplasma hyopneumoniae*, ZZZN, streptokokozie, chorobie obrzękowej, ETEC, adenomatozie jelitowej i kokcydiozie). Uzyskane wyniki wykazały, że pora roku, w której następuje oproszenie, może mieć wpływ na częstotliwość pojawiania się osobników z cechami IUGR. Zauważono także szereg różnic w przyrostach, podatności na choroby i śmiertelności w populacji osobników IUGR w porównaniu do nie-IUGR w czasie odsadzenia, odchowu i tuczu. Z drugiej strony, zauważono, że cechy mięsa tuczników IUGR nie ustępują, a w ocenie konsumenckiej jakości mięsa nawet przewyższają mięso tuczników nie-IUGR. W podsumowaniu, wysiłek włożony w profilaktykę i utrzymanie dobrostanu zwierząt może przynieść efekty w postaci zmniejszenia strat zwierząt (osobników z cechami IUGR) oraz uzyskania większych ilości mięsa o wysokiej jakości.



SESJA FIZJOLOGII I PATOLOGII PSÓW I KOTÓW



NOWE CHOROBY KRĘGOSŁUPA

J. Sterna

Katedra Chorób Małych Zwierząt i Klinika, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

W ostatnich dwóch latach opisano co najmniej jedną zupełnie nową chorobę kręgosłupa: pourazowe dokanałowe przemieszczenie głowy żebra u kota oraz wariant zatoki zatoki skórzastej – potrójną zatokę skórzastą w okolicy krzyżowo-ogonowej u psa.

Pourazowe dokanałowe przemieszczenie głowy żebra (rib head intrusion through the intervertebral foramen lub traumatic rib head subluxation through the intervertebral foramen lub intracanal rib head dislocation) u kota zostało pierwszy raz opisane w 2020 roku przez Lisiewicz i in. u czteroletniego domowego kota krótkowłosego, który prawdopodobnie wskutek urazu doznał porażenia kończyn miednicznych, które po 48 h przeszło w ciężki niedowład uniemożliwiający chodzenie. Badanie tomografii komputerowej oraz magnetycznego rezonansu jądrowego ujawniło złamania żeber 9 i 12 po stronie prawej oraz zwichnięcie i przemieszczenie głowy żebra 9 do otworu między kręgami 8 i 9, gdzie doszło także do złamania brzegu kostnego otworu międzykręgowego. Wobec braku objawów ucisku na rdzeń kręgowy, a jedynie jego stłuczenia i szybkiej poprawy stanu kota, leczono go zachowawczo. Kot odzyskał zdolność do samodzielnego poruszania z niezbornością po 6 tygodniach a po 6 miesiącach poruszał się normalnie.

Przypadek własny pourazowego dokanałowego przemieszczenia głowy żebra dotyczył czteroletniej kotki domowej krótkowłosej po dwudniowej nieobecności w domu. Kotka miała wówczas ciężki niedowład uniemożliwiający chodzenie. Wobec bezowocnego dwutygodniowego leczenia zachowawczego w pobliskiej lecznicy kota odesłano do kliniki. Po badaniu neurologicznym i tomografii komputerowej ujawniono zwichnięcie i przemieszczenie do kanału kręgowego głów żeber 3 i 4 po stronie prawej, ucisk na rdzeń kręgowy i skoliozę. Podjęto decyzję o leczeniu operacyjnym. Operacja polegała na wydobyciu głów żeber z odpowiednich otworów międzykręgowych. Po 4 tygodniach od operacji czyli 6 tygodniach od odnalezienia kotki, odzyskała ona zdolność do samodzielnego poruszania się z silną niezbornością, a po 2 latach kot poruszał się sprawnie, jednak nadal z niewielką niezbornością.

Drugi przypadek własny dotyczył pięcioletniego kocura domowego krótkowłosego ze zwichnięciem i przemieszczeniem do kanału kręgowego głowy żebra 7 i skoliozą. Wobec złego stanu ogólnego zwierzę poddano eutanazji.

Potrójna zatoka skórzasta w okolicy krzyżowo-ogonowej opisana została po raz pierwszy w roku 2020 przez Sternę i in. Jest to wariant dobrze znanego z innych publikacji zaburzenia rozwojowego. Dzięki badaniu histopatologicznemu ustalono, że poza samymi zatokami zmieniona może być także skóra w linii pośrodkowej grzbietowej, na co do tej pory nie zwracano uwagi.

OCENA PRZYDATNOŚCI CYTOBLOKÓW W DIAGNOSTYCE PŁYNÓW Z JAM CIAŁA W CYTOPATOLOGII KLINICZNEJ PSÓW

K. Urbańska¹, T. Hutsch², A. Kawińska²

¹Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²WLD ALAB Bioscience, Warszawa, Polska

Diagnostyka cytopatologiczna płynów z jam ciała jest jednym z podstawowych badań cytologicznych w ramach praktyki patomorfologicznej psów. Podstawowym wskazaniem do punkcji jamy ciała jest gromadzący się w niej płyn uwidoczniiony w badaniach radiologicznych, rzadziej stwierdzony palpacyjnie w badaniu klinicznym. Nadmiar płynu zbierający się w przestrzeniach organizmu, tj. worek osierdziowy, jama opłucnowa czy otrzewnowa, może być objawem poważnych zaburzeń narządowych czy procesów nowotworzenia, które obejmują wskazane lokalizacje.

Podstawową metodą diagnostyczną wykorzystywaną do określenia charakteru i źródła płynu jest badanie cytologiczne, połączone z analizą biochemiczną i cytozą. Jest to metoda szybka, tania i prosta w wykonaniu i pozwala na postawienie wstępnej diagnozy, ustalenie rokowania i zaproponowanie leczenia. Mimo wielu plusów, badanie cytologiczne obarczone jest również wadami, m.in. niską liczbę komórek ujętych w rozmazie czy dużą liczbą erytrocytów, utrudniających analizę otrzymanego materiału. Ostatecznie diagnostyczną metodą, która powinna dostarczyć dodatkowych informacji na temat toczącego się procesu patologicznego, jest badanie histopatologiczne.

Metoda cytobloczków pozwala na wykorzystanie osadu, skrzepów krwi lub fragmentów tkanek uzyskanych z płynów z jam ciała, a następnie ich procesowanie i barwienie zgodnie ze standardową dla tkanek techniką histologiczną. Przygotowany w ten sposób materiał zawiera większą koncentrację komórek oraz może być skrojony w seryjnych skrawkach, dostarczając patologowi dodatkowych informacji. Uzyskany obraz dostarcza informacji o cytoarchitektonice, w tym o proporcjach między komórkami, adhezji komórek, ich wzajemnym ułożeniu względem siebie w tkance oraz ułatwia porównanie pomiędzy komórkami, które są uwidocznione blisko siebie. Również barwienie H-E dostarcza więcej szczegółowych informacji cytomorfologicznych w porównaniu do rutynowych barwień opartych na barwnikach Giemsa lub typu Diff-Quick.

Niniejsza praca miała na celu porównanie czterech metod otrzymywania cytobloczków: typu *the poor man's cell block* oraz metody z użyciem 4% agaru, 4% roztworu kolodiu i z użyciem gąbek żelatynowych.

Słowa kluczowe: cytobloczki, cytopatologia, histopatologia

WPŁYW *IN VITRO* MIKROPĘCZERZYKÓW Z KOMÓREK NOWOTWOROWYCH NA PROLIFERACJĘ LIMFOCYTÓW KRWI U PSÓW

M. Żmigrodzka¹, O. Witkowska-Piłaszewicz¹, R. Pingwara¹, A. Pawlak², A. Winnicka¹

¹Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Jedną z przyczyn progresji choroby nowotworowej, jak również zmniejszenia skuteczności terapii jest ucieczka komórek nowotworowych spod nadzoru immunologicznego gospodarza. Mikropęcherzyki błonowe (EVs) ze względu na swoje pochodzenie, wielkość oraz zawartość związków biologicznie czynnych uznawane są za struktury biorące czynny udział w regulacji mikrośrodowiska guza nowotworowego. Wyniki badań prowadzonych *in vitro* oraz w mysich modelach guzów potwierdzają, że EVs pochodzenia nowotworowego (TEVs) modulują funkcje komórek śródbłonna, fibroblastów i polaryzację makrofagów.

Podjęto próbę ustalenia, czy TEVs pochodzące z psich linii komórkowych białaczek i chłoniaka wywodzących się z limfocytów B ulegają fuzji z limfocytami krwi obwodowej i jak wpływają na ich proliferację. W tym celu linie nowotworowe: GL-1, CLBCL-1 i CLB70 hodowano w standardowych warunkach (37°C, 5% CO₂, 10-20% FBS) przez 7 dni. Następnie z nadsącza hodowlanego na drodze serii wiorów izolowano TEVs, a ich stężenie oznaczano metodą BCA. TEVs znakowane CellTrace inkubowano z limfocytami krwi obwodowej. Technika cytometrii przepływowej oceniano pobranie TEVs przez komórki po: 30, 60 i 120 minutach inkubacji. Badanie wpływu TEVs z trzech w/w linii, w stężeniach: 5 i 20 µg/5 x 10⁵ komórek, na proliferację limfocytów przeprowadzono po 72 godzinach kohodowli, w obecności ConA.

Wykazano, że procent limfocytów CD4+ i CD8+ efektywnie pobierających TEVs z linii CLBCL-1 po upływie 30 minut wynosi odpowiednio 2 i 4, po 30 minutach 65 i 52, a po 120 minutach 72 i 70. Jednokrotne podanie TEVs-CLBL-1 i TEVs-GL-1 w dwóch stężeniach istotnie nasiliło proliferację limfocytów T (P<0.05), a w przypadku TEVs-CLB70 istotnie wyższą proliferację (P<0.05) zaobserwowano tylko w wyższym stężeniu TEVs. Obecność TEVs w kohodowli nie miała istotnego wpływu na proliferację limfocytów B, natomiast zaobserwowano tendencję wskazującą na obniżenie ich proliferacji.

Uzyskane wyniki badań wstępnych wskazują, że TEVs są efektywnie pobierane przez limfocyty, a już jednokrotne pobranie TEVs przez limfocyty T znacząco nasila ich proliferację.

Słowa kluczowe: mikropęcherzyki błonowe, limfocyty, chłoniak, pies

OCENA EKSPRESJI COX-2 I KI-67 W ZMIANACH ROZROSTOWYCH BŁONY ŚLIZOWEJ JAMY NOSOWEJ U PSÓW I KOTÓW

E. Kaczmar

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Dotychczasowe badania ekspresji COX-2 w wielu rodzajach procesów wytwórczych, zwłaszcza w niektórych nowotworach u ludzi i zwierząt, stwarzają możliwość jej wykorzystania w celach diagnostycznych, prognostycznych oraz w terapii zmian rozrostowych błony śluzowej jamy nosowej u psów i kotów. Z kolei markery proliferacji uzupełniają ocenę histopatologiczną biopsatów w medycynie ludzkiej. Do tej pory nie potwierdzono roli Ki-67 jako markeru diagnostycznego w różnicowaniu zmian błony śluzowej jamy nosowej u psów i kotów. Nie znana jest ekspresja COX-2 w polipach jamy nosowej psów i kotów oraz idiopatycznym limfocytarno-plazmocytarnym zapaleniu jamy nosowej (z ang. LPR-lymphoplasmacytic rhinitis).

U pacjentów Katedry Diagnostyki Klinicznej w Olsztynie z podejrzeniem zmian rozrostowych wykonano: badanie kliniczne, morfologiczne i biochemiczne krwi, badania RTG oraz badania tomograficzne. U psów i kotów zakwalifikowanych do badania endoskopowego przeprowadzono ocenę makroskopową błony śluzowej i pobrano biopsaty do analizy histopatologicznej oraz immunohistochemicznej. Pacjenci zostali podzieleni na grupy: 1) LPR– psy, 2) LPR– koty, 3) nowotwory– psy, 4) nowotwory– koty, 5) polipy– psy, 6) polipy– koty. W badaniach immunohistochemicznych oznaczano COX-2 w oparciu o pierwotne mysie przeciwciała monoklonalne anty- COX-2. Ocena immunoreaktywności została określona systemem punktowym w skali Queiroga uwzględniającym odsetek komórek immunoreaktywnych i intensywność ich wybarwienia. Ekspresja Ki-67 została oznaczona zgodnie z powszechnie przyjętymi technikami badań IHC. W badaniach zostały wykorzystane monoklonalne przeciwciała pierwotne mysie. W sporządzonych preparatach oznaczono odsetek komórek z pozytywną reakcją barwną. Zastosowano narzędzia statystyczne: analizy Kruskala- Wallisa, korelację Spearmana.

Przeprowadzone badania u 40 psów z LPR, 11 psów z polipami oraz 42 psów z nowotworami, a także u 69 kotów z LPR, 17 kotów z polipami oraz 37 kotów z nowotworami, wykazały ekspresję COX-2 i Ki-67 w tychże zmianach rozrostowych błony śluzowej jamy nosowej psów i kotów oraz istotne statystycznie różnice w ekspresji COX-2 i Ki-67, pozwalające na różnicowanie tych zmian.

Słowa kluczowe: COX-2, Ki-67, psy, koty, jama nosowa

BADANIE WARSTW NACZYNIÓWKI PRZY UŻYCIU OPTYCZNEJ TOMOGRAFII KOHERENTNEJ W PRZYPADKU PROGRESYWNEGO ZANIKU SIATKÓWKI U PSÓW

J. Zwolska, M. Szadkowski, I. Balicki

Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Celem badań było określenie grubości poszczególnych warstw naczyniówki u psów chorujących na progresywny zanik siatkówki (PRA). Badania zostały przeprowadzone na 47 psach rasy mieszanej, które podzielono na dwie grupy: 22 psy chorujące na PRA w wieku od 2 do 12 lat oraz 25 psów zdrowych w wieku od 2 do 12 lat – jako grupa kontrolna. U wszystkich psów przeprowadzono badanie okulistyczne przy użyciu oftalmoskopów, lampy szczelinowej, tonometrów, fundus kamery.

Pomiary poszczególnych warstw naczyniówki i jej całkowitej grubości wykonano przy użyciu optycznej tomografii koherentnej - SD-OCT - aparatem Topcon 3D OCT 2000. Mierzono następujące warstwy: kompleks RPE-błony Brucha wraz z choriocapillaris oraz z błoną odblaskową w regionach jej występowania, warstwę naczyń średniej średnicy, warstwę naczyń dużej średnicy wraz z blaszką nadtworową oraz całkowitą grubości naczyniówki. Pomiar przy użyciu funkcji pomiarowej zintegrowanej z oprogramowaniem SD-OCT wykonywano w okolicy dogrzebietowej (G), dobrzuszej (B) w odległości 5000-6000 μm , w okolicy skroniowej (S) i nosowej (N), w odległości 4000-7000 μm od tarczy nerwu wzrokowego. Pomiary w regionie skroniowym i nosowym wykonano zarówno w obszarze błony odblaskowej (Sbo, Nbo), jak i błony ciemnej (Sbc, Nbc). Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu Mann Whitney U Test.

U wszystkich psów chorujących na PRA wystąpiło istotne statystycznie ścięczenie ($p < 0,005$) warstwy naczyń o średniej średnicy we wszystkich regionach (średnia [μm] $\pm$ SD) – kolejno – grupa kontrolna, grupa PRA, G (33 ± 6) (25 ± 8), B (25 ± 6) (17 ± 4), Sbo (48 ± 10) (32 ± 12), Sbc (29 ± 7) (16 ± 4), Nbo (34 ± 5) (23 ± 4), Nbc (29 ± 8) (19 ± 3).

Statystycznie istotne ścięczenie warstwy dużych naczyń z blaszką nadtworową, jak i całkowitej grubości naczyniówki G (183 ± 24) (165 ± 46), B (106 ± 16) (77 ± 22), Sbo (188 ± 33) (165 ± 37), Sbc (123 ± 18) (86 ± 29), Nbo (137 ± 9) (129 ± 14), Nbc (127 ± 16) (95 ± 22) stwierdzono we wszystkich obszarach niezawierających błony odblaskowej ($p < 0,005$ oraz $p < 0,01$).

PRA u psów rasy mieszanej jest związane z zaburzeniami w obrębie naczyniówki, takimi jak ścięczenie warstwy naczyń o dużej średnicy i całkowitej grubości naczyniówki w regionach bez błony odblaskowej oraz warstwy naczyń o średniej średnicy we wszystkich okolicach dna oka.

Słowa kluczowe: progresywny zanik siatkówki, optyczna tomografia koherentna, naczyniówka

CYTOMETRIA PRZEPŁYWOWA W DIAGNOSTYCE CHŁONIAKÓW U PSÓW

K. Bugiel-Stabla¹, A. Pawlak¹, M. Idziak²

¹Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Vetlab - Polskie Laboratoria Weterynaryjne, Warszawa, Polska

Cytometria przepływowa jest metodą diagnostyczną wykorzystywaną w hematologii oraz onkologii, stosowaną w rozpoznawaniu chłoniaków i ocenie odpowiedzi na leczenie. Badanie pozwala określić fenotyp oraz stopień zróżnicowania komórek nowotworowych. Ułatwia także podjęcie decyzji o dalszym postępowaniu diagnostycznym i leczniczym.

Materiał do oceny cytometrycznej stanowiła zawiesina komórek węzłów chłonnych czterech pacjentów z podejrzeniem postaci multicentrycznej chłoniaka. Materiał pobierano metodą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej z przynajmniej dwóch różnych węzłów chłonnych. Podłoże transportowe stanowił roztwór 200 µg świeżego osocza pacjenta w 2 ml 0,9% NaCl. Badanie przeprowadzano przy użyciu cytometru przepływowego Cytoflex, Beckman Coulter. Użyto panelu przeciwciał przeciwko: CD45, CD34, CD21, CD79a, CD3, CD4, CD8, CD5, MHCII. U wszystkich pacjentów określono stopień zaawansowania choroby nowotworowej. Wykonano: pełne badania krwi (w tym LDH, wapń zjonizowany, globuliny), badanie ultrasonograficzne jamy brzusznej oraz RTG klatki piersiowej w trzech projekcjach. Oceniono mikroskopowo rozmaz krwi, a ocenę cytologiczną bioptatów węzłów wykonano w laboratorium referencyjnym. W dwóch przypadkach twierdzono stadium IIIb, w jednym IVb, w jednym Vb choroby wg. WHO. W trzech przypadkach uzyskano wynik immunofenotypizacji: CD45+ CD21+ CD79a+ MHCII+ wskazujący chłoniaka z dużych komórek B (DLBCL). Komórki tych pacjentów wykazywały ekspresję markera leukocytów – CD45 oraz markerów limfocytów B: CD21 i CD79a. Równocześnie komórki te ekspresjonowały cząsteczki MHC klasy II. U jednego pacjenta komórki ekspresjonowały: CD45+ CD3c+ CD3+ CD4+. Komórki o takim fenotypie należy określić jakomłodociane limfocyty T o nietypowym fenotypie – co wskazywało na chłoniaka T- komórkowego.

W oparciu o opisane przypadki można stwierdzić, że do postawienia ostatecznego rozpoznania, przy podejrzeniu chłoniaka multicentrycznego u psów, wymagane jest określenie fenotypu komórek nowotworowych. Badanie immunofenotypizacji pozwala lekarzowi prowadzącemu odpowiednio dobrać protokół leczenia, co przekłada się na lepsze rokowanie dla pacjenta.

Słowa kluczowe: chłoniak multicentryczny, cytometria przepływowa, pies

INHIBICJA KINAZY ATR JAKO NOWY CEL TERAPEUTYCZNY W LECZENIU NOWOTWORÓW UKŁADU HEMATOPOETYCZNEGO PSÓW

M. Henklewska, A. Pawlak, B. Obmińska-Mrukowicz

Katedra Farmakologii i Toksykologii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Stres replikacyjny to stan, w którym na skutek obecności nienaprawionych uszkodzeń DNA dochodzi do spowolnienia lub zatrzymania procesu replikacji. Jeżeli nie zostanie odpowiednio szybko skorygowany, może prowadzić do powstania podwójnych pęknięć nici DNA oraz, w efekcie, inicjacji procesu apoptozy. Komórki nowotworowe, ze względu na wysokie tempo replikacji i nieprawidłowości w procesie naprawy DNA są szczególnie narażone na zaburzenia w replikacji, a tym samym, bardziej niż komórki prawidłowe, zależne od prawidłowej odpowiedzi na stres replikacyjny. W związku z tym, inhibicja kinazy ATR, kluczowego czynnika odpowiedzialnego za zahamowanie cyklu komórkowego, stabilizację widełek replikacyjnych oraz inicjację procesów naprawczych w warunkach stresu replikacyjnego, może prowadzić do selektywnej cytotoksyczności w stosunku do komórek nowotworowych, a tym samym stanowić atrakcyjny cel terapeutyczny w leczeniu nowotworów.

W przedstawionych badaniach dokonano analizy aktywności berzosertibu, inhibitora kinazy ATR (*Ataxia telangiectasia and Rad 3-related*) w nowotworach występujących u psów. W badaniach wykorzystano ustalone linie komórkowe nowotworów układu hematopoetycznego, kostniakomięsaka oraz nowotworów gruczołu sutkowego psa oraz linię prawidłową komórek nerki psa. Wstępna analiza żywotności komórek w oparciu o test MTT po 48 godzinnej ekspozycji na związek wykazała wysoką wrażliwość komórek chłoniaków i białaczek na działanie berzosertibu, przy czym najwyższą aktywność stwierdzono w stosunku do linii nowotworów wywodzących się z limfocytów B. Badania cytometryczne komórek barwionych aneksyną V/FITC i jodkiem propidyny potwierdziły jego aktywność proapoptyczną w stosunku do wrażliwych linii chłoniaka i białaczki psa. Analiza western blot wykazała wzrost poziomu ufosforylowanej postaci histonu H2AX pod wpływem działania związku, co wskazuje na indukcję uszkodzeń DNA w wyniku zahamowania odpowiedzi komórek na stres replikacyjny.

Uzyskane wyniki potwierdzają selektywną aktywność berzosertibu w stosunku do nowotworów układu hematopoetycznego, co pozwala na wyciągnięcie wniosku, iż inhibitory kinazy ATR mogą być obiecującym kierunkiem zwiększającym skuteczność terapii chłoniaka i białaczki psów.

Słowa kluczowe: berzosertib, białaczka psa, chłoniaki psa, kinaza ATR

Badania finansowane przez NCN: Dec-2020/04/X/NZ5/00629.

WPŁYW ALERGENOWO SWOISTEJ IMMUNOTERAPII NA POZIOM EKSPESJI GENÓW W JĄDRZASTYCH KOMÓRKACH KRWI OBWODOWEJ PSÓW Z ATOPOWYM ZAPALENIEM SKÓRY

A. Majewska, K. Dembele

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest jedną z najczęściej występujących chorób skóry u psów. Pomimo tego, że AZS stanowi ogromny problem, jego leczenie jest trudne, wymaga dużego doświadczenia klinicznego i nie zawsze jest skuteczne.

Celem badań było sprawdzenie wpływu alergenowo swoistej immunoterapii (ASIT) na zmianę poziomu ekspresji genów w jądrzastych komórkach krwi obwodowej. Psy do doświadczenia były kwalifikowane według objawów klinicznych określanych za pomocą kryteriów diagnostycznych Willemse'a i Prélud'a, uzupełnionych o kryteria Favrot'a.

Rozpoznanie kliniczne AZS zostało potwierdzone przez serologiczne testy alergiczne oraz testy śródskórne (zestaw Artuvetrin, Holandia). ASIT była stosowana przez sześć miesięcy. Wyciągi alergenowe zostały przygotowane przez firmę Artuvetrin Therapy w oparciu o wyniki testów śródskórnych. Wyciągi alergenowe podawano śródskórnie we wzrastających stężeniach zgodnie z zaleceniami producenta. Materiał do badań transkryptomicznych stanowiło RNA wyizolowane z jądrzastych komórek krwi obwodowej. W celu analizy ekspresji genów wykonano mikromacierze ekspresyjne porównując psy zdrowe (grupa kontrolna) z chorymi na AZS przed ASIT i po 6 miesiącach terapii.

Analiza statystyczna wykazała 521 transkryptów o zmienionej ekspresji. Spośród tych transkryptów 238 reprezentowało geny o znanych funkcjach. Dalsza analiza pozwoliła wytypować kilka genów istotnych dla AZS. W przypadku genów: PLSCR4 (skramblazy fosfolipidów 3) i IL-36γ (interleukiny 36 γ) stwierdzono wpływ immunoterapii na ich ekspresję. Po ASIT ekspresja była porównywalna z grupą kontrolną i zmieniona w porównaniu z grupą AZS przed terapią. Natomiast w przypadku genów SLPI (wydzielniczego inhibitora proteaz leukocytarnych) i MMP-9 (metaloproteinaza macierzy 9) wykazano podwyższoną ekspresję w grupach AZS przed i po ASIT w porównaniu do psów zdrowych. Być może, wyższa ekspresja genu PLSCR4 w grupie AZS przed terapią spowodowana była wyższą ekspresją genu SLPI, jako że zlokalizowane w błonie limfocytów T (CD4+) białko PLSCR4 jest jednym z receptorów dla SLPI. MMP-9 jest jednym z kluczowych enzymów w rozwoju i przebiegu reakcji zapalnej po ekspozycji na alergen. W naszych badaniach pomimo stosowania immunoterapii ekspresja tego genu nie uległa zmianie. U sześciu z siedmiu psów poddanych ASIT stwierdzono pozytywny efekt terapii. Dalsze badania są konieczne w celu weryfikacji znaczenia opisanych genów w przebiegu AZS.

Słowa kluczowe: atopowe zapalenie skóry, immunoterapia, mikromacierze ekspresyjne

Badania finansowane przez NCN: N N308 575940.

BIĄŁKO P16 I RECEPTORY ESTROGENOWE GPER I ERR – NOWE MOLEKULARNE MARKERY ZABURZEŃ W GONADZIE PSA

P. Pawlicki¹, A. Gałuszka², L. Pardyak, G. Ramisz², M. Chmurska-Gąsowska²,
A. Pietsch-Fulbiszewska², M. Kotula-Balak², K. Tarasiuk²

¹Centrum Medycyny Eksperymentalnej i Innowacyjnej, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Kraków, Polska

²Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Kraków, Polska

Obecnie obserwuje się wzrost występowania zaburzeń w układzie rozrodczym psów m.in. nowotworów, co może być wynikiem działania tzw. czynnika środowiskowego. Zjawisko to zostało opisane w ostatnich dekadach na podstawie badań u zwierząt dzikich i ludzi jako zespół dysgenezy gonad. Działanie środowiskowych związków endokrynnie-czynnych (właściwości antyandrogenne i/lub estrogenne) przyczynia się do występowania: spodziectwa, wnetrostwa, obniżenia liczby plemników w nasieniu i nowotworów. Przedwczesne starzenie się komórki (ang. *senescence*) to proces, w którym komórki nieodwracalnie przestają się dzielić i wchodzi w stan trwałego zatrzymania wzrostu wywołane przez nienaprawione uszkodzenie DNA lub inne czynniki stresowe. Badania u psów rasowych wykazały brak korelacji pomiędzy liczbą komórek dzielących się, wiekiem zwierzęcia, a występowaniem nowotworu komórek germinalnych (GCT). Równocześnie istnieją dane wskazujące na możliwość wykorzystania do diagnostyki chorób gonady psa podobnie jak u człowieka immunoekspresji receptorów estrogenowych (ER). Jak dotąd znaczenie zjawiska przedwczesnego starzenia się komórek oraz działania estrogenów środowiskowych poprzez nowoodkryte nieklasyczne receptory estrogenowe: błonowy receptor estrogenowy (GPER) oraz receptory pokrewne receptorom estrogenowym (ERR) w fizjologii i patologii gonady męskiej psa jest słabo poznane lub nieznane.

Do badań wykorzystano jądra psów rasy mieszanej (n=60; 3-6 lat) ze schroniska w Rytlowie, które były rutynowo kastrowane. W trakcie badań wstępnych stwierdzono występowanie wnetrostwa jednostronnego, co potwierdziła analiza histopatologiczna. Ponadto w części tkanek wykryto wewnątrzkanalikowe guzy komórek germinalnych. Następnie zbadano ekspresję i immunolokalizację białek p16 (marker starzenia się) oraz GPER i ERR. Wyniki wykazały wzrost ekspresji p16 w jądrach z wnetrostwem i GCT. Białko p16 zlokalizowane było w komórkach germinalnych. Dodatkowo odnotowano wzrost ekspresji GPER i ERRβ w przeciwieństwie do ekspresji ERRα i ERRγ, która była obniżona w jądrach GCT. Obecność wszystkich receptorów notowano głównie w komórkach Leydiga. Ujawniono także, delokalizację GPER z błony do cytoplazmy komórek w jądrach GCT.

Niniejsze wyniki wskazują, że należy rozważyć wykorzystanie badanych tu białek funkcjonalnych w diagnostyce histopatologicznej gonad u psów.

Słowa kluczowe: pies, gonada męska, nowotwór komórek germinalnych, starzenie komórkowe, receptory estrogenowe

Finansowanie: URK: SUB/2019-0816-D810.

OCENA MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA BIOMARKERÓW (CCL11 i TGF-BETA1) W DIAGNOSTYCE SCHORZEŃ GRUCZOŁU PROSTATY U PSÓW

L. Krakowski¹, M. Wieszczyński², I. Krakowska³, J. Furmaga⁴, G. Opielak⁵, P. Brodzki¹, T. Piech¹, M. Grodzka⁶, R. Dąbrowski¹, M. Bochniarz¹

¹Department and Clinic of Animal Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, Lublin, Poland

²Harbour Veterinary Hospital 251, London, UK

³University Center of Veterinary Medicine, Agricultural University of Cracow, Cracow, Poland

⁴Department of General and Transplant Surgery and Nutritional Treatment, Lublin, Poland

⁵Department of Human Physiology, Lublin, Poland

⁶Department of Veterinary Prevention and Avian Diseases, Lublin, Poland

W chorobach gruczołu krokowego u psów takich jak łagodny przerost (BPH), zapalenie (P) czy rak (PCa) dużą rolę odgrywa wczesna diagnostyka tych schorzeń. W tym celu oprócz standardowych badań diagnostycznych (USG i Rtg) wykorzystuje się również niektóre biomarkery. Należą do nich psia prostatowa specyficzna esteraza (CPSE- Canine prostatic specific esterase), kwaśna fosfataza (AP- Acid phosphatase) a także PSA (Prostate Specific Antygen). Ostatnio pojawiły się również badania odnośnie wykorzystania mikroRNA oraz czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF). Nie mniej jednak biomarkery te uznawane są jak dotąd jako narzędzie wyłącznie pomocnicze.

Cel badań Celem naszych badań była próba oceny przydatności kolejnych markerów takich jak CCL11 (eotaksyna-1) i TGF-beta 1, które w przyszłości mogłyby być w pełni wykorzystane jako specyficzne markery do wczesnej diagnostyki schorzeń prostaty u psów.

Materiał i metody Badania przeprowadzono u 40 psów z podziałem na trzy grupy. Grupa I (n=9) to psy zdrowe, w wieku do 5 lat, Grupa II (n=17) to psy w wieku 5-10 lat u których w badaniu stwierdzono (BPH) i Grupa III (n=14) stanowiły psy powyżej 10 roku, u których także potwierdzono BPH.

Wyniki Wyniki badań pokazały, że zarówno CCL11 (eotaksyna-1) jak i TGF-beta 1 są mało specyficzne i mało przydatne w diagnostyce BPH u psów ponieważ nie stwierdzono żadnej istotnej korelacji pomiędzy wiekiem psów, rozmiarem gruczołu krokowego jak i czynnikiem VEGF.

Wnioski Oznaczane w badaniach biomarkery są mało przydatne we wczesnej diagnostyce BPH u psów

Słowa kluczowe: psy, gruczoł krokowy, CCL11 (eotaksyna-1), TGF-beta 1

MIKRO-RNA ORAZ CZYNNIK WZROSTU ŚRÓDBŁONKA NACZYŃ (VEGF) JAKO NOWE PRZYDATNE MARKERY W DIAGNOSTYCE SCHORZEŃ GRUCZOŁU PROSTATY U PSÓW

M. Wieszczycki¹, L. Krakowski², G. Opielak³, I. Krakowska⁴, J. Furmaga⁵, P. Brodzki², M. Bochniarz², R. Dąbrowski², T. Piech², B. Zdzisińska⁶, Ł. Adaszek⁷

¹Harbour Veterinary Hospital 251, London, Road North End PO2 9HA, Portsmouth

²Department and Clinic of Animal Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, Lublin, Poland

³Department of Human Physiology, Lublin, Poland

⁴University Center of Veterinary Medicine, Cracow, Cracow, Poland

⁵Department of General and Transplant Surgery and Nutritional Treatment, Lublin, Poland

⁶Department of Virology and Immunology, Institute of Microbiology and Biotechnology, Lublin, Poland

⁷Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Disease, Lublin, Poland

W celu bezinwazyjnej diagnostyki schorzeń gruczołu krokowego u ludzi wykorzystuje się obecnie liczne specyficzne biomarkery, których wartość prognostyczna i diagnostyczna porównywalna jest z wynikami badań histopatologicznych. Natomiast w przypadku psów diagnostyka schorzeń prostaty opiera się wyłącznie na badaniu klinicznym, badaniu USG i Rtg.

Cel badań Celem badań była ocena przydatności dwóch biomarkerów tj. miRNA-129 i VEGF w celu wczesnej diagnostyki BPH u psów.

Materiał i metody Badania przeprowadzono u 40 psów z podziałem na trzy grupy. Grupa I (n=9) to psy zdrowe, w wieku do 5 lat, Grupa II (n=17) to psy w wieku 5-10 lat u których w badaniu stwierdzono (BPH) i Grupa III (n=14) stanowiły psy powyżej 10 roku, u których także potwierdzono BPH.

Wyniki Wyniki badań pokazały, że u psów z grupy II i III nastąpił istotny spadek ekspresji miRNA (p<0.0001) oraz istotny wzrost surowiczego poziomu VEGF (p=0.025) w porównaniu do psów grupy I. Stwierdzono także dodatnią korelację pomiędzy wielkością prostaty a poziomem czynnika VEGF.

Wnioski Badania wykazały, że oznaczanie miRNA-129 i VEGF może być bardzo przydatne w diagnostyce schorzeń prostaty u psów.

Słowa kluczowe: psy, prostata, biomarkery, miRNA-129, VEGF

ANALIZA ROZWOJU WARSTWY KOROWEJ I RDZENIOWEJ JAJNIKA KOTA DOMOWEGO W OKRESIE PRENATALNYM

E. Prozorowska, H. Jackowiak

Pracownia Histologii i Embriologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

W rozwoju jajnika kluczową rolę odgrywają sznury płciowe, które pojawiają się jako pasma komórek odchodzące od nabłonka mezotelialnego grzebieni płciowych, po czym jako sznury korowe i rdzeniowe zajmują odpowiednie miejsce w różnicującej się gonadzie. Celem badań była analiza rozwojowa warstwy korowej i rdzeniowej jajnika, z uwzględnieniem topografii i struktury sznurów płciowych, oraz ich relacji ze zrębem i systemem naczyniowym jajnika. Badania prowadzono na zarodkach i płodach kota, w wieku 24 – 63 dni p.c. pobranych od samic poddawanych ovariohisterektomii. Obserwacje prowadzono na preparatach histologicznych w LM, rekonstrukcjach 3D obrazów histologicznych w programie AMIRA oraz preparatach mikrokorozyjnych naczyń krwionośnych w SEM.

Wyniki badań wskazały, że jajniki kota zaczynają się rozwijać ok. 24 dnia p.c. kiedy to z nabłonka grzebieni płciowych wysuwają się pasma komórek będące pierwszą generacją sznurów płciowych, typową dla gonady niezróżnicowanej. Do 27 dnia p.c. sznury płciowe tworzą gęstą sieć pasm komórkowych, do których wnikają oogonie. W kolejnych dniach sznury płciowe tracą połączenie z nabłonkiem powierzchniowym i już jako sznury rdzeniowe zajmują obszar rdzenia jajnika. Równocześnie na obwodzie jajnika pojawia się druga generacja sznurów płciowych, która jest wyznacznikiem tworzącej się kory jajnika. Sznury korowe pozostają w ciągłości z nabłonkiem powierzchniowym i zachowują integralność dzięki obecności błony podstawnej. Komórki płciowe sznurów różnicują się w oocyty i ok. 40–45 dnia p.c. wraz z otaczającymi je komórkami nabłonkowymi, tworzą zawiązki pierwotnych pęcherzyków jajnikowych. W tym czasie sznury rdzeniowe stopniowo ulegają rozproszeniu w zrębie jajnika i do końca okresu prenatalnego stopniowo podlegają apoptozie. Sznury korowe po 45 dniu p.c. zostają rozdzielone szerokimi pasmami tkanki łącznej, w obrębie której rozwijają się odżywcze sieci włosowate. Ok. 55-60 dnia p.c. w części obwodowej jajnika obserwuje się pierwotne pęcherzyki jajnikowe. Część sznurów korowych pozostaje nadal w łączności z nabłonkiem powierzchniowym.

Podsumowując, wyniki pokazały, że struktury typowe dla kory jajnika, takie jak błona biaława, skupiska pęcherzyków jajnikowych, czy funkcjonalne sieci naczyniowe rozwijają się dopiero po urodzeniu.

CIĄŻA U SUKI Z TORBIELAMI JAJNIKOWYMI

A. Domosławska, S. Zduńczyk

Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko - Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Torbiele jajnikowe dotyczą głównie suk starszych > 8 roku życia, jednak mogą występować również u młodszych zwierząt i prowadzić do niepłodności. W przypadku wystąpienia objawów klinicznych diagnostyka opiera się na diagnostyce obrazowej (USG, RTG, TK, MRI) i badaniach hormonalnych. Przy braku objawów torbiele jajnikowe mogą nie zostać wykryte przez całe życie zwierzęcia.

Opis przypadku.

Materiały i metody. W opisanym przypadku 5-letnia suka rasy wyżeł niemiecki została objęta rutynowymi badaniami w celu wyznaczenia optymalnego momentu krycia: waginoskopia, cytologia wymazu pochwowego, badanie poziomów progesteronu i badanie USG układu rozrodczego. Badania rozpoczęto 7 dnia od początku cieczki.

Wyniki. W badaniu USG stwierdzono na obu jajnikach cienkościenne torbiele o średnicy 2,5 cm, natomiast w tkance jajnikowej pęcherzyki jajnikowe. Rogi macicy i trzon były bez widocznych zmian patologicznych. Zarówno estradiol-17 β jak i progesteron były w normach fizjologicznych dla cyklu rujowego w badanych dniach: 7. (37.2 pg/ml i 1.2 ng/ml), 9. (21.8 pg/ml i 3.4 ng/ml) i 11. (14.9 pg/ml i 6.9 ng/ml). Wyniki podstawowych badań krwi – morfologia i biochemia (funkcja wątroby, nerek, tarczycy) były w normach fizjologicznych. Trzynastego dnia od początku objawów rujowych suka została pokryta. Siódmego dnia po kryciu obraz ultrasonograficzny torbieli nie wykazywał zmian, poziom estradiolu-17 β wynosił 4.1 pg/ml, a progesteronu 30.6 ng/ml. Dwudziestego trzeciego dnia po kryciu badaniem USG stwierdzono obecność 4 ampuł płodowych, natomiast średnica torbieli uległa zmniejszeniu do 1.5 cm. W 64 dniu licząc od poziomu progesteronu 6.9 ng/ml wykonano cesarskie cięcie ze względu na atonię macicy po rozpoczętej akcji porodowej. Po resuscytacji prawidłowo rozwiniętych płodów z czterech przeżyły dwa noworodki. Sześćdziesiątego dnia po porodzie w obrazie USG nie stwierdzono torbieli jajnikowych.

Wnioski. Opisany przypadek wskazuje, że możliwe jest uzyskanie ciąży u suk pomimo obecności na jajnikach torbieli, ale należy się liczyć z małą liczbą płodów. Torbiele te nie powodowały wprowadzenia zaburzeń hormonalnych, ponieważ stężenia estradiolu-17 β i progesteronu były w zakresie norm fizjologicznych. Niemniej obecność torbieli mogła mieć wpływ na liczbę owulujących pęcherzyków.

Słowa kluczowe: suka, torbiele jajnikowe, progesteron, estradiol, USG, ciąża

ARYTMOGENNA KARDIOMIOPATIA PRAWEJ KOMORY (ARVC) O NIETYPOWYM CHARAKTERZE U PSA RASY RHODESIAN RIDGEBACK – OPIS PRZYPADKU

M. Lewicki¹, M. Kawicka¹, I. Janus², A. Noszczyk-Nowak³

¹Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra Patologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

³Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Psów, Kotów i Koni, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Arytmogenna kardiomiopatia prawej komory (ARVC) jest wrodzoną kardiomiopatią występującą u ludzi i zwierząt. Charakteryzuje ją zanik kardiomiocytów oraz zastępowanie ich przez tkankę tłuszczową i włóknistą. W przebiegu choroby dochodzi do powstawania ogniskowych zmian rozsianych lokalizujących się głównie w mięśniu prawej komory. Powstałe zmiany strukturalne prowadzą do destabilizacji elektrycznej, co jest przyczyną arytmii - częstoskurczu komorowego (VT) i migotania komór (VF), które mogą wywołać nagłą śmierć sercową.

W naszej pracy opisujemy przypadek psa rasy Rhodesian Ridgeback, z którym w wieku 4 lat właściciel zgłosił się w lutym 2013 roku na badanie kardiologiczne ze względu na epizody omdleń. W historii zdiagnozowana niedoczynność tarczycy. Na podstawie obniżonej kurczliwości i poszerzenia lewej komory w badaniu echokardiograficznym wysunięto podejrzenie kardiomiopatii rozstrzeniowej (DCM). Wdrożono leczenie kardiologiczne: Vetmedin 15 mg/dobę, Prestarium 5 mg/dobę, Rytmonorm 150 mg 3 razy/dobę oraz zalecono suplementację preparatem Cardioforce. We wszystkich wykonanych badaniach echokardiograficznych obserwowano powiększenie lewego przedsionka i lewej komory, bez istotnych zmian w morfologii prawej komory. Przez kolejne lata leczenia pies utrzymywał stabilny stan serca. W październiku 2020 roku zdiagnozowano migotanie przedsionków (AF) i niedomykalność zastawki mitralnej. Ze względu na pogarszający się stan zdrowia i obniżenie komfortu życia związane z rozwojem chłoniaka zwierzę zostało poddane eutanazji. Badanie sekcyjne i histopatologiczne serca nie pozwoliło na potwierdzenie klinicznej diagnozy DCM, wykazało natomiast bardzo silne zwyrodnienie kardiomiocytów i zastąpienie ich dużą ilością tkanki tłuszczowej w obrębie obu przedsionków i uszek, co skłania do postawienia jako najbardziej prawdopodobnej diagnozy arytmogenicznej kardiomiopatii prawej komory (ARVC) o nietypowym charakterze.

Kardiomiopatię rozstrzeniową (DCM) mimo klinicznie pasującego obrazu ostatecznie można rozpoznać dopiero po badaniu anatomopatologicznym i histopatologicznym. Arytmogenna kardiomiopatia prawej komory (ARVC) może przebiegać z nietypowym obrazem, również u psów z brakiem predyspozycji rasowych do tej choroby.

Słowa kluczowe: kardiomiopatia rozstrzeniowa, arytmogenna kardiomiopatia prawej komory, Rhodesian Ridgeback, kardiomiocyty, migotanie przedsionków

TRADYCYJNE ZNIECZULENIE WZIEWNE CZY ZBILANSOWANE? – PORÓWNANIE WPŁYWU DWÓCH PROTOKOŁÓW ZNIECZULENIA DO CESARSKIEGO CIĘCIA NA STAN ZDROWIA I ŻYWOTNOŚĆ SZCZENIĄT

A. Antończyk¹, Z. Kiełbowicz¹, W. Niżański², M. Ochota²

¹Katedra i Klinika Chirurgii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Cesarskie cięcie (CC) jest jednym z najczęściej wykonywanych zabiegów w klinikach specjalizujących się w rozrodzie i położnictwie małych zwierząt.

Celem doświadczenia było porównanie wpływu znieczulenia inhalacyjnego i zbilansowanego (znieczulenie inhalacyjne i zewnątrzoponowe) na parametry gazometrii krwi pępowinowej oraz żywotność szczeniąt urodzonych przez CC.

W doświadczeniu wykorzystano 36 suk poddanych planowanemu CC. Samice podzielono na dwie grupy: grupa I (izofluran, n= 20) oraz grupa IZ (izofluran + zn. zewnątrzoponowe, n=16). Znieczulenie ogólne indukowano propofolem (4-6 mg/kg) i podtrzymywano izofluranem. W grupie IZ dodatkowo wykonywano znieczulenie zewnątrzoponowe (lidokaina, 3-4 mg/kg). Krew pępowinową pobierano tuż po wydobyciu szczenięcia z pęcherza płodowego ale przed oderwaniem łożyska zaciskając odpowiednio sznur pępowinowy. W celu oceny stanu zdrowia i żywotności noworodków wykorzystano zmodyfikowaną skalę Apgar. Szczenięta oceniano w 0 minucie - przed udzieleniem pierwszej pomocy, następnie w 5 i 20 minucie po urodzeniu.

W grupie I przebadano 62 szczenięta zaś w grupie IZ 58. Wybrane wyniki analizy gazometrycznej krwi pępowinowej przedstawiono w tabeli.

	Gr I	Gr IZ	wartość <i>p</i>
Parametr	Mediana, IQR		
Ph units	7.22, 0.09	7.21, 0.12	0.75
pCO2 mmHg	59.0, 14.9	58.4, 18.8	0.64
pO2 mmHg	17.7, 13.5	14.2, 12.2	0.07
chCO3 mmol/L	23.9, 4.1	22.7, 4.4	0.45
BE(ecf) mmol/L	-3.9, 3.1	-4.7, 6.3	0.80
Lac mmol/L	2.36, 1.27	2.46, 1.63	0.77

Ocena żywotności szczeniąt w 0 minucie ujawniła brak różnic między szczeniętami grupy I oraz IZ. Mediana wyników Apgar w 0 min (*Apgar score* - AS 0) wynosiła 2 dla obydwu grup. Jednakże, ocena w kolejnych punktach czasowych wykazała istotne różnice w stanie noworodków. Mediana AS w 5 minucie po urodzeniu wynosiła 5,3 i 8,2 odpowiednio dla grupy I oraz IZ ($p<0,001$). W 20 minucie także zaobserwowano wyraźnie lepszy stan kliniczny szczeniąt, których matki poddano znieczuleniu zbilansowanemu (mediana AS 20 min: 8,2 w grupie I oraz 9,2 w grupie IZ, $p=0,002$).

Uzyskane wyniki wykazały, że zastosowanie znieczulenia zewnątrzoponowego do planowanego CC nie wpływa na wyniki gazometrii krwi pępowinowej. Niemniej jednak, szczenięta z grupy IZ uzyskały istotnie wyższą punktację w AS po 5 i 20 minutach, co wskazuje na ich lepszą witalność, szybszą rekonwalescencję po zabiegu obraz łatwiejsze przejście z życia płodowego do noworodkowego.

Słowa kluczowe: pies, cesarskie cięcie, gazometria krwi pępowinowej, Apgar

Finansowanie: Innowacyjny naukowiec N060/0026/20.

AEROBIC MILK BACTERIAL STRAINS FROM LACTATING BITCHES

I. Vasiu¹, G. Meroni², R. Dąbrowski³, P. A. Martino², A. Tvarijonaviciute⁴, M. Bochniarz³,
R. A. Pop¹, F. G. Brudașcă¹, I. N. Fiț¹

¹University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj-Napoca, Romania

²University of Milan, Milan, Italy

³University of Life Sciences, Lublin, Poland

⁴University of Murcia, Murcia, Spain

Mastitis represents an actual emergency in bitches (with a prevalence in postpartum of 13%) due to severe pain, local gangrene, mortinatality, and even death. Giant breeds, multiparous bitches, large litters, and seasonality are predisposing factors. Bacterial aetiology represents the leading cause of mastitis as a result of ascending infections.

The aim of this study was to evaluate the relative abundance of cultivable aerobic bacteria in gestational (n=73; 84.9%) and pseudociesis (n=16; 19.2%) bitches. Milk samples were collected from 87 females; 41 (47%) had healthy glands, 17 (19.5%) had subclinical mastitis, while 29 (33.3%) had clinical mastitis (*mammae* congestion [n=3], galactostasis [n=13], *Mastitis acuta* [n=12], and *Mastitis gangrenosa* [n=1]).

Of 162 milk samples, 93.2% were positive; the remaining were sterile. Forty-seven (n=47) different bacterial species were identified, with the highest prevalence for *Escherichia coli* (29.14%), *Staphylococcus* sp. (25.83%), *Enterococcus faecium* (11.92%), *Proteus mirabilis* (9.27%), and *Staphylococcus pseudintermedius* (8.61%).

The milk microbiome influences the health status of the mammary glands. In healthy bitches, the *Staphylococcaceae* (43,12 %), *Enterobacteriaceae* (23,85 %) and *Enterococcaceae* (10,09 %) were the main bacterial isolated families. In subclinical mastitis, the *Staphylococcaceae* (36,36 %), followed by the *Enterobacteriaceae* (18,18 %), *Rhizobiaceae* (7,58 %), *Bacillaceae* (7,58 %), and the *Enterococcaceae* (7,58 %) families, had the highest prevalence. Finally, from the *mammae* with clinical mastitis, the *Staphylococcaceae* (45,59 %), followed by the *Enterobacteriaceae* (13,24 %) and the *Enterococcaceae* families (10,29 %), had the highest prevalence.

The *Staphylococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, and *Enterococcaceae* families are the leading bacterial families isolated from bitch milk. The ascending route of infection facilitates environmental bacterial species, like *E. coli* or *S. pseudintermedius*, to invade and colonize the mammary gland in the bitch.

Keywords: Bitch, mastitis, milk, bacterial, aetiology

MEASUREMENT OF MILK SERUM AMYLOID A IN CANINE MILK. A PRELIMINARY STUDY

I. Vasiu¹, R. Dąbrowski², M. Szczubiał², A. Tvarijonavičiute³

¹University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj-Napoca, Romania

²University of Life Sciences, Lublin, Poland

³University of Murcia, Murcia, Spain

The acute phase response (APR) is nonspecific and fast since it develops secondary to many tissue injuries. It develops before the stimulation of the specific immune response and the onset of clinical signs. Acute phase proteins (APPs) are widely used as inflammatory or diagnostic biomarkers. CRP, Hp, SAA, and Cp are widely used to diagnose different inflammatory pathologies in dogs. In bitch mastitis, the APR is evaluated by serum and milk CRP and serum Hp during mastitis episodes.

The present study aimed to evaluate the APR by measuring the milk levels of SAA with a rapid test, OmniChek-SAA (Accuplex Diagnostics, Ireland), from 13 lactating bitches of various breeds (10-96 months of age), with bodyweight between 3 and 50 kg (mean $\pm$ SD, 22 $\pm$ 30 kg).

The diagnostic was based on history, clinical evaluation, and laboratory assays (milk pH, cytology, biochemistry, and microbiology). Two groups were formed; a control group consisted of bitches with healthy *mammae* (n=4; 30.77%), and a test group that consisted of bitches with mastitis (n=9; 69.23%). Cases of mastitis included *mammae* with subclinical mastitis (n=2; 15.38%), *Mastitis acuta* (n=1; 7.69%), *Mastitis chronica* (n=2; 15.38%), and galactostasis (n=4; 30.77%).

Results showed that all milk samples from the control group had an SAA value below 10 (<10 SAA), while in the test group, all the milk samples had an SAA value above 10 (> 10 SAA) (P=0.005). The milk samples from subclinical and *Mastitis acuta* had an SAA value between 10-50 (10-50 SAA). In instances with galactostasis, the milk samples had an SAA value up to 400 (10-400 SAA). Finally, in cases with *Mastitis chronica*, with hardened areas of the *mammae*, results showed an SAA value above 400 (> 400 SAA).

Present data show that SAA is measurable in the milk of bitches. Thus, rapid SAA tests are a simple, effective, and reliable diagnostic method to detect mild to significant inflammation in bitch mastitis. Future research should focus on a more considerable number of animals with healthy and inflamed *mammae*.

Keywords: bitch, milk, SAA, mastitis, diagnostic

Accuplex Diagnostics Ltd, Ireland, funded the research.

ROZWÓJ NERKI U PŁODÓW KOTA DOMOWEGO – BADANIA WSTĘPNE

A. Górka, M. Ochota, W. Niżański

Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Wstęp i cel badań: Opisywane badanie koncentruje się na zmianach w rozwoju nerki u płodów kota domowego możliwych do zaobserwowania przy pomocy obrazowania ultrasonograficznego. Celem badań jest zdobycie informacji na temat rozwoju nerek płodu a w przyszłości wykorzystanie pomiarów powiększających się organów jako dodatkowego parametru biometrycznego pozwalającego na wyznaczenie daty porodu. U kotów oszacowanie dokładnego wieku ciąży jest nadal kwestią problematyczną, dlatego dodatkowy pomiar biometryczny byłby istotnym ułatwieniem w codziennej praktyce weterynaryjnej. Jego zastosowanie mogłoby ułatwić ustalanie właściwej daty porodu lub zaplanowanie cesarskiego cięcia i zapewnienie właściwej opieki lekarsko-weterynaryjnej.

Materiały i metody: Badanie zostało przeprowadzone na 20 kotkach hodowlanych ras Maine coon, brytyjski krótkowłose, devon rex i rosyjski niebieski. Jedna z samic była pierworódką, pozostałe w przeszłości rodziły. Badania ultrasonograficzne przeprowadzane były raz w tygodniu, począwszy od dnia potwierdzenia ciąży (około 16 dni po pierwszym kryciu). Obrazowanie przeprowadzane było przy pomocy aparatu Sonoscape s50. Do badań używano głowicy liniowej. Mierzono długość nerki oraz średnicę miedniczki nerkowej. Skany wykonywane były w płaszczyźnie podłużnej. Linia pomiaru rozciągała się pomiędzy dwoma biegunami narządu, w jego maksymalnej długości, przechodząc przez miedniczkę nerkową. Pomiar miedniczek nerkowych dokonywany był pomiędzy wewnętrznymi krawędziami rdzenia nerki.

Wyniki: Podczas monitorowania ciąży nerki płodów były po raz pierwszy dostępne do badania około 38 dnia po pierwszym kryciu. W 6. tygodniu ciąży średnia długość nerki wynosiła $5,94 \pm 1,02$ mm, w 7 tygodniu: $8,11 \pm 0,62$ mm, w 8. tygodniu: $10,9 \pm 1,19$ mm a w tygodniu 9: $14,18 \pm 1$ mm.

Wnioski: Najszybszy średni przyrost długości narządu notowany był w 9 tygodniu ciąży (średnio 3,2 mm) podczas gdy w tygodniach 7. i 8. było to kolejno 2,17 i 2,79 mm.

Jeżeli chodzi o przewidywanie daty porodu, w rozrodzie kotów zazwyczaj dokonuje się pomiarów wewnętrznej jamy kosmówkowej (inner chorionic cavity – ICC) oraz średnicy dwuciemiowej (biparietal diameter – BPD). W pierwszej połowie ciąży (pomiędzy 19. a 37. dniem po pikie LH) obliczenia opiera się na pomiarach ICC, po 37. dniu bardziej przydatnym parametrem staje się BPD. Codzienna praktyka pokazuje jednak, że szacunki oparte na pomiarach tych struktur nie zawsze okazują się precyzyjne.

Słowa kluczowe: ciąża, biometria płodowa, ultrasonografia, kot domowy

OBECNOŚĆ BAKTERII *MYCOPLASMA SPP.* W UKŁADZIE ROZRODCZYM PSÓW-REPRODUKTORÓW

K. Domrazek, I. Kaszak, P. Jurka

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Wpływ obecności bakterii *Mycoplasma spp.* w układzie rozrodczym psów na ich płodność nie został dokładnie poznany. Wielu autorów opisuje negatywny wpływ tych drobnoustrojów na jakość nasienia (aspermia, zmniejszenie koncentracji oraz wzrost ilości plemników z wadami morfologicznymi) oraz sugeruje ich chorobotwórczość. Ponadto znane są przypadki psów- nosicieli, u których po zastosowanej antybiotykoterapii jakość nasienia poprawiała się. Z drugiej jednak strony istnieją doniesienia o płodnych nosicielach tej bakterii, jednakże niewielka ilość przeprowadzonych badań oraz sprzeczne ich wyniki, nie pozwalają na dokładne określenie patogenności *Mycoplasma spp.*

Przebadano 27 psów- reproduktorów z hodowli zrzeszonych w Związku Kynologicznym w Polsce (ZKwP). Od każdego z nich pobrano wymazy z napletka w celu wykonania badania PCR w kierunku *Mycoplasma spp.*, *Chlamydia spp.*, *Brucella canis* i *Herpesvirus canis*, a także wykonano bakteriologię z nasienia. Wszystkie psy miały negatywne wyniki badań w kierunku *Chlamydia spp.*, *Brucella canis* i *Herpesvirus canis* oraz nie wyhodowano bakterii tlenowych z ich nasienia. Obecność Mykoplazm w układzie rozrodczym potwierdzono u 23 osobników, z których część nigdy nie była użytkowana reprodukcyjnie. Nasienie pobrano metodą manualną i oceniono jego jakość przy użyciu systemu CASA (MICROPTIC, Hiszpania) oraz mikroskopii świetlnej. U dwóch nosicieli tej bakterii stwierdzono oligospermie, a u jednego aspermie. Nasienie pozostałych psów było dobrej jakości (tj. ponad 150mln plemników w ejakulacie, ruchliwość minimum 70% i 80% plemników o prawidłowej morfologii), a w trzeciej frakcji nasienia nie odnotowano komórek zapalnych.

Powyższe wyniki sugerują, że obecność Mykoplazm w układzie rozrodczym psa nie musi być związana z występowaniem niepłodności, aczkolwiek wyniki psów o słabej jakości nasienia wskazują na kliniczny przebieg mykoplazmozy. Ze względu na fakt, iż dotychczas opisano 15 gatunków *Mycoplasma spp.* występujących u psów, niezbędne są dalsze badania prowadzące do zdefiniowania roli poszczególnych gatunków w przebiegu niepłodności. Ponadto obecność tych drobnoustrojów u psów, które dotychczas nie były rozmnażane sugeruje, że Mykoplazmy mogą być elementem ich naturalnej flory bądź zostały zakażone śródmacicznie.

Słowa kluczowe: niepłodność, *Mycoplasma spp.*, badanie nasienia

RÓŻNICE EKSPRESJI GENÓW W RAKU PROSTATY I ŁAGODNYM ROZROŚCIE PROSTATY U PSÓW

M. Zacharski¹, M. Ugorski¹, S. Škevin², P. Prządka³, B. Liszka³, S. Dzimira⁴, P. Skrzypczak³, W. Nizański⁵, Z. Ligocka⁵, F. Van Nieuwerburgh²

¹Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Lab of Pharmaceutical Biotechnology, Ghent University, Ghent, Belgium

³Katedra i Klinika Chirurgii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Polska, Polska

⁴Katedra Patologii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

⁵Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Rak prostaty (RP) jest niezwykle rzadko spotykanym nowotworem u zwierząt. Zauważalna, choć niska liczba przypadków RP występuje jedynie u psów. RP u psów diagnozowany jest zwykle w zaawansowanym stadium, stąd najczęściej konieczne jest wtedy leczenie operacyjne, które pozwala przywrócić drożność układu moczowego i przedłużyć życie pacjentów. Jednocześnie RP jest jednym z najczęściej diagnozowanych nowotworów u mężczyzn na całym świecie i zajmuje drugie miejsce pod względem umieralności na nowotwory wśród polskich mężczyzn. U obu gatunków RP charakteryzuje się podobną patogenezą i objawami. Te cechy, wraz ze znaczną homologią genomów psa i człowieka, sprawiają, że psi RP wydaje się niemal idealnym kandydatem na model ludzkiego RP.

Celem badań było wytypowanie genów swoiście związanych z patogenezą RP u psa poprzez określenie różnic w profilach ekspresji genów między tkanką prostaty ze zdiagnozowanym łagodnym rozrostem prostaty (BPH) a RP. Wybór BPH zamiast zdrowej prostaty jako grupy porównawczej miał na celu wykluczenie zmian ekspresji genów związanych ze stanem zapalnym. RNA izolowane z wycinków prostaty pobranych od trzech psów z łagodnym przerostem prostaty i dwóch psów z rakiem prostaty poddawano sekwencjonowaniu nowej generacji. W tym celu z mRNA, które charakteryzowało się współczynnikiem RIN >7, przygotowywano bibliotekę za pomocą zestawu odczynników QuantSeq 3' mRNA FWD kit (Lexogen), którą sekwencjonowano w aparacie Nextseq500 (Illumina). Największe różnice w ekspresji dotyczyły genów *IBSP*, *COL2A*, *LIX1*, *VSTM2B*, *NPTX1* (wyższy poziom w grupie RP) oraz *PON3*, *OBP*, *TMEM213*, *ENSCAFG00000050060* i *ODF4* (niższy poziom w grupie RP).

Analiza wzbogacenia zbiorów genów na podstawie bazy KEGG pozwoliła na wytypowanie szeregu procesów komórkowych i szlaków metabolicznych, w których wystąpiły istotne różnice w ekspresji wielu genów pomiędzy RP i BPH, m. in. cyklu komórkowego, czy regulacji transkrypcji. Z kolei, analiza genów ulegających różnicowej ekspresji pod kątem ich funkcji wykazała, że są one zaangażowane m. in. w takie procesy jak różnicowanie komórek nabłonkowych, regulacja proliferacji komórek, replikacja DNA, metabolizm ksenobiotyków, kostnienie śródkrzęstne, ruch zależny od mikrotubuli.

Słowa kluczowe: rak prostaty, łagodny rozrost prostaty, sekwencjonowanie RNA

Badania finansowane z subwencji UPWR w ramach konkursu dla kierowników jednostek UPWR obejmujących działania prorozwojowe.

ZASTOSOWANIE METABOLOMIKI W DIAGNOSTYCE ZAPALENIA TRZUSTKI U KOTÓW

M. Krasztel, M. Czopowicz, O. Szaluś-Jordanow, A. Moroz, M. Mickiewicz, J. Kaba

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Podstawowym testem diagnostycznym do rozpoznawania zapalenia trzustki u kotów jest immunoenzymatyczny pomiar stężenia lipazy trzustkowej (ang. feline pancreatic lipase immunoreactivity, fPLI). W ostatnich latach doszło do intensywnego rozwoju metabolomiki czyli jakościowej i ilościowej analizy niskocząsteczkowych związków chemicznych w tkankach i płynach ustrojowych. Obecnie metabolomika znajduje zastosowanie w diagnostyce chorób ludzi, natomiast przeprowadzono jak dotąd niewiele badań dotyczących zastosowania metabolomiki w medycynie weterynaryjnej. Celem badania było określenie trafności diagnostycznej wybranych metabolitów w zapaleniu trzustki u kotów.

Przebadano 49 kotów będących pacjentami klinik weterynaryjnych. Dwadzieścia kotów było zdrowych, 18 kotów miało rozpoznane zapalenie trzustki na podstawie podwyższonego stężenia lipazy trzustkowej ($> 5,3 \mu\text{g/L}$), a 9 kotów miało inne choroby. Przeprowadzono badanie próbkki osocza od każdego kota z zastosowaniem komercyjnego testu MxP® Quant 500 kit firmy Biocrates Life Sciences AG (Innsbruck, Austria). Za jego pomocą określono stężenie 407 metabolitów. Następnie zidentyfikowano metabolity istotnie związane ze stężeniem lipazy trzustkowej z uwzględnieniem potencjalnego wpływu czynności nerek, wątroby i stężenia glukozy. Następnie określono trafność metabolitów w diagnostyce zapalenia trzustki poprzez obliczenie pola pod krzywą ROC.

Trzy metabolity należące do klasy sfingolipidów były istotnie skorelowane ze stężeniem lipazy trzustkowej. Były to dwa związki z klasy cerebrozydów zawierające kwas lignocerynowy (HexCer(d18:1/24:0, $R_s = 0,56$) i nerwonowy (HexCer(d18:1/24:1, $R_s = 0,58$) oraz jeden z klasy sfingomielin zawierający kwas stearynowy (SM C18:0, $R_s = 0,55$).

Okazały się one mieć jedynie umiarkowaną trafność diagnostyczną (Tabela 1).

Tabela 1. Trafność diagnostyczna trzech metabolitów sfingolipidowych w diagnostyce zapalenia trzustki u kotów

Metabolit	Pole pod krzywą ROC (95% PU) [%]	Optymalna wartość graniczna [$\mu\text{mol/L}$]	Czułość (95% PU) [%]	Swoistość (95% PU) [%]
HexCer(d18:1/24:0)	88,1 (77,4 – 98,7)	0,45	77,8 (54,8 – 91,0)	85,0 (64,0 – 94,8)
HexCer(d18:1/24:1)	8,3 (77,3 – 99,3)	1,4	77,8 (54,8 – 91,0)	95,0 (76,4 – 99,1)
SM C18:0	83,9 (71,3 – 96,5)	50,0	55,6 (33,7 – 75,4)	100 (83,9 – 100)

Słowa kluczowe: cerebrozydy, fPLI, metabolomika, sfingolipidy, sfingomieliny, zapalenie trzustki

Badania finansowane przez NCN: 2019/03/X/NZ5/0016.

TYLNO-BRZEŻNY GUZEK SCHMORLA U 15 MIESIĘCZNEGO BULDOGA FRANCUSKIEGO W BADANIU TK – OPIS PRZYPADKU

Ł. Juźwiak, A. Sowińska, P. Prządka, B. Liszka, A. Antończyk, J. Tunikowska, Z. Kiełbowicz, B. Żukow

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Guzki Schmorla (ang. Schmorl's nodes), inaczej wewnątrz-kręgowe przepukliny krążków międzykręgowych (ang. intervertebral disc herniation) są dobrze znane w medycynie ludzkiej, natomiast rzadko wykrywane u psów. Opisywane są dwa główne typy takich przepuklin - centralne, klasyczne guzki Schmorla oraz tyлно-brzeżne. Schorzenie polega na powstaniu przepukliny jądra miażdżystego krążka międzykręgowego do kręgu poprzez płytkę końcową. Etiologia jest niejednoznaczna, istnieje hipoteza, że zaburzenie ma podłoże rozwojowe i wynika z obecności przetrwałych naczyń odżywczych krążka międzykręgowego, które osłabiają strukturalnie płytkę końcową kręgu, umożliwiając w efekcie powstanie przepukliny. Inna teoria głosi, że zaburzenie wynika z niedostatecznego ukrwienia pod płytką końcową kręgu prowadzącą do miejscowej martwicy, a sama przepuklina jest zmianą wtórną. Obecność tych zmian może stanowić przyczynę bolesności dotkniętego nimi odcinka kręgosłupa. Diagnostyka schorzenia może przebiegać przy zastosowaniu radiografii klasycznej, tomografii komputerowej lub rezonansu magnetycznego. W badaniu obrazowym uwidacznia się, najczęściej otoczony sklerotyzacją, ubytek w powierzchni stawowej trzonu kręgowego. W badaniu tomograficznym lub MRI obserwuje się też przemieszczenie materiału dyskowego w obręb ubytku, odnotowywano również przypadki obecności objawu próżni.

Pacjentem był 15 miesięczny buldog francuski płci żeńskiej wykazujący objawy częściowej paraplegii zakwalifikowany do badania tomograficznego (użyto tomografu komputerowego 16 rzędowego Siemens Somatom Emotion). Poddany premedykacji i zawnieflonowany pacjent został ułożony w pozycji grzbietowej i poddany dwóm skanowaniom, pierwszego - przeglądowo z zastosowaniem rekonstrukcji miękotkankowej i kostnej oraz kolejnego - z zastosowaniem kontrastu dożylnego (Iomeron 350, dawka 2ml/kg). Badanie wykazało na płytce końcowej kręgu L7 ubytek 2,4 mm głębokości i powierzchni około 5,1 x 5,2 mm, obejmujący dogrzbietowo-prawą powierzchnię płytki końcowej, widoczna też była silna sklerotyzacja ½ dalszej trzonu kręgu L7. W badaniu uwidoczniono też przemieszczenie masy krążka z przestrzeni L7-S1 w obręb ubytku, sam kanał kręgowy pozostawał wolny.

Zmiana została rozpoznana jako tyлно-brzeżny guzek Schmorla najprawdopodobniej będący przyczyną bolesności odcinka L7-s1.

Słowa kluczowe: guzek schmorla, tomografia komputerowa

TOMOGRAFIA KOMPUTEROWA W DIAGNOSTYCE SCHORZEŃ GÓRNYCH DRÓG ODDECHOWYCH U KOTÓW

W. Turek, G. Ramisz, A. Pietsch-Fulbiszewska

Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Kraków, Polska

Choroby górnych dróg oddechowych stanowią dużą część wyzwań z jakimi na co dzień mierzą się lekarze praktycy. Z jednej strony wymagające- w stanach nagłych, z drugiej frustrujące w przypadkach przewlekłych. Dowiedziono że tomografia komputerowa, dzięki eliminacji efektu superimozycji, stanowi doskonałe narzędzie diagnostyczne w chorobach górnych dróg oddechowych u kotów. Do zmian jakie zobrazować można w badaniu TK należą m. in. przewlekłe zapalenie jamy nosowej i zatok przynosowych, zmiany nowotworowe, polipy zapalne, ciała obce jamy nosowej, stenoza nozdrzy tylnych. Tomografia komputerowa dzięki możliwości tworzenia rekonstrukcji wielopłaszczyznowych oraz rekonstrukcji trójwymiarowych, stanowi nieocenione narzędzie podczas planowania zabiegów chirurgicznych w obrębie trzewioczaski, określania optymalnych miejsc pobrania bioptatów oraz niezbędny element radioterapii chorób o podłożu nowotworowym. Dzięki zastosowaniu protokołów uwzględniających serie badań pokontrastowych i natywnych jesteśmy również w stanie określić rodzaj i obfitość unaczynienia a także zróżnicować zmiany lite od przestrzeni wypełnionych płynem. Tomografia komputerowa, dzięki coraz lepszej dostępności w Polsce, powinna stanowić badanie rutynowe w wielu przypadkach nieulegających poprawie przy leczeniu objawowym.

Słowa kluczowe: tomografia, górne drogi oddechowe, kot

OCENA SKUTECZNOŚCI ULTRASONOGRAFICZNEGO OBRAZOWANIA WIĘZADEŁ STAWU NADGARSTKOWEGO U PSÓW

A. Tobolska, Z. Adamiak, P. Holak, J. Głodek

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Badanie ultrasonograficzne jest jednym z podstawowych badań diagnostyki obrazowej w medycynie weterynaryjnej. Metoda ta jest szeroko stosowana w celu oceny struktur tkanek miękkich u małych zwierząt. Więzadła oraz ścięgna są złożone z wielu ułożonych blisko i równolegle względem siebie włókien, z tego powodu nieprawidłowości w ich budowie można rozpoznać jako obszary wysokiego lub niskiego sygnału obecne w jednolitej strukturze. Więzadła stabilizujące staw nadgarstkowy u psa to więzadło poboczne boczne, więzadło poboczne przyśrodkowe, więzadło nadgarstka dłoniowe głębokie oraz więzadła dalsze kości nadgarstka dodatkowej.

Grupę badawczą stanowiło 10 zdrowych psów mieszańców, w tym 7 samców i 3 samice, o średniej wadze 24,6 kg oraz o średniej wieku 8 lat. Każde zwierzę zostało ułożone w pozycji bocznej, staw nadgarstkowy lewy został zbadany u każdego psa w pozycji neutralnej i w zgięciu. Sierść wokół każdego badanego stawu została ostrzyżona przed rozpoczęciem badania. Badanie ultrasonograficzne przeprowadzono za pomocą sondy liniowej wykorzystując częstotliwość 7,5-12 MHz (MyLabTMFive, Esaote). Sonda została umieszczona na bocznej i dłoniowej powierzchni stawu między dwoma rzęдами kości nadgarstka.

Więzadła poboczne boczne i przyśrodkowe oraz więzadła dalsze kości nadgarstka dodatkowej zostały zwizualizowane na strzałkowym i poprzecznym przekroju obrazu ultrasonograficznego podczas badania każdego stawu nadgarstkowego. Na strzałkowym obrazie ultrasonograficznym więzadeł została uwidoczniona nitkowata struktura złożona z hiperechogenicznych jednorodnych liniowych pasm. Obrazy w przekroju poprzecznym okazały się trudniejsze do oceny oraz identyfikacji więzadeł stawu nadgarstkowego psów. Więzadła poboczne wizualizowano poprzez umieszczenie sondy ultradźwiękowej odpowiednio na przyśrodkowej i bocznej powierzchni nadgarstka w pozycji neutralnej, natomiast po stronie dłoniowej nadgarstka, pod kością dodatkową nadgarstka uwidoczniono więzadła dalsze kości nadgarstka dodatkowej, również w pozycji neutralnej. Wyniki badania świadczą o tym, że badanie ultrasonograficzne stawu nadgarstkowego u psów jest dobrą i nieinwazyjną metodą pozwalającą zwizualizować niektóre więzadła tego stawu. Uzyskane obrazy pozwalają przypuszczać, że ultrasonografia może okazać się dobrą techniką do diagnozowania uszkodzeń i innych schorzeń tych więzadeł.

LECZENIE PRZEPUKLINY PACHWINOWEJ U PSÓW LAPAROSKOPOWĄ TECHNIKĄ PIRS POŁĄCZONE Z OBUSTRONNĄ OWARIEKTOMIĄ

**P. Prządka¹, B. Liszka¹, A. Antończyk¹, Z. Kiełbowicz¹, P. Skrzypczak¹, P. Kucharski¹,
S. Lachowska¹, K. Buczak¹, Ł. Juźwiak¹, D. Kubiak-Nowak¹, W. Borawski¹, S. Gerus²,
D. Patkowski²**

¹Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Owariektomia laparoskopowa (OV) jest obecnie standardowym postępowaniem w wielu ośrodkach na całym świecie. Laparoskopowe leczenie przepuklin pachwinowych jest niedawno opisaną nowością w weterynaryjnej chirurgii minimalnie inwazyjnej. W pracy po raz pierwszy zaprezentowano wyniki leczenia przepuklin pachwinowych w asyście laparoskopii z użyciem techniki PIRS (Percutaneous Internal Ring Suturing) połączonej z obustronną laparoskopową owariektomią.

Zabiegi operacyjne wykonano u 3 suk mieszanych ras, w wieku 1-3 lata i wadze 9-14,5 kg, z obecnymi przepuklinami pachwinowymi (2 prawostronne i 1 lewostronna). Zwierzęta po zakwalifikowaniu do zabiegu były znieczulane ogólnie i układane w pozycji grzbietowej.

Przepukliny pachwinowe leczono techniką PIRS. Wcześniej opisana u psów technika jednotrokarowa została w niniejszej pracy zmodyfikowana przez wprowadzenie dodatkowych dwóch trokarów do narzędzi w celu usunięcia jajników podczas tej samej operacji chirurgicznej. Do wprowadzenia optycznego trokara do jamy otrzewnej przez pępek zastosowano technikę Hassona. Po uzyskaniu odmy otrzewnowej i wizualizacji wnętrza i ścian jamy brzusznej, po obu stronach trokara optycznego umieszczono dwa trokary do narzędzi. Zawartość przepukliny przeniesiono z powrotem do jamy brzusznej za pomocą zarówno ręcznego nacisku na worek przepuklinowy, jak i kleszczyków laparoskopowych. Zabieg PIRS przeprowadzono pod kontrolą optyki laparoskopowej o średnicy 5,0 mm zaopatrzonej w kamerę, w celu zamknięcia wewnętrznego pierścienia pachwinowego niewchłaniałym materiałem szewnym. W trakcie zabiegu wykorzystano igłę iniekcyjną, za pomocą której przeprowadzono materiał szewny przez brzegi wewnętrznego pierścienia pachwinowego, gdzie po jego zawiązaniu powstały węzeł ukrywano w tkance podskórnej w miejscu wkłucia wspomnianej igły.

Usunięcie jajników wykonano przy wykorzystaniu trzech trokarów. Do wycięcia gonad zastosowano urządzenie do zamykania naczyń. Jajniki przed usunięciem z jamy brzusznej umieszczano w worku wykonanym z kciuka sterylnej rękawiczki chirurgicznej przez poszerzone nacięcie w linii środkowej na trokar optyczny.

Wśród zaprezentowanych w pracy przypadków klinicznych nie odnotowano wznowy pooperacyjnej oraz innych powikłań wynikających z przeprowadzonej procedury chirurgicznej. Dlatego zdaniem autorów zaprezentowane połączenie procedur chirurgicznych może być brane pod uwagę w podobnych przypadkach klinicznych.

Słowa kluczowe: przepuklina, laparoscopia, PIRS, owariektomia

PROPOZYCJA PROTOKOŁU ANESTETYCZNEGO PIVA Z WYKORZYSTANIEM CIĄGŁEGO WLEWU DOŻYLNego Tiletaminy-Zolazepamu DO ZABIEGU PRZEPUKLINY OKOŁOODBYTOWEJ METODĄ LAPAROSKOPOWĄ

P. Kucharski, P. Prządka, B. Liszka, A. Antończyk

Katedra i Klinika Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Partial Intravenous Anaesthesia (PIVA) to protokół znieczulenia ogólnego charakteryzujący się połączeniem leków znieczulających podawanych we wlewie dożylnym z mniejszą ilością gazów anestetycznych. Przyczynia się to do obniżenia dawek leków potrzebnych do przeprowadzenia znieczulenia jak i ograniczenia ilości gazów anestetycznych.

Pacjentem był 6-cio letni pies, samiec rasy mieszanej o wadze 16 kg. Do zabiegu odprowadzenia przepukliny okołoodbytowej metodą laparoskopową został zakwalifikowany po wcześniejszym badaniu klinicznym oraz badaniach krwi. Do premedykacji użyto dexmedetomidynę ($500 \mu\text{g}/\text{m}^2$) podaną domięśniowo. Po zaobserwowaniu efektów klinicznych alfa-2-agonisty założono kateter dożylny i przygotowano pacjenta do zabiegu. W celu indukcji znieczulenia ogólnego użyto tiletamiны z zolazepamem ($1\text{mg}/\text{kg}$ dożylnie). Następnie pacjenta zaintubowano i podłączono do aparatury znieczulenia inhalacyjnego podając izofluran w czystym tlenie aby osiągnąć wartość nie większą niż $0,2\text{MAC}$. Jednocześnie podłączony został wlew dożylny z tiletamiны i zolazepamu ($1 \text{ mg}/\text{kg}/\text{h}$) oraz podany bolus z fentanylu ($2,5 \mu\text{g}/\text{kg}$ dożylnie) i wlew ciągły dożylny ($10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$). Następnie wykonano znieczulenie zewnątrzoponowe z użyciem lignokainy 2% ($4\text{mg}/\text{kg}$). Pacjenta ułożono w pozycji grzbietowej a operatorzy mogli rozpocząć zabieg.

Czas znieczulenia wynosił 71 minut podczas gdy procedura chirurgiczna trwała 58 min. Pacjent oddechowo został wyłączany poprzez podanie dożylnie fentanylu. Jest to podyktowane koniecznością kontroli oddechu ze względu na insuflację jamy brzusznej. Liczba oddechów pacjenta ustalona była na poziomie 8-12 oddechów/min. Stężenie dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu wynosiło średnio $46,9 \pm 4,3 \text{ mmHg}$. Liczba uderzeń serca na minutę wykazywała tendencję spadkową ze średnim wynikiem $108,4 \pm 17,2$ uderzeń/min. Średnie ciśnienie tętnicze krwi pomimo tendencji spadkowej utrzymywało się w granicach normy i wynosiło średnio $91,5 \pm 9,5 \text{ mmHg}$. Saturacja krwi była stabilna przez cały okres znieczulenia ze średnim wynikiem $96,8 \pm 2,4\%$. Temperatura wewnętrzna ciała wykazywała tendencję spadkową nie wykraczającą poza normę ze średnią wartością $38,9 \pm 0,4 ^\circ\text{C}$.

Protokół PIVA oparty o wlew ciągły z tiletamiны i zolazepamu pozwala utrzymać parametry hemodynamiczne pacjenta na poziomie prawidłowym bez objawów tachykardii i hipertensji.

Słowa kluczowe: znieczulenie ogólne, PIVA, tiletamina-zolazepam, laparoscopia

PORÓWNANIE LAPAROSKOPOWEJ BIOPSIJ WĄTROBY Z BIOPSIĄ W TRAKCIE KLASYCZNEJ LAPAROTOMII

B. Liszka, P. Prządka, A. Antończyk, S. Lachowska, P. Kucharski, K. Buczak, J. Tunikowska, P. Zielińska, J. Nicpoń, Z. Kiełbowicz

Katedra i Klinika Chirurgii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Wprowadzenie:

Biopsja wątroby jest procedurą powszechnie wykonywaną w chorobach wątroby. Najszybszą metodą jest biopsja cienko- i gruboigłowa pod kontrolą USG. Metody te są obarczone ryzykiem i nie zawsze umożliwiają pobranie wystarczającej ilości tkanki (zwłaszcza przy testach spichrzeniowych). W takich przypadkach można wykonać biopsję w trakcie zabiegu chirurgicznego z laparotomią pośrodkową lub techniką laparoskopową.

Materiał i Metody:

W pracy wykonano porównanie czasu procedury oraz okresu pooperacyjnego u psów poddanych zabiegowi laparoskopowej biopsji wątroby i laparotomijnej biopsji wątroby. Pacjentów skierowanych do Katedry i Kliniki Chirurgii celem pobrania wycinków wątroby podzielono na dwie grupy. W grupie A, u 10 psów wykonano laparoskopową biopsję wątroby, w grupie B, u 10 psów wycinki wątroby pobrano w trakcie laparotomii pośrodkowej. Zwierzęta w obu grupach znieczulane były z wykorzystaniem tych samych protokołów i otrzymywały te same leki w okresie pooperacyjnym. W 1, 3 i 7 dniu po zabiegu przeprowadzono kontrolę stanu zwierzęcia. Dodatkowo właściciele odpowiadali na pytania dotyczące zachowania się zwierząt w okresie pooperacyjnym.

Wyniki:

Średni czas zabiegu w grupie A wynosił 41 min (+/- 9 min) natomiast w grupie B 62 min (+/- 18 min). Czas powrotu do normalnej aktywności w grupie A wynosił średnio 1,4 dnia (+/- 0,5 dnia) a w grupie B 3,5 dnia (+/- 1 dzień). W obu grupach właściciele nie zgłaszali komplikacji pozabiegowych.

Wnioski:

Przeprowadzenie biopsji wątroby metodą małoinwazyjną umożliwia pobranie większej próbki niż w przypadku biopsji cienko i gruboigłowej. W porównaniu z laparotomijną biopsją wątroby czas procedury był niższy a okres rekonwalescencji szybszy.

ZAPALENIE WSIERDZIA I MIĘŚNIA SERCOWEGO U KOTA

**O. Szaluś-Jordanow¹, M. Czopowicz¹, A. Moroz¹, M. Mickiewicz¹, A. Łobaczewski²,
M. Rzewuska¹, R. Sapieryński¹, M. Krasztel¹, M. Kizerwetter-Świda¹, D. Chrobak-Chmiel¹,
T. Frymus¹**

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Całodobowa Klinika Weterynaryjna Auxilium, Milanówek, Polska

Objawy zakaźnego zapalenia wsierdza (IE) i zapalenia mięśnia sercowego są zwykle nieswoiste i obejmują gorączkę, apatię i utratę apetytu. Ten stan często prowadzi do ciężkiej niewydolności mięśnia sercowego i charakteryzuje się wysoką śmiertelnością. Wstępne rozpoznanie stawiane jest na podstawie badania echokardiograficznego uzupełnionego przyżyciowo posiewem krwi. Ze względu na brak charakterystycznych objawów choroby te zapewne często pozostają niezdiagnozowane lub są wykrywane jedynie pośmiertnie. Wzrost rozpoznawalności tych chorób w medycynie ludzkiej nastąpił po upowszechnieniu skróconego badania echokardiograficznego wykonywanego przez przeszkolonych lekarzy na oddziałach ratunkowych.

Do kliniki przyjęto rocznego kocura z powodu apatii i braku apetytu. Kot miał gorączkę 41°C. Zastosowano amoksycylinę z kwasem klawulanowym (Synulox) oraz kwas tolfenamowy (Tolfedynę). W ciągu 24 godzin nastąpiło znaczne pogorszenie stanu klinicznego i dodatkowo pojawiła się duszność (40 oddechów/min). W skróconym badaniu USG serca stwierdzono znaczne pogrubienie mięśnia sercowego z powiększeniem lewego przedsionka i pogrubieniem zastawki dwudzielnej oraz aortalnej. Biorąc pod uwagę stan kliniczny i badanie echokardiograficzne wysunięto podejrzenie zapalenia wsierdza i mięśnia sercowego. Do badań mikrobiologicznych pobrano krew, do leczenia dołączono cefalosporynę III generacji i marbofloksacynę. Niestety stan kota pogarszał się w ciągu kolejnych 24 godzin prowadząc do śmierci.

Badanie anatomopatologiczne wykazało znaczne pogrubienie ścian lewej komory z powiększeniem lewego przedsionka. W badaniu mikroskopowym wykryto wieloogniskowe mieszane zapalenie mięśnia sercowego z naciekiem histiocytów i limfocytów oraz proliferacją śródmiąższowej tkanki łącznej włóknistej. Rozlany nacieki zapalny był również obecny w zrębie zastawkowym. Z zastawek i mięśnia sercowego wyhodowano metycylinooporny szczep *Staphylococcus aureus*.

Skrócone badanie USG serca wykonywane przez lekarza ogólnego po dość krótkim przeszkoleniu może być wykorzystane jako narzędzie do przyżyciowego wykrywania zapalenia wsierdza i zapalenia mięśnia sercowego. W przypadku podejrzenia jednej z tych chorób może być ono podstawą do pilnej konsultacji u specjalisty kardiologa.

MNOGI PIERWOTNY MIĘŚNIAKOMIĘSAK PRĄŻKOWANOKOMÓRKOWY SERCA U PSA

O. Szaluś-Jordanow¹, M. Czopowicz¹, A. Moroz¹, M. Mickiewicz¹, A. Łobaczewski², S. Tarka³, R. Sapierzyński¹, T. Frymus¹

¹*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

²*Całodobowa Klinika Weterynaryjna Auxilium, Milanówek, Polska*

³*Zakład Medycyny Sądowej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska*

Pierwotne guzy serca są rzadkie u zwierząt, dużo częściej występują guzy przerzutowe, wśród których najczęściej występują naczyniakomięsaki, guzy podstawy serca i chłoniaki. Guzy serca często pozostają bezobjawowe przez długi czas, o ile ich wzrost nie wpływa na przepływ krwi, a kiedy tak się dzieje, pojawiają się objawy kliniczne niewydolności serca. Ich rodzaj oraz nasilenie zależą od typu, lokalizacji i wielkości guza. Dopóki nie ma to wpływu na hemodynamikę, guzy serca są najczęściej diagnozowane przypadkowo podczas przesiewowego badania echokardiograficznego lub w badaniu anatomicznym.

Do kliniki weterynaryjnej przywieziono jedenastoletniego psa mieszańca o masie 35 kg półprzemyślnego, w pozycji leżącej. Z wywiadu wynikało, że pies był apatyczny przez ostatnie 3 dni, nie miał apetytu i nie wstawał przez 2 dni. Częstość oddechów była przyspieszona (do 45 na minutę), a reakcja na bodźce zewnętrzne była minimalna. Skrócone badanie echokardiograficzne uwidoczniało guz w sercu, co stanowiło podstawę do pilnej, specjalistycznej konsultacji kardiologicznej i pełnego badania echokardiograficznego. Ujawniło ono liczne guzy wewnątrzsercowe. Ze względu na niekorzystne rokowanie i zły stan ogólny, właściciele zdecydowali o eutanazji zwierzęcia. Sekcja zwłok potwierdziła liczne guzy w sercu. Nie stwierdzono zmian proliferacyjnych w innych narządach, ani w jamie brzusznej ani klatce piersiowej.

W badaniu histopatologicznym rozpoznano mięśniakomięsaka prążkowanokomórkowego. Jest to bardzo rzadko występujący nowotwór wywodzący się z mięśnia poprzecznie prążkowanego. Może pochodzić zarówno z mięśni szkieletowych, jak i z mięśnia sercowego. Jest to pierwszy przypadek mnogiego mięśniakomięsaka prążkowanokomórkowego u psa. Ten rodzaj nowotworu również u ludzi bardzo rzadko występuje w postaci mnogiej gdyż zwykle są to pojedyncze guzy.

PODWÓJNA ŚLEDZIONA U KOTA – OPIS PRZYPADKU

**A. Moroz¹, O. Szaluś-Jordanow¹, R. Sapierzyński¹, M. Czopowicz¹, M. Mickiewicz¹,
K. Barszcz¹, M. Kędziera², T. Frymus¹**

¹*Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

²*Przychodnia Weterynaryjna Boliłapka, Warszawa, Polska*

Śledziona jest największym narządem układu limfatycznego. Pełni ona rolę w prawidłowym funkcjonowaniu układu limfatycznego. Występuje jako pojedynczy narząd u kręgowców. Podstawowym badaniem diagnostycznym służącym do diagnostyki zaburzeń związanych z tym narządem jest badanie ultrasonograficzne jamy brzusznej. Do najczęściej opisywanych nieprawidłowości należy powiększenie tego narządu czyli splenomegalia, którą możemy opisać jako splenomegalię rozlaną, charakteryzującą się równomiernym powiększeniem narządu lub splenomegalię guzową, charakteryzującą się obecnością guza lub guzów na terenie narządu. Zmiany patologiczne śledziony mogą mieć podłoże zarówno nienowotworowe jak i nowotworowe. Do najczęściej diagnozowanych nienowotworowych zmian u małych zwierząt należą rozrost guzkowy, krwaki, zapalenie oraz powiększenie śledziony na tle zaburzeń systemowych. Spośród nowotworowych zmian należy wymienić naczyniakomięsaki, mięsaki wywodzące się z komórek tworzących podścielisko śledziony, mięsaki histiocytarne, chłoniaki śledziony, rozsianą mastocytomę czy guz komórek tłuszczowych. Do wad rozwojowych spotykanych u małych zwierząt zalicza się hipoplazję śledziony, obecność dodatkowych śledzion, czyli występowanie tkanki śledziony poza śledzioną oraz opisywaną u zwierząt podwójną śledzionę. Ostatnia z wymienionych anomalii jest sporadycznie obserwowana u zdrowych świń i jako jedna z wielu wad trzewnych u niezdolnych do życia cieląt i jagniąt.

Pacjentem był kastrowany bezdomny kot, samiec w wieku szacowanym na około 6 lat, z niezbornością ruchową kończyn miednicznych. W czasie diagnostyki wykonano badanie ultrasonograficzne, w którym uwidoczniono masywny guz wątroby, przypadkowo ujawniono również dwie śledziony. Ze względu na złe rokowanie, objawy kliniczne podjęto decyzję o eutanazji zwierzęcia.

W czasie badania anatomopatologicznego potwierdzono obecność dwóch śledzion. Jedna śledziona była prawidłowo rozwinięta, o prawidłowej wielkości dla kota o takiej masie ciała, druga była znacznie mniejsza. Obie miały prawidłowo rozwinięte naczynia doprowadzające i odprowadzające krew do narządu.

Jest to pierwszy opisany w Polsce przypadek bardzo rzadko opisywanej wady rozwojowej u kotów w postaci podwójnej śledziony.

Słowa kluczowe: podwójna śledziona, kot, wady rozwojowe

ZASTOSOWANIE BAJPASU MOCZOWODOWEGO U KOTÓW Z OSTRĄ NIEWYDOLNOŚCIĄ NEREK

J. Nicpoń¹, E. Nicpoń², M. Małek², P. Zielińska¹, B. Liszka¹

¹Katedra i Klinika Chirurgii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Przychodnia weterynaryjna Nicpońvet, Wrocław, Polska

Wstęp:

Niedrożność moczowodu u kotów, może występować wtórnie do kamicy, zwężenia moczowodu, skrzepów, infekcji, radioterapii czy przy schorzeniach nowotworowych. Odpowiednio prowadzona terapia farmakologiczna oraz chirurgiczna są niezbędne do przywrócenia prawidłowej filtracji w nerkach. Nasilenie objawów chorobowych zależy od całkowitej lub częściowej niedrożności moczowodu. Objawy kliniczne są niespecyficzne. W diagnostyce niezbędne są badania obrazowe oraz analiza wyników laboratoryjnych krwi i moczu.

Najczęstszą metodą leczenia mechanicznej niedrożności moczowodu u kotów, jest jego udrożnienie przez wykonanie nacięcia metodą chirurgiczną. Ze względu na średnicę moczowodu, jest to jednak procedura niezmiernie trudna. Wydaje się więc że, alternatywą dla tego postępowania może być zastosowanie stentu moczowodowego.

Materiał i metody:

Materiał stanowiły 3 koty w wieku od 1 do 5 lat z kamica nerek i wtórną niedrożnością moczowodu. W badaniach USG stwierdzano umiarkowane wodonercze, miedniczka do ok 5-13mm z redukcją mięszu. Brak różnicowania korowo-rdzeniowego, mięsz o echogeniczności wzmożonej -zmiany degeneracyjne. Moczowód poszerzony do około 2,5mm kręty w dystalnym odcinku w odległości od pęcherza moczowego stwierdzono kilka drobnych hiperechowych obiektów dających cień akustyczny. Obraz ten dotyczył jednej lub obu nerek oraz moczowodów. Rokowanie w powyższych sytuacjach jest złe. Wszczepienie stentu stanowi alternatywną metodę dla chirurgicznego leczenia niedrożności moczowodu oraz jest jedyną techniką, która umożliwia obejście zatoru przez wytworzenie sztucznego moczowodu. Powala na uniknięcie powikłań związanych z uretotomią i zachowanie funkcji narządu.

Wyniki:

Po okresie rekonwalescencji u pacjentów nastąpił spadek azotemii. Poziom kreatyniny oscylujący 6-12mg/dl spadł do 1-2 mg/dl. W obrazie radiologicznym, nerka nadal wykazywała cechy zatarcia struktury korowo-rdzeniowej bez poszerzenia miedniczek. Poprawił się także stan kliniczny pacjenta.

Wnioski:

Zastosowanie stentu u kotów z niedrożnością, wydaje się być doskonałą alternatywą dla dotychczas stosowanych metod chirurgicznych. Zabieg bajpasu jest zabiegiem ratującym życie, jednak należy pamiętać iż pacjenci poddani temu zabiegowi nadal pozostaną pacjentami nefrologicznymi w 1 lub 2 stadium ich niewydolności.

BADANIE RENTGENOWSKIE W ROZPOZNAWANIU MŁODZIEŃCZEGO ZAPALENIA KOŚCI U PSÓW – OBSERWACJE WŁASNE

D. Kubiak-Nowak¹, Z. Kiełbowicz¹, W. Borawski¹, P. Prządka¹, K. Kubiak², M. Jankowski², J. Spużak², K. Glińska-Suchocka², R. Sokalski³

¹Katedra i Klinika Chirurgii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

³Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

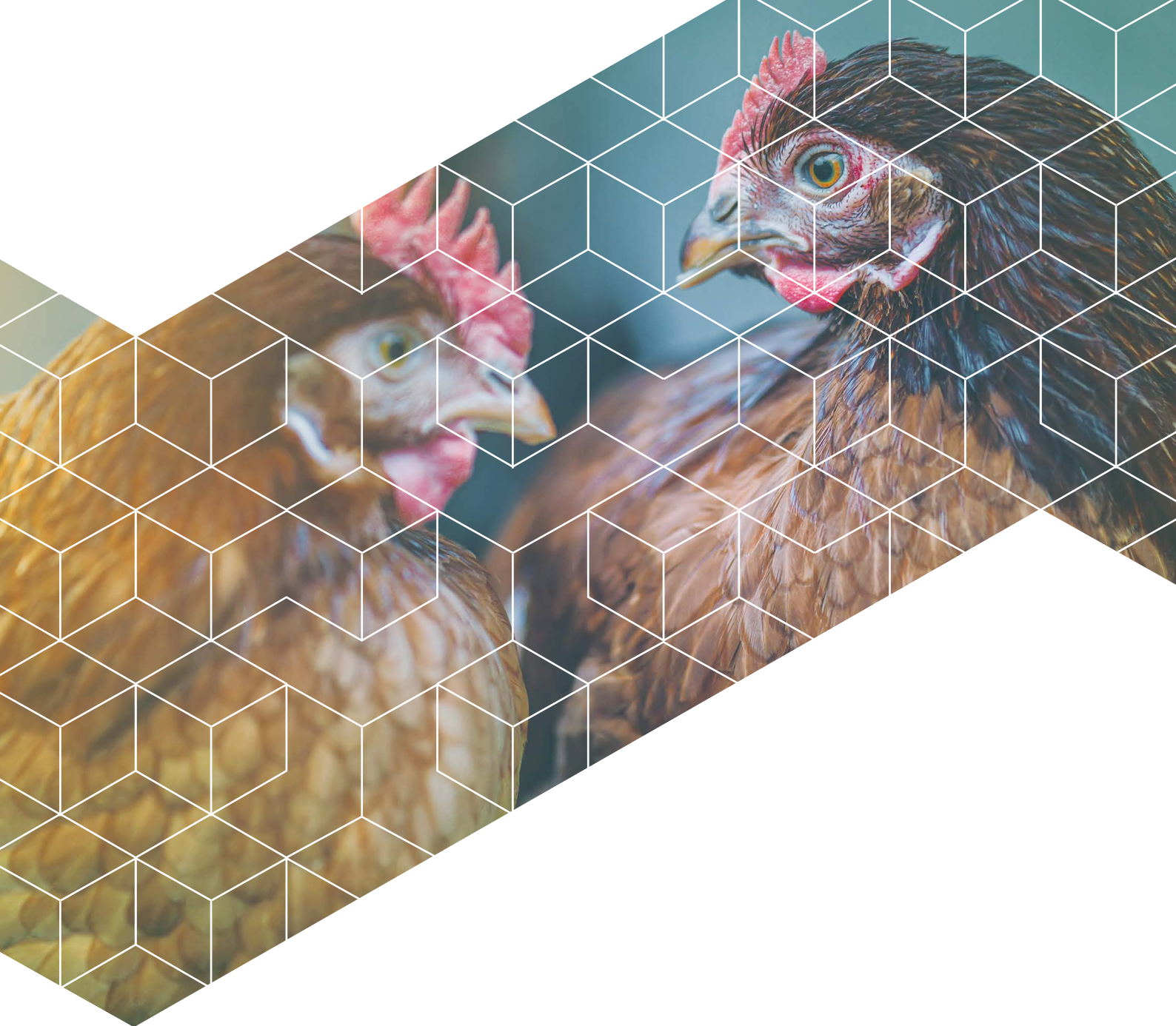
Panosteitis (enostoza, młodzieńcze zapalenie kości) jest zaburzeniem samoograniczającym się, zaliczanym do ortopedycznych chorób wieku młodzieńczego psów (ang. DOD – developmental orthopedic diseases). Choroba ta występuje najczęściej u psów ras dużych i olbrzymich. Panosteitis dotyczy zwierząt zazwyczaj w wieku między 3, a 18 miesiącem życia i rzadko stwierdzane jest u psów powyżej 2 roku życia. Młodzieńcze zapalenie kości częściej występuje u samców, obejmuje trzonów kości długich i może występować w kilku kościach jednocześnie. Do ras predysponowanych zalicza się: owczarki niemieckie, doberman, golden retrievery, labrador retrievery, bernardyny oraz bassety, jednak może również wystąpić u wielu innych ras psów. Etiologia choroby nie jest do końca poznana. W przebiegu młodzieńczego zapalenia kości do najczęściej stwierdzanych objawów klinicznych zalicza się: silną, naprzemienną kulawiznę, ból przy omacywaniu trzonów kości długich, niechęć do ruchu oraz utratę apetytu. W jego rozpoznawaniu pomocne jest badanie rentgenowskie.

Cel pracy - Celem pracy było przedstawienie własnych doświadczeń w rozpoznawaniu młodzieńczego zapalenia kości u psów.

Materiał i Metody – Badanie rentgenowskie przeprowadzono u 20 psów wykazujących kulawiznę i ból przy omacywaniu kończyny piersiowej – pacjentów Pracowni Diagnostyki Obrazowej, Katedry i Kliniki Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, różnej rasy, płci, w wieku od 4 do 12 miesięcy, o masie ciała powyżej 20 kg. Badania wykonano przy użyciu systemu radiografii cyfrowej, pośredniej za pomocą aparatu RTG Konica Minolta Regius Model 110s przy użyciu lampy Siemens Polydoros LX 30. Zwierzęta do badania rentgenowskiego były kwalifikowane na podstawie wywiadu, badania klinicznego oraz badań laboratoryjnych krwi (badania morfologicznego i badania biochemicznego). Do badania zwierzęta przygotowano dietetycznie (12 godz. głodówka i 6 godz. przerwa w podawaniu płynów bezpośrednio przed badaniem). Badanie rentgenowskie przeprowadzano w sedacji, stosując: medetomidynę (prep. Cepetor, 1mg/ml, ScanVet Poland) w dawce 10-20 µg/kg m.c. i butorfanol (prep. Butomidor, 10 mg/ml, ORION PHARMA) w dawce 0,1 mg/kg m.c. podawane w jednej iniekcji domięśniowej. Badanie RTG kończyn piersiowych wykonano w projekcji przyśrodkowo-bocznej.

Wyniki i omówienie – Spośród 20 zbadanych zwierząt panosteitis stwierdzono u 11 psów w tym: w 3 przypadkach występowało obustronnie, a w 8 przypadkach występowało jednostronnie. W obrazie rentgenowskim zmiany charakterystyczne dla młodzieńczego zapalenia kości najczęściej obserwowano w jamie szpikowej kości łokciowej (6 psów), nieco rzadziej w jamie szpikowej kości ramiennej (4 psy), a najrzadziej - w jamie szpikowej kości promieniowej (1 pies).

Podsumowanie – W oparciu o doświadczenia własne potwierdzono opinię, że młodzieńcze zapalenie kości jest częstą przyczyną kulawizny u młodych psów, a badanie rentgenowskie jest bardzo pomocne w jego rozpoznawaniu. U zbadanych psów panosteitis najczęściej obserwowano w jamie szpikowej kości łokciowej.



SESJA FIZJOLOGII I PATOLOGII PTAKÓW



WPLÝW PRZECIWCIAŁ MATCZYNÝCH NA ROZWÓJ ODPORNOŚCI POSZCZEPIENNEJ W STOSUNKU DO AMPV U INDYKÓW SZCZEPIONÝCH PRZECIWKO TRT

M. Śmiałek, J. Kowalczyk, B. Tykałowski, D. Dziewulska, A. Koncicki

Katedra Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Ptasie metapneumowirusy (aMPV), są silnie zakaźnym czynnikiem wywołującym zakaźne zapalenie nosa i tchawicy indyków (TRT). Pomimo powszechności szczepień przeciwko TRT, przypadki przełamania odporności poszczepiennej przez terenowe szczepy aMPV notowane są bardzo często. Pisklęta indyckie charakteryzują się zróżnicowanym poziomem swoistych w stosunku do aMPV przeciwciał matczynych (MDA), co stanowi odzwierciedlenie sytuacji epidemiologicznej oraz wykonanych szczepień przeciwko TRT w stadzie reprodukcyjnym. W naszych poprzednich badaniach wykazaliśmy, że ptaki posiadające MDA (MDA+), charakteryzowały się istotnie niższym poziomem stymulacji swoistych parametrów immunologicznych, po wykonanym szczepieniu przeciwko TRT. Wyniki te sugerowały potencjalny wpływ MDA na efektywność szczepienia przeciwko TRT i tym samym - mogłyby tłumaczyć obserwowane zależności, co do częstotliwości przypadków klinicznych choroby u ptaków w młodym wieku, pomimo zastosowanego szczepienia.

Biorąc pod uwagę powyższe, podjęto badania mające na celu analizę wpływu przeciwciał matczynych na skuteczność wykonywanego zabiegu szczepienia piskląt przeciwko TRT w kontekście rozwoju protekcji na zakażenie eksperymentalne. W doświadczeniu wykorzystano zarówno ptaki MDA+ oraz MDA-.

Badania miały na celu określenie stopnia protekcji poszczepiennej w stosunku do rozwoju objawów klinicznych, zmian histopatologicznych, jak i replikacji i siewstwa aMPV po zakażeniu eksperymentalnym ptaków. Dodatkowo z wykorzystaniem techniki biologii molekularnej i testu ELISA określaliśmy stopień stymulacji wybranych parametrów odporności swoistej ptaków. Dokonując analizy całości wyników, wyciągnęliśmy następujące wnioski: (1). ptaki MDA+ i MDA- nieszczepione, a zakażone chorują, co świadczy o tym, że MDA nie chronią przed chorobą, jednak ptaki MDA- przechorowują ją nieznacznie ciężiej i dłużej; (2). ciężiej chorobę przechorowują nieszczepione ptaki 4 tygodniowe niż 2 tygodniowe, a dodatkowo u ptaków 4 tyg. odnotowaliśmy wyższą replikację i silniejsze siewstwo aMPV; (3). u nieszczepionych ptaków MDA- odnotowaliśmy nieznacznie wyższą replikację i siewstwo aMPV; (4). u wszystkich nieszczepionych ptaków po zakażeniu odnotowaliśmy równomierną produkcję IgA; (5). u wszystkich nieszczepionych ptaków po zakażeniu odnotowaliśmy równomierną ekspresję IFN- γ ; (6). u ptaków MDA+ szczepionych (zwłaszcza w 0 d.ż.) po zakażeniu odnotowaliśmy najniższą produkcję IgA; (7). poziom ekspresji genu IFN- γ u ptaków szczepionych, był na podobnym poziomie po zakażeniu; (8). nie stwierdziliśmy różnic w poziomie natężenia objawów klinicznych i zmian histopatologicznych, pomiędzy szczepionymi grupami ptaków MDA+ a MDA-, po zakażeniu aMPV.

Biorąc powyższe pod uwagę, jak również całokształt wykonanych przez nas badań w przeszłości, należy stwierdzić, iż szczepienie przeciwko TRT: (1). stymuluje produkcję IgA i IgY (jednak wyższa produkcja ma miejsce u ptaków MDA-); (2). stymuluje odporność komórkową (silniej u ptaków MDA-); (3). po szczepieniu i zakażeniu występuje wyraźny wzrost produkcji IgA (jednak słabszy u ptaków MDA+); (4). minimalizuje replikację aMPV; (5). minimalizuje siewstwo aMPV; (6). zabezpiecza przed zmianami histopatologicznymi i objawami klinicznymi.

Do całości analizy należy jednak uwzględnić kilka istotnych aspektów:

1. homologię aMPV w naszych badaniach - zarówno szczepionkowy, jak i zakaźny aMPV należały do podtypu A aMPV; (2). heterologię szczepionki inaktywowanej użytej w stadzie reprodukcyjnym (szczep z podtypu B aMPV) celem podniesienia poziomu przeciwciał, w tym również przekazywanych pisklątom MDA; (3). warunki laboratoryjne - szczepienie poprzez indywidualne zakropienie szczepionki do oka i nosa; (4). zmienność opisywanych powyżej zależności w warunkach terenowych (zmienność terenowych podtypów aMPV, warunki zoohigieniczne i zootechniczne, jakość szczepienia i inne).

Konkludując - istnieją uzasadnione podstawy do stwierdzenia, że MDA wpływają na obniżenie skuteczności szczepienia, jednak w warunkach laboratoryjnych nie rzutują one na skuteczność uodporniania ptaków przeciwko rozwojowi choroby, po zakażeniu eksperymentalnym. Słowa kluczowe: indyki, aMPV, odporność matczyzna i poszczepienna, zakażenie eksperymentalne.

Słowa kluczowe: indyki, aMPV, odporność matczyzna i poszczepienna, zakażenie eksperymentalne

WSPOMNIENIE O PIERWSZYM RZĘDZIE POLSKICH PATOLOGÓW DROBIU

P. Szeleszczuk

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

W autorskich zbiorach dokumentujących historię polskiej patologii drobiu znajduje się fotografia wykonana 02 06 2000 r. przed ursynowskim Pałacem Rektorskim przedstawiająca uczestników Konferencji Naukowej zorganizowanej przez ZCHP WMW SGGW. Na tym historycznym zdjęciu w pierwszym rzędzie stoją luminarze naszej specjalności (od lewej) prof. dr hab. Jerzy Rzedzicki; prof. dr hab. Anna Cąkała; prof. dr hab., dr h.c. Michał Mazurkiewicz (1941 – 2013) oraz prof. dr hab. Wanda Barbara Borzemska, są to naukowcy, którzy zajmowali miejsce w pierwszym szeregu twórców krajowej patologii drobiu. Ze smutkiem należy stwierdzić, że od ostatniego XV Kongresu PTNW, (2016 Lublin) odeszli: Prof. Borzemska (1932-2018), Prof. Rzedzicki (1940 – 2020) i prof. Cąkałowa (1928 – 2020), aby uczcić ich pamięć chciałbym na XVI Kongresie przypomnieć uczestnikom Sesji Ich sylwetki. Zmarli Profesorowie wpisują się w wybitny sposób na długą listę lekarzy weterynarii, którzy swoją karierę zawodową lub naukową związali z chorobami drobiu. W zgodnej opinii środowiska zaszczytne miano „ojca polskiej patologii drobiu” należy się prof. dr Kazimierzowi Markowi (1908-1967). Warto tylko wspomnieć, że zespoły badawcze z zakresu chorób drobiu tworzyli między innymi – Prof. dr hab. Wojciech Karczewski (1923-1991) w Instytucie Weterynaryjnym, Prof. dr hab. Stefan Stępkowski (1915– 2005) w Lublinie, Prof. dr hab. Zenon Wachnik (1924-1981) we Wrocławiu oraz Prof. dr hab. Irena Janowska (1925 – 2007) w Olsztynie. Niespodziewanie w lutym 2013 środowisko pożegnało Pana Profesora Michała Mazurkiewicza bez wątpienia najwybitniejszą postać krajowej patologii drobiu przełomu wieków. Najbardziej też dokładnie opracowano bardzo szeroki dorobek Profesora, w pięknie wydanej publikacji książkowej i wspomnieniu pośmiertnym autorstwa prof. dr hab. dr h.c. Aliny Wieliczko. Olbrzymie zasługi dla konsolidacji grupy specjalistów zajmujących się weterynarią drobiu oraz dla stworzenia formalnej specjalizacji z tego zakresu jakie położył Profesor Mazurkiewicz zostały również szczegółowo omówione. Z kolei gdyby najkrócej określić zakres zainteresowań patologów, którzy odeszli w ostatnich pięciu latach to: Prof. Borzemska zajmowała się, ogólną patologią drobiu, NDV, avioembriopatologią; Prof. Jerzy Rzedzicki chorobami bakteryjnymi drobiu, mykobakteriozą, salmonellozą; zaś Prof. Anna Cąkałowa – mykoplazmozą, MDV, chorobami wirusowymi drobiu, chorobami drobiu wodnego. Bez olbrzymiego wysiłku, talentu, pasji i aktywności zmarłych Profesorów nasza specjalizacja nie mogłaby osiągnąć takiej pozycji zawodowej i naukowej jaką dziś posiada. Cześć ich pamięci.

WYSOCE ZJADLIWA GRYPA PTAKÓW W POLSCE W LATACH 2006-2021

K. Śmietanka

Zakład Chorób Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Wysoce zjadliwa grypa ptaków (HPAI) to największy problem produkcji drobiarskiej na świecie. Aktualnie główne zagrożenie stanowią wirusy HPAI należące do podtypu H5, wywodzące się z linii genetycznej określanej jako „Gs/Gd” i zidentyfikowanej po raz pierwszy w 1996 roku w Chinach. Wirusy H5 Gs/Gd w odmianie antygenowej H5N1 pojawiły się w Europie po raz pierwszy w 2005 roku, a w Polsce w 2006 roku. Wirus wykrywano wówczas w różnych częściach kraju, ale tylko u dzikich ptaków. Pod koniec 2007 roku pojawił się w Polsce nieznacznie odmienny genetycznie wirus H5N1, wywołując 10 ognisk u drobiu, które szybko zostały wygaszone. W latach 2009-2015 ognisk HPAI nie stwierdzano. Pod koniec 2016 roku wykryto w naszym kraju obecność reasortantów wirusa HPAI podtypu H5 o azjatyckim pochodzeniu, powstałych na skutek wymiany elementów genomu wirusów HPAI H5N1 i wirusów o niskiej zjadliwości krążących w naturalnym rezerwuarze u dzikich ptaków populacji euroazjatyckiej. Epidemia w sezonie 2016/2017 miała umiarkowanie dużą skalę (65 ognisk u drobiu i 68 przypadków u dzikich ptaków), jednak w porównaniu z sytuacją z poprzedniej dekady, straty były znacznie bardziej odczuwalne. Najczęściej występującą wówczas odmianą wirusa był podtyp H5N8. Kolejny sezon (2019/2020) cechował się stosunkowo późnym (w końcu grudnia 2019 r.) wprowadzeniem wirusa H5N8 do Polski i jego afrykańskim pochodzeniem. Odnotowano 35 ognisk u drobiu i tylko 1 przypadek u dzikiego ptaka. Zdecydowanie największe straty Polska poniosła w sezonie 2020/2021, z bezprecedensową liczbą 357 ognisk HPAI u drobiu i powszechnym występowaniem wirusów HPAI u dzikich ptaków. Przyczyną tak dużej skali epidemii było m.in. przedostanie się wirusa do obszarów o bardzo dużej koncentracji produkcji drobiarskiej. Podobnie jak w poprzednich dwóch sezonach, dominowały wirusy należące do podtypu H5N8. Epidemie HPAI pojawiają się w ostatnich latach ze znacznie większą częstotliwością, a ich zasięg i konsekwencje ekonomiczne również wykazują trend rosnący.

WYSTĘPOWANIE ZAKAŻEŃ AVIAN HEPATITIS E VIRUS (AHEV) U DROBIU W POLSCE

M. Siedlecka¹, A. Matczuk², M. Chmielewska-Władyka¹, A. Wieliczko¹

¹Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Zakład Mikrobiologii, Katedra Patologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

BLS (ang. *big liver and spleen disease* - choroba dużej wątroby i śledziony), czyli wirusowe zapalenie wątroby typu E ptaków to zakażenie coraz częściej notowane w stadach drobiu. Czynnikiem etiologicznym choroby jest Orthohepevirus B znany powszechnie jako avian hepatitis E virus (aHEV) należący do rodziny *Hepeviridae*. Genom bezotoczkowego wirusa stanowi jednoniciowe, dodatnio spolaryzowane RNA, kodujące 3 białka.

Choroba rozprzestrzenia się w stadach drobiu horyzontalnie (kurz, pasza, woda), a jej obraz kliniczny może być różny. Najczęściej obserwuje się spadek produkcji nieśnej i wzrost śmiertelności ptaków. Badania własne nad seroprevalencją zakażeń aHEV w Polsce w latach 2015-2017 wykazały wysoki odsetek (na poziomie 56%) zakażonych stad kurzych (Matczuk et al., 2017).

Celem pracy była kontynuacja badań nad prewalencją wirusa w stadach drobiu z uwzględnieniem drobiu wodnego.

Materiał do badań stanowiły wycinki narządów wewnętrznych (wątroba/śledziona), pobrane w latach 2018-2020 z 18 ferm drobiu zlokalizowanych na terenie Polski południowo-zachodniej i centralnej. Przebadano 49 stad kur nioski towarowej, 40 stad nioski reprodukcyjnej kierunku mięsnego, 53 stada brojlerów kurzych, 35 stad kaczki Pekin, 99 stad gęsi oraz 31 stad indyków. Dodatkowo badano 29 próbek pochodzących od głuszców hodowanych w systemie wolierowym w jednym z nadleśnictw Polski południowej.

RNA oczyszczano za pomocą komercyjnych zestawów i przepisywano na cDNA. Materiał genetyczny aHEV wykrywano za pomocą nested PCR dla regionu genomu kodującego helikazę, zgodnie z metodą opisaną wcześniej (Sun i wsp. 2004). Produkty z 2 rundy nested PCR były wizualizowane w żelu agarozowym, wycinane i oczyszczane, a następnie poddawane sekwencjonowaniu i analizie filogenetycznej.

Materiał genetyczny wirusa wykryto w 34 próbach, co stanowi 10,1% wszystkich przebadanych próbek. Odsetek zakażeń w stadach kur reprodukcyjnych był najwyższy (35,0%), natomiast w próbkach pochodzących od stad indyków nie wykryto RNA aHEV. Ponadto wyniki dodatnie potwierdzono w: 9 stadach nioski towarowej, 7 - brojlerów, 2 - kaczki Pekin, 1 - gęsi i 1 próbce od głuszca). 34 zsekwencjonowane fragmenty genomu aHEV miały jakość umożliwiającą dalszą analizę. Analiza filogenetyczna fragmentu genu helikazy, wykazała, iż większość sekwencji należy do genotypu 2, natomiast tylko 1 sekwencja do genotypu 3.

Słowa kluczowe: aHEV, *Orthohepevirus B*, BLS, choroba dużej wątroby i śledziony, drób i ptaki wolno żyjące

BADANIA PORÓWNAWCZE NAD PATOGENEZĄ ZAKAŻEŃ SZCZEPAMI WIRUSA ZAKAŻNEGO ZAPALENIA BURSY FABRYCJUSZA O RÓŻNEJ ZJADLIWOŚCI

A. Pikuła, A. Lisowska, J. Opolska

Państwowy Instytut Weterynaryjny Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Ostatnio wykryto populację nowych reasortantów wirusa zakaźnego zapalenia bursy Fabrycjusza (IBDV) w Polsce. Co ciekawe, szczepy z powodzeniem konkurowały w terenie z dobrze poznanymi szczepami wysoce zjadliwymi (vvIBDV) i rozpowszechniły się w kraju oraz poza jej granice. Niemniej dotychczas nie wyjaśniono, jakie specyficzne właściwości wirusa ułatwiają ich rozprzestrzenianie.

Do badań *in vivo* użyto 5-tygodniowe kurczęta SPF, które zostały zakażone nowym szczepem reasortanta (genotyp A3B4) oraz izolatem wysoce zjadliwym (genotyp A3B2). W 2, 4, 7 i 14 dniu po zakażeniu (dpz) 5 ptaków z każdej grupy poddano eutanazji i podczas badań sekcyjnych pobrano próbki tkanek (bursy Fabrycjusza, śledziony, grasicy, migdałki jelita ślepego, nerki, wątrobę, dwunastnicę i żołądek gruczołowy) oraz wymazy kałowe do badań laboratoryjnych. Analiza ilościowa wirusowego RNA przy użyciu RT-qPCR wykazała, że oba szczepy namnażały się z porównywalną wydajnością w badanych tkankach, przy czym istotnie większą ilość RNA szczepu wysoce zjadliwego obserwowano tylko w 2 i 7 dpz w bursie, oraz w 7 dpz w śledzionie, migdałkach jelita ślepego oraz żołądku gruczołowym. Z kolei u ptaków zakażonych szczepem reasortanta stwierdzono silną atrofię bursy już w 4 dpz, podczas gdy u ptaków zakażonych vvIBDV od 7 dpz. Ponadto zaobserwowano zmniejszone przyrosty masy ciała zakażonych ptaków od 4 i 7 dpz, odpowiednio w grupie reasortantów i vvIBDV.

Uzyskane wyniki potwierdzają, że pozyskana w wyniku reasortacji wirusowa polimeraza (kodowana przez segment B) przez szczep reasortanta nie wpływa negatywnie na zdolność namnażania się wirusa w organizmie gospodarza. Wydajna replikacja w połączeniu z niższą śmiertelnością powodowaną przez reasortanty może w konsekwencji ułatwiać ich rozprzestrzenianie. Ponadto, silne właściwości immunosupresyjne będące następstwem atrofi bursy Fabrycjusza oraz słabsze przyrosty masy ciała wskazują, że szczepy te mogą powodować straty w chowie drobiu. Podsumowując, reasortanty należące do genotypu A3B4, posiadają nie tylko mozaikowy skład genetyczny, ale również mieszankę właściwości zjadliwości charakterystycznej dla szczepów wysoce zjadliwych, klasycznych oraz wariantowych i stanowią zagrożenie dla produkcji drobiarskiej w Polsce.

Słowa kluczowe: wirus zakaźnego zapalenia bursy Fabrycjusza, patogeneza, immunosupresja

Badania finansowane przez fundusz badań własnych PIWet-PIB.

EPIDEMIOLOGIA MOLEKULARNA KORONAWIRUSÓW INDYKÓW W POLSCE W OKRESIE DWUNASTU LAT (2008-2019)

K. Domańska-Blicharz, A. Lisowska, J. Opolska, A. Pikuła, J. Sajewicz-Krukowska

Zakład Chorób Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Koronawirus indyków (TCoV) jest czynnikiem etiologicznym ostrej, wysoce zakaźnej choroby indyków, znanej jako gorączka błotna, koronawirusowe lub zakaźne zapalenie jelit lub ostatnio jako koronawiroza indyków. Choroba charakteryzuje się zapaleniem jelit, biegunką, zahamowaniem wzrostu, a czasem zwiększoną śmiertelnością i wywołuje znaczne straty ekonomiczne w przemyśle indyckim. Wirus należy do podrodzaju *Igacovirus*, rodzaju *Gammacoronavirus* wraz z podobnymi wirusami izolowanymi od *Galliformes*, w tym z wirusem zakaźnego zapalenia oskrzeli kur (IBV). Oficjalna taksonomia wyróżnia dwa gatunki wirusów: ptasi koronawirus (AvCoV) i ptasi koronawirus 9203 (AvCoV9203), które łącznie obejmują wszystkie genotypy IBV i koronawirusy indyków. Należą one do tego samego gatunku ze względu na podobne relacje filogenetyczne i struktury genomowe.

W latach 2008-2011 wymazy kałowe pobierano w ramach monitoringu ze stad indyków niezależnie od ich stanu zdrowia. Próbkę badaną w późniejszym okresie przesyłano do laboratorium w celach diagnostycznych ze stad wykazujących objawy zapalenia jelit. W okresie 12 lat (2008-2019) pobrano próbki z łącznie 648 stad indyków z różnych regionów kraju. Obecność TCoV wykrywano metodą real time RT-PCR (5'UTR), a wybrane szczepy poddawano charakterystyce molekularnej w oparciu o cały gen S (3600 nt).

W omawianym okresie zidentyfikowano łącznie 65 stad dodatnich (10,0%, 95% CI: 7,9-12,6). Częstość występowania TCoV różniła się w zależności od roku badania i była najwyższa w 2010 i 2019 r., kiedy wykryto 9-10 stad dodatnich, a najniższe w 2011 i 2013 r., gdy nie zidentyfikowano żadnego lub tylko jedno zakażone stado. W pozostałych latach wykrywano średnio 5-7 stad dodatnich rocznie. Analiza filogenetyczna wykazała, że 16 polskich szczepów TCoV z lat 2009-2019 znajdowało się w tej samej gałęzi drzewa filogenetycznego co TCoV z Francji i różniły się od szczepów północnoamerykańskich. Podobieństwo nukleotydowe polskich TCoV wynosiło 94,3–100%. Najbardziej zbliżone były szczepy z tego samego roku i regionu, natomiast te z najbardziej odległym rokiem izolacji, z 2009 i 2019 były najbardziej zróżnicowane. Lokowały się w kilku grupach filogenetycznych odpowiadających województwu pochodzenia lub roku izolacji.

Słowa kluczowe: koronawirus, indyki, analiza filogenetyczna, Polska

WYSTĘPOWANIE MIESZANYCH ZAKAŻEŃ WIRUSOWYCH W STADACH GĘSI W POLSCE

H. Czekaj, W. Kozdruń, K. Piekarska, N. Styś-Fijoł, J. S. Niczyporuk, A. Stolarek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Wzrost liczebności stad gęsi powoduje jednocześnie wzrost zagrożenia wystąpienia chorób o etiologii wirusowej i generowanie znacznych strat ekonomicznych.

Najgroźniejszą chorobą wirusową u gęsi jest choroba Derzsy'ego, której czynnikiem etiologicznym jest parwowirus gęsi (GPV) i przebiegająca z wysoką śmiertelnością. Choroba podlega obowiązkowi rejestracji. Mimo stosowania szczepień nadal stanowi poważny problem. Ponadto dużym zagrożeniem jest zakażenie cirkowirusami (GoCV), które u gęsi powyżej 5 tygodnia powodują zwiększone padnięcia, wybrakowania oraz powoduje znacznego stopnia immunosupresję. Polyomawirus gęsi (GHPV) jest czynnikiem etiologicznym syndromu krwotocznego zapalenia nerek i jelit gąsiąt (HNEG) powodując znaczne padnięcia w stadach gąsiąt.

Celem badań było określenie występowania mieszanych zakażeń GPV, GoCV oraz GHPV w stadach gęsi na podstawie badań diagnostycznych w latach 2012 – 2020. W tym okresie przesłano do badań gęsi z 85 stad przeznaczonych na tucz oraz stad reprodukcyjnych. Podczas badania sekcyjnego pobierano wycinki narządów wewnętrznych, a następnie izolowano całkowity DNA i RNA/. Do wykrywania materiału genetycznego wirusów stosowano PCR używając specyficznych starterów o sekwencjach komplementarnych dla odpowiednich fragmentów genomu tych wirusów.

W analizowanych badaniach materiał genetyczny GPV stwierdzono w narządach wewnętrznych ptaków w 27 stad (31,8%). Obecność zakażenia GoCV wykryto u ptaków pochodzących z 58 stad gęsi co stanowi 68,2% badanych stad. Zakażenia GHPV obserwowano w 32 stadach gęsi (37,6%). Mieszane zakażenia wirusem GPV i GoCV wykryto w 17 stadach co stanowi 20% stad badanych, natomiast zakażenie GPV i GHPV stwierdzono u ptaków z 13 stad (15,3%). Obecność materiału genetycznego GoCV oraz GHPV wykryto w narządach wewnętrznych gęsi z 23 stad (27,1%). Dodatkowo u ptaków w 8 stadach stwierdzono obecność materiału genetycznego wszystkich trzech badanych wirusów (9,4%).

Przeprowadzona analiza badań diagnostycznych potwierdziła występowanie mieszanych zakażeń wirusowych w stadach gęsi w latach 2012 – 2020.

Słowa kluczowe: choroba Derzsy'ego, cirkowirusy, polyomawirusy, PCR

Badania finansowane w ramach subwencji na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego w PIWet-PIB w Puławach.

ANALIZA KLINICZNYCH PRZYPADKÓW ZAKAŻENIA POLYOMAWIRUSEM (GHPV) W STADACH GĘSI

K. Piekarska¹, W. Kozdruń¹, A. Gawel², K. Bobrek², N. Styś-Fijoł¹, H. Czekaj¹, A. Stolarek¹

¹Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Uniwersytet Przyrodniczy, Wrocław, Polska

Jednym z największych zagrożeń zdrowotnych dla drobiu wodnego oprócz parwowirusy jest syndrom krwotocznego zapalenia nerek i jelit (HNEG), którego czynnikiem etiologicznym jest polyomawirus gęsi (GHPV). Obie te jednostki chorobowe są uwzględniane jednocześnie w diagnostyce różnicowej.

Analizy klinicznych przypadków HNEG dokonano w latach 2019-2020. W 2019 roku materiał do badań pozyskano z 3 stad reprodukcyjnych kaczek (12 ptaków), z 4 stad kaczek przeznaczonych na tucź (17 ptaków) oraz 10 stad gęsi przeznaczonych na tucź (47 ptaków). Natomiast w 2020 roku materiał do badań pochodził wyłącznie z 19 stad gęsi przeznaczonych na tucź (94 ptaki).

U badanych ptaków obserwowano apatię, trudności lokomotoryczne, ubytki upierzenia, znaczny spadek masy ciała oraz objawy ze strony układu nerwowego (paraliż nóg, szyi i skrzydeł). Wśród zmian anatomopatologicznych obserwowano: zaokrąglony koniuszek serca, brak tonusu mięśnia sercowego, powiększenie wątroby, obecność płynu wysiękowego barwy słomkowej w jamie ciała i worku osierdziowym, nieżytowe zapalenie jelit oraz powiększenie i przekrwienie nerek i śledziony. W trakcie badania anatomopatologicznego pobierano od ptaków wycinki narządów wewnętrznych, z których następnie izolowano całkowity DNA, który następnie posłużył do przeprowadzenia reakcji amplifikacji (PCR). Użyto w niej starterów komplementarnych dla sekwencji genomu GHPV kodującej białko kapsydu VP3.

Na podstawie wyników PCR w 2019 roku, obecność materiału genetycznego GHPV potwierdzono w 2 stadach: w 1 stadzie gęsi na tucź w wieku 5 tygodni oraz 1 stadzie gęsi na tucź w wieku 6 tygodni. Natomiast w 2020 roku obecność DNA GHPV wykryto już w 8 stadach gęsi na tucź: w 5 stadach w wieku 5 tygodni oraz w 3 stadach w wieku 6 tygodni. Potwierdzono także pionową transmisję wirusa ze stada reprodukcyjnego na potomstwo.

Przedstawione wyniki badań świadczą o stałym występowaniu zakażeń GHPV w stadach drobiu wodnego w Polsce, co ma wpływ na wyniki produkcyjne i skuteczność szczepień profilaktycznych.

Słowa kluczowe: syndrom krwotocznego zapalenia nerek i jelit, polyomawirus gęsi, PCR

Badania finansowane w ramach subwencji na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego PIWet-PIB w Puławach.

INTERAKCJE WIRUS-GOSPODARZ W PRZEBIEGU ZAKAŻENIA ASTROWIRUSEM KURZYM

J. Sajewicz-Krukowska¹, K. Domańska-Blicharz¹, K. Tarasiuk¹, B. Marzec-Kotarska²

¹Zakład Chorób Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Zakład Patomorfologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, Polska

Infekcje astrowirusowe stanowią istotny problem w przemyśle drobiarskim, prowadząc do wielu niekorzystnych zjawisk, takich jak spadek produkcji jaj, zaburzenia lęgów, słabe przyrosty masy ciała, a nawet zwiększona śmiertelność. W ostatnich latach astrowirus kurzy (CAstV) został uznany za odpowiedzialny za chorobę białych piskląt związaną z podwyższoną śmiertelnością zarodków i kurcząt, ale także z osłabieniem i białym upierzeniem wykłutych piskląt.

Interakcje wirus-gospodarz są zależne nie tylko od stopnia zjadliwości patogenu, ale również od stanu odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Mechanizmy odpornościowe ptaków w przebiegu zakażeń astrowirusowych są niezwykle słabo poznane. Brak jest również informacji na temat globalnej ekspresji genów w śledzionie kur po zakażeniu CAstV. Celem pracy była próba ustalenia molekularnego podłoża zakażenia wirusem CAstV w śledzionach kur.

Grupa doświadczalna oraz grupa kontrolna składały się z 5 szt. 3-tyg. kurcząt SPF. Ptaki z grupy badanej zostały zakażone materiałem wirusowym CAstV. Po zakażeniu obie grupy były poddane 4-dniowej obserwacji. Do określenia poziomu ekspresji transkryptów mRNA w śledzionach kurcząt w 4 dniu po zakażeniu CAstV wykorzystano technikę RNA-seq. Geny ulegające ekspresji różnicowej (DEGs) zostały sklasyfikowane funkcjonalnie i pogrupowane w szlaki przy użyciu analiz GO (Gene Ontology) i KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes). Wyniki RNA-seq zostały zwalidowane metodą RQ rRT-PCR.

W odpowiedzi na zakażenie CAstV zidentyfikowano 31959 transkryptów. Pośród nich 204 geny uległy istotnej statystycznie ekspresji różnicowej ($p < 0,05$). Ostateczna analiza, uwzględniająca próg $\log_2 FC > 1$ umożliwiła identyfikację 45 DEGs. Większość z nich była związana ze szlakiem sygnalizacyjnym RIG-I-podobnym lub bardziej ogólnie z wrodzoną odpowiedzią przeciwwirusową (BLEC3, CMPK2, IFIT5, OASL, DDX60, IFI6, SPIK5, SELENOP, HSPA2, TMEM158, RASD1, YWHAB). Analiza GO wykazała wzbogacenie głównie procesów immunologicznych oraz cyklu komórkowego. Analiza KEGG ujawniła wzbogacenie szlaku sygnalizacyjnego receptora NOD-podobnego, wirusa grypy A i cyklu komórkowego.

Badanie umożliwiło globalną analizę zmian transkrypcyjnych gospodarza, które zachodzą podczas infekcji CAstV *in vivo* i wykazały, że cykl komórkowy w śledzionie oraz sygnalizacja immunologiczna to główne procesy biologiczne u kur zaburzone podczas zakażenia CAstV.

Słowa kluczowe: astrowirus kurzy, RNA-seq, NGS, śledziona

OCENA STATUSU IMMUNOLOGICZNEGO W STADACH GĘSI IMMUNIZOWANYCH PRZECIWKO GPV

K. Piekarska, W. Kozdruń, N. Styś-Fijoł, H. Czekaj, A. Stolarek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Wielkotowarowy chów gęsi związany ze znaczną intensyfikacją hodowli stwarza zagrożenie pojawienia się chorób zakaźnych, głównie choroby Derzsy'ego (DD) inaczej parwowirusy gęsi, której czynnikiem etiologicznym jest parwowirus gęsi (GPV).

Najbardziej wrażliwe na zakażenie są młode gęsi, u których upadki mogą sięgać 100%.

Zapobieganie i zwalczanie choroby polega m.in. na szczepieniu ptaków stad rodzicielskich oraz ich potomstwa.

Celem wykonanych badań była ocena występowania i poziomów specyficznych przeciwciał anty-GPV. Próbkę do badań stanowiły 1257 surowice pochodzące łącznie z 97 stad gęsi reprodukcyjnych oraz gąsiąt w 26 lokalizacjach, z czego najwięcej w województwie podlaskim (14 lokalizacji). Badane surowice pochodziły od ptaków w wieku od 1 dnia do 161 dnia życia. Najwięcej surowic pochodziło ze stad 1 - dniowych gąsiąt (86 stad). Badanie przeprowadzono w latach 2018-2021 przy zastosowaniu własnego i opatentowanego testu immunoenzymatycznego ELISA. Za wynik ujemny przyjmowano wartość OD surowicy ≤ 150 , za wynik wątpliwy wartość $150 < OD < 200$, a za wynik dodatni wartość $OD \geq 200$.

W 2018 roku najwyższa średnia wartość OD wynosiła 0,552, a najniższa 0,183. W kolejnych latach wartości te wynosiły odpowiednio: w 2019 roku – 0,518 i 0,179; w 2020 roku – 0,513 i 0,179 a w 2021 roku – 0,281 i 0,217.

Na podstawie uzyskanych wyników można wysnuć wniosek, że realizowany program immunoprofilaktyki należy ocenić jako dość skuteczny, ponieważ uzyskano 91,18% wyników dodatnich co świadczyło o obecności swoistych przeciwciał anty-GPV. Wyników wątpliwych zanotowano 6,44%, natomiast wyników ujemnych 2,38%.

Słowa kluczowe: choroba Derzsy'ego, parwowirus gęsi, test ELISA, przeciwciała anty-GPV

Badania finansowane w ramach subwencji na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego PIWet-PIB w Puławach.

CHLAMYDIOZA PTAKÓW – AKTUALNE DANE NA PODSTAWIE BADAŃ PROWADZONYCH W POLSCE

M. Szymańska-Czerwińska, K. Zaręba-Marchewka, K. Niemczuk

Zakład Chorób Bydła i Owiec, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Chlamydioza ptaków - avian chlamydiosis (AC) to choroba wywoływana przez różne gatunki chlamydii, bakterii bytujących wewnątrzkomórkowo, należących do rodziny *Chlamydiaceae*. Stwierdzana jest zarówno u ptaków wolno żyjących, jak i hodowlanych. Niektóre z chlamydii wykrywane u ptaków stanowią jednocześnie zagrożenie zoonotyczne. Badania monitoringowe prowadzone u ptaków dzikich oraz hodowlanych wskazują, że siewstwo chlamydii jest powszechne. Badania wymazów z kloaki i/lub wymazów kałowych od ptaków hodowlanych przeprowadzone metodą real-time PCR w latach 2014-2016 wykazały, że odsetek *Chlamydiaceae*-dodatnich stad drobiu (kury, kaczki, gęsi, indyki) wynosił 15,9% (29/182). Na podstawie identyfikacji gatunkowej stwierdzono, że dominującym gatunkiem jest *C. gallinacea*, a znacznie rzadziej notuje się *C. psittaci* czy *C. abortus*. Ponadto, siewstwo najczęściej występuje u kur, natomiast sporadycznie wykrywane jest w stadach gęsi i kaczek. Kontynuacja badań w latach 2019-2020 wykazała, że poziom siewstwa u drobiu hodowlanego jest nieco niższy i wynosi 10,3% (15/146 badanych stad), również z dominacją *C. gallinacea* u kur. Na podstawie genotypowania szczepów terenowych stwierdzono dużą zmienność genotypową. Analiza genu *ompA* oraz domen VD1-2, VD3-4 wykazała istnienie, aż 16 wariantów genetycznych. Przeprowadzone badania wykluczyły dotychczas istniejącą hipotezę o dominacji siewstwa *C. psittaci* u drobiu.

Badania ptaków wolno żyjących potwierdziły obecność *Chlamydiaceae* u 14,8% (132/894) ptaków należących do 16 rodzin. Największy odsetek siewców stanowiły ptaki z rodziny blaszkodziobych i krukowatych, co jest bardzo istotne z uwagi za zagrożenie zoonotyczne. W 49,2% *Chlamydiaceae*-dodatnich prób zidentyfikowano *C. psittaci*. Ponadto, istotną grupę stanowiły też ptaki, u których wykazano obecność szczepów będących przedstawicielami tzw. avian *C. abortus*, które nigdy wcześniej nie zostały wykryte i opisane. Wykazano, że avian *C. abortus* reprezentowane są przez trzy genotypy G1, G2 i 1V. Dalsze szczegółowe badania molekularne, w tym sekwencjonowanie nowej generacji (NGS), doprowadziły do stwierdzenia, że aktualnie obowiązująca w taksonomii definicja gatunku *C. abortus* wymaga zmiany i rozszerzenia o gatunki, dla których gospodarzami są ptaki.

CHARAKTERYSTYKA GRONKOWCÓW IZOLOWANYCH Z UKŁADU KOSTNO-STAWOWEGO KURCZĄT BROJLERÓW

G. Szafraniec, B. Dolka, D. Chrobak-Chmiel, P. Szeleszczuk

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Branża drobiarska należy do najbardziej dynamicznie rozwijających się działów gospodarki w naszym kraju. Polska od lat jest liderem w produkcji mięsa drobiowego w Unii Europejskiej. Jednakże problemy lokomotoryczne ptaków, nazywane popularnie kulawiznami, wpływają negatywnie na dobrostanu ptaków oraz ekonomikę produkcji drobiarskiej.

Selekcja genetyczna kurcząt w kierunku zwiększenia produktywności w tym uzyskania wysokich przyrostów masy ciała w krótkim czasie odchowu, doprowadziła do powstania wielu problemów zdrowotnych, szczególnie związanych z kończynami miednicznymi. Oddziaływanie nadmiernych sił na niedojrzały układ kostny kurczęcia prowadzi do powstania w jego obrębie uszkodzeń, a w konsekwencji zwiększonej podatności na zakażenia. W sprzyjających warunkach bakterie oportunistyczne drogą hematogenną przenoszone są w okolice chrząstek wzrostowych szybko rosnących kości długich – szczególnie kości kończyn miednicznych. Zakażenie bakteryjne prowadzi do rozwoju martwicy chrząstki z zapaleniem kości i szpiku (bacterial chondronecrosis with osteomyelitis – BCO).

Gronkowce (rodzaj *Staphylococcus*) stanowią najczęściej izolowane bakterie z przypadków BCO u drobiu. Najważniejszym czynnikiem w patologii drobiu jest *Staphylococcus aureus*, rzadziej występują zakażenia innymi gatunkami gronkowców, także koagulazo-ujemnymi, których rola jest wciąż mało znana.

Badaniami objęto stada kurcząt brojlerów, w których notowano problemy lokomotoryczne. Przeprowadzono sekcję zwłok kurcząt, podczas której pobierano wymazy z makroskopowo zmienionych końców bliższych kości udowych i piszczelowo-stępowych stanowiących miejsca predylekcyjne dla BCO oraz z kręgów piersiowych i stawów kończyn miednicznych. Z wymazów izolowano szczepy gronkowców, których przynależność gatunkową potwierdzano sekwencjonowaniem fragmentu genu 16S rRNA. Szczepy badano pod kątem aktywności katalazy, oksydazy, koagulazy, wzrostu na podłożu z mannitolem i 7,5% NaCl, wytwarzania DNazy oraz żelatynazy. Metodą PCR sprawdzono obecność występowania genu *mecA* warunkującego oporność na metycylinę oraz genów wybranych czynników zjadliwości. Sekcjonowane ptaki zostały również zbadane w kierunku zakażenia *Mycoplasma* spp. oraz reowirusem ptasim.

Słowa kluczowe: gronkowce, brojler kurzy, BCO, czynniki zjadliwości, *mecA*.

ZDOLNOŚĆ TWORZENIA BIOFILMU *GALLIBACTERIUM ANATIS* W WARUNKACH PRZEPŁYWU

M. Karwańska¹, P. Krzyżek², A. Woźniak-Biel¹, A. Wieliczko¹

¹Zakład Chorób Ptaków, Zwierząt Egzotycznych, Futerkowych i Laboratoryjnych, Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Uniwersytet Przyrodniczy, Wrocław, Polska

²Katedra i Zakład Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny, Wrocław, Polska

Pąteczki z rodzaju *Gallibacterium* to powszechnie występujące bakterie oportunistyczne izolowane z górnych dróg oddechowych, dolnych dróg układu rozrodczego oraz z przewodu pokarmowego, zarówno zdrowych jak i chorych ptaków. Zakażenia tymi drobnoustrojami inicjowane są przez adhezję do komórek nabłonka gospodarza oraz tworzenie biofilmu. Struktura ta nie tylko utrudnia leczenie zakażeń, ale umożliwia także przeżycie bakterii w środowisku ferm drobiu.

Zdolność tworzenia biofilmu w warunkach przepływu generowanego poprzez sprzęt Bioflux 1000 określono dla 7 szczepów klinicznych *Gallibacterium anatis* i szczepu referencyjnego DSM 16844. Bakterie hodowano w podłożach odżywczych BHI lub LB w temperaturze 37°C przez 24h, z szybkością przepływu wynoszącą 0,5 dyn/cm². Stopień tworzenia biofilmu przez *G. anatis* określono przez obliczenie zapętnienia mikrokapilar systemu Bioflux przez komórki bakterii. Dodatkowo, bakterie wybarwiono barwnikiem o zielonej fluorescencji (Syto9), obrazując całkowitą biomasę biofilmu, natomiast przy użyciu barwnika o czerwonej fluorescencji (SYPRO RUBY) zobrazowano powierzchniowe elementy białkowe komórek drobnoustrojów.

Zaobserwowano, że w warunkach dynamicznego przepływu podłoża biofilm produkowany przez szczepy *G. anatis* wykazywał znaczne różnice w strukturze i objętości w zależności od użytego podłoża hodowlanego. W podłożu LB produkcja biofilmu była istotnie wyższa, a wszystkie badane szczepy tworzyły biofilm ze średnią lub wysoką intensywnością. Co ciekawe, w podłożu BHI zdolność tworzenia biofilmu była bardziej zróżnicowana. Tutaj, dwa z badanych szczepów wykazywały bardzo słabą zdolność do tworzenia biofilm (3% i 7% zapętnienia kapilary), natomiast najsilniej produkujący szczep zapętniał kapilarę w 95%. W podłożu LB wszystkie szczepy tworzyły biofilm złożony z ziarniakopąteczek o wysokiej tendencji do tworzenia form filamentowych (komórek wydłużonych), podczas gdy w pożywce BHI struktura biofilmu była mniej zróżnicowana morfologicznie. Wzrost czerwonej fluorescencji zaobserwowano wśród szczepów silnie tworzących biofilm, zarówno na podłożu LB jak i BHI, sugerując udział białek w procesie tworzenia biofilmu.

Powyższe badania ukazują korelację między syntezą białek a produkcją biofilmu szczepów *G. anatis*. Wydaje się, że białka powierzchniowe biorą udział w procesie adhezji w warunkach przepływu medium, stanowiąc kluczowy element w pierwszych etapach tworzenia biofilmu przez pąteczki *Gallibacterium*.

Słowa kluczowe: adhezja, biofilm, warunki przepływu, Bioflux, fluorescencja, *Gallibacterium anatis*

CAMPYLOBACTER JEJUNI I EIMERIA PAVONINA PRZYCZYNĄ MARTWICOWEGO ZAPALENIA JELIT U DOROSŁEGO PAWIA INDYJSKIEGO (PAVO CRISTATUS) – OPIS PRZYPADKU

A. Ledwoń¹, I. Dolka¹, D. Chrobak- Chmiel², M. Murawska², P. Szleszczuk¹

¹Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Katedra Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Do Kliniki Małych Zwierząt SGGW w Warszawie dostarczono 4 letniego samca pawia błękitnego z powodu przewlekłej biegunki i osłabienia. U badanego ptaka stwierdzono ponadto kacheksję i niezdolność do samodzielnego poruszania się. Trzy miesiące wcześniej właściciele zgłosili się z tym ptakiem z powodu znacznego osłabienia, które nie ustąpiło po odrobaczeniu lewamizolem. W badaniu mikroskopowym stwierdzono wówczas liczne kokcydia i *Histomonas* spp., a przejściową poprawę uzyskano po zastosowaniu toltrazyliku (Baycox 2,5% KVP Pharma + Veterinär Produkte GmbH, Niemcy) w dawce 25 mg/1l wody do picia przez 2 dni, następnie ronidazolu (Trichonidazol, Biowet Puławy) w dawce 60 mg/1l wody do picia przez 7 dni). Stan uległ jednak ponownie pogorszeniu i paw padł w trakcie kolejnej wizyty w klinice. Wykonano badanie parazytologiczne, sekcyjne, bakteriologiczne, histopatologiczne oraz PCR. W badaniu parazytologicznym kału i treści jelit stwierdzono: pojedyncze jaja *Capillaria* spp., średnioliczne oocysty kokcydiów i *Histomonas* spp. Badanie sekcyjne wykazało wodosierdzie oraz zmiany w jelitach cienkich, których błona śluzowa była znacznie pogrubiona, barwy biało-kremowej. Nie stwierdzono zmian anatomopatologicznych w jelitach ślepych i jelicie prostym. W badaniu bakteriologicznym uzyskano obfity wzrost *Campylobacter jejuni*. W badaniu histopatologicznym stwierdzono zmiany w jelitach cienkich, wątrobie i nerkach świadczące o uogólnionej infekcji bakteryjnej, połączonej z jelitową inwazją kokcydiów. Za pomocą badania PCR określono przynależność gatunkową kokcydiów do *Eimeria pavonina*. Określono również cechy genetyczne badanego izolatu *Campylobacter jejuni*, potwierdzające jego oporność na fluorochinolony i patogenność. *Campylobacter jejuni* jest stosunkowo często izolowany od drobiu grzebiącego, i jego chorobotwórczość dla *Galliformes* jest określana jako niewielka. Również inwazje pasożytnicze są częste i u dorosłych ptaków, ale rzadko są powodem problemów zdrowotnych. Nasze obserwacje potwierdzają jednak, że w połączeniu z inwazją pasożytniczą o niewielkim nasileniu, zjadliwy szczep *Campylobacter jejuni* może doprowadzić do wyniszczenia i śmierci. Dlatego w diagnostyce przyżyciowej przewlekłych biegunek u pawia należy uwzględniać również kamylobakteriozę.

Słowa kluczowe: paw, biegunka, *Campylobacter jejuni*, *Eimeria pavonina*, martwicowe zapalenie jelit

WPŁYW DIMERU LIZOZYMU PODANEGO *IN OVO* NA POPULACJE LIMFOCYTÓW ŚLEDZIONY KURCZĄT BROILERÓW

M. Kuczkowski¹, M. Szczypka², M. Lis², A. Pawlak², A. Gawel¹, B. Obmińska-Mrukowicz²

¹Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Katedra Farmakologii i Toksykologii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Lizozym jest bakteriolitycznym enzymem, którego dimeryczna postać wykazuje właściwości przeciwwirusowe, przeciwzapalne i immunomodulujące m.in. indukuje aktywność fagocytarną komórek, stymuluje syntezę immunoglobulin i IFN- α oraz moduluje stężenie TNF.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu dimeru lizozymu w czystej postaci, podanego zarodkom kurzym *in ovo* w 18 dniu inkubacji w dawce 2, 20 lub 200 μg /jajo, na populacje limfocytów śledziona u kurcząt broilerów linii Cobb. Ptaki utrzymywano w systemie ściółkowym, w standardowych warunkach na komercyjnej fermie drobiu, gdzie podlegały standardowemu kalendarzowi szczepień. W 1, 7, 14, 21, 28, 35 i 42 dniu życia 8 ptaków z każdej grupy badanej („2 μg ”, „20 μg ” i „200 μg ”) i z grupy kontrolnej poddawano eutanazji i pośmiertnie pobierano śledziona. Wyizolowane splenocyty inkubowano z przeciwciałami monoklonalnymi anti-Bu-1a, anti-CD3, anti-CD4 i anti-CD8. Odsetek poszczególnych populacji limfocytów oznaczono metodą cytometrii przepływowej. Uzyskane dane analizowano statystycznie przy użyciu analizy jednoczynnikowej wariancji (ANOVA) oraz testu post hoc Tukeya (HSD) (różnice istotne statystycznie przy $p > 0,05$).

U ptaków z wszystkich badanych grup w 21 i 35 dniu życia stwierdzono niższy odsetek limfocytów B (Bu-1a⁺). Ponadto, spadek limfocytów B obserwowano również w 14 i 42 dniu w grupie „2 μg ” oraz w 28 dniu w grupie „20 μg ”. Wyższy odsetek limfocytów T (CD3⁺) oraz subpopulacji limfocytów T: komórek CD4⁺ i CD8⁺ wykazano w grupie „2 μg ” w 35 i 42 dniu. Ponadto, zanotowano wzrost odsetka komórek: CD3⁺ w 21 dniu w grupie „2 μg ”, CD4⁺ w 21 dniu w grupie „200 μg ”, CD8⁺ w 28 dniu w grupie „2 μg ” i w 35 dniu w grupie „20 μg ”.

Uzyskane wyniki wskazują, że dimer lizozymu podawany *in ovo* powoduje zmiany populacji limfocytów kurcząt, manifestujące się spadkiem odsetka limfocytów B oraz wzrostem odsetka limfocytów T, wynikającym ze wzrostu zarówno limfocytów CD4⁺ jak i CD8⁺. Ten efekt był najbardziej widoczny po podaniu dimeru lizozymu w najniższej dawce (2 μg).

Słowa kluczowe: lizozym, kurczęta, limfocyty

Badania współfinansowane ze środków Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich (nr umowy z ARiMR 00020.DDD.6509.00006.2018.04).

WPŁYW PREPARATU aNGF NA KINETYKĘ SPECYFICZNYCH PRZECIWCIAŁ PRZECIWKO IBDV I NDV U BROJLERÓW KURZYCH IMMUNIZOWANYCH SZCZEPIONKAMI WEKTOROWYMI

P. Szeleszczuk¹, A. Żbikowski¹, M. Michalczuk¹, M. Gagucki², Y. S. Siotkas³, E. S. Kaukonen³, K. Pawłowski¹, B. Dolka¹, K. Adamczyk¹, G. Szafraniec¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Orion Pharma, Warszawa, Polska

³Orion Pharma, Helsinki, Finlandia

W intensywnej produkcji drobiarskiej coraz częściej stosuje się zasiedlenie przewodu pokarmowego piskląt w zakładzie wylęgu drobiu (ZWD) podając preparaty będące fizjologiczną florą bakteryjną jelit (avian Normal Gut Flora - aNGF).

Liczne badania potwierdzają, że u drobiu, preparaty zawierające żywe kultury mikroorganizmów wykazują silne działanie stymulujące humoralne mechanizmy odpornościowe zwiększając całkowitą ilość przeciwciał, w tym swoistych przeciwciał indukowanych szczepionkami.

Wśród nowych rozwiązań w zakresie immunoprofilaktyki chorób kurcząt brojlerów w ostatnich latach coraz szersze zastosowanie znajdują szczepionki wektorowe. Niewątpliwą zaletą tego typu preparatów jest możliwość ich stosowania w ZWD zapewniająca lepszą kontrolę jakości szczepień i uniknięcie niekorzystnych oddziaływań tradycyjnych szczepionek. Wiadomo od lat, że stosowanie zasiedlania przewodu pokarmowego jednodniowych piskląt preparatem aNGF nie wpływa niekorzystnie na podawane w ZWD żywe szczepionki klasyczne, z tego powodu celem naszych badań była ocena wektorowych szczepionek nowej generacji co do których brak jest takich informacji. W prezentowanych badaniach zastosowano preparat zasiedlający Broilact® (Orion Pharma, Finlandia) a eksperyment przeprowadzono na fermie doświadczalnej, który to model łączył w sobie precyzję badań laboratoryjnych, pozwalając uniknąć niezdefiniowanych do końca warunków, jakie towarzyszą obserwacjom terenowym. W wykonanym doświadczeniu zastosowano szczepionki z wirusem HVT, wektorem zawierającym, jako inserty geny VP2 wirusa IBD i proteiny F wirusa ND. Odpowiedź serologiczną po immunizacji określono w testach ELISA firm Biocheck, Idexx i IDVet. Przeprowadzone badania potwierdzają, że podanie preparatu Broilact® nie wpływa niekorzystnie na rozwój odporności u ptaków immunizowanych szczepionkami wektorowymi. W odniesieniu do niektórych preparatów ptaki zasiedlane wykazywały lepszą serokonwersję. We wszystkich testach potwierdzono, że dynamika zanikania przeciwciał matczynych przeciwko wirusowi choroby Gumboro była wolniejsza w stadach otrzymujących aNGF, prawidłowości tej nie udało się potwierdzić w przypadku ND. Wykonane badania pozwoliły na wyciągnięcie ważnego dla praktyków wniosku, że Broilact® może być stosowany do optymalizacji rozwoju odporności we wczesnym okresie życia piskląt w programach profilaktycznych z zastosowaniem szczepionek nowej generacji.

Słowa kluczowe: kurczęta brojlery, aNGF, szczepionki wektorowe IBDV NDV, Broilact®, przeciwciała, ELISA

SEROTYPY I RODZAJE POWIERZCHNIOWEGO ANTYGENU SPA U SZCZEPÓW *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE* IZOLOWANYCH OD DROBIU WODNEGO

M. Dec¹, T. Nowak², K. Wódz², D. Pietras-Ożga¹, J. Wilczyński³, R. Urban-Chmiel¹

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Vet-Lab Brudzew Dr Piotr Kwieciński, Brudzew, Polska

³Lab-Vet Sp. z o.o., Tarnowo Podgórne, Polska

Zakażenia szczepami *Erysipelothrix rhusiopathiae* są istotnym problemem w produkcji drobiu wodnego. Choroba wywoływana przez te bakterie, zwaną różycą, rokrocznie jest odnotowywana przez lekarzy weterynarii nadzorującym stada gęsi i kaczek hodowanych w Polsce. Schorzenie jest przyczyną strat ekonomicznych wynikających z upadków i leczenia ptaków oraz spadku nieśności. Aktualnie w Polsce nie jest dopuszczona do obrotu żadna szczepionka przeciwko różycy u drobiu, a leczenie oparte na antybiotykoterapii ma ograniczoną skuteczność.

Materiał do badań sekcyjnych stanowiły zwłoki padłych gęsi (47) oraz kaczek (3) dostarczone w latach 2015-2020 do weterynaryjnego laboratorium diagnostycznego. Ptaki pochodziły z kilkudziesięciu ferm drobiowych zlokalizowanych w Polsce środkowo-zachodniej. Z wymazów pobranych podczas badania anatomopatologicznego z narządów wewnętrznych wyizolowano łącznie 50 szczepów *E. rhusiopathiae*. Identyfikacja gatunkowa izolatów została potwierdzona przy użyciu komercyjnego testu real-time PCR (Kylt® *Erysipelothrix*), a także za pomocą spektrometrii masowej typu MALDI-TOF. Serotypy określono przy użyciu metody multiplex PCR (Shiraiwa i wsp., 2018; Shimoji i wsp., 2020) pozwalającej na detekcję sekwencji DNA charakterystycznych dla 16 różnych serowarów opisanych dla gatunku *E. rhusiopathiae*. Detekcji fragmentów genów *spaA*, *spaB* i *spaC* dokonano w oparciu o reakcję multiplex PCR (Shen i wsp. 2010).

Różycą była diagnozowana głównie u ptaków dorosłych w okresie jesiennym. W badaniu anatomopatologicznym obserwowano nasilone przekrwienie skóry i narządów wewnętrznych świadczące o zaawansowanym przebiegu choroby mającej charakter uogólnionego zakażenia. W puli analizowanych izolatów dominował serotyp 5 (46%) i 1b (28%); mniejszy odsetek stanowiły szczepy przynależne do serowaru 8 (10%), 2 (6%), 6 (4%), 5 truncated 6 (2%), a w przypadku 4% szczepów serotyp nie był możliwy do ustalenia. U 98% izolatów potwierdzono obecność genu *spaA*, a tylko 2% zawierało gen *spaB*. Analiza sekwencji *spaA* wykazała niewielkie zróżnicowanie badanych szczepów pod względem struktury immunogennego białka SpaA, ale znacznie różnice odnotowano pomiędzy izolatami ptasimi i świńskimi.

Występowanie różycy u drobiu wodnego jest skorelowane z wiekiem ptaków i porą roku. Szczepy *E. rhusiopathiae* izolowane od gęsi i kaczek z reguły różnią się od szczepów pochodzących od świń, zarówno pod względem serotypu (u ptaków dominuje serotyp 5, u szczepów zakażających świnię najczęściej identyfikuje się serotyp 1a i 2) jak i struktury białka SpaA.

Słowa kluczowe: włoskowiec różycy, serotypy, antygen Spa

RÓŻNORODNOŚĆ GENETYCZNA ORAZ SIEWSTWO WIRUSA H7N7 W EKSPERYMENTALNYM ZAKAŻENIU KURY DOMOWEJ

K. Dziadek¹, E. Świętoń¹, K. Tarasiuk¹, A. Giza², K. Śmietanka¹

¹Zakład Chorób Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Zakład Analiz Omicznych, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Populacja ptaków wolno żyjących rzędów *Anseriformes* i *Charadriiformes* uznawana jest za rezerwuuar wirusów grypy ptaków (AIV), które ulegają regularnej transmisji na drób. Replikacja wirusa wskutek zakażenia prowadzi do powstania szeregu mutacji, które na drodze pozytywnej selekcji mogą dać początek adaptacji wirusa do nowego gospodarza. Nieznana jest jednak dokładna rola poszczególnych gatunków drobiu w ewolucji wirusów grypy ptaków. Celem lepszego zrozumienia mechanizmów adaptacyjnych wskazane wydaje się zbadanie złożoności i różnorodności genetycznej populacji AIV w cyklu eksperymentalnego zakażenia modelu zwierzęcego.

Dziesięć osobników kury domowej zakażono dawką 10^6 EID₅₀ AIV o niskiej zjadliwości podtypu H7N7 pochodzącego od kaczki krzyżówki. Do zakażenia grupy kontrolnej o tej samej liczbie zwierząt użyto sterylnego roztworu PBS. W 2., 4. i 7. dniu po zakażeniu (dpi) od wszystkich ptaków pobrano wymazy z jamy dziobowo-gardłowej i kloaki, które następnie przebadano na obecność materiału genetycznego AIV. Próbkę dodatnie poddano sekwencjonowaniu wysokoprzepustowemu na platformie Illumina w celu identyfikacji wariantów w populacji wirusowej. Doświadczenie zakończono humanitarnym uśmierceniem zwierząt.

W przebiegu doświadczenia u zwierząt nie stwierdzono objawów klinicznych, a badanie sekcyjne nie wykazało zmian anatomopatologicznych. Siewstwo wirusa z układu oddechowego (2dpi-7dpi) obserwowano u 60-90% osobników, podczas gdy odsetek siewstwa z układu pokarmowego (2dpi-7dpi) wynosił 10-30%. Uśrednione wyniki siewstwa dla obu układów utrzymywały się na tym samym poziomie w drugim dniu po zakażeniu, jednakże w dalszym przebiegu obserwowano widoczny wzrost siewstwa z układu pokarmowego w porównaniu do tchawicy. Wstępna analiza sekwencji wykazała obecność 208 polimorfizmów pojedynczego nukleotydu w wymazach z górnych dróg oddechowych i 98 wariantów w układzie pokarmowym, spośród których odpowiednio 63% i 58,2 % stanowiło mutacje niesynonimiczne. Największa różnorodność genetyczna obejmowała segmenty wirusowe kodujące białka polimerazy (PB1, PB2, PA) oraz białka powierzchniowe (HA, NA). Jednoczesne występowanie identycznych wariantów wirusowych w kloace i tchawicy potwierdzono tylko w sześciu przypadkach w wymazach pochodzących od tego samego osobnika. Uzyskane wyniki mogą sugerować istotny wpływ miejsca namnażania się wirusa na unikatowość zmian nukleotydowych w populacji wirusowej.

Badania finansowane przez NCN: 2018/30/Q/NZ6/00216.

WPŁYW WCZESNEGO KARMIENIA I POJENIA PISKŁĄT NA PRZYROSTY MASY CIAŁA I ROZWÓJ TKANKI MIĘŚNIOWEJ KURCZĄT BROJLERÓW

A. Gawęł, J. Madej, K. Bobrek, B. Kozak

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

W przypadku wielkotowarowej produkcji drobiarskiej, moment wylęgu piskląt i pierwsza doba życia jest kluczowa dla ich dalszego rozwoju. Badania naukowe wykazały, iż okres głodu w pierwszej dobie życia ptaków niekorzystnie wpływa na ich dalszy rozwój, skutkując czasem odwodnieniem i śmiercią głodową piskląt. Zakłada się, że dostęp do paszy i wody już w klujniku wpłynie korzystnie nie tylko na poprawę dobrostanu, ale również na efekty produkcyjne.

Badania prowadzono w 2 grupach doświadczalnych kurcząt Ross 308. Grupa kontrolna lęzona była systemem tradycyjnym, a grupa doświadczalna – w „troskliwym wylęgu” z dostępem m.in. do paszy i wody. Ocenianymi parametrami w 1, 7, 21 i 35 dniu życia były: ekspresja genów odpowiedzialnych za rozwój tkanki mięśniowej (MyoD, MyoG, MRF4), morfometria włókien mięśniowych oraz stosunek mięśnia piersiowego do całkowitej masy ciała ptaków.

Z przeprowadzonych badań wynika, iż ptaki lęzone systemem „troskliwego wylęgu” wykazywały w 7 dniu życia wyższą ekspresję genów odpowiedzialnych za rozwój mięśni, która przekładała się na uzyskane w 21 dniu życia ptaków o 5% większe wartości w badaniach histometrycznych szerokości włókien mięśnia piersiowego. Stosunek masy mięśni piersiowych do masy ciała był wyższy w grupie doświadczalnej zarówno w 7 jak i 21 dniu życia. W 35 dniu życia ptaków nie stwierdzono istotnych różnic w ekspresji genów i przekrojach włókien mięśniowych. Masa ciała ptaków grupy doświadczalnej w 1 i 7 dniu życia była o 10% większa niż w grupie kontrolnej, a końcowe masy ciała w grupie doświadczalnej były o 5% wyższe niż w grupie kontrolnej.

Poprawa warunków dobrostanu poprzez wczesny dostęp do paszy i wody klujących się piskląt wpływa korzystnie na osiągnięte przez nie efekty produkcyjne ptaków.

Słowa kluczowe: rozwój mięśni, kurczęta, wczesne karmienie i pojenie, dobrostan

Projekt współfinansowany ze środków Unii Europejskiej Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014-2020.

WPŁYW WIEKU INDYCZEK REPRODUKCYJNYCH NA LOKALNE MECHANIZMY ODPORNOŚCIOWE W JAJOWODZIE

J. Kowalczyk, M. Śmiałek, B. Tykałowski, A. Koncicki

Katedra Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn, Polska

Obok centralnych narządów układu immunologicznego istotną rolę protekcyjną odgrywają narządy obwodowe oraz tkanka limfatyczna związana z błoną śluzową, tzw. MALT (Mucous Associated Lymphoid Tissue) w poszczególnych układach i narządach makroorganizmu. U ptaków, na skutek redukcji w trakcie rozwoju embrionalnego, funkcjonuje tylko jeden, lewy jajnik oraz jajowód, a ze względu na ujście jajowodu do steku, układ rozrodczy ma stały kontakt ze środowiskiem zewnętrznym, co w dużej mierze predysponuje do występowania zakażeń wstępujących. Zakażenia te mogą doprowadzać do zaburzeń strukturalnych i funkcjonalnych narządów rozrodczych oraz do kontaminacji jaj, i w efekcie do szerzenia się zakażeń drogą pionową. Dlatego też, zachowanie homeostazy organizmu oraz ochrona przed negatywnymi skutkami wniknięcia drobnoustrojów zależna jest od sprawności lokalnych mechanizmów odpornościowych związanych z błoną śluzową jajowodu.

W dostępnych publikacjach naukowych, większość badań nad układem immunologicznym przeprowadzono na kurzym modelu doświadczalnym, dlatego też podjęto badania własne z wykorzystaniem indyczek reprodukcyjnych w różnych okresach produkcji nieśnej. Badania miały na celu określenie wpływu wieku niosek na kształtowanie się struktury układu immunologicznego w jajowodzie.

Materiał do badań stanowiły klinicznie zdrowe, dojrzałe płciowo indyczki Hybrid XL, pochodzące z fermy reprodukcyjnej zlokalizowanej na terenie województwa warmińskomazurskiego. W pięciu okresach próbkobrania, od ptaków pobierano krew, a po eutanazji śledzionę oraz jajowód, z którego pobierano próbki błony śluzowej z części wielkiej, cieśni oraz części macicznej. Wykorzystując opracowaną metodykę izolacji limfocytów przy użyciu gradientu gęstości Percoll oraz Histopaque, uzyskano materiał niezbędny do dalszych analiz. Wykonano oznaczenia cytometryczne oraz immunofenotypowanie komórek przy użyciu przeciwciał mono- i poliklonalnych.

Przeprowadzone analizy laboratoryjne badanych odcinków jajowodu pozwoliły na określenie procentowego udziału subpopulacji CD4+, CD8+ limfocytów T i IgM+ limfocytów B we krwi i śledzionie oraz bezwzględnej liczby komórek w próbkach błony śluzowej w poszczególnych odcinkach jajowodu. Na podstawie uzyskanych wyników należy stwierdzić, iż badane subpopulacje limfocytów T oraz B są równomiernie rozmieszczone w błonie śluzowej jajowodu, a ich średnia bezwzględna liczba jest uzależniona od okresu cyklu produkcyjnego ptaków, gdyż stopniowo wzrasta ona do szczytu nieśności, po czym sukcesywnie spada do końca produkcji nieśnej. Na podstawie uzyskanych wyników, należy również stwierdzić, że komórkowe mechanizmy obronne w układzie rozrodczym indyczek w końcowej fazie nieśności nie są tak sprawne jak w szczycie produkcji, co w konsekwencji zwiększa podatność ptaków na zakażenia układu rozrodczego w tym okresie.

Słowa kluczowe: indyczki reprodukcyjne, jajowód, limfocyty, lokalne mechanizmy odpornościowe

METAGENOMIKA JAKO NARZĘDZIE DO OCENY RÓŻNORODNOŚCI SKŁADU BAKTERYJNEGO UKŁADU ROZRODCZEGO INDYKÓW – BADANIA WSTĘPNE

O. Kursa, G. Tomczyk, A. Sawicka-Durkalec

Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Różnorodność drobnoustrojów w układzie rozrodczym może wpływać na fizjologię jajowodu, prawidłową nieśność oraz jakość jaj. Obecność mikroorganizmów patogennych może prowadzić do ich pionowej transmisji do zarodka. Celem tego badania było poszerzenie wiedzy na temat bakterii obecnych w jajowodzie indyków.

Dzięki zastosowaniu sekwencjonowania metagenomicznego regionów V3 i V4 genu 16S rRNA (MiSeq Illumina) zbadaliśmy skład bakteryjny układu rozrodczego indyków. Do badania wykorzystano wycinki z trzech części jajowodu: kielicha, magnum i macicy pochodzące od trzech ptaków z dwóch stad w wieku od 49 do 52 tygodni. Materiał genetyczny izolowano z użyciem zestawu Maxwell RSC Tissue Pathogen Kit (Promega). Analizę taksonomiczną i różnorodności przeprowadzono przy użyciu oprogramowania Qime 2 i KRONA.

Względna liczebność bakterii różniła się u każdego z ptaków. Podstawowa analiza taksonomiczna składu bakteryjnego pozwoliła na identyfikację 23 typów, z których tylko sześć było wspólnych dla wszystkich ptaków. W przeprowadzonych badaniach wykryto również typy bakterii takie jak np.: *Hydrogenedentes*, *Gemmatimonadetes* i *Myxococcota*, które do tej pory nie były identyfikowane u indyków. Na poziomie rodziny znaleziono 190 różnych sekwencji, natomiast na poziomie rodzaju było ich 340, w tym *Escherichia-Shigella*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Ornithobacterium*. Bakterie te mogą wpływać na proces tworzenia skorupy jaja powodując jej osłabienie oraz ewentualną transmisję pionową. Część bakterii występujących w układzie rozrodczym indyków została zidentyfikowana również w jelitach co może potwierdzać prawdopodobieństwo zakażenia wstępującego niektórych bakterii do jajowodu.

Ze względu na rolę jaką odgrywa prawidłowo funkcjonujący układ rozrodczy w utrzymaniu zdrowia ptaków uzyskane wstępne wyniki pozwalają na poszerzenie wiedzy na temat składu bakteryjnego jajowodu indyków, co może być przydatne w ich kontrolowaniu, diagnozowaniu oraz leczeniu.

Słowa kluczowe: jajowód, indyk, 16S rRNA, metagenomika

Badania finansowane przez NCN: 2019/03/X/NZ6/01955.

ANALIZA ZAGROŻENIA WYSTĄPIENIA ZAKAŻEŃ ADENOWIRUSAMI W STADACH DROBIU W KRAJU

J. Niczyporuk, W. Kozdruń, H. Czekaj, K. Piekarska, N. Styś-Fijoł

Zakład Chorób Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Problem zakażeń adenowirusami z rodziny *Adenoviridae* rozpowszechnionymi w stadach drobiu w kraju jest zagadnieniem stale aktualnym a sytuacja epidemiologiczna wykazuje tendencję wzrostową. Rola chorobotwórcza adenowirusów drobiu nie jest jednoznaczna. Szczepy należące do tego samego typu genetycznego wykazują zróżnicowaną patogenność, zależną od dawki wirusa, wieku ptaków oraz obecności innych czynników środowiskowych. Występowanie wielu gatunków adenowirusów, ich heterogenność, niejasna rola chorobotwórcza, związek etiologiczny z różnymi jednostkami chorobowymi, wywoływanie immunosupresji i zakażeń oportunistycznych powoduje konieczność analizy sytuacji epizootycznej oraz poznania, a także scharakteryzowania krajowych szczepów adenowirusów ptasich.

Z tych przyczyn podjęto badania mające na celu poznanie rozprzestrzeniania szczepów adenowirusów w stadach drobiu w kraju. W 2021 roku przebadano 18 stad podejrzanych o zakażenie adenowirusami. Podczas sekcji chorych ptaków pobierano próbki narządów wewnętrznych i wykonano izolację. Następnie dokonano klasyfikację szczepów wirusowych oraz ich podział na typy genetyczne. Do tego celu wykorzystano technikę reakcji amplifikacji w czasie rzeczywistym Real-time PCR. Ponadto wyizolowane szczepy scharakteryzowano i przeprowadzono analizę sekwencji nukleotydowych i aminokwasowych pętli L1 genu hexon. Do reakcji wykorzystano startery FAdV-FJSN i FAdV-R-JSN amplifikujące w całości pętlę L1 genu hexon. Wyniki sekwencjonowania otrzymane w formie chromatogramów w plikach w formacie ab1 analizowano w programie MEGA 7.0.26(7170509-x86_64). Fragmenty końcowe o długości około 20 nukleotydów wykazujące błędy w odczycie reakcji sekwencjonowania odrzucano. Sekwencje szczepów referencyjnych adenowirusów ptasich pozyskane z bazy danych GenBank (NCBI) posłużyły do analiz porównawczych z sekwencjami szczepów własnych.

W 2021 roku obecność adenowirusów drobiu stwierdzono w 14 badanych stadach a szczepy adenowirusów sklasyfikowano do pięciu gatunków FAdV-A-E przynależnych do następujących typów genetycznych: 1/A, 4/C, 5/B, 7/E oraz 11/D. Najczęściej występującym typem genetycznym u drobiu okazał się typ/gatunek 11/D oraz 7/E natomiast najrzadziej występował typ/gatunek 4/C (wyizolowano tylko jeden szczep tego typu). Ciągły wzrost zakażeń adenowirusami w stadach drobiu w kraju oraz obecność szczepów adenowirusów należących do wielu typów genetycznych sprawia, iż ocena sytuacji epidemiologicznej stad powinna być aktualizowana.

WYSTĘPOWANIE ZAKAŻEŃ *SALMONELLA* SPP. W STADACH GĘSI

P. Pasim, W. Koza, E. Skrzypiec, D. Wojdat, E. Mikos-Wojewoda, A. Śmiałowska-Węglińska, R. Kwit, M. Skóra, M. Skarżyńska, M. Zając, D. Wasyl

Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Salmonelloza ludzi to jedna z najbardziej powszechnych zoonoz. Do zakażenia pałeczkami *Salmonella* (*S.*) dochodzi najczęściej poprzez spożywanie produktów pochodzenia zwierzęcego tj. jaja lub mięso. Drób uważany jest za główny rezerwuar tych bakterii. Celem pracy była ocena skali zakażeń *Salmonella* w stadach gęsi o użytkowości mięsnej i nieśnej (hodowlanych) oraz serologiczna identyfikacja uzyskanych szczepów.

W 2020 r. powiatowi lekarze weterynarii pobrali próbki w 143 gospodarstwach na terenie całego kraju (po 2 próbki w każdym gospodarstwie). Zwykle gospodarstwo było reprezentowane przez jedno stado. Izolację *Salmonella* przeprowadzono zgodnie z normą PN-EN ISO 6579-1:2017-04, a identyfikację serologiczną według schematu White-Kauffmann-Le Minor wykonano metodą aglutynacji szkiełkowej przy użyciu komercyjnych surowic diagnostycznych.

Salmonella spp. stwierdzono w 36,36% (52/143) badanych stad, przy czym w większości z nich (n=42) wynik dodatni uzyskano w obu badanych próbkach. Wyizolowano 94 szczepy *Salmonella* należące do 13 różnych serowarów, z czego niemal połowę (48,94%) stanowiła *S. Typhimurium*. Kolejnym dominującym serowarem była *S. Enteritidis* (15,96%) oraz jednofazowy wariant *S. Typhimurium* (8,51%). Pozostałe serowary zidentyfikowano jako *S. Indiana* i *S. Kottbus* (po 6,38%), *S. Brandenburg*, *S. Bredeney*, *S. Infantis*, *S. Newport*, *S. Schleissheim* (po 2,13%) oraz *S. Senftenberg*, *S. Anatum*, *S. Bispebjerg* (po 1,06%). W trzech (2,09%) gospodarstwach stwierdzono jednocześnie zakażenie dwoma różnymi serowarami *Salmonella*.

Uzyskane wyniki pokazują dużą skalę i intensywność zakażeń stad gęsi pałeczkami *Salmonella* oraz różnorodność stwierdzanych serowarów o potencjale zoonotycznym. Fakt ten potwierdza realne ryzyko zakażenia *Salmonella* zarówno dla pracowników gospodarstw, jak i konsumentów. Wskazane jest podjęcie działań ukierunkowanych na ograniczenie częstości występowania *Salmonella* u gęsi i dalsze prowadzenie badań w celu monitorowania skuteczności tych działań.

Słowa kluczowe: *Salmonella*, salmonelloza, gęsi, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*

Badania wykonano w ramach zadania 16 (Ocena sytuacji epidemiologicznej zakażeń Salmonella u zwierząt) Programu Wieloletniego na lata 2019-2023.

SOKÓŁ WĘDROWNY JAKO POTENCJALNY REZERWUAR DROBNOUSTROJÓW

**E. Pyzik¹, M. Dec¹, D. Stępień-Pyśniak¹, A. Marek¹, J. Valverde Piedra²,
A. Chałabis-Mazurek², K. Szczepaniak³, R. Urban-Chmiel¹**

¹Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Katedra Farmakologii, Toksykologii i Ochrony Środowiska, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Polska

³Katedra Parazytologii i Chorób Ryb, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
Lublin, Polska

Dziki, wolno żyjące ptaki, ze względu na duży zasięg geograficzny i zarazem bliski kontakt z człowiekiem, mogą być potencjalnym rezerwuarem drobnoustrojów, genów antybiotykooporności, jak również pasożytów. Dodatkowo żyjąc w środowisku miejskim są bezustannie narażone na wiele negatywnych czynników, takich jak różnorodne substancje toksyczne, biologiczne oraz chemiczne.

Celem pracy była przede wszystkim ocena występowania bakterii oraz pasożytów w próbkach pobranych od ptaków żyjących na wolności ale w bliskim otoczeniu człowieka i zwierząt hodowlanych na przykładzie sokoła wędrownego (*Falco peregrinus*) jako potencjalnego wskaźnika genów lekooporności bakterii. Przeanalizowano także skażenie toksykologiczne próbek pobranych z gniazd w celu określenia wpływu terenów zurbanizowanych na ten drapieżny gatunek, pod względem zdrowia, dobrostanu i przetrwania w środowisku miejskim.

Próbki zostały pobrane z dwóch gniazd zlokalizowanych na Lubelszczyźnie podczas rutynowego badania weterynaryjnego piskląt i obejmowały pierze puchowe a także świeże odchody uzyskane od siedmiu piskląt. Bakterie izolowano bezpośrednio z próbek metodami mikrobiologicznymi a następnie identyfikowano szczepy z wykorzystaniem techniki MALDI-TOF MS. Wyizolowane i sklasyfikowane gatunkowo szczepy poddano dalszej analizie w celu oznaczenia antybiotykooporności szczepów, a także wykazaniu obecności genów oporności metodą PCR.

Badania parazytologiczne przeprowadzono metodą flotacji, ilościową McMaster, identyfikacji taksonomicznej mikroskopowej oraz analizie z zastosowaniem kontrastu fazowego (DIC) przy użyciu oprogramowania Nikon NIS-Elements.

Próbki pochodzące od ptaków poddano analizie pod względem toksykologicznym za pomocą metody ICP-MS w celu oceny stężeń wybranych metali ciężkich takich jak kadm [Cd], ołów [Pb], arsen [As], cynk [Zn] i miedź [Cu].

Badania wykazały obecność zróżnicowanego mikrobiomu, w tym *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. i *Staphylococcus* spp. Potwierdzono także obecność genów lekooporności. Dominowały pasożyty z rodzaju *Caryospora*. Analiza toksykologiczna wykazała wysokie stężenia toksycznych metali ciężkich, w tym Cd, Pb, As i Zn.

Słowa kluczowe: bakterie, sokoły, stan zdrowia, pierwiastki toksyczne, dobrostan

CHARAKTERYSTYKA POPULACJI BAKTERYJNEJ MIKROBIOTY GÓRNYCH DRÓG ODDECHOWYCH U GOŁĘBI

A. Sawicka-Durkalec¹, G. Tomczyk¹, O. Kursa¹, T. Stenzel², A. Giza³

¹Zakład Chorób Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Katedra Chorób Drobiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn, Polska

³Zakład Analiz Omiczynych, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Układ oddechowy ptaków jest miejscem występowania różnorodnych komensalnych i potencjalnie patogennych bakterii, które wzajemnie na siebie oddziałują. Wiedza na temat występowania infekcji bakteryjnych górnych dróg oddechowych gołębi ogranicza się do opisów występowania określonych rodzajów bakterii. Celem naszych badań była kompleksowa ocena składu mikrobioty górnych dróg oddechowych gołębi.

Materiał do badań stanowiły wymazy z jamy nosowo-gardłowej pobrane od 17 gołębi: 4 ptaków zdrowych (H) oraz 13 wykazujących objawy chorobowe ze strony układu oddechowego (S). Całkowite DNA wyizolowano przy użyciu QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). Do identyfikacji taksonomicznej bakterii wykorzystano regiony V3 i V4 genu 16S rRNA. Biblioteki przygotowywano przy użyciu protokołu 16S metagenomics (Illumina) i sekwencjonowano na aparacie MiSeq (Illumina). Do przypisania taksonomicznego i analizy różnorodności wykorzystano oprogramowanie Krona.

W składzie mikrobioty górnych dróg oddechowych badanych ptaków wykryto 11 typów bakterii obejmujących 18 klas taksonomicznych. Uzyskane wyniki wykazały różnice w składzie mikrobioty pomiędzy badanymi grupami ptaków. Typem dominującym w obu grupach była *Proteobacteria* (47,5% S; 48,2% H). U gołębi zdrowych drugim dominującym typem był *Firmicutes* (24,7%) następnie *Bacteroidetes* (8,25%), *Tenericutes* (6,55%), *Epsilonbacteraeota* (6,5%) i *Actinobacteria* (4%). Skład mikrobioty układu oddechowego u gołębi wykazujących objawy kliniczne miał inne proporcje, gdzie drugim typem były *Bacteroidetes* (21,9%) następnie *Firmicutes* (8,9%), *Fusobacteria* (7,6%), *Tenericutes* (6,7%) i *Epsilonbacteraeota* (4%). Należy podkreślić, że analizując wyniki pod względem wykrytych klas w obu badanych grupach klasy, *Mollicutes* (8,6% S; 8,6% H) i *Campylobacteria* (6,5 % S; 6,5 % H) były na tym samym poziomie zarówno u zdrowych jak i u chorych ptaków, natomiast udział klasy *Bacilli* był znacznie niższy u chorych (3,3%) niż u zdrowych (27,6%). Klasy *Coriobacteriia* (0,2%), *Gracilibacteria* (0,25%), *Deltaproteobacteria* (0,25%) i *Chlamydiae* (0,002%) wykryto wyłącznie u chorych gołębi. Dodatkowo, u wszystkich badanych gołębi stwierdzono obecność *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) – jednego z najważniejszych patogenów układu oddechowego ptaków.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że bakterie klasy *Mollicutes* i *Campylobacteria* mogą stanowić część fizjologicznej flory górnych dróg oddechowych u gołębi. Gołębie mogą być potencjalnym rezerwuarem i wektorem ORT.

Słowa kluczowe: gołębie, mikrobiota, układ oddechowy, NGS

WYSTĘPOWANIE ZAKAŻEŃ *SALMONELLA* SPP. W STADACH KACZEK

M. Skóra, R. Kwit, M. Zając, M. Skarżyńska, P. Pasim, E. Skrzypiec, E. Mikos-Wojewoda, D. Wojdat, W. Koza, A. Śmiałowska-Węglińska, D. Wnuk, D. Wasyl

Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Salmonella (S.) uznawana jest za jedną z głównych przyczyn chorób bakteryjnych przenoszonych drogą pokarmową. Duże zdolności adaptacyjne patogenu pozwalają na jego wzrost w zmiennych warunkach środowiskowych, a najczęstszym źródłem drobnoustroju jest drób. Z uwagi na globalny charakter zakażeń konieczne jest ciągłe monitorowanie występowania oraz identyfikowanie rezerwuarów tego patogenu w celu ograniczenia rozprzestrzeniania się *Salmonella*. Celem pracy była ocena częstości występowania *Salmonella* spp. w stadach kaczek w 2019 roku.

Materiał badawczy stanowiły 304 pary okładzin na buty pobrane w 152 gospodarstwach utrzymujących kaczki (po 2 pary z każdego gospodarstwa). Badania w kierunku obecności bakterii z rodzaju *Salmonella* wykonano zgodnie z normą PN EN ISO 6579-1:2017. Szczepy identyfikowano zgodnie ze schematem White-Kauffmann-Le Minor za pomocą testów aglutynacji szkiełkowej z użyciem komercyjnych surowic.

Obecność pałeczek z rodzaju *Salmonella* stwierdzono w 58,6% próbek (175/304). W 61,2% (93/152) badanych gospodarstw *Salmonella* wykryto w co najmniej jednej z dwóch badanych próbek. Dwie próbki dodatnie stwierdzono w 53,9% (82/152) badanych gospodarstw z czego w 26,8% (22/82) gospodarstw zidentyfikowany serowar był różny w obu próbkach. Wśród 175 uzyskanych szczepów zidentyfikowano 12 serowarów i form serologicznych. Najczęściej występującymi serowarami były *S. Enteritidis*- 20% (35/175), *S. Senftenberg*- 16,6% (29/175) oraz *S. Anatum*- 13,1% (23/175), najrzadziej występował serowar *S. Mbandaka*- 2,3% (4/175) oraz *S. Give*- 1,7% (3/175), a 9,7% izolatów (17/175) wykazywało właściwości autoaglutynacyjne.

Duża liczba próbek, w których wykryto obecność pałeczek *Salmonella*, duża intensywność zakażeń zobrazowana obecnością *Salmonella* w obu próbkach oraz zróżnicowanie serotypów świadczy o tym, że kaczki i środowisko ich chowu stanowią istotny rezerwuar tego patogenu. Przedstawione badania potwierdzają, że istnieje pilna potrzeba podjęcia działań ukierunkowanych na ograniczenie częstości występowania i stałego monitorowania stad kaczek w celu ograniczenia możliwych zagrożeń dla konsumentów i pracowników ferm.

Słowa kluczowe: *Salmonella*, kaczki, zakażenie, zoonoza, *S. Enteritidis*, *S. Senftenberg*

Badania finansowane w ramach Programu Wieloletniego na lata 2019-2023 zadania 16 (Ocena sytuacji epidemiologicznej zakażeń Salmonella u zwierząt).

WYKORZYSTANIE SPEKTROMETRII MAS TYPU MALDI-TOF DO RÓŻNICOWANIA IZOLATÓW *ENTEROCOCCUS FAECALIS* Z ZAKAŻEŃ WORECZKÓW ŻÓŁTKOWYCH PISKŁĄT BROJLERÓW KURZYCH

D. Stępień-Pyśniak¹, M. Dec¹, A. Marek¹, M. Brzeski², R. Urban-Chmiel¹

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Gabinet Weterynaryjny Brzeski i Wspólnicy s.c., Giżycko, Polska

Podstawową zaletą spektrometrycznej metody laserowej jonizacji/desorpcji próbki wspomaganą matrycą z analizatorem czasu przelotu (MALDI-TOF) jest to, że technika ta umożliwia bezpośrednią detekcję składu populacji cząsteczek o dużych masach cząsteczkowych, takich jak mieszaniny białek. Stąd też identyfikacja bakterii z zastosowaniem MALDI-TOF MS polega na analizie składu białek komórkowych, głównie tych występujących w dużych ilościach w komórce bakteryjnej, takich jak białka rybosomalne. Ostatecznym rezultatem analizy MALDI-TOF MS jest otrzymanie widma spektrometrycznego, na którym widoczne są sygnały od mas powstałych jonów oraz cząsteczki niezjonizowanej, co można też wykorzystać do stworzenia własnej bazy i porównywania szczepów między sobą.

Badaniu poddano 76 izolatów *E. faecalis* (35 z Polski i 41 z Holandii). Analiza MSP (ang. Main Spectral Profile) dendrogramu wygenerowanego w oprogramowaniu MALDI Biotyper 3.0 (Bruker) dla badanych izolatów *E. faecalis* wykazała, że holenderskie i polskie izolaty *E. faecalis* mają odpowiednio podobny profil białkowy. Izolaty bakteryjne podzielone zostały na dwie główne grupy filoproteomiczne (dwa klastry). Grupę pierwszą (klaster 1) stanowiły izolaty *E. faecalis* pochodzące z Holandii i dodatkowo szczep kontrolny *E. faecalis* ATCC 29212, podczas gdy druga grupa (klaster 2) została utworzona głównie przez polskie izolaty oraz cztery izolaty holenderskie. Izolaty należące do grupy 1 miały dziesięć wspólnych pików o masach m/z : 3346 ± 2 , 4410 ± 2 , 4426 ± 2 , 4438 ± 1 , 4556 ± 2 , 4762 ± 2 , 6223 ± 2 , 6668 ± 2 , 9107 ± 4 i 9521 ± 4 . W drugiej grupie (klaster 2) stwierdzono 31 wspólnych pików o masach: 2204 ± 1 , 2212 ± 1 , 3039 ± 1 , 3336 ± 1 , 3429 ± 1 , 3666 ± 1 , 4410 ± 2 , 4426 ± 2 , 4557 ± 2 , 4764 ± 2 , 5104 ± 2 , 5558 ± 3 , 6078 ± 3 , 6225 ± 2 , 6397 ± 3 , 6699 ± 4 , 6720 ± 2 , 6859 ± 3 , 7024 ± 3 , 7330 ± 3 , 7576 ± 2 , 8825 ± 3 , 8881 ± 3 , 9114 ± 3 , 9528 ± 3 , 10.207 ± 3 , 11.120 ± 4 , 11.582 ± 4 , 13.439 ± 4 , 14.113 ± 4 i 15.148 ± 6 . W obrębie obu głównych grup wykazano siedem pików wspólnych (podkreślone powyżej), które stwierdzone łącznie mogą stanowić biomarkery charakterystyczne dla gatunku *E. faecalis* wyizolowanego z zakażeń woreczków żółtkowych od jednodniowych piskląt brojlerów kurzych. Ponadto na podstawie uzyskanych wyników można przyjąć, że technika MALDI-TOF MS może posłużyć do wstępnego porównywania między sobą izolatów *E. faecalis* pod kątem ich pochodzenia, stanowiąc tym samym szybszą i mniej kosztowną alternatywę dla technik genotypowych.

Słowa kluczowe: *Enterococcus faecalis* u piskląt, brojler kurzy, zakażenia woreczka żółtkowego, MALDI-TOF MS.

Badania finansowane przez NCN: 2017/01/X/NZ6/00430 Miniatura1.

IDENTYFIKACJA I WSTĘPNA CHARAKTERYSTYKA GENETYCZNA BORNAWIRUSÓW WYSTĘPUJĄCYCH U DZIKICH PTAKÓW W POLSCE

E. Świętoń, K. Dziadek, K. Śmietanka

Zakład Chorób Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Bornawirusy stanowią dużą rodzinę wirusów mogących wywoływać zakażenia u wielu gatunków zwierząt, jak również u ludzi. Ze względu na neurotropizm bornawirusów, objawy kliniczne zakażenia są najczęściej związane z upośledzeniem działania układu nerwowego. W przypadku bornawirusów ptasich najlepiej poznane są szczepy występujące u papug i kanarków, u których wywołują neuropatyczne rozszerzenie żołądka gruczołowego (PDD). Badania wskazują również, że bornawirusy mogą być szeroko rozpowszechnione w populacji dzikich ptaków wodnych (aquatic bird bornavirus, ABBV), głównie u łabędzi i gęsi. Dotychczas stwierdzono występowanie dwóch genotypów ABBV (ABBV-1 i ABBV-2).

W celu oceny występowania bornawirusów u dzikich ptaków w Polsce, podjęto badania molekularne ukierunkowane na wykrywanie materiału genetycznego ABBV w próbkach pochodzących od dzikich ptaków z rzędu blaszkodziobych. Badania wykonano na materiale pobranym od padłych ptaków, otrzymywanym w ramach monitoringu biernego w kierunku grypy ptaków w latach 2016-2021. Próbkę stanowiły głównie wycinki narządów badane jako próbka zbiorcza od jednego ptaka.

W badaniach wykorzystano metodę real time RT-PCR wykrywającą oba genotypy ABBV. Łącznie przebadano próbki pochodzące od 514 ptaków, głównie łabędzi (n=401), a także kaczek (n=96) i gęsi (n=17). Obecność materiału genetycznego ABBV wykryto u 52 ptaków (10,1%). Wyniki dodatnie odnotowano wyłącznie u łabędzi, co stanowi 13% wszystkich przebadanych osobników tego rodzaju. W większości dodatnich próbek stwierdzano niskie wartości Ct (11–25), świadczące o dużej ilości wirusa. Analiza geograficzna wskazała na szerokie rozprzestrzenienie zakażeń ABBV na terenie Polski – dodatnie próbki pochodziły z 13 województw.

W celu oceny różnorodności genetycznej wykrytych ABBV, wykonano sekwencjonowanie fragmentu genomu (długość ok. 2300 zasad) wybranych 18 wirusów. Wszystkie analizowane szczepy należały do genotypu ABBV-1. Stwierdzono ich umiarkowaną różnorodność (podobieństwo sekwencji nukleotydowej 99,14–99,83%). Na drzewie filogenetycznym wszystkie lokowały się w tej samej grupie i wykazywały największe pokrewieństwo ze szczepami ABBV-1 z terenu Danii i Niemiec.

Uzyskane wyniki wskazują na dużą specyficzność gatunkową ABBV dla łabędzi, u których stwierdzono względnie wysoki odsetek zakażeń, i ich umiarkowaną różnorodność genetyczną. Kwestie dotyczące chorobotwórczości ABBV-1 wymagają dalszych badań.

Słowa kluczowe: bornawirusy, dzikie ptaki

WPŁYW SZCZEPIENIA INDYKÓW PRZECIWKO KRWOTOCZNEMU ZAPALENIU JELIT NA WYBRANE WSKAŹNIKI ODPORNOŚCI HUMORALNEJ I KOMÓRKOWEJ

B. Tykałowski, M. Śmiałek, J. Kowalczyk, A. Koncicki

Katedra Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn, Polska

Krwotoczne zapalenie jelit indyków (HE) pierwszy raz opisali Pomeroy i Fenstermacher w 1937 roku w USA. W Polsce po raz pierwszy HE u indyków rozpoznano w 1987 roku. Większość terenowych izolatów HEV cechuje się niską patogennością wywołując chorobę o przebiegu subklinicznym. Niestety nawet mało zjadliwe szczepy tego wirusa powodują silną immunosupresję prowadząc do wtórnych zakażeń bakteryjnych i dużych strat ekonomicznych. Doświadczalnie potwierdzono wielokierunkowe oddziaływanie wirusa na układ immunologiczny indyków a mechanizm immunosupresji nie jest do dziś szczegółowo wyjaśniony. Jedyną a w zasadzie najistotniejszą strategią walki z tym adenowirusem jest prowadzenie skrupulatnej immunoprofilaktyki z zastosowaniem dostępnych na rynku szczepionek.

Mając na uwadze wyżej opisane obserwacje postanowiono przeprowadzić badania własne nad wpływem uodporniania indyków przeciwko HEV na wybrane wskaźniki odporności humoralnej i komórkowej w przebiegu zakażenia eksperymentalnego tym wirusem. Doświadczenie przeprowadzono na czterech grupach indyków. Ptaki z grup I i II zaszczepiono przeciwko HE w 28 dobie życia szczepionką Dindoral SPF. W 42 dobie życia ptaki z grup I i III zakażono *per os* terenowym izolatem HEV. Indyki z grupy IV stanowiły nieszczepioną i niezakażoną kontrolę. Oznaczono metodą cytometrii przepływowej odsetek subpopulacji limfocytów T CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺CD25⁺ i limfocytów B IgM⁺ we krwi, śledzenie i migdałkach jelit ślepych (CT) u indyków po 3, 7 i 14 dniach od zakażenia. Metodą qPCR oznaczono ekspresję genu kodującego IFN-γ w splenocytach oraz liczbę kopii fragmentu genu *Hexon* kodującego główne białko kapsydu wirusa HE w wycinkach śledzion indyków. Ponadto techniką ELISPOT określono we krwi liczbę limfocytów T pamięci immunologicznej, swoiście uczulonych w stosunku do HEV a metodą ELISA miano przeciwciał poszczepiennych Anti-HEV w surowicy.

Wirus krwotocznego zapalenia jelit powoduje istotny spadek odsetka komórek B i limfocytów T CD8⁺ oraz patologiczny wzrost odsetka limfocytów T CD4⁺ w śledzionie i CT w 3 i 7 d.p.i. Szczepienie istotnie hamuje replikację HEV w śledzionie powodując wzrost ekspresji genu kodującego IFN-γ w splenocytach, miana przeciwciał Anti-HEV w surowicy oraz liczby komórek T pamięci immunologicznej we krwi.

Słowa kluczowe: indyki, krwotoczne zapalenie jelit, szczepienie, odporność

Badania finansowane przez Konsorcjum Naukowe KNOW „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność”.



SESJA ICHTIOPATOLOGII I ZWIERZĄT AKWAKULTURY



DOSKONALENIE METOD OCHRONY ZDROWIA RYB

A. K. Siwicki¹

¹*Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska*

W intensywnych systemach chowu (akwakultura) ochrona zdrowia ryb jest najistotniejszym elementem ograniczającym straty powodowane chorobami infekcyjnymi czy środowiskowymi. W intensywnych systemach chowu wprowadzane są nowatorskie metody, których celem jest: wczesne diagnozowanie chorób infekcyjnych przez zastosowanie metod biologicznych i molekularnych (PCR, RealTime-PCR), które pozwalają na szybką identyfikację czynnika patogennego oraz wczesne zastosowanie ukierunkowanej terapii; stymulowania nieswoistych mechanizmów obronnych i odporności przeciwważnej u narybku przez opracowanie granulatów z naturalnymi i syntetycznymi immunomodulatorami, które będą stosowane w ściśle określonych okresach intensywnego podchowu; zwiększenie swoistej odporności na określone patogeny występujące w środowisku przez stosowanie autoszczepionek i szczepionek w immersji oraz paszy; poprawienie skuteczności leczenia infekcji wywołanych przez lekooporne bakterie przez stosowanie nowej generacji biopreparatów (bakteriofagi oraz bakteriocyny). Bardzo istotnym elementem doskonalenia metod ochrony zdrowia ryb jest wprowadzanie nanotechnologii do diagnostyki, profilaktyki i ukierunkowanej terapii chorób ryb.

NAJCZĘŚCIEJ WYSTĘPUJĄCE KOINFEKCJE PASOŻYTNICZO-BAKTERYJNE U RYB W PODCHOWACH KONTROLOWANYCH

E. Terech-Majewska¹, J. Pajdak-Czaus¹, W. Szweda¹, H. Skrzypnik¹, P. Schulz², A. K. Siwicki²

¹Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Polska

²Zakład Ichtiopatologii i Ochrony Zdrowia Ryb, Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Choroby ryb są krytycznym czynnikiem utrudniającym rozwój akwakultury w wielu krajach, także w Polsce. Za straty bezpośrednie i pośrednie mogą być odpowiedzialne różne czynniki patogenne. Problemy zdrowotne u ryb są związane głównie z warunkami akwakultury, w wylęgarniach, podczas podchowu materiału zarybieniowego oraz pierwszego roku produkcji ryby towarowej. Sytuacja epizootyczna chorób ryb zmienia się w zależności od klimatu i warunków hydrologicznych, a także stosowanych metod nadzoru i skuteczności opieki lekarsko – weterynaryjnej. Jednakże diagnostyka ukierunkowana na potrzeby sektora rybackiego odgrywa kluczową rolę w ochronie zdrowia ryb.

Celem pracy była analiza przypadków i przeprowadzonych badań w ramach działalności klinicznej Katedry Epizootiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, ze szczególnym spojrzeniem na zakażenia towarzyszące inwazjom pasożytniczym u ryb w wybranych gospodarstwach podchowu ryb w województwie warmińsko-mazurskim, w latach 2015-2020.

Choroby pasożytnicze stwierdzane są głównie w okresie II i IV kwartału. Najczęściej stwierdzanymi pasożytami były trichodinoza, ichtioftirioza, daktylogyroza, gyrodaktyloza, diplostomoza. Stwierdzono także pierwsze przypadki przerostowej choroby nerek (PKD) u pstrąga tęczowego. Najczęściej izolowaną bakterią od ryb z kliniczną postacią choroby była pałeczka *Pseudomonas fluorescens*. Drugą w kolejności bakterią izolowaną od chorych ryb była *Aeromonas hydrophila*, głównie od ryb łososiowatych. Na uwagę zasługuje także izolowanie drobnoustrojów, które od niedawna są uznawane za patogeny ryb, tj. *Myroides* spp., *Pantoea* sp., *Ewingella americana*, *Sphingomonas paucimobilis*. W przypadkach koinfekcji bakteryjno-pasożytniczych obserwuje się odmienny przebieg kliniczny oraz utrudniony proces terapii, często także wielolekooporność bakterii, którą można wiązać z wykorzystaniem środków biobójczych w zwalczaniu pasożytów.

Słowa kluczowe: pasożyty ryb, zakażenia bakteryjne, koinfekcje

OCENA HISTOPATOLOGICZNA NARZĄDÓW I TKANEK W DIAGNOSTYCE CHOROÓB RYB HODOWLANYCH I OZDOBNYCH

**A. Drzewiecka¹, E. Terech-Majewska², M. Miśków-Baranowska¹, M. Augustynowicz¹,
A. Świątalska¹, A. Stryszak¹**

¹Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku, Gdańsk, Polska

²Katedra Epizootiologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Histopatologiczna ocena narządów i tkanek jest rutynowo stosowana w diagnostyce weterynaryjnej w odniesieniu do zwierząt gospodarskich, towarzyszących, drobnych ssaków trzymanych w domach oraz coraz częściej u zwierząt egzotycznych. Jednakże wciąż stosunkowo niewielu lekarzy decyduje się na zlecenie tego badania w kontekście zdrowotności ryb.

Badanie histopatologiczne obejmuje mikroskopową ocenę specjalnie barwionych skrawków tkanek w celu określania zmian, które mogły zostać spowodowane patogenami, nieprawidłowym chowem lub szkodliwymi warunkami środowiska.

W celu uzyskania wiarygodnego wyniku, istotne jest pobranie próbek w jak najkrótszym czasie po śmierci, a pobrane wycinki badanych narządów lub tkanek należy odpowiednio utrwalić, by zachować ich strukturę i/lub składniki chemiczne. Następnie, w zależności od celu badania, przechodzą one kolejne etapy procesu technicznego, który kończy się uzyskaniem bezbarwnych preparatów, o grubości najczęściej 5 µm (przy rutynowej ocenie), przygotowanych do wybarwienia. Powszechnie stosowanym protokołem jest barwienie hematoksyliną-eozyną (HE), umożliwiające podstawową ocenę histopatologiczną. Dodatkowo wykonuje się również barwienie metodą Gramma w kierunku różnicowania bakterii, srebrzenie wg Grocott'a w celu wykrycia infekcji grzybiczej, barwienie błękit alcjany - kwas nadjodowy - Schiff (AB-PAS), Azan Trichrome czy Sudan Black pozwalające stwierdzić inne zaburzenia w strukturze lub w procesach zachodzących w tkankach. Coraz lepsza diagnostyka immunohistochemiczna umożliwia wykrywanie w preparatach parafinowych wirusów takich jak wirus posocznicy krwotocznej ryb łososiowatych (Viral haemorrhagic septicaemia - VHS); wirus zakaźnej anemii łososi (Infectious salmon anemia - ISA); wirus zakaźnej martwicy układu krwiotwórczego ryb łososiowatych (Infectious haematopoietic necrosis - IHN); wirus zakaźnej martwicy trzustki (Infectious pancreatic necrosis - IPN) czy zakażenie herpeswirusem koi (Koi herpes virus - KHV).

Badanie histopatologiczne jest cennym narzędziem, które stanowi część szerzej rozumianego badania patomorfologicznego i powinno być wykonywane przez odpowiednio przeszkolonego patomorfologa, który poznał specyfikę anatomiczno-histologiczno-fizjologiczną ryb.

Słowa kluczowe: ocena histopatologiczna, diagnostyka, barwienia, IHC, choroby zakaźne

ZNAKOWANIE RYB PASYWNYMI ZINTEGROWANYMI TRANSPONDERAMI (PIT) – WPŁYW NA STAN KONDYCYN I FIZJOLOGICZNY

Z. Zakęś¹, M. Rożyński¹

¹Zakład Akwakultury, Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Znakowanie ryb pasywnymi zintegrowanymi transponderami (PIT) jest coraz powszechniej stosowaną biotechniką w pracach selekcyjnych (akwakultura) i programach zarybieniowych wód otwartych. Do tej pory przedmiotem prac badawczych była analiza reakcji ryb na ten zabieg w kontekście wskaźników hodowlanych (parametry wzrostu, kondycji i przeżywalności).

Prezentowane badania miały na celu określenie wpływu dwóch metod znakowania młodocianego sandacza (*Sander lucioperca*) (masa ciała ok. 170 g, długość ciała ok. 24 cm) standardowej wielkości znaczkami PIT na kondycję tego gatunku i jego dobrostan (tempo gojenia się ran poimplantacyjnych oraz wskaźniki hematologiczne oraz biochemiczne osocza krwi). Ryby znakowano dootrzewnowo (grupa P) lub domięśniowo (grupa M). Próbkę krwi pobierano przed znakowaniem ryb (grupa kontrolna – grupa C), a w grupach P i M 3h, 1d, 3d, 7d i 14d po implantacji PIT.

Proces gojenia się ran poimplantacyjnych u ryb z grupy M, określony po 1d, 3d i 7d był wolniejszy niż w grupie P. Jednak po 14d rany u ryb z obydwu grup były w pełni zagojone. Nie zaobserwowano istotnego wpływu metody implantacji PIT na wskaźniki hematologiczne. Natomiast po 3h od znakowania sandacza PIT (zarówno w grupie P, jak i M) odnotowano istotny wzrost poziomu glukozy w plazmie. Jednak w kolejnych próbach (1d-14d) poziom ten stabilizował się. Poziom albumin w grupie M, po 3h, 1d, 3d i 7d, był istotnie wyższy. Jednak po 14d nie odbiegał on istotnie od grupy C i P. Poziom globulin w grupie M (po 1d i 3d) był natomiast istotnie niższy niż grupie P i C, co mogło świadczyć o występowaniu stanu zapalnego. Po 7d poziom globulin w grupie M również stabilizował się.

Pomimo pewnych istotnych różnic w dynamice zmian niektórych parametrów biochemicznych plazmy i gojenia się ran poimplantacyjnych obydwie metody implantacji PIT można uznać za bezpieczne dla sandacza i mogą być stosowane w obiektach akwakultury do znakowania tego gatunku.

Słowa kluczowe: dobrostan ryb, pasywne zintegrowane transpondery (PIT), wskaźniki biochemiczne osocza, wskaźniki hematologiczne, znakowanie ryb

OCENA WYBRANYCH PARAMETRÓW NIESPECYFICZNEJ ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ W PRZEBIEGU KOINFEKCJI IPNV I *YERSINIA RUCKERI* U PSTRAŻA TĘCZOWEGO

J. Pajdak-Czaus¹, P. Schulz², E. Terech-Majewska¹, W. Szweda¹, A. K. Siwicki¹,
A. Platt-Samoraj¹

¹Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Polska

²Instytut Rybactwa Śródlądowego im. S. Sakowicza w Olsztynie, Polska

Straty w hodowli pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) wynikają m. in. ze śnięć związanych z wystąpieniem chorób zakaźnych. Do najczęstszych patogenów wirusowych gatunku zaliczany jest wirus zakaźnej martwicy trzustki (IPNV), z kolei wśród czynników bakteryjnych szeroko rozpowszechnione są zakażenia *Yersinia ruckeri* (*Y. ruckeri*). Istnieje wiele doniesień literaturowych opisujących główne patogeny pstrąga tęczowego. W większości dotyczą one zakażeń jednym drobnoustrojem. Koinfekcje są jednak stosunkowo słabo poznane.

Celem pracy było określenie wpływu koinfekcji IPNV oraz *Y. ruckeri* na nieswoistą odpowiedź immunologiczną u pstrąga tęczowego. Wykonano dwa zakażenia eksperymentalne. W pierwszym zakażeniu obydwoma patogenami wykonano tego samego dnia. W drugim zakażeniu IPNV wykonano dwa tygodnie przed zakażeniem *Y. ruckeri*. W obu doświadczeniach wyszczególniono następujące grupy badawcze: C (kontrola), Yer (zakażenie *Y. ruckeri*), IPN (zakażenie IPNV) oraz Yer+IPN (zakażenie IPNV oraz *Y. ruckeri*). Próbkę do badań w obu doświadczeniach były pobierane w następujących odstępach czasowych (licząc od zakażenia *Y. ruckeri*): dnia 0 (przed zakażeniem), 24 h po zakażeniu (p.z.), 72 h p.z., 7 dni p.z., 14 dni p.z. oraz 21 dni p.z. Określono następujące parametry nieswoistej odpowiedzi immunologicznej: poziom białka całkowitego, poziom gamma-globulin, aktywność lizozymu i ceruloplazminy oraz aktywność bójczą i metaboliczną fagocytów.

Nie odnotowano różnic w śmiertelności pomiędzy grupą Yer a grupą Yer+IPN, jednak wykazano statystycznie istotne różnice w odpowiedzi immunologicznej pomiędzy tymi grupami. W przypadku jednoczesnego zakażenia odnotowano silne immunosupresyjne działanie IPNV, wyrażające się m. in. obniżeniem aktywności lizozymu oraz fagocytów w grupie Yer+IPN. Gdy do zakażenia IPNV doszło dwa tygodnie wcześniej odpowiedź fagocytów w tej grupie była statystycznie wyższa niż pozostałych grupach. Wskazuje to na istotną rolę czasu, jaki upłynął między jednym zakażeniem a drugim na odpowiedź nieswoistego układu immunologicznego w przebiegu koinfekcji.

Słowa kluczowe: choroba czerwonej gęby, zakaźna martwica trzustki, zakażenia mieszane, odporność nieswoista, ryby

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki: projekt nr 2017/25/N/NZ9/00087.

ZASTOSOWANIE MS-222 DO INDUKCJI ZNIECZULENIA OGÓLNEGO RYB

M. Rożyński¹, M. Hopko¹, K. Stawecki², Z. Zakęś¹

¹Zakład Akwakultury, Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie, Olsztyn, Polska

²Zakład Ichtiologii, Hydrobiologii i Ekologii Wód, Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Pomimo, iż *Tricaine methanesulfonate* (MS-222) jest najpopularniejszym środkiem stosowanym w akwakulturze, nie dla wszystkich gatunków ryb, w tym sandacza (*Sander lucioperca*), opracowano procedury jego stosowania (optymalne stężenie oraz czas kąpieli, minimalny wpływ na stan fizjologiczny organizmu). Cel badań realizowano w dwóch etapach. W etapie I określano optymalny czas indukcji znieczulenia ogólnego w zależności od temperatury wody i masy ciała ryb (m.c.). W etapie II, za pomocą analizy hematologicznej i biochemicznej, badano wpływ tego anestetyku na stan fizjologiczny organizmu.

W etapie I dysponowano trzema grupami wielkości ryb (m.c. 8,6 g, 15,7 g, 52,9 g). Kąpiele przeprowadzono w roztworze MS-222 o stężeniu 50, 100 lub 150 mg l⁻¹, w dwóch temperaturach wody, 20 lub 23°C. W etapie II badania przeprowadzono na rybach o m.c. 112,5 g. Zastosowano dwa stężenia MS-222 (100 lub 150 mg l⁻¹) i dwa czasy ekspozycji (3 lub 10 min). Materiał podzielono na 8 grup doświadczalnych i grupę kontrolną. Kąpiel ryb w grupach I-IV przeprowadzano indywidualnie, a krew pobierano bezpośrednio po kąpieli. Natomiast od ryb z grup V-VIII krew pobierano 24 h po znieczuleniu.

W etapie I wykazano korelację między stężeniem MS-222 a m.c. sandacza oraz temperaturą wody. Dla ryb o m.c. < 10 g rekomendowane stężeniem to 100 mg l⁻¹. Dla ryb o m.c. 10-40 g, przy temperaturze kąpieli 20°C, bezpieczne stężenie MS-222 wynosiło od 100 do 150 mg l⁻¹. Natomiast w 23°C rekomendowane stężenie to 100 mg l⁻¹. Podobnie u ryb o m.c. > 40 g, w 20°C, optymalne stężenie MS-222 mieściło się w przedziale 100-150 mg l⁻¹. Z kolei w 23°C wynosiło 100 mg l⁻¹.

W etapie II u grup I-IV odnotowano istotnie podwyższone wartości liczby leukocytów i erytrocytów, stężenia hemoglobiny i hematokrytu. Po 24 h tylko w grupie V (100 ml l⁻¹/3 min) wartości tych parametrów powróciły do wielkości wyjściowych. Analiza wskaźników biochemicznych po 24 h, wykazała istotne różnice tylko w stężeniu jonu sodu.

Wykazano, że optymalne stężenie MS-222 jest zależne od temperatury kąpieli i wielkości ryb. W 20°C bezpieczne stężenie dla wszystkich sortymentów wynosi 100 mg l⁻¹. Natomiast wraz z wzrostem masy ciała możliwe jest stosowanie stężeń nawet do 150 mg l⁻¹. Stwierdzono też, że niewskazane jest przetrzymywanie ryb w roztworze MS-222 dłużej niż 3 min.

Słowa kluczowe: MS-222, sandacz, stan fizjologiczny, znieczulenie ogólne

INWAZJA TASIEMCA *EUBOTHRIUM CRASSUM* U TROCI WĘDROWNEJ (*SALMO TRUTTA MORPHA TRUTTA* L.)

A. Pękała-Safińska^{1,2}, J. Karamon¹, M. Różycki¹, J. Grudniewska³, H. Tkachenko⁴, N. Kurhaluk⁴, W. Sobiegraj⁵, A. Posyniak¹

¹Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

²Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

³Instytut Rybactwa Śródlądowego im. S. Sakowicza w Olsztynie, Olsztyn, Polska

⁴Akademia Pomorska w Słupsku, Słupsk, Polska

⁵Zarząd Okręgu PZW w Słupsku, Słupsk, Polska

Od paru lat obserwowane są poważne zaburzenia zdrowotne połączone ze śnięciami tarlaków troci wędrownych (*Salmo trutta morpha trutta* L.) wpływających do na tarło do polskich rzekach przybrzeża Morza Bałtyckiego. Objawy kliniczne przypominały wrzodziejącą martwicę skóry (UDN), chorobę o niewyjaśnionej etiologii, manifestującą się ogniskowymi, owalnymi nadżerkami skóry połączonymi z depigmentacją i utratą naskórka. Zmiany chorobowe lokalizują się głównie na głowie oraz grzbietowej części ciała ryb, rozwijają bardzo szybko, obejmując całe ciało i prowadząc do śnięć troci w ciągu 2-3 dni. Celem badań było przeprowadzenie kompleksowych i wielokierunkowych analiz, mogących wyjaśnić przyczyny zaburzeń zdrowotnych troci wędrownej.

Ryby łowiono do sieci, w naturalną przepławkę. Do badań laboratoryjnych przeznaczono 23 dzikich osobników troci wędrownej pochodzącej z rzeki Słupi: 21 wykazywało zaburzenia zdrowotne, 2 ryby były klinicznie zdrowe. W czasie badania anatomopatologicznego, z przewodu pokarmowego troci pobrano strobile tasiemców znajdujących się w wyrostkach pylorycznych i żołądka. Przeprowadzono badanie morfologiczne tasiemców w mikroskopie świetlnym, a z pobranych próbek następnie izolowano DNA. Przeprowadzono badanie PCR przy pomocy starterów uniwersalnych dla płazińców (IsrDNA). Uzyskane produkty amplifikacji zsekwencjonowano.

U ryb wykazujących zaburzenia zdrowotne z żołądków (głównie wyrostków pylorycznych) wyizolowano liczne tasiemce, które morfologicznie charakteryzowały się skoleksem zaopatrzonym w podłużne bruzdy oraz dysk wierzchołkowy. Strobila długości od 5-30 cm zbudowana z członów charakteryzujących się większą szerokością niż długością. Uzyskano specyficzny produkt PCR. Analiza sekwencji wskazała na przynależność tasiemców do gatunku *Eubothrium crassum*.

Pasożyty nie występowały u ryb klinicznie zdrowych.

Słowa kluczowe: *Eubothrium crassum*, troć wędrowna (*Salmo trutta morpha trutta* L.)

Badania finansowane z projektu statutowego: „Badanie wpływu substancji skażających środowisko wodne na poziom hormonów w organizmie ryb i innych zwierząt wodnych”.

WPŁYW WIRUSA ZAKAŻNEJ MARTWICY TRZUSTKI RYB ŁOSOSIOWATYCH NA APOPTOZĘ PODCZAS ZAKAŻENIA POJEDYNCZEGO ORAZ W KOINFEKCJI Z INNYMI WIRUSAMI

J. Maj-Paluch¹, M. Wasiak², M. Reichert^{1,2}

¹Zakład Chorób Ryb, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

²Zakład Anatomii Patologicznej, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Apoptoza nazywana jest programowaną śmiercią komórki. Jest procesem fizjologicznym służącym do zachowania homeostazy w komórce, ponieważ dzięki niej usuwane są zbędne, bądź uszkodzone komórki. Wpływ na apoptozę mają różne czynniki, między innymi czynniki środowiskowe, czy infekcje wirusowe bez względu na to jaki jest to organizm. W tym celu sprawdzono wpływ infekcji wirusem zakaźnej martwicy trzustki ryb łososiowatych (IPNV) na apoptozę u pstrągów tęczowych, a także w koinfekcji z innymi groźnymi patogenami akwakultury wirusem zakaźnej martwicy układu krwiotwórczego (IHNV) oraz wirusem wirusowej posocznicy krwotocznej ryb łososiowatych (VHSV).

Do badania wykorzystano pstrągi tęczowe (*Oncorhynchus mykiss*), które podzielono na grupy i zakażano odpowiednio przygotowanymi wirusami: IPNV, IPNV i IHNV, IPNV i VHSV, IHNV, VHSV. W wyznaczonych dniach pobierano krew od odłowionych ryb, a następnie poddawano odpowiedniej obróbce uzyskując leukocyty, w których analizowano proces apoptozy przy użyciu cytometru przepływowego.

Wzrost komórek apoptotycznych obserwowano już w pierwszych dniach po zakażeniu wirusami. Największy procent komórek apoptotycznych był w grupie ryb zakażonych wirusem VHSV, najmniejszy - w grupie zakażonej wirusem IPNV. W przypadku grup z koinfekcją proces apoptozy był wyraźnie hamowany i nie tak gwałtowny jak w przypadku pojedynczej infekcji wirusami VHSV, czy IHNV.

Na podstawie uzyskanych wyników nasuwa się stwierdzenie, iż wirus zakaźnej martwicy trzustki ryb łososiowatych ma wpływ na proces apoptozy w komórkach krwi pstrągów tęczowych zarówno przy pojedynczej infekcji, jak i w koinfekcji.

Słowa kluczowe: apoptoza, koinfekcja, wirus zakaźnej martwicy trzustki ryb łososiowatych

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki: nr projektu badawczego 2017/27/N/NZ9/01818.

WPŁYW RÓŻNYCH STĘŻEŃ CHLORKU SODU NA WYBRANE DROBNOUSTROJE PATOGENNE DLA RYB, W WARUNKACH „IN VITRO”

J. Pajdak-Czaus¹, B. Kordas², A. Witkowska², E. Terech-Majewska¹

¹Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

²Studenckie Koło Naukowe Ichtiopatologów, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Chlorek sodu (NaCl) jest tradycyjnie wykorzystywany w akwakulturze do przeprowadzania zabiegów profilaktycznych i leczniczych. Uznawany jest za środek tani, o wymiernej skuteczności i minimalnym wpływie na środowisko. Wpływ kąpiei różnych gatunków ryb w roztworach soli kuchennej na ich organizmy są przedmiotem szeregu badań. Doceniane jest działanie łagodzące stres oraz przeciw pasożytnicze. W praktyce najczęściej wykonuje się kąpiele krótkotrwałe, trwające 10-30 min, w roztworach soli o stężeniach 1-3%.

Celem badań było określenie, czy inkubacja różnych szczepów bakterii z gatunku *Aeromonas hydrophila* oraz *Yersinia ruckeri*, izolowanych z przypadków klinicznych, w roztworach czystego chlorku sodu (NaCl, cz.d.a.) o różnych stężeniach oraz inkubowanych w różnych przedziałach czasowych, wykaże wpływ na wzrost kultur tych bakterii w warunkach laboratoryjnych.

W badaniach oceniano wpływ NaCl w stężeniach 3, 5, 10, 15%. Bakterie inkubowano na podłożu TSA (Tryptic Soya Agar). Odczytu dokonywano w odstępach czasowych po 20 min, 40 min, 60 min, 90 min, 120 min i 24 h.

Działanie ograniczające lub całkowicie hamujące wzrost *A. hydrophila* w stężeniach 10 i 15% odnotowano już po 20 -tu minutach.

Nie zaobserwowano hamującego wpływu wybranych stężeń chlorku sodu na wzrost *Y. ruckeri* w przypadku czterech badanych szczepów posiewanych po 20 min., 40 min., 60 min., 90 min., 120 min. inkubacji w roztworach NaCl we wszystkich z wybranych stężeń. Próby posiewane po 24 godz. inkubacji w temperaturze 28°C wykazały pierwsze obserwowane wyniki hamującego działania sporządzonych roztworów na rozwój *Y. ruckeri*. Zdolność do wzrostu po 24-godz. inkubacji w roztworze 5% zachowały tylko szczepy I oraz IV (referencyjny). Natomiast w roztworze o stężeniu NaCl 10% i 15% obserwowano zahamowanie wzrostu wszystkich wybranych szczepów *Y. ruckeri*.

Na podstawie otrzymanych wyników można wnioskować, że kąpiele krótkotrwałe i długotrwałe w roztworach soli kuchennej, wykonywane zgodnie z protokołami w praktyce akwakultury, mogą nie wykazywać działania bakteriobójczego wobec *A. hydrophila* oraz *Y. ruckeri*, a obserwowane efekty terapeutyczne i profilaktyczne mogą wynikać z wpływu NaCl na mechanizmy obronne ryb, a także pozytywnego wpływu na równowagę osmotyczną.

Słowa kluczowe: chlorek sodu, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, działanie bakteriobójcze

BADANIA NAD GENETYCZNYMI PODSTAWAMI PATOGENNOŚCI BAKTERII Z GRUPY *SHEWANELLA PUTREFACIENS* IZOLOWANYMI OD RYB

E. Paździor¹, D. Wasyl¹, A. Bomba¹, K. Nadolna-Ałtyn², M. Podolska², M. Reichert¹,
A. Pękala-Safińska³

¹Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

²Morski Instytut Rybacki - Państwowy Instytut Badawczy w Gdyni, Gdynia, Polska

³Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Bakterie z grupy *Shewanella* (*S.*) *putrefaciens* stanowią czynnik etiologiczny szewanellozy ryb. Na przestrzeni ostatnich lat potwierdzono szereg czynników patogenności tych mikroorganizmów, takich jak właściwości enzymatyczne oraz zdolność adhezji. Nie są jednak znane genetyczne mechanizmy determinujące ich chorobotwórczość. Celem pracy było określenie obecności genów, które mogą odgrywać rolę w zjadliwości poszczególnych gatunków bakterii z grupy *S. putrefaciens*.

Badaniom poddano łącznie 85 izolatów pozyskanych od różnych gatunków ryb słodkowodnych oraz morskich, które zostały zidentyfikowane na podstawie właściwości biochemicznych jako grupa *S. putrefaciens*. Sekwencjonowanie całych genomów bakteryjnych wykonano z zastosowaniem platformy Illumina (MiSeq). W celu przeprowadzenia identyfikacji molekularnej izolatów, ich sekwencje analizowano z użyciem systemu klasyfikacji taksonomicznej Kraken v2.0.1. Obecność potencjalnych genów wirulencji w sekwencjach całych genomów poszczególnych izolatów określano z zastosowaniem bazy danych „The virulence factor database”.

Izolaty zostały zakwalifikowane do następujących gatunków: *S. baltica* (n=35), *S. oneidensis* (n=9), *S. xiamenensis* (n=7) oraz *S. glacialipiscicola* (n=2). Do poziomu gatunku nie zidentyfikowano 32 izolatów. W obrębie analizowanych genomów bakterii stwierdzono obecność 21 potencjalnych genów wirulencji. Wśród nich znalazły się geny związane z fimbriami, wicią oraz zewnętrzną błonką komórkową. Stwierdzono obecność genów systemu transportu białek typu II, III i VI, jak również związanych z produkcją białek szoku termicznego, czynnika elongacji (EF-Tu) oraz niskocząsteczkowego induktora AI-2. W oparciu o uzyskane wyniki stwierdzono, iż obecność niektórych genów uzależniona była od gatunku bakterii oraz objawów chorobowych obserwowanych u ryb. Analiza wykazała, iż geny systemu sekrecji typu III występowały głównie u izolatów *Shewanella* sp. pozyskanych od ryb słodkowodnych z objawami chorobowymi. U bakterii *S. baltica* izolowanych od ryb morskich wykazujących zaburzenia zdrowotne, stwierdzono natomiast obecność genów związanych z zewnętrzną błonką komórkową.

Słowa kluczowe: *Shewanella*, patogenność, geny wirulencji

Badania finansowane przez NCBiR: 296211/4/NCBR/2016 (izolacja bakterii) oraz w ramach działalności statutowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach (temat „Genetyczne podstawy patogenności bakterii z grupy Shewanella putrefaciens”).

WPŁYW EFEKTYWNYCH MIKROORGANIZMÓW NA OBRAZ WYBRANYCH NARZĄDÓW U SANDACZA

K. Naumowicz¹, E. Terech-Majewska², J. Szarek¹, K. Wąsowicz¹, M. Rożyński³, A. Siwicki⁴, Z. Zakęś³

¹Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

²Katedra Epizootologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

³Zakład Akwakultury, Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie, Olsztyn, Polska

⁴Zakład Ichtiopatologii i Ochrony Zdrowia Ryb, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Podchów sandacza (*Sander lucioperca*) w technologii RAS - Recirculation Aquaculture System, jest rozwijany w Polsce od wielu lat. Wykorzystanie złożonych preparatów mikrobiologicznych, opartych na Technologii Efektywnych Mikroorganizmów - EMTM (Teruo Higa, Japonia) to jedna z możliwości dla poprawy zdrowia ryb. Są stosowane w rolnictwie, ochronie środowiska, a także w akwakulturze.

Celem badań była mikroskopowa ocena obrazu histopatologicznego wybranych narządów u sandacza po 28 - dniowym karmieniu paszą z dodatkiem 2% i 4% preparatu EM-Probiotytek (Greenland). Paszę doświadczalną podawano przez 28 dni, natomiast grupa kontrolna była karmiona paszą bez dodatku (0%). Do badań histopatologicznych wybrano narządy, których funkcje są istotne dla procesów adaptacyjnych i immunologicznych, tj. skrzela, wątrobę oraz śledzionę. Próbkę narządów pobierano w terminie 6 tygodni po zakończeniu żywienia paszą z EM i po zakończeniu okresu adaptacji do nowego obiegu.

W skrzelach zaobserwowano odklejanie się nabłonka powierzchniowego w grupie K, zrosty listków skrzelowych w grupie 2% EM oraz pogrubienie i rozrost listków w grupie 4%. We wszystkich badanych grupach w preparatach ze śledziony zaobserwowano liczne centra makrofagowe (CM) oraz złogi barwników – w grupie K były one nieliczne i słabo widoczne. W grupie 2% EM przeciętne zagęszczenie i rozmiar CM były największe, ponadto obserwowano najintensywniejszą ze wszystkich grup pigmentację złogów barwników. W grupie 4% EM stwierdzono nieliczne, hipertroficzne CM i jasne złogi barwników. Ponadto w komórkach elipsoid odnotowano zmiany w strukturze jąder komórkowych - kariomegalię i wakuolizację. W obrazie histopatologicznym wątroby zaobserwowano znaczne różnicowanie obrazu stłuszczenia zwykłego, od małego stopnia w grupie K, poprzez 30%- 100% w grupie 2% EM, do braku stłuszczenia w grupie 4% EM.

Uzyskane wyniki pozwalają wnioskować, że dodatek EM w zależności od procentowej zawartości w paszy przyczynia się do różnicowania obrazu histopatologicznego, skrzeli, wątroby oraz śledziony u sandacza podchowyanego w obiegach typu RAS. Co może się przekładać na różnicowanie potencjału adaptacyjnego pomiędzy grupami.

Słowa kluczowe: Technologia Efektywnych Mikroorganizmów – EMTM, sandacz, histopatologia.

USTALENIE KRYTERIÓW INTERPRETACYJNYCH DLA ŚRODKÓW PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH STOSOWANYCH U RYB HODOWLANÝCH – TŁO PROBLEMU

A. Pękala-Safińska^{1,2}, E. Paździor¹, D. Wasyl¹

¹Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

²Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Zwalczanie chorób ryb o etiologii bakteryjnej powinno opierać się na profilaktyce, a w uzasadnionych przypadkach, skutecznej terapii poprzedzonej identyfikacją czynnika chorobotwórczego i określeniem jego lekowrażliwości. Pomimo dużej liczby dostępnych substancji przeciwbakteryjnych, tylko nieliczne znalazły zastosowanie w ichtiopatologii. Nie są jednak znane kryteria interpretacji lekowrażliwości bakterii. Problem ten jest obszarem zainteresowania ENOVAT (<https://enovat.eu>).

Celem badań było rozpoczęcie prac nad ustaleniem kryteriów interpretacji dla środków przeciwdrobnoustrojowych stosowanych w leczeniu ryb w naszym kraju. Do badań użyto: *Aeromonas hydrophila* (n=93), *A. sobria* (n=28), *Pseudomonas fluorescens* (n=60) i *Shewanella* spp. (n=59). Wrażliwość drobnoustrojów na substancje z grup: chinolony, fenikole, sulfonamidy, trimetoprim oraz tetracykliny, badano z zastosowaniem metody dyfuzyjno-krążkowej, zgodnie z rekomendacjami CLSI. Minimalne stężenia hamujące (MIC) określono za pomocą zdefiniowanych przez użytkownika płytek PO-LARGEN Sensititre (Trek).

Zastosowanie metody dyfuzyjno-krążkowej umożliwiło zaobserwowanie najwyższej wrażliwości względem florfenikolu wśród bakterii należących do następujących taksonów: *Shewanella* spp. (86%), *A. sobria* (78%) oraz *A. hydrophila* (75%). Analiza stref zahamowania wzrostu oraz wartości MIC pozwoliły wyznaczyć tymczasowe kryteria interpretacji, z wykorzystaniem których zaobserwowano oporność 19% izolatów *A. hydrophila* na oksytetracyklinę, 77% *P. fluorescens* na florfenikol oraz 96% *Shewanella* spp. na sulfonamidy. Podwyższone wartości MIC wykazały *A. hydrophila* względem sulfametoksazolu, oksytetracykliny i flumechiny, *P. fluorescens* dla sulfametoksazolu, flumechiny i florfenikolu, natomiast *A. sobria* i *Shewanella* spp. w odniesieniu do sulfametoksazolu. Przeprowadzone badania wskazały na występowanie oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe stosowane w ichtiopatologii. Przeprowadzone badania są pierwszym krokiem w kierunku opracowania kryteriów interpretacji środków przeciwdrobnoustrojowych stosowanych w zwalczaniu zakażeń bakteryjnych u ryb.

Słowa kluczowe: antybiotykooporność, kryteria interpretacji, ryby

Badania finansowane przez MRiRW - działalność Krajowego Laboratorium Referencyjnego ds. chorób ryb; projekt IMPART: Improving Phenotypic Antimicrobial Resistance Testing and setting missing ECOFFs.

STAN ZDROWOTNY DORSZY (*GADUS MORHUA*) Z POŁUDNIOWEGO BAŁTYKU

A. Pękała-Safińska^{1,2}, E. Paździor¹, K. Nadolna-Ałtyn³, M. Różycki¹, T. Cencek¹,
M. Podolska³

¹Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

²Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

³Morski Instytut Rybacki - Państwowy Instytut Badawczy w Gdyni, Gdynia, Polska

Gatunkiem docelowym w połowach komercyjnych w Morzu Bałtyckim jest m.in. dorsz (*Gadus morhua*). Po historycznych rekordowych połowach tej ryby na początku lat 80. ubiegłego wieku, drastycznie zmniejszyły się jej zasoby. U odławianych dorszy obserwowano zmiany skórne i owrzodzenia o różnym nasileniu.

W latach 2016 i 2017 na łowiskach południowego Bałtyku, tj. Basen Gdański, Rynna Słupska, rejon Kołobrzeg-Darłowo, Basen Bornholmski (część południowa i północna), odbyły się dwa rejsy statkiem badawczym r/v „Baltica”. Celem badań była ocena stanu zdrowia dorszy w aspekcie obserwowanych zmian chorobowych. Od każdej ryby, u której zaobserwowano zmiany skórne pobierano próbki do badań bakteriologicznych. Materiał posiewano na podłoża bakteriologiczne, a dominujące typy kolonii reizolowano, oceniano morfologicznie, a następnie identyfikowano zarówno metodami biochemicznymi z wykorzystaniem testów API i systemu VITEK 2, jak i technikami biologii molekularnej, wykonując sekwencjonowanie genu 16S rRNA.

Łącznie odłowiono 1381 dorszy, z czego 164 wykazywało zaburzenia zdrowotne objawiające się zmianami skórnymi o różnym nasileniu. Odsetek chorych ryb w 2016 i 2017 roku wynosił odpowiednio 15% i 9%. Spośród wszystkich łowisk, najwyższy odsetek zmian skórnych obserwowano w Basenie Gdańskim (44% i 30%, odpowiednio w latach 2016 i 2017), a najniższy w części północnej Basenu Bornholmskiego (7% i 2,5% w latach 2016 i 2017). Wśród wyizolowanych drobnoustrojów dominowały: *Shewanella putrefaciens* (30%), mezofilne *Aeromonas* spp. oraz *Pseudomonas* spp. (po 25%). Ponadto, w zależności od łowiska zidentyfikowano: *Acinetobacter* sp., *Chryseobacterium indologenes*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Vibrio* sp. Analiza filogenetyczna 16S rRNA wykazała, że w grupie bakterii *Shewanella* dominował gatunek *S. baltica* (96%), natomiast grupa *Pseudomonas* reprezentowana była przez przynajmniej 9 gatunków.

Słowa kluczowe: dorsz (*Gadus morhua*), ryby, choroby bakteryjne ryb

Badania finansowane przez NCBiR: 296211/4/NCBR/2016.

OCENA ZASTOSOWANIA SZCZEPIONKI PRZECIWKO JERSINIOZIE NA STĘŻENIE MARKERÓW STRESU OKSYDACYJNEGO W WĄTROBIE PSTRĄGA TĘCZOWEGO (*ONCORHYNCHUS MYKISS*, WALBAUM)

H. Tkachenko¹, N. Kurhaluk¹, J. Grudniewska², E. Terech-Majewska³, J. Pajdak - Czaus³, A. Pękala-Sawińska⁴

¹Institut Biologii i Nauk o Ziemi, Akademia Pomorska w Słupsku, Słupsk, Polska

²Zakład Hodowli Ryb Łososiowatych, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie, Olsztyn, Polska

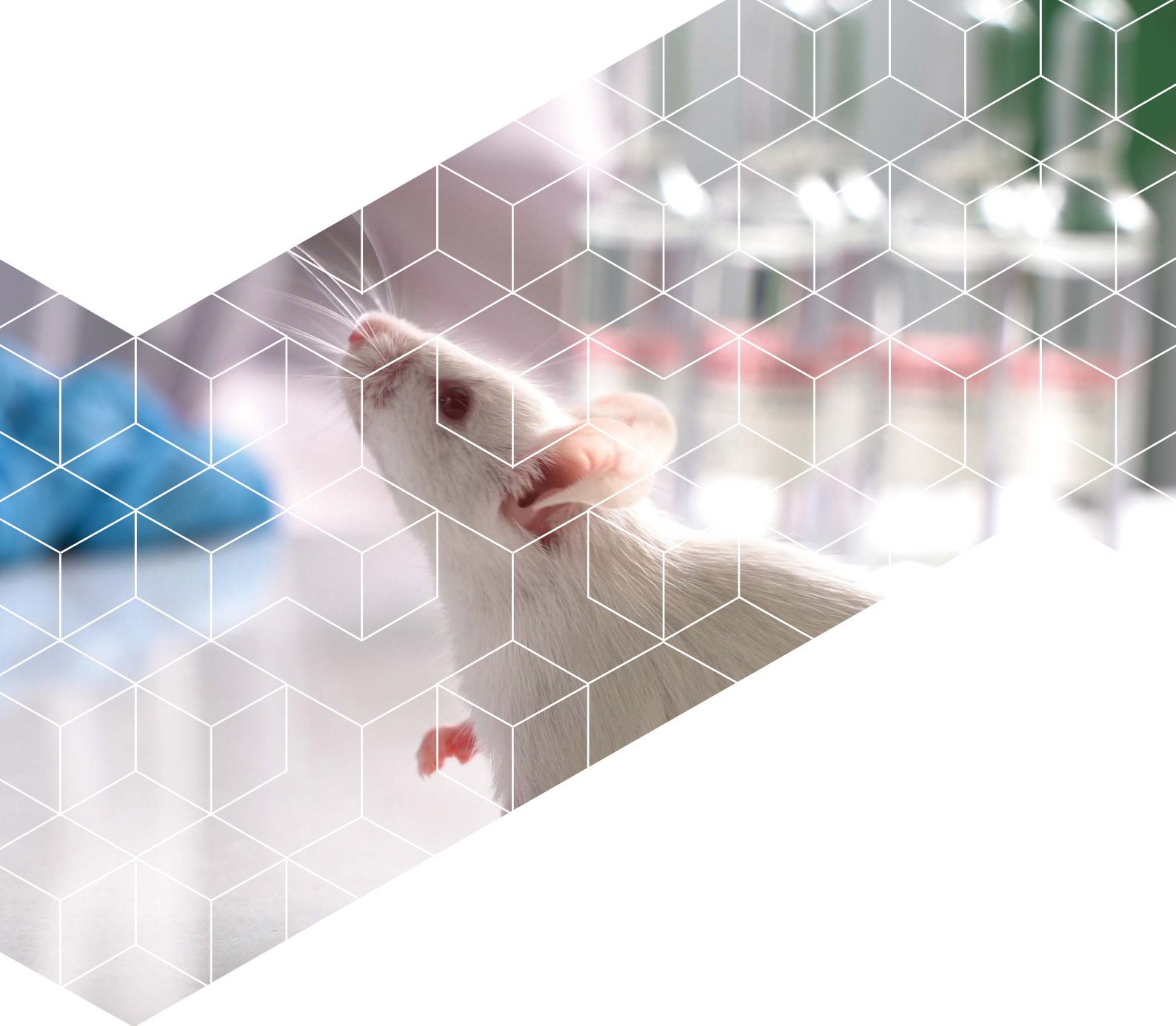
³Katedra Epizootiologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

⁴Katedra Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Celem przeprowadzonych badań była ocena skuteczności zastosowania immunizacji przeciwko zakażeniom *Yersinia ruckeri* przez analizę stężenia markerów stresu oksydacyjnego (produkty reagujące z kwasem 2-tiobarbiturowym, aldehydowe i ketonowe pochodne oksydacyjnej modyfikacji białek, całkowita aktywność antyoksydacyjna) w wątrobie młodocianych osobników pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*). Pstrągi zostały podzielone na dwie grupy: pierwsza – kontrolna grupa ryb, karmiona paszą bez dodatków i konserwantów; druga – doświadczalna, ryby z tej grupy były karmione paszą z inaktywowanymi antygenami *Y. ruckeri* podawaną 3 razy co drugi dzień; w pozostałe dni podawano paszę kontrolną bez dodatków i konserwantów. Ryby z obydwu grup (kontrolnej i doświadczalnej) do badań były pobrane po ukończeniu pierwszego i drugiego miesiąca po przeprowadzonej immunizacji.

Statystycznie istotne zmniejszenie poziomu markerów peroksydacji lipidów w grupie immunizowanej po upływie 1. i 2. miesiąca po szczepieniu oraz zmniejszenie poziomu aldehydowych i ketonowych pochodnych oksydacyjnie zmodyfikowanych białek wskazuje na skuteczne adaptacyjne mechanizmy obrony antyoksydacyjnej organizmu ryb do immunizacji przeciwko zakażeniom *Y. ruckeri*. Aktywacja proteolitycznej degradacji zmodyfikowanych reszt aminokwasowych może być jedną z przyczyn redukcji oksydacyjnie zmodyfikowanych pochodnych w wyniku adaptacji do immunizacji. Zauważony duży wzrost całkowitej zdolności antyoksydacyjnej w wątrobie osobników grup kontrolnej i immunizowanej w 2. miesiącu po szczepieniu świadczy o zdolnościach adaptacyjnych wątroby, które pozwalają bronić się przed stresem oksydacyjnym, indukowanym immunizacją przeciwko jersiniozie.

Słowa kluczowe: markery stresu oksydacyjnego, szczepionka, jersinioza, pstrąg tęczowy



SESJA PATOLOGII I UŻYTKOWANIA ZWIERZĄT DOŚWIADCZALNYCH

ZWIERZĘTA LABORATORYJNE – UŻYTKOWANIE I PATOLOGIA, STAN OBECNY I DOKĄD ZMIERZAMY?

J. Szarek¹

¹Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Cywilizacja europejska, aż do XIX wieku utożsamiała zwierzęta z rzeczami. W ubiegłym stuleciu dostrzeżono ich cierpienia i spopularyzowano przekonanie, że zwierzę nie jest rzeczą. Pod koniec XX wieku wprowadzono przesłanki wskazujące na istnienie świadomości zwierząt. Zauważone wartości zwierząt stały się podstawą przyporządkowania im niezwykłych praw. Chociaż treść i zakres tych norm prawnych jest kwestią otwartą – to konieczność wprowadzenia ich jest poza dyskusją. Na bazie podanych wartości w bieżącym wieku kształtuje się tzw. etyka ochrony zwierząt, w tym laboratoryjnych, i lawinowo przybywa norm prawnych. Rodzi się znaczny konflikt wartości, a na jego szali jest dobro zwierząt i nadzieja na postęp poprawiający jakość ludzkiej egzystencji.

Badania na zwierzętach przybrały najwyższą skalę w XX wieku. Był to efekt rozwoju zinstytucjonalizowanej nauki, z prowadzeniem testów bezpieczeństwa i skuteczności przemysłu farmaceutycznego, chemicznego i kosmetycznego, z nieustannym generowaniem i publikowaniem wyników, z użyciem na świecie pod koniec wieku, około 50 mln zwierząt rocznie, w Polsce około 450 tys. Obecnie, po przejściowym wyhamowaniu, liczba zwierząt doświadczalnych rośnie, wiąże się to z rozwojem inżynierii genetycznej i poszukiwaniem nowoczesnych terapii i leków.

Zachodzące przemiany w postrzeganiu zwierząt, jak i powstające akty normatywne w tym obszarze, oraz znaczny rozwój nauk medycznych pociągający za sobą konieczność wykonywania doświadczeń na zwierzętach, kształtują zapotrzebowanie na lekarzy weterynarii pracujących ze zwierzętami laboratoryjnymi. W Polsce lekarze weterynarii specjalizowali się w tym zakresie w ramach samokształcenia. Ponadto na SGGW w Warszawie istniała przez wiele lat Pracownia Patologii Zwierząt Laboratoryjnych, utworzona i prowadzona przez prof. dr. hab. Jerzego Preibischa. Z chwilą ukazania się rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej z dnia 28 listopada 1994 r. w sprawie trybu i szczegółowych zasad uzyskania tytułu specjalisty przez lekarza weterynarii zaistniała możliwość szkolenia lekarzy weterynarii w obszarze użytkowania i patologii zwierząt laboratoryjnych. Zaowocowało to uzyskaniem tytułu specjalisty przez 48 lekarzy weterynarii, a następnych 16 może ten tytuł mieć z końcem bieżącego roku.

Słowa kluczowe: zwierzęta laboratoryjne, doświadczenia na zwierzętach

OZNACZANIE LEKOOPORNOŚCI BAKTERII *RODENTIBACTER PNEUMOTROPICUS* I *STAPHYLOCOCCUS XYLOSUS* IZOLOWANYCH OD MYSZY I SZCZURÓW UTRZYMYWANYCH W ZWIERZĘTARNIACH NA OBSZARZE EUROPY CENTRALNO-WSCHODNIEJ

Ł. Deneka¹, T. Hutsch¹, A. Gierczak², L. Bańcerowska²

¹ALAB Bioscience, Warszawa, Polska

²ALAB Weterynaria, Warszawa, Polska

Zjawisko narastającej lekooporności drobnoustrojów stanowi istotne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Szczególne obawy budzi fakt międzygatunkowego rozprzestrzeniania się wielolekoopornych szczepów bakteryjnych.

Antybiotyki są stosowane u zwierząt laboratoryjnych w celu leczenia klinicznych postaci chorób, ochrony populacji będących silnie podatnymi na infekcje, w trakcie prowadzenia projektów naukowych skupiających się na badaniach mikrobiomu oraz w celu ingerencji w ekspresję genów w przypadku zwierząt modyfikowanych genetycznie (GMO). Niezwykle istotnym jest przegląd sposobu stosowania antybiotyków w ujęciu pojedynczego osobnika, ale również w kontekście całej populacji. Odpowiedzialne stosowanie antybiotyków u zwierząt laboratoryjnych ma na celu ochronę personelu technicznego przed zoonozami, stopniową redukcję występowania w środowisku opornych szczepów bakterii oraz zachowanie skuteczności antybiotyków na potrzeby projektów badawczych, a przede wszystkim do skutecznego leczenia występujących u zwierząt chorób.

Diagnostyczne Laboratorium Weterynaryjne ALAB Bioscience prowadzi programy monitorowania statusu zdrowotnego zwierząt, które zostały przygotowane w oparciu o najnowsze rekomendacje Federation of Laboratory Animal Science Associations (FELASA). Laboratorium prowadzi badania w kierunku diagnostyki chorób zakaźnych: myszy (*Mus musculus*), szczurów (*Rattus norvegicus*), kawii domowych (*Cavia domestica*), chomików (*Mesocricetus auratus*) oraz królików (*Oryctolagus cuniculus*).

Laboratorium ALAB Bioscience jest jednym z członków inicjatywy Sekcji Mikrobiologii Weterynaryjnej PTNW, noszącej nazwę ResinVet. Celem inicjatywy jest opracowanie bazy danych o lekooporności bakterii izolowanych od zwierząt w Polsce. W ramach prowadzonych badań wykonywano: posiewy bakteriologiczne wymazów z jamy ustnej i prostrnicy oraz identyfikację gatunków bakterii za pomocą metody MALDI-TOF MS, PCR kału oraz badania serologiczne krwi. Ocenę lekowrażliwości wyizolowanych w posiewie bakteriologicznym drobnoustrojów wykonywano za pomocą metody dyfuzyjno-krążkowej.

Uzyskane wyniki wskazują, że najczęściej izolowanymi od gryzoni laboratoryjnych są bakterie *Rodentibacter pneumotropicus* i *Staphylococcus xylosus*. Wykazują one nieznaczny do umiarkowanego stopień lekowrażliwości. Uzyskane wstępnie dane będą pomocne w przeprowadzeniu oceny ogólnego statusu zdrowotnego zwierzątarni oraz do rozpoczęcia prac nad przewodnikiem skutecznej antybiotykoterapii zwierząt laboratoryjnych.

Słowa kluczowe: monitoring zdrowia zwierząt, bakteriologia, lekooporność

PORÓWNANIE SKALARNYCH METOD OCEN HISTOPATOLOGICZNYCH W SZCZURZYCH MODELACH NAFLD-NASH

T. Hutsch¹, A. Barc¹, J. Kotlinowski², M. Szudzik³

¹ALAB Bioscience, Warszawa, Polska

²Zakład Biochemii Ogólnej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska

³Zakład Fizjologii i Patofizjologii Eksperymentalnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

Niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (NAFLD) oraz jej następstwo w postaci niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby (NASH) są obecnie pod względem epidemiologicznym najbardziej istotnymi chorobami wątroby w populacji ludzkiej. Szacuje się, że NASH i NAFLD zagrożone jest nawet 30% populacji Europy Zachodniej i Ameryki Północnej. Z tych względów badania przedkliniczne zwierzęcych modeli NAFLD-NASH cieszą się wzrastającym zainteresowaniem. Podstawową metodą diagnostyczną jak i badawczą w przypadku NAFLD-NASH jest badanie histopatologiczne.

Procedury diagnostyczne, jak i badawcze w zakresie badań hepatopatologicznych NAFLD-NASH obejmują ocenę nasilenia poszczególnych składowych procesu patologicznego, którymi są: zwyrodnienie tłuszczowe oraz zwyrodnienie balonowate hepatocytów, zapalenie i włóknienie. Wymienione zmiany są podstawowymi kryteriami rozpoznawczymi dla opisywanej choroby oraz stałymi elementami skal diagnostycznych. Ponadto różne systemy skalarne uwzględniają dodatkowe elementy jak: lokalizacja i charakter nacieków zapalnych, wystąpienie ciałek apoptycznych, makrofagów pigmentowanych, meagamitochondriów czy ciałek Mallory-Denk'a itp.

Przeprowadzone badania obejmowały ocenę histopatologiczną wątrób szczurów SPRD w indukowanym dietą modelu NASH-NAFLD. Badane narządy oceniono za pomocą różnych skal stosowanych klinicznie w diagnostyce niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby. Następnie uzyskane wyniki badań na modelach zwierzęcych porównano z obrazem histopatologicznym wątrób ludzkich ze zdiagnozowanym NASH-NAFLD.

Uzyskane wstępne wyniki wskazują na istniejące różnice w obrazie histopatologicznym pomiędzy zwierzęcymi modelami, a klinicznymi przypadkami NASH-NAFLD. Główne zmienne w badanych wątróbach to: charakter i lokalizacja nacieków zapalnych oraz wzór zmian zwyrodnieniowych hepatocytów.

Słowa kluczowe: NASH-NAFLD, histopatologia, modele *in vivo*

PORÓWNANIE WPŁYWU TRZECH METOD UTRWALANIA TKANEK NA WYSTĘPOWANIE ARTEFAKTÓW W PŁUCACH MYSZY

A. Barc¹, T. Hutsch¹, R. Wrzesień²

¹ALAB Bioscience, Warszawa, Polska

²Centralne Laboratorium Zwierząt Doświadczalnych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

Obiektywna ocena mikroskopowa wpływu substancji w badaniach przedklinicznych jest możliwa jedynie, gdy zostanie zachowana prawidłowa morfologia narządów pobranych w trakcie sekcji. Wszelkie artefakty zmieniające strukturę tkanek mogą zafałszować obraz histopatologiczny i doprowadzić do błędnej oceny skutków działania badanej substancji. Ma na to wpływ wiele elementów badania histopatologicznego, ze szczególnym uwzględnieniem etapu przedlaboratoryjnego. Ważny jest zwłaszcza wybór metody eutanazji, roztworu utrwalającego, ale przede wszystkim postępowanie z tkankami. Dlatego należy dołożyć wszelkich starań, dobierając taką metodę pobierania narządów w czasie sekcji, aby zminimalizować powstawanie artefaktów.

Do projektu wykorzystano 3 grupy zdrowych klinicznie myszy w podobnym wieku, liczące po 6 osobników różnych płci. Zwierzęta zostały poddane znieczuleniu ogólnemu, a następnie wykrwawione poprzez przecięcie żyły głównej doogonowej celem uniknięcia napływu krwi do podstawy płuc.

W grupie pierwszej płuca pobrano poprzez bezpośrednie otwarcie klatki piersiowej, przecięcie tchawicy i wypreparowanie narządu - płuca w całości umieszczono w pojemniku ze zbuforowaną formaliną. W grupie drugiej płuca pobrano tą samą metodą, jednak po wypreparowaniu delikatnie napełniono je zbuforowaną formaliną za pomocą strzykawki umieszczonej w tchawicy, następnie szczelnie przewiązano tchawicę i umieszczono całe płuca w pojemniku ze zbuforowaną formaliną. W grupie trzeciej przecięto skórę i mięśnie po dobrzuszej stronie szyi celem uwidocznienia tchawicy, którą następnie ściśle podwiązano. Po otwarciu klatki piersiowej przecięto tchawicę powyżej wiązania i wypreparowano płuca - płuca w całości umieszczono w pojemniku ze zbuforowaną formaliną.

Po 24-godzinnym utrwaleniu narządy poddano standardowej technice obróbki histologicznej, a skrawki parafinowe zabarwiono metodą H&E. Dokonano oceny histopatologicznej narządu ze szczególnym uwzględnieniem występowania następujących artefaktów: przekrwienie, niedodma, rozedma, złuszczenie nabłonka pęcherzyków płucnych, obrzęk ścian pęcherzyków płucnych. Powyższe parametry oceniono skalarnie i porównano wyniki dla każdej z grup.

Słowa kluczowe: badania przedkliniczne, utrwalanie narządów, histopatologia płuc

NARZĘDZIA DO OCENY GRUCZOŁÓW PODGARDZIELOWYCH U PSZCZOŁ MIODNYCH (*APIS MELLIFERA* L.)

A. Drzewiecka^{1,2}, P. Łucyszyn¹, J. Faron², P. Parma², M. Frontczak-Baniewicz³

¹Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku, Gdańsk, Polska,

²Sieć Badawcza Łukasiewicz - Instytut Przemysłu Organicznego Oddział w Pszczynie, Pszczyna, Polska

³Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN, Warszawa, Polska

Pszczoły miodne (*Apis mellifera* L.) to pożyteczne stawonogi, które odgrywają ważną rolę w przyrodzie, ale także w przemyśle spożywczym, kosmetycznym czy farmaceutycznym. Jednym z warunków utrzymania zdrowych rodzin jest prawidłowy rozwój gruczołów podgardzielowych (HPG) pszczół robotnic. Gruczoły te składają się z wielu gron połączonych przewodem zbiorczym, ułożonych w postaci długich parzystych łańcuszków leżących po obu stronach głowy. Odgrywają one ważną rolę m.in. poprzez produkcję „mleczka” zawierającego substancje białkowe, służącego do karmienia larw i królowej.

Celem projektu była walidacja różnych algorytmów pozyskania materiału, obróbki technicznej i oceny rozwoju gruczołów podgardzielowych, w celu opracowania rutynowej metody łączącej najwyższą niezawodność (najmniejszy błąd techniczny), optymalny koszt oraz najmniejszy wysiłek i czasochłonność.

Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem pszczół miodnych poddanych testom toksyczności przewlekłej, wykonanym zgodnie z wytycznymi EFSA (Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności). Pszczoły potraktowano czterema różnymi związkami chemicznymi w 3-5 stężeniach. HPG uzyskano od 5 pszczół narażonych na substancję badaną (z grupy narażanej najwyższym stężeniem o śmiertelności poniżej 50%) oraz z kontroli negatywnej. Przetestowano sześć różnych podejść do oceny HPG:

- histopatologia (HP) wyizolowanych gruczołów (pomiar liniowy i ilościowy, obrazowanie);
- histopatologia (HP) całych głów (pomiar liniowy i ilościowy, obrazowanie);
- metoda „całych pakietów” (WM) na wyizolowanym gruczole (pomiar liniowy i ilościowy, obrazowanie);
- absorbancja białka (PA) z wyizolowanych gruczołów (pomiar ilościowy);
- absorbancja białka (PA) z całych głów (pomiar ilościowy);
- skaningowy mikroskop elektronowy (SEM; pomiar liniowy i ilościowy, obrazowanie).

Pomiary liniowe (mała i duża oś symetrii) wykonano z dziesięciu gron z lewego i prawego gruczołu. Pomiary ilościowe (liczba gron na 1 mm²) wykonano podczas badania metodą HP, WM i SEM. Pomiary ilościowe PA z wyizolowanych gruczołów wykonano z lewego i prawego gruczołu.

Analiza wyników wykazała spadki i wzrosty gron / absorbancji białka w zależności od zastosowanego algorytmu. Obserwowane odchylenia nie wykazały jednak żadnej istotności statystycznej.

Zgodnie z wynikami przeprowadzonych badań do oceny rozwoju gruczołów podgardzielowych najlepiej stosować metodę umożliwiającą przeprowadzenie pomiaru liniowego połączoną z obrazowaniem wyizolowanych gruczołów (HP lub SEM).

Słowa kluczowe: pszczoły, HPG, histopatologia, SEM, rozwój gruczołów.

Badania finansowane przez MNiSW: 4180/E-142/S/2017.

BADANIA Z UDZIAŁEM GADÓW – WYZWANIE DLA NAUKOWCÓW

A. Drzewiecka¹, M. Miśków-Baranowska¹, A. Świątalska¹

¹*Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku, Gdańsk, Polska*

Gady to grupa około 10000 obecnie żyjących gatunków, które odgrywają kluczową rolę w środowisku. Świadczą one cenne „usługi” ekosystemowe, takie jak zwalczanie szkodników, rozprzestrzeganie nasion czy zapylanie oraz stanowią pokarm dla innych zwierząt i ludzi. Stają się również coraz bardziej popularne jako zwierzęta domowe. Niestety ich istnienie jest zagrożone nielegalnymi połowami, nadmierną eksploatacją, utratą siedlisk, zanieczyszczeniem czy zmianą klimatu, przez co wiele gatunków z tej gromady znajduje się na Czerwonej Liście Zagrożonych Gatunków IUCN (Międzynarodowa Unia Ochrony Przyrody) lub jest objętych postanowieniami CITES (Konwencja o międzynarodowym handlu dzikimi zwierzętami i roślinami gatunków zagrożonych wyginięciem).

Wiedza o biologii gadów, a zwłaszcza mechanizmach ich adaptacji do środowiska, różnorodności patogenów i chorób, może nie tylko pomóc w odbudowie populacji zagrożonych gatunków, ale także dać lekarzom weterynarii narzędzie do poprawy stanu zdrowia zwierząt domowych oraz dzikich, a także chronić ludzi przed chorobami odzwierzęcymi.

Rosnące w ostatnich latach zainteresowanie naukowców dotyczy zarówno wpływu różnych czynników (np. środowiskowych) na rozwój, bytowanie czy reprodukcję gadów, ale również wykorzystania tych zwierząt jako źródła substancji potencjalnie użytecznych w przemyśle kosmetycznym lub farmaceutycznym, oraz jako modeli badawczych (np. zdolności regeneracyjnych). Jednak ze względu na charakter tej grupy zwierząt badacze napotykają na wiele przeszkód ograniczających badania, takich jak prawa międzynarodowe i lokalne (oprócz przepisów regulujących badania z wykorzystaniem zwierząt należy znać przepisy CITES, gatunki z list gatunków chronionych i prowadzić stosowną dokumentację); wiedza z zakresu anatomii i fizjologii (różnorodność może powodować wiele trudności nieodświadczonym eksperymentatorom zarówno w technicznej części eksperymentu, np. pobieranie próbek, badanie kliniczne, autopsja, jak i interpretacji wyników); wiedza o biologii i warunkach chowu (znajomość szeregu mechanizmów pozwalających na przetrwanie tj. hibernacja, pobieranie tlenu z wody, rzadkie spożywanie pokarmu; wpływ poikilotermii na wyniki badań).

Praca przedstawia krytyczne punkty planu badań, związane m.in. z prawem międzynarodowym i lokalnym oraz fizjologią gadów. Przedstawiono również przykłady rozwiązań projektowych budowy, wzbogacenia i dostosowania terrarium doświadczalnego do wymagań różnych gatunków.

Słowa kluczowe: gady, eksperyment



SESJA HISTORII MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

KORZENIE LECZNICTWA ZWIERZĄT – CZY SĄ OCZYWISTE?

M. Janeczek¹, Z. Kubiak²

¹*Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska*

²*Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska*

Zwierzęta zaczęto leczyć w momencie ich udomowienia, kiedy to człowiek przejął także odpowiedzialność za ich utrzymanie, rozwój, życie i zdrowie. Dowodów na leczenie zwierząt w kolebce współczesnej cywilizacji tj. starożytnym bliskim wschodzie jest jednak bardzo niewiele. Często, jak na przykład w przypadku asyryjskiej tabliczki BAM 159, kontekst jest niezrozumiały. Aby stworzyć spójny obraz lecznictwa zwierząt należy odnieść się do dostępnych źródeł w kontekście przede wszystkim medycyny człowieka. Przekazy zarówno pochodzące z obszaru Egiptu jak i Międzyrzecza nie pozwalają na dokonanie charakterystyki zawodu lekarza weterynarii i można zastanawiać się, czy nie była to jedna ze specjalizacji lekarskich. Odkryte na terenie asyryjskiego miasta Aszur zapiski należące do lekarza, które sporządzał podczas nauki, zawierają tematykę fizjologii i leczenia zwierząt. Z kolei w egipskie hieroglify używane w tekstach medycznych są wyobrażeniami narządów zwierząt. W Mezopotamii fachowcy odprawiający rytuały magiczne przeznaczone dla ludzi odczyniali je również dla zwierząt. Szerokie omówienie znalezionych dotychczas zabytków stanowią próbę odpowiedzi na pytanie kim byli ludzie leczący zwierzęta i czy można mówić o zawodzie lekarza weterynarii.

Słowa kluczowe: historia weterynarii, starożytny Egipt, Asyria, Mezopotamia, leczenie zwierząt

PROF. JAN TROPIŁO (1933-2021)**J. Wiśniewski, M. Nowicki, L. Kiszczak, M. Puchalska, J. Pławińska-Czarnak, K. Anusz**¹*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska*

Jan Tropiło urodził się 7 lutego 1933 r. w Przemyślu, zmarł 18 czerwca 2021 r. w Warszawie.

W 1958 r. ukończył studia na Wydziale Weterynaryjnym SGGW i uzyskał dyplom lekarza weterynarii. W latach 1958 – 2003 pracował w Katedrze Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego SGGW (obecnie Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego) przechodząc kolejne etapy w karierze zawodowej.

W 1965 r. uzyskał stopień naukowy doktora nauk weterynaryjnych (rozprawa doktorska pt. „Brucelloza zająców w aspekcie higieny produktów zwierzęcych”), a w 1979 r. stopień naukowy doktora habilitowanego na podstawie oceny dorobku naukowego i rozprawy pt. „Wpływ pozostałości antybiotyków w tkankach zwierzęcych na ocenę sanitarno-weterynaryjną mięsa”. W 1995 r. uzyskał tytuł naukowy profesora nauk weterynaryjnych.

Jest autorem lub współautorem ponad 300 publikacji i komunikatów dotyczących higieny żywności pochodzenia zwierzęcego, chorób zwierząt łownych i historii weterynarii. Jest także współautorem 3 podręczników („Zarys historii polskiej weterynarii z podstawami deontologii”, „Łowiectwo – weterynaria, higiena”, „Badanie i ocena sanitarno-weterynaryjna zwierząt łownych i dziczyzny”) oraz autorem książki „Lekarze weterynarii w Powstaniu Warszawskim”. Jest redaktorem i współautorem dwóch wydawnictw pt. „Złota Księga Pamiątkowa absolwentek i absolwentów Wydziału Weterynaryjnego SGGW w Warszawie 1952-1958”, „Drugi Słownik Biograficzny Polskich Lekarzy Weterynarii 1919 - 2000” i współautorem II tomu.

Działalność naukowa Profesora dotyczyła: chorób zwierząt wolno żyjących i oceny sanitarno-weterynaryjnej dziczyzny, skuteczności działania preparatów odkażających, wpływu zabiegów technologicznych na pozostałości antybiotyków w żywności pochodzenia zwierzęcego, oddziaływania promieniowania jonizującego na drobnoustroje, historii weterynarii oraz działalności pozazawodowej lekarzy weterynarii.

Był działaczem i honorowym członkiem PTNW, członkiem Rady Muzealnej Muzeum Rolnictwa w Ciechanowcu, Rady ds. Muzeum SGGW.

Za swoją działalność uzyskał wiele nagród, odznaczeń i wyróżnień.

Profesor J. Tropiło był wybitnym lekarzem weterynarii, naukowcem, życzliwym, uczciwym i dobrym człowiekiem.

Słowa kluczowe: Jan Tropiło, historia weterynarii

STANISŁAW FRANCISZEK ŚNIESZKO (1902-1984): TWÓRCA WSPÓŁCZESNEJ ICHTIOPATOLOGII

J. Pajdak-Czaus¹, K. Naumowicz¹, P. Szulz², A. K. Siwicki², W. Szweda¹, J. Siemionek¹, E. Terech-Majewska¹

¹Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

²Instytut Rybactwa Śródlądowego im. S. Sakowicza w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Stanisław F. Śnieszko, znany w swoim środowisku jako „Doc”, urodził się w Krakowie, w 1902 r. Doktor rozpoczął swoją ścieżkę naukową na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie. Już w 1928 r. wyjechał na stypendium rządowe w Uniwersytecie Lipskim. W latach od 1929 do 1932 prowadził badania naukowe na Uniwersytecie w Wisconsin w ramach stypendium Fundacji Rockerfeller. Od 1946 r. był dyrektorem Laboratorium Mikrobiologicznego w Stacji Rybackiej w Leetown (U.S. Fisheries Experimental Station in Leetown, West Virginia), które ostatecznie w 1977 r. zostało Narodowym Centrum Rybackim (National Fish Health Research Lab).

Jego główny wkład w rozwój ichtiopatologii dotyczył zmiany podejścia w rozumieniu zagrożeń dla zdrowia ryb. Od 1797 r. aż do połowy 1940 r. dominował pogląd, że większość chorób ryb jest wywoływanych przez czynniki natury parazytologicznej. Posługiwał się „schematem trzech okręgów”, obrazującym interakcje. Schemat w prosty sposób tłumaczy równoczesne zależności pomiędzy grupami czynników: biologicznych, środowiskowych oraz chorobotwórczych. Takie rozumienie zjawisk patologicznych powoduje, że w rozpoznawaniu chorób ryb nie skupiamy się tylko na czynniku chorobowym, lecz szukamy, jak doszło do choroby.

Napisał około 200 prac naukowych, jest uznawany za jednego z pierwszych wakcynologów ryb na świecie. Jego wielką pasją było szkolenie przyszłych adeptów tej dziedziny wiedzy. W 1957 r. zainicjował szkolenia podyplomowe specjalistów - ichtiopatologów.

Śnieszko był redaktorem kilku pozycji wydanych w ramach bardzo cenionej serii książek z dziedziny chorób ryb (T.F.H. Fish Disease Book series 1970-1980). Przyczynił się również do powstania czasopisma Journal of Fish Biology, które publikuje nowe poglądy na wszelkie tematy związane z biologią ryb.

Pośmiertnie (w siódmą rocznicę śmierci) został uhonorowany przez Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie mosiężną tablicą z napisem „In honor of the Great Scientist, Profesor Stanisław F. Śnieszko, Inland Fisheries Institute, Poland”. Tablica została wręczona przez prof. dr hab. Andrzeja K. Siwickiego, jednego z uczniów dr Śnieszki, który wspomina go jako osobę „skromną i z dużą pokorą, o ogromnej intuicji do nauki oraz z darem wyszukiwania zdolnych ludzi wśród tłumu”.

Słowa kluczowe: Stanisław Śnieszko, choroby ryb, ichtiopatologia

WPŁYW PRAC RUDOLFA VIRCHOWA NA ROZWÓJ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ W ASPEKCIE OCHRONY ZDROWIA PUBLICZNEGO

J. Sobolewski

Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń, Polska

Rudolf Virchow znany jest jako autor teorii patologii komórkowej. W 1858 r. ukazało się dzieło jego życia „*Cellular pathologie*”, w którym obalił teorię humoralną obowiązującą w medycynie przez ponad dwa tysiące lat. Między innymi dzięki niemu wiek XIX określa się mianem stulecia patologów.

W opracowaniach poświęconych temu naukowcowi często pomija się jego prace związane z higieną mięsa, łączące medycynę i weterynaryjną. Ochrona zdrowia publicznego była mu szczególnie bliska. Rudolf Virchow był autorem kilku celnych, do dziś aktualnych stwierdzeń, które opublikował w czasopiśmie „*Die Medizinische Reform*”. Uważał, że chociaż postępy medycyny przyczyniają się do przedłużania życia, to taki sam rezultat można osiągnąć szybciej i z lepszym skutkiem poprzez poprawę warunków socjalnych i zwiększenie higieny środków spożywczych i samego żywienia.

Traktował medycynę i weterynarię nie tylko jako nauki medyczne, ale także społeczne. Wynikiem tego podejścia były następujące stwierdzenia:

1. Zdrowie jednostki nie jest sprawą wyłącznie prywatną i ma znaczenie dla ogółu społeczeństwa,
2. Warunki środowiskowe wywierają zasadniczy wpływ na stan zdrowia ludności i dlatego zależności te powinny być badane,
3. Ze względu na wagę zagadnień, muszą być podejmowane działania zmierzające do ochrony zdrowia i zwalczania chorób, przy czym działania te powinny być zarówno natury medycznej, jak i pozamedycznej.

Odzwierciedleniem tych poglądów były prace zmierzające do wprowadzenia obowiązkowego badania mięsa, szczególnie w celu stwierdzenia lub wykluczenia włośnicy wywoływanej przez *Trichinella spiralis*. Uczony wskazywał na konieczność powierzenia takich badań lekarzom weterynarii. Intensywne prace prowadzone m.in. przez Virchowa zaowocowały opisaniem cyklu życiowego *Trichinella*.

Efektom dokonanych odkryć i badań, a także powiązania ich z wynikami analizy epidemiologicznej zachorowań ludzi na włośnicę było zarządzenie (wydane w Niemczech w 1863 r.) nakazujące mikroskopowe badanie mięsa wieprzowego przeznaczonego do konsumpcji (trychinoscopia).

Publikacje naukowe dotyczące ochrony zdrowia publicznego z okresu pracy uczonego na Uniwersytetach w Würzburgu i Berlinie doskonale wpisują się w aktualnie promowaną przez WHO koncepcję jednego zdrowia (One Health) i jednej medycyny.

REKLAMY PREPARATÓW WETERYNARYJNYCH NA ŁAMACH „PRZEGLĄDU WETERYNARSKIEGO” I „PRZEGLĄDU WETERYNARYJNEGO”

J. Sobolewski

Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń, Polska

Farmacja, medycyna i weterynaria są dziedzinami pokrewnymi i wzajemnie uzupełniającymi się. Dopiero na przełomie XVIII i XIX wieku weterynaria wyodrębniła się jako samodzielna dziedzina nauki. Do tego czasu "katedry bydłowego leczenia" były częściami organizacyjnymi uczelni medycznych i to właśnie medycy zajmowali się sporadycznie leczeniem zwierząt. Co więcej zdarzały się przypadki leczenia zwierząt przez aptekarzy. W Polsce znane są poczynania aptekarza króla Zygmunta Augusta, Floriana Cabortiego, który był autorem kilkudziesięciu receptur leków dla zwierząt stajni królewskich. Można przypuszczać (choć nie mamy na to dowodów), że był on odpowiedzialny także za cały proces leczenia tychże.

Ścisła współpraca między farmacją a weterynarią nastąpiła na przełomie XIX i XX wieku. Był to czas rozwoju farmacji przemysłowej, ale także ugruntowania pozycji lekarzy weterynarii. Do nowoczesnego leczenia zwierząt niezbędne były leki, które początkowo przygotowywali sami lekarze. Wytwórcy produktów leczniczych początkowo podeszli ostrożnie do nowego rynku zbytu. Zauważył to w 1927 roku Bronisław Drygas, który na łamach „Wiadomości farmaceutycznych” twierdził, że Polska pozbawiona jest przemysłowej farmacji weterynaryjnej.

Lukę próbowały wypełnić laboratoria powstające przy aptekach. Wytwarzanie leków dla zwierząt było szczególnie dochodowe w małych miejscowościach, sąsiadujących z majątkami ziemskimi. Manualy farmaceutyczne zawierały część weterynaryjną (Pars veterinaria), receptury leków weterynaryjnych zamieszczano regularnie w Kalendarzu farmaceutycznym. Z roku na rok produkcja stawała się coraz większa, a co za tym idzie pojawiła się konkurencja na rynku farmacji weterynaryjnej. Wymagało to prowadzenia akcji reklamowo – informacyjnych. Na łamach „Przeglądu weterynarskiego” i „Przeglądu weterynaryjnego” ukazywały się cyklicznie reklamy aptek i firm promujące produkty weterynaryjne. Forma i grafika odpowiadała ówczesnej stylistyce – prostej i stawiającej przede wszystkim na przekaz konkretnej treści. W prezentacji przedstawiam wybrane reklamy z XIX wieku i pierwszej połowy XX wieku.

UDZIAŁ BYDGOSKICH LEKARZY WETERYNARII W ZJAZDACH LEKARZY I PRZYRODNIKÓW POLSKICH

J. Judek

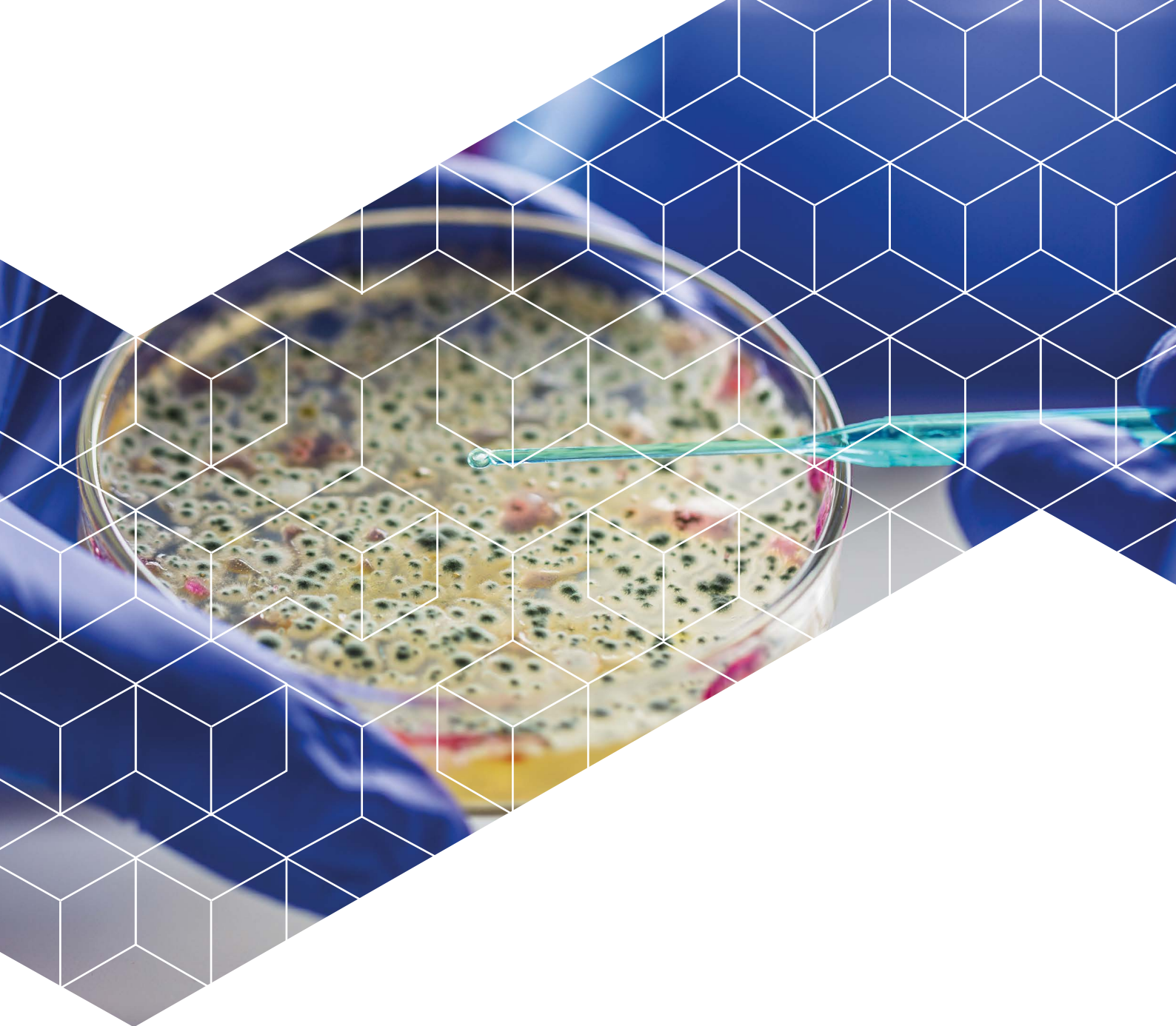
Zakład Higieny Weterynaryjnej im. prof. Kazimierza Panka w Bydgoszczy, Bydgoszcz, Polska

W rozbitej zaborami i pozbawionej swojej państwowości XIX wiecznej Rzeczypospolitej istniały także wielkie trudności w przekazywaniu wiedzy, doświadczeń naukowych i praktycznych między naukowcami i lekarzami praktykami działającymi na terenie poszczególnych zaborów. Z tego powodu w 1861 roku zrodziła się idea organizowania cyklicznych zjazdów lekarzy i przyrodników polskich, jako forum bezpośredniego i wzajemnego przekazywania sobie informacji o bieżących osiągnięciach i problemach polskich lekarzy działających w warunkach rozbiorowej rzeczywistości. Pierwszy Zjazd Lekarzy i Przyrodników Polskich (ZLiPP) udało zorganizować się w Krakowie dopiero 1869 r. Udział w nim wzięło tylko 263 uczestników głównie z Krakowa i Lwowa, co było efektem utrudnień władz rosyjskich i niemieckich stawianych potencjalnym uczestnikom pochodzącym z zagarniętych przez nich ziem polskich. Do czasu uzyskania niepodległości udało zorganizować się tylko 11 zjazdów, z tego tylko dwa poza Galicją. Cztery kolejne miały miejsce w niepodległej Polsce. Od 1884 roku w zjazdach uczestniczyli także lekarze weterynarii, tworzący od V zjazdu (1888 r.) osobną sekcję weterynaryjną.

Lekarze weterynarii, pracownicy Wydziału Higieny Zwierząt Państwowego Naukowego Instytutu Rolniczego w Bydgoszczy uczestniczyli w dwóch ZLiPP: w 1925 r. w Warszawie oraz w 1933 r. w Poznaniu. W trakcie warszawskiego zjazdu bydgoscy naukowcy zdominowali dwa pierwsze posiedzenia „Działu Epizootologii i Bakteriologii Sekcji Weterynaryjnej” gdyż na 17 wystąpień, 12 było ich autorstwa. Łącznie w Sekcji Weterynaryjnej XII ZLiPP na 60 zgłoszonych referatów i doniesień 14 wygłosili lekarze z Bydgoszczy. Większą ich liczbę zgłosiło tylko środowisko lwowskie. Tematyka wystąpień pokrywała się z bieżącymi badaniami realizowanymi aktualnie w Wydziale tj. biologią „prątka nosaczyny” oraz metodami diagnozowania i zwalczania tej choroby (5 referatów), rzekomej niedokrwistości koni, sarkosporidiozy owiec, walki z zarazą płucną i zagadnień hematologicznych w przebiegu cholery drobiu. Prof. Kazimierz Panek, Kierownik Wydziału wygłosił trzy referaty programowe, tym jeden (w Dziale Społeczno-Administracyjnym) na temat konieczności i kierunków reformy nauczania przyszłych i praktykujących lekarzy weterynarii. Wszystkie zgłoszone przez niego postulaty zostały przyjęte przez Zjazd drogą aklamacji.

W trakcie ZLiPP w 1933 r. bydgoscy naukowcy wygłosili co najmniej 7 referatów m.in. na temat racjonalnej walki z ronieniem zakaźnym krów, etiologii i zwalczania colibacillozy owiec, przyczyn jałowości krów, niedokrwistości porażennej koni oraz gruźlicy w tym na temat wyników unikalnych badań nad cyklogenią i patogenezą przesączalnej postaci zarazka gruźliczego.

Po 1935 roku, w związku z przeniesieniem Wydziału Zoohigieny do Puław i śmiercią prof. Panka znaczenie i potencjał naukowy Bydgoszczy uległ drastycznemu osłabieniu i dlatego środowisko to nie było już reprezentowane na ostatnim w historii - piętnastym ZL-PP w 1937 roku.



SESJA MIKROBIOLOGII WETERYNARYJNEJ



LEKOOPORNOŚĆ DROBNOUSTROJÓW JAKO ZAGROŻENIE DLA ZDROWIA PUBLICZNEGO W KONTEKŚCIE NOWYCH, (NIE)ZNANYCH REZERWUARÓW WIELOLEKOOPORNYCH BAKTERII

A. Nowakiewicz¹, P. Zięba², S. Gnat¹

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Zakład Higieny Weterynaryjnej, Lublin, Polska

Lekooporność stanowi od kilkudziesięciu lat poważne zagrożenie zdrowia publicznego, które w dobie obecnej sytuacji związanej z leczeniem powikłań bakteryjnych szeroko pojętych infekcji wirusowych, prawdopodobnie nadal będzie narastać. Jako głównej przyczyny tego stanu upatruje się w nadmiernym lub niewłaściwym stosowaniu leków przeciwbakteryjnych w medycynie człowieka i zwierząt, dlatego w ostatnich latach zostały podjęte szerokie działania mające na celu redukcję zużycia tego typu leków. Ograniczenie stosowania substancji antybakteryjnych u zwierząt hodowlanych jest również jednym ze sztandarowych założeń holistycznej strategii „od pola do stołu”, której celem jest m.in. uczynienie systemów żywnościowych bardziej sprawiedliwymi, zdrowymi i przyjaznymi dla środowiska. Cele te mają zostać osiągnięte, m. in. poprzez redukcję sprzedaży o co najmniej 50% substancji antybakteryjnych wykorzystywanych w produkcji zwierzęcej do 2030 roku. Mimo wszystko wydaje się jednak, że hodowla zwierząt stanowiących źródło żywności pochodzenia zwierzęcego, nie stanowi jedynej przyczyny zagrożenia zdrowia publicznego. Pewnym uderzającym elementem wszystkich podejmowanych działań jest zwracanie uwagi tylko na dwa ogniwa zaangażowane w cykl rozprzestrzeniania się oporności, a mianowicie większość działań dotyczy monitorowania i ograniczenia zjawiska oporności u zwierząt hodowlanych w kontekście zagrożenia zdrowia i życia człowieka oraz monitorowanie i ograniczenie lekooporności w środowiskach szpitalnych. Dlatego realizowane przez nas badania w ciągu ostatnich lat skupiły się przede wszystkim na analizie innych niż dotychczas rezerwuarów. W świetle doniesień z ostatnich lat, zwierzęta wolno żyjące wydają się najbardziej interesującą grupą pod względem obecności zarówno patogenów zoonotycznych, jak i specyficznych typów drobnoustrojów lekoopornych. Badania prowadzone w tej niezwykle zróżnicowanej grupie od blisko dwudziestu lat dostarczają co raz większej liczby danych potwierdzających istotny udział zwierząt nieudomowionych w zjawisku rozprzestrzeniania się lekooporności w środowisku. Ze względu na fakt, iż większość gatunków zwierząt nie jest poddawana celowanej terapii, wyniki badań poziomu lekooporności mikrobioty zwierząt wolno żyjących zdają się stanowić doskonałe odzwierciedlenie realnego poziomu lekooporności w środowisku.

NOWE GATUNKI GRONKOWCÓW KOAGULAZOUJEMNYCH JAKO CZYNNIKI ETIOLOGICZNE ZAPALENIA WYMIENIA U BYDŁA

J. Król

Katedra Patologii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Zapalenie gruczołu mlekowego (*mastitis*) jest wciąż jednym z najważniejszych problemów zdrowotnych u bydła mlecznego o dużym znaczeniu ekonomicznym i epidemiologicznym. Głównym czynnikiem etiologicznym są różnego rodzaju drobnoustroje, zwłaszcza bakterie i grzyby oraz rzadziej glony. Liczba gatunków mikroorganizmów, które mogą być stwierdzone jako przyczyny zakażeń gruczołu mlekowego, jest bardzo duża. Przykładowo, w r. 1988 Watts wykazał aż 137 gatunków, podgatunków i serotypów. W ostatnich trzech dekadach liczba ta jednak jeszcze bardziej wzrosła, co jest spowodowane z jednej strony ciągłym udoskonalaniem metod diagnostycznych stosowanych w mikrobiologii, z drugiej zaś – ogromnymi zmianami dotyczącymi klasyfikacji mikroorganizmów, wynikającymi z powszechnego użycia metod genotypowych jako podstawowego narzędzia do wyróżniania gatunków drobnoustrojów. W przypadku niektórych grup bakterii, liczba znanych gatunków uległa podwojeniu lub nawet potrojeniu w ciągu ostatnich lat, np. liczba opisanych gatunków i podgatunków gronkowców (*Staphylococcus*) wzrosła z 30 w r. 1990 do ok. 90 obecnie. Powoduje to konieczność stosowania nowych technik diagnostycznych, umożliwiających precyzyjną identyfikację czynników etiologicznych *mastitis*.

Na podstawie danych z piśmiennictwa, około 30 gatunków gronkowców koagulazoujemnych było wykazanych z przypadków zapalenia wymienia u bydła. Najczęściej są to: *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. xylosus*, *S. haemolyticus* i *S. epidermidis*. Jednak wiele z niedawno opisanych gatunków tego rodzaju także może być izolowanych od bydła z *mastitis*. Do takich drobnoustrojów należą np. *S. fleurettii* (obecnie *Mammaliicoccus fleurettii*), *S. agnetis*, *S. nepalensis*, *S. microti*, *S. rostri* oraz *S. borealis*. Większość z tych gatunków stwierdzona została również w próbkach mleka od zwierząt z terenu Polski. Planowany wykład ma na celu omówienie właściwości fenotypowych oraz genotypowych wybranych nowo opisanych gatunków gronkowców koagulazoujemnych – potencjalnych patogenów gruczołu mlekowego bydła – wraz z porównaniem skuteczności metod identyfikacji omawianej grupy drobnoustrojów (metody fenotypowe, analiza sekwencyjna genów, MALDI-ToF).

Słowa kluczowe: bydło, *mastitis*, gronkowce koagulazoujemne, 16S rRNA, *dnaJ*, *rpoB*, MALDI-ToF

MONITOROWANIE LEKOOPORNOŚCI ZWIERZĘCYCH IZOLATÓW KLINICZNYCH W EUROPIE – PROGRAMY, SIECI LABORATORIÓW, PLANOWANE DZIAŁANIA

A. Dors

Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Narastająca oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe (Antimicrobial Resistance – AMR) stanowi globalne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Na całym świecie podejmowane są działania mające na celu zahamowanie tego niekorzystnego zjawiska. Również Komisja Europejska przyjęła plan działania na rzecz zwalczania AMR, którego jednym z kluczowych elementów jest monitoring.

Obecnie monitoring AMR w krajach należących do Europejskiego Obszaru Gospodarczego (EOG) prowadzony jest przy pomocy programów, które możemy zakwalifikować do trzech kategorii: programy UE; programy międzynarodowe finansowane przez przemysł oraz krajowe systemy monitoringu.

Obowiązkowy program finansowany przez UE dotyczy odzwierzęcych czynników chorobotwórczych przenoszonych przez żywność (np. *Salmonella*). Jego wprowadzenie pozwoliło na pewną harmonizację monitoringów krajowych oraz uzyskanie spójnych danych na temat AMR bakterii wytwarzających β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) i bakterii wytwarzających karbapenemazy.

Do drugiej kategorii zaliczamy programy takie jak: European Antimicrobial Susceptibility Surveillance in Animals (EASSA), VetPath, ComPath i MycoPath. Są to międzynarodowe programy monitorowania AMR finansowane przez przemysł i skupiające się przede wszystkim na monitoringu AMR bakterii izolowanych od zwierząt służących do produkcji żywności.

W przypadku programów krajowych panuje duża dowolność co do sposobu zbierania danych oraz ich późniejszego raportowania. Tylko 13 z 31 państw EOG systematycznie monitoruje AMR zwierzęcych izolatów klinicznych bakterii. Spośród tych 13 krajów tylko 9 publikuje sprawozdania z tej działalności. Większość z tych programów to systemy biernego monitoringu, które mają pomóc trenowym lekarzom weterynarii wybrać właściwy antybiotyk.

W świetle tego, że w nadchodzących latach kolejne kraje będą tworzyły własne systemy monitoringu proponowane jest utworzenie europejskiej sieci nadzoru oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe w medycynie weterynaryjnej (EARS-Vet). Stawiane przed EARS-Vet cele to: raportowanie sytuacji w zakresie AMR, śledzenie trendów AMR, wykrywanie pojawiających się AMR u wybranych patogenów bakteryjnych zwierząt, a także harmonizacja krajowych programów monitoringu.

W Polsce w 2020 roku przy Sekcji Mikrobiologii Weterynaryjnej PTNW zainaugurowana została inicjatywa ResInVet, która ma na celu zrzeszenie diagnostycznych laboratoriów weterynaryjnych we wspólnej pracy na rzecz ujednolicenia metodologicznego badań AMR bakterii pochodzących od chorych zwierząt oraz zapoczątkowania monitorowania i raportowania wyników AMR.

Słowa kluczowe: środki przeciwdrobnoustrojowe, antybiotykooporność, monitoring, EARS-Vet, ResInVet

ZWALCZANIE SALMONELLA ORAZ URZĘDOWY MONITORING OPORNOŚCI NA SUBSTANCJE PRZECIWBAKTERYJNE

M. Zając¹, M. Skarżyńska¹, R. Kwit¹, A. Śmiałowska-Węglińska¹, A. Lalak¹, E. Skrzypiec¹, E. Mikos-Wojewoda¹, P. Pasim¹, D. Wasyl²

¹Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Zakład Analiz Omicznych, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

Epidemiologia zakażeń *Salmonella* (S.) jest zjawiskiem skomplikowanym, zależnym od serowaru oraz często związanym z konkretnym gatunkiem gospodarza. Główne źródło zakażeń *Salmonella* stanowią produkty pochodzenia zwierzęcego, zwłaszcza mięso drobiowe i jaja. W celu zmniejszenia prawdopodobieństwa zakażeń u ludzi wywołanych uprzednim spożyciem kontaminowanej żywności pochodzenia zwierzęcego wprowadzono szereg regulacji prawnych, mających doprowadzić do spadku częstości występowania *Salmonella* u wybranych gatunków zwierząt. Realizacja wytycznych odbywa się poprzez programy zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach kur hodowlanych, niosek towarowych, brojlerów kurzych, indyków hodowlanych i rzeźnych. Programy te dotyczą serowarów istotnych dla zdrowia publicznego, tj. S. Enteritidis, S. Typhimurium i jednofazowy wariant S. Typhimurium, oraz w odniesieniu do kur hodowlanych dodatkowo S. Infantis, S. Virchow, S. Hadar. Uzupełnieniem programów zwalczania jest oznaczanie *Salmonella* w paszach w ramach Planu Urzędowej Kontroli Pasz oraz realizowany w PIWet-PIB Program Wieloletni, którego zadanie 16 dotyczy występowania *Salmonella* w stadach gęsi, kaczek, u bydła, świń oraz zwierząt towarzyszących.

Oporność bakterii na substancje przeciwbakteryjne jest zjawiskiem, którego skala skłoniła UE do podjęcia próby ograniczenia zużycia i promocji rozsądnego stosowania antybiotyków. Dotyczy to szczególnie klas tzw. krytycznie istotnych z punktu widzenia zdrowia człowieka (CIA – critically important antimicrobials). Badania prowadzone są przy użyciu zharmonizowanej w skali międzynarodowej metodyki oznaczania najmniejszego stężenia hamującego (MIC – minimal inhibitory concentration, ECOFFs – epidemiological cut-off values) i wykonywane przez krajowe laboratoria referencyjne ds. antybiotykooporności zarówno w odniesieniu do bakterii zoonotycznych tj. *Salmonella*, jak i indykatorów, opornych na cefalosporyny oraz karbapenemy *E. coli*.

Realizacja badań w ramach monitoringu potwierdza występowanie oporności u patogenów wywołujących zakażenia pokarmowe ludzi, a oporność wskaźnikowych *E. coli* dowodzi istnienia presji selekcyjnej wynikającej ze stosowania środków przeciwbakteryjnych w chowie zwierząt. Uzyskiwane wyniki dowodzą skali problemu i pozwalają na ocenę związków epidemiologicznych i identyfikacji genetycznych podstaw oporności badanych szczepów.

OPORNOŚĆ NA MUPIROCYNĘ WŚRÓD GRONKOWCÓW WYIZOLOWANYCH OD PSÓW I KOTÓW

M. Kizerwetter-Świda, D. Chrobak-Chmiel, M. Rzewuska, M. Binek

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Mupirocyna jest jednym z niewielu antybiotyków wykazujących aktywność wobec gronkowców opornych na metycylinę. Kategoryzacja antybiotyków stosowanych u zwierząt wprowadzona przez Europejską Agencję Leków (European Medicines Agency, EMA) klasyfikuje ją w grupie A, skupiającej środki przeciwdrobnoustrojowe które w wyjątkowych okolicznościach mogą być stosowane u zwierząt towarzyszących, lecz należy unikać ich stosowania u zwierząt. Początkowo oporność na mupirocynę stwierdzono u *Staphylococcus aureus* wyizolowanych od ludzi, w tym u szczepów MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*), jak również gronkowców koagulazo-ujemnych (coagulase-negative staphylococci, CNS). Obecnie oporność na ten antybiotyk opisywana jest także u gronkowców izolowanych od zwierząt towarzyszących człowiekowi, głównie u metacylioopornych szczepów *Staphylococcus pseudintermedius* oraz CNS. Leczenie zakażeń wywoływanych przez te drobnoustroje jest szczególnym wyzwaniem dla lekarzy weterynarii, ponieważ na ogół cechuje je wielolekooporność. Celem podjętych badań było oznaczenie częstości występowania oporności na mupirocynę wśród szczepów metacylioopornych gronkowców wyizolowanych od psów i kotów w Polsce oraz ustalenie mechanizmu tej oporności.

Materiałem do badań było 188 metacylioopornych szczepów gronkowców wyizolowanych z materiałów klinicznych pochodzących od psów oraz kotów w Laboratorium Diagnostycznym Zakładu Mikrobiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie, w latach 2007-2018. Oporność na mupirocynę badano przy pomocy metody krążkowo-dyfuzyjnej, oraz oznaczając wartość MIC. Obecność genu *ileS2* wykrywano techniką PCR.

Oporność na mupirocynę stwierdzono u 5 spośród 188 (2.6%) badanych szczepów gronkowców opornych na metycylinę. Dwa szczepy rozpoznano jako *S. pseudintermedius*, dwa jako *Staphylococcus haemolyticus* oraz jeden jako *S. aureus*. Oba szczepy zidentyfikowane jako *S. haemolyticus* wyizolowano od kotów, pozostałe pochodziły od psów. Wszystkie badane szczepy cechowały się wartością MIC dla mupirocyny przekraczającą 1034 µg/ml oraz obecnością genu *ileS2*, co potwierdza występowanie oporności typu HLMR.

Uzyskane wyniki wskazują, że oporność na mupirocynę występuje u niewielkiego odsetka szczepów gronkowców opornych na metycylinę pochodzących od zwierząt towarzyszących. Wobec wzrostu częstości izolacji szczepów wielolekoopornych gronkowców, prawdopodobny jest wzrost częstości stosowania mupirocyny i możliwość selekcji szczepów opornych. Uzasadnia to celowość monitorowania oporności na mupirocynę, zwłaszcza wśród gronkowców opornych na metycylinę.

Słowa kluczowe: mupirocyna, lekooporność, *Staphylococcus* spp.

PROFILE OPORNOŚCI CEFOTAKSYMO-OPORNYCH SZCZEPÓW *ESCHERICHIA COLI* WYIZOLOWANYCH OD LISA RUDEGO (*VULPES VULPES*)

M. Osińska, A. Nowakiewicz, S. Gnat, D. Łagowski, A. Trościańczyk

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Zjawisko rozprzestrzeniania się oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe w środowisku zwierząt wolno żyjących jest badane w ostatnich latach na całym świecie. Grupa zwierząt zamieszkujących środowisko dzikie jest szczególnie interesująca ze względu na niski wpływ antropogeniczny. Zwierzęta dzikie jako nie poddawane terapii celowanej, powinny mieć niższy udział szczepów wielolekoopornych, a tym samym dać realne odwzorowanie poziomu oporności występującego w środowisku. Obecnie zwierzęta wolno żyjące mają coraz większy bezpośredni lub pośredni kontakt ze zwierzętami hodowanymi lub domowymi. Fakt ten wynika ze stale powiększającej się populacji ludzkiej oraz postępującej fragmentacji środowisk przyrodniczych. W Polsce to lis rudy (*Vulpes vulpes*) jest powszechnie występującym przedstawicielem zwierząt dziko żyjących. Poprzez głównie pośredni kontakt ze zwierzętami hodowanymi i towarzyszącymi może przyczyniać się do rozpowszechniania genów oporności pomiędzy tymi grupami zwierząt.

W naszych badaniach przeprowadziliśmy analizę profili oporności 37 szczepów *Escherichia coli* wytwarzających β -laktamazy o poszerzonym spektrum działania wyizolowanych od lisa rudego. Fenotypowy profil oporności szczepów określono metodą mikrorozcieńczeń. Za pomocą metody PCR sprawdzono obecność genów oporności na aminoglikozydy, tetracykliny, chinolony, fenikole i sulfonamidy. Prawie 65% izolatów wykazywało profil wielolekooporny. Wiodącym profilem oporności była oporność na ampicylinę (100%), tetracyklinę (64,9%) i sulfametoksazol (51,4%). Odnotowano także wysoki udział szczepów opornych na kwas nalidyksowy (48,6%). Natomiast co piąty szczep był oporny na streptomycynę. Profile oporności zostały w większości przypadków potwierdzone poprzez występowanie odpowiednich genów oporności: genu *tetA* i *sul2*. Siedem izolatów zawierało także geny PMQR, głównie *qnrS* i *qnrB*.

Wysoki udział szczepów wielolekoopornych wskazuje na znaczny poziom oporności u bakterii występujących u zwierząt wolno żyjących pomimo znikomego wpływu antropogenicznego na to środowisko. Obecność genów PMQR oraz genów oporności na aminoglikozydy jest zgodna z wynikami raportu ECDC wskazującego, że w Polsce rośnie udział szczepów *E. coli* opornych na aminoglikozydy, fluorochinolony i cefalosporyny III generacji. Nasze badania potwierdzają, że *E. coli* jest rezerwuarem genów oporności, które mogą być przenoszone na inne bakterie i przyczyniać się do obniżenia skuteczności leczenia w medycynie ludzkiej i zwierzęcej.

Słowa kluczowe: *E. coli*, oporność, PMQR, środki przeciwdrobnoustrojowe, zwierzęta wolno żyjące

Badania finansowane z dotacji MNiSW dla młodych naukowców: WKD/MN-1/19.

KOAGULAZO-UJEMNE GRONKOWCE IZOLOWANE OD ZWIERZĄT – NIEDOCENIANE ZAGROŻENIE

M. Miszczak¹, A. Korzeniowska-Kowal², A. Wzorek², A. Gamian², K. Rypuła¹, P. Prorok³, D. Ściebura³, K. Bierowiec¹

¹Zakład Chorób Zakaźnych i Administracji Weterynaryjnej, Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirsfelda Polskiej Akademii Nauk, Wrocław, Polska

³Studenckie Koło Naukowe EZA, Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

W przypadku gronkowców (*Staphylococcus* spp.), narastająca oporność stanowi szczególne zagrożenie ze względu na powszechne występowanie tych bakterii w środowisku naturalnym oraz u ludzi i zwierząt. Częste utrzymywanie zwierząt w domach wiąże się z potencjalnym ryzykiem kolonizacji krzyżowej ludzi i zwierząt tymi samymi gatunkami bakterii oraz możliwością horyzontalnego transferu genów determinujących ich zjadliwość. Celem pracy była charakterystyka epidemiologiczna szczepów gronkowców koagulazo-ujemnych (CoNS) izolowanych od psów i kotów oraz określenie ich oporności na metycylinę.

Badaniu bakteriologicznemu poddano 1644 wymazów pozyskanych od 161 kotów oraz 113 psów. Od każdego zwierzęcia pobrano wymazy z sześciu lokalizacji anatomicznych. Wykonano badanie mikrobiologiczne, test próbówkowy na wytwarzanie koagulazy wolnej i badanie metodą spektrofotometrii mas (MALDI-TOF MS) w celu identyfikacji gatunkowej gronkowców. Oporność na metycylinę badano metodą MIC zgodnie z wytycznymi CLSI M100 ED31:2021 Standards (2021).

Niemal 82% badanych zwierząt było nosicielem przynajmniej jednego gatunku z rodzaju *Staphylococcus*. Najczęściej izolowanymi CoNS w grupie badanych kotów były *S. felis* (44.09%; CI 95%, 37.80–50.01%), *S. epidermidis* (43.31%; CI 95%, 37.01–49.21%), *S. warneri* (19.13%; CI 95%, 16.28–21.98%), a w przypadku psów *S. epidermidis* (27%; CI 95%, 22.19–31.83%), *S. saprophyticus* (10.29%; CI 95%, 7.07–13.83%), *S. haemolyticus* (9.8%; CI 95%, 7.04–12.81%). Oporność na metycylinę wykazało 17.86% (CI 95%, 14.07–21.65%) izolatów koagulazo-ujemnych, podczas gdy jedynie 1.93% (CI 95%, 0.06–3.81%) gronkowców koagulazo-dodatnich było opornych. Najwyższą prewalencję szczepów metycylinoopornych wykazano w przypadku *S. saprophyticus* (75.00%; CI 95%, 53.78–96.22%), *S. haemolyticus* (38.71%; CI 95%, 21.56–55.86%) oraz *S. epidermidis* (25.64%; CI 95%, 17.73–33.55%).

Gronkowce koagulazo-ujemne powszechnie występują u zwierząt. Niektóre z nich częściej niż inne kolonizują wybrane okolice ciała badanych psów i kotów. Z uwagi na częstość występowania tych gronkowców u zwierząt towarzyszących człowiekowi oraz wyraźną tendencję do nabywania przez nie lekooporności, należy monitorować oporność również w tej grupie drobnoustrojów.

Słowa kluczowe: *Staphylococcus*, gronkowce, psy, koty, metycylinooporność, lekooporność

Praca finansowana przez Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu z projektu badawczego o numerze N020/0005/20, w ramach programu "Bon doktoranta Szkoły Doktorskiej UPWr".

WYSTĘPOWANIE *PASTEURELLA MULTOCIDA* Z OTOCZKĄ TYPU A U ŻUBRÓW W POLSCE

A. Kędrak-Jabłońska¹, S. Budniak¹, M. Krzysiak², M. Larska³, A. Szczawińska¹, M. Reksa¹, M. Krupa¹, K. Szulowski¹

¹Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

²Białowiecki Park Narodowy, Białowieża, Polska; Instytut Nauk Leśnych, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Politechnika Białostocka, Białystok, Polska

³Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Pasteurella multocida jest ważnym zwierzęcym patogenem. Drobnoustroj ten może być pierwotnym lub wtórnym czynnikiem w procesach chorobowych występujących u domowych oraz dzikich ssaków i ptaków, może również występować jako komensal w okolicy nosowo-gardłowej klinicznie zdrowych zwierząt. Gatunek jest zmienny i złożony pod względem odmian antygenowych, predylekcji do gospodarza oraz patogenności. Pewne typy serologiczne są etiologicznymi czynnikami ciężkich paste-reloz, takich jak cholera drobiu, posocznica krwotoczna bydła i zakaźne zanikowe zapalenie nosa u świń. *P. multocida* bierze także udział w polietiologicznych schorzeniach układu oddechowego u cieląt.

Celem badań było stwierdzenie obecności *P. multocida* w materiale klinicznym pochodzącym od żubrów w Polsce.

Materiał do badań stanowiły narządy wewnętrzne, które pochodziły od żubrów padłych lub eliminowanych w latach 2013 – 2020. Próbkę do badań bakteriologicznych posiewano na agar z dodatkiem 5% krwi końskiej oraz podłoże McConkeya. Właściwości fizjologiczne i biochemiczne badano testem API 20E bioMérieux oraz metodami tradycyjnymi według ogólnie przyjętych zasad. W celu oznaczenia podgatunków *P. multocida* szczepy wysiewano na płynne podłoże zawierające dulcytol, ksylozę, trehalozę i maltozę. Wykonywano również test multiplex PCR (OIE Terrestrial Manual 2021) pozwalający na równoczesną identyfikację gatunku oraz określenie typów otoczkowych A, B, D lub F.

Z narządów wewnętrznych padłych oraz eliminowanych żubrów wyosobniono czternaście izolatów *P. multocida*. Jedenaście z nich wyizolowano od zwierząt z hodowli wolnej z Puszczy Białowiejskiej oraz po jednym z Puszczy Boreckiej, z Leśnictwa Rosochate w Bieszczadach oraz ze Smardzewic. Na podstawie przeprowadzonych badań, zgodnie z kryteriami Muttersa i wsp. oraz Bisgaarda i wsp., wszystkie badane izolaty zostały zakwalifikowane do podgatunku *P. multocida* subsp. *multocida*. W reakcji multiplex PCR potwierdzono przynależność szczepów do gatunku oraz stwierdzono obecność otoczki typu A. U wszystkich zwierząt, u których występowała *P. multocida*, sekcynie stwierdzono zmiany anatomopatologiczne w układzie oddechowym.

Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie obecności drobnoustrojów *P. multocida* posiadających otoczkę typu A u żubrów w Polsce.

Słowa kluczowe: *Pasteurella multocida*, pastereloza, PCR, żubr

POŁOŻENIE LOCUS ALFA-HEMOLIZYNY W GENOMIE JEST ZWIĄZANE Z PROFIEM CZYNNIKÓW WIRULENCJI U *ESCHERICHIA COLI*

R. Kolenda¹, K. Sidorczuk², M. Noszka³, A. Aleksandrowicz¹, M. Khan⁴, D. Pickard⁵, P. Schierack⁴

¹Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

²Zakład Bioinformatyki i Genomiki, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polska

³Zakład Mikrobiologii, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda, Wrocław, Polska

⁴Institute of Biotechnology, BTU Cottbus-Senftenberg, Germany

⁵Cambridge Institute for Therapeutic Immunology & Infectious Disease, University of Cambridge, United Kingdom

W literaturze zostało opisanych 5 hemolizyn u *E. coli*. Od momentu odkrycia hemolizy próbowano wyjaśnić rolę tego fenotypu u *E. coli* i jego związek z jednostkami chorobowymi, występowaniem innych czynników wirulencji oraz rolę hemolizyn w patogenezie, jednak wyniki badań były często niejednoznaczne. Powodem takich obserwacji mogła być liczba próbek lub ograniczony i niespójny dobór czynników wirulencji do badań, dlatego w tym projekcie wykorzystano zwiększone możliwości badawcze spowodowane rozwojem sekwencjonowania nowej generacji i określono profil czynników wirulencji związanych z występowaniem alfa-hemolizyny.

W tym celu dokonano sekwencjonowania 81 hemolitycznych i 139 niehemolitycznych szczepów *E. coli*. Następnie, zbadano występowanie czynników wirulencji z wykorzystaniem bazy VFDB i analizy GWAS oraz zmienność sekwencji wybranych adhezyn z wysoką prevalencją. Aby sprawdzić czy uzyskane wyniki są stałe dla izolatów *E. coli* z różnych regionów świata pobrano 1044 genomów hemolitycznej *E. coli* i 2257 genomów niepatogennej *E. coli* z Bazy GenBank. Następnie dokonano analiz występowania toksyn, adhezyn i czynników związanych z pobieraniem żelaza oraz określono położenie *locus* alfa-hemolizyny w genomie.

Analiza występowania czynników wirulencji i GWAS wykazały wysoką prevalencję genów kodujących adhezyny, systemy pobierania żelaza oraz toksyny u bakterii hemolitycznych. Ponadto, porównanie sekwencji adhezyn FimH, EcpD i CsgA wykazało obecność innych wariantów adhezyn, co wskazuje na inne zdolności adhezyjne u hemolitycznych i niehemolitycznych *E. coli*. Porównanie ponad 1000 genomów hemolitycznej *E. coli* wykazało, że grupa ta jest zmienna genetycznie i antygenowo, ale występowanie poszczególnych czynników wirulencji jest związane z położeniem *locus* alfa-hemolizyny w genomie. Hemolityczna *E. coli* z alfa hemolizyną kodowaną na chromosomie charakteryzowała się wysokim występowaniem fimbrii P, S i Auf oraz systemów pobierania żelaza Fec, Sit, Bfd, aerobaktyny, yersiniabaktyny i salmocheliny. Natomiast hemolityczna *E. coli* z hemolizyną kodowaną przez plazmid była częściej izolowana od zwierząt, posiadała wysoką prevalencję fimbrii Stg, Yra, Ygi, Ycb, Ybg, Ycf, F9, adhezyn Paa i Lda, intyminy oraz genów kodujących system sekrecyjny typu trzeciego, co było podobne do profilu genomów niepatogennej *E. coli*.

WPŁYW ADHEZYNY FDEC I ZMIENNOŚCI JEJ STRUKTURY PIERWSZORZĘDOWEJ NA PRZYLEGANIE *ESCHERICHIA COLI* PATOGENNEJ DLA DROBIU (APEC) DO KOMÓREK NABŁONKA JELITA

A. Aleksandrowicz, R. Kolenda

Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Przyleganie bakterii do komórek gospodarza jest warunkowane obecnością adhezyn i ich interakcji z receptorami na powierzchni tych komórek. FdeC jest adhezyną nefimbrialną, która należy do grupy adhezyn intymino-podobnych. Badania przesiewowe z wykorzystaniem biblioteki 2000 mutantów transpozonowych APEC szczepu referencyjnego IMT5155 wykazały, że insercja transpozonowa w genie *fdeC* powoduje wzrost adhezyności mutantu do komórek nabłonka. Biorąc pod uwagę te wyniki, celem przedstawionych badań było określenie roli FdeC w adhezji APEC do komórek nabłonka jelita oraz częstości występowania i zmienności sekwencji FdeC u APEC oraz niepatogennej *E. coli*.

Do badań wykorzystano APEC szczep IMT5155 oraz utworzono mutantu z delecją genu *fdeC* w tymże szczepie. Gen *fdeC* został wklonowany do plazmidu ekspresyjnego pBAD33 w celu komplementacji delecji. Testy adhezyjne wykonywano z wykorzystaniem komórek nabłonka jelita kurzego CHIC-8E11. Indukcję ekspresji FdeC w szczepie IMT5155 badano z wykorzystaniem systemu reporterowego opartego o metkę hemaglutyninową i western blotting. Szczepy APEC wykorzystano także do badania ruchliwości na agarze półpłynnym. Ponadto, wykonano analizę bioinformatyczną występowania i zmienności struktury pierwszorzędowej FdeC w 573 genomach APEC i 3069 genomach niepatogennych *E. coli*.

Testy adhezyjne na szczepie dzikim IMT5155 i mutancie delecyjnym genu *fdeC* przeprowadzone w 37°C nie wykazały różnic w adhezji, dlatego zbadano jakie warunki indukują ekspresję FdeC. Badania z wykorzystaniem systemu reporterowego wykazały, że adhezyna ta ulega największej ekspresji w 42°C, dlatego takie warunki zostały wykorzystane w kolejnych eksperymentach. Testy z komórkami CHIC-8E11 wykazały podwyższoną adhezję mutantu delecyjnego *fdeC*. Fenotyp ten został odwrócony przy komplementacji z użyciem plazmidu pBAD33. Testy ruchliwości wykazały, że mutant z delecją *fdeC* wykazuje większą ruchliwość niż szczep dziki. Analiza bioinformatyczna wykazała różnicę w występowaniu *fdeC* w genomach APEC i niepatogennych *E. coli*. Analizowane grupy różniły się także strukturą pierwszorzędową FdeC. Testy adhezyjne z wykorzystaniem szczepu IMT5155 z ekspresją wariantów FdeC ze szczepu IMT5155 i szczepu niepatogennego wykazały różnice w poziomie adhezji do komórek CHIC-8E11. Powyższe wyniki wskazują, że ekspresja FdeC ma wpływ na regulację ekspresji lub funkcjonalność flagelli.

CZYNNIKI WIRULENCJI I ZDOLNOŚĆ DO WYTWARZANIA BIOFILMU U *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

A. Blank, P. Foksiński, E. Kaczorek-Łukowska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Infekcje wywołane przez *Pseudomonas aeruginosa*, występują zarówno w medycynie ludzkiej jak i weterynaryjnej. Spowodowane jest to tym, iż bakteria ta dość powszechnie występuje w środowisku, skąd najczęściej dochodzi do zakażeń zwierząt zarówno towarzyszących jak i gospodarskich. W przypadku tych pierwszych *P.aeruginosa* najczęściej odpowiedzialny jest za zakażenia przyranne, infekcję górnych dróg oddechowych czy infekcje układu płciowo-moczowego, natomiast w przypadku zwierząt gospodarskich raczej kojarzone są z zapaleniem wymienia. Najczęściej w zakażeniach wywołanych przez *P.aeruginosa* stosowana jest antybiotykoterapia, niestety poprzez nadużywanie tych substancji czynnych oraz stosowanie nieukierunkowanych terapii coraz częściej obserwuje się szczepy wielolekooporne. W kontekście antybiotykkooporności coraz częściej mówi się o roli biofilmu, gdyż może on znacząco utrudnić leczenie. Ponieważ ta bakteria ma znaczenie zarówno u ludzi jak i u zwierząt, monitoring jej czynników zjadliwości jest niezwykle ważny, gdyż w przyszłości wiedza ta może umożliwić to opracowanie nowych, ukierunkowanych programów prewencyjnych.

Celem tej pracy było określenie obecności wybranych genów związanych z czynnikami wirulencji oraz określenie zdolności do tworzenia biofilmu wśród szczepów *P.aeruginosa* wyizolowanych od różnych gatunków zwierząt z terenu północno-wschodniej Polski.

Do badania użyto szczepy *P.aeruginosa* (n=98), wyizolowane od różnych gatunków zwierząt. Geny związane z wirulencją (*toxA*, *algD*, *exoS*, *lasB*, *pelA*, *plcN*, *endA*) oznaczano przy użyciu metody PCR. Badanie zdolności wytwarzania biofilmu przeprowadzono według Ebrahimi et al. 2013 z drobnymi modyfikacjami. Wyniki odczytywano po 48 i 72 godzinach, a interpretacji dokonywano zgodnie z Stephanovic et al. 2007.

Większość analizowanych szczepów wykazała się zdolnością do produkcji biofilmu zarówno po 48 jak i 72 godzinach (ponad 90%). Pośród analizowanych szczepów potwierdzono występowanie wszystkich analizowanych genów. Najczęściej występującymi genami były *lasB* (94%), *pelA* (100%) i *endA* (95%). Otrzymane wyniki sugerują, że biofilm może odgrywać ważną rolę w patogenezie infekcji wywołanych przez *P.aeruginosa* u różnych gatunków zwierząt, nie mniej dalsze badania w tym kierunku powinny być wykonane.

Słowa kluczowe: *Pseudomonas aeruginosa*, biofilm, PCR, wirulencja

BAKTERIOCYN *ENTEROCOCCUS FAECIUM* I *E. FAECALIS* JAKO ALTERNATYWA W ZWALCZANIU KLUCZOWYCH DLA ZDROWIA PUBLICZNEGO BAKTERII

A. Trościańczyk, A. Nowakiewicz, D. Łagowski, S. Gnat, M. Osińska

Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Celem pracy była molekularna charakterystyka i analiza aktywności bakteriocyn produkowanych przez *Enterococcus faecalis* i *E. faecium* w stosunku do kluczowych dla zdrowia publicznego szczepów bakterii tj.: metycylinooporne *Staphylococcus aureus* (MRSA), wankomycynooporne *Enterococcus* (VRE), *Enterococcus* oporne na wysokie stężenia antybiotyków aminoglikozydowych (HLAR), *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus agalactiae*.

Selekcja *Enterococcus* produkujących bakteriocyny została przeprowadzona metodą zalewową. Szczepy *Enterococcus* hamujące wzrost drobnoustrojów testowych badano pod kątem występowania genów kodujących bakteriocyny: enterocyna mr10A/B (mr10AB), enterocyna P (entP), enterocyna A (entA), enterocyna B (entB), enterocyna Xα/Xβ (enxAB), bakteriocyna T8 (bacA), mundticyna KS (munA) techniką PCR, a następnie przeprowadzono analizę sekwencji.

Spośród 270 przebadanych szczepów 43% cechowała produkcja substancji o działaniu przeciwbakteryjnym (26% *E. faecium*, 65% *E. faecalis*). Najwyższą aktywność hamującą wzrost drobnoustrojów uzyskano w stosunku do szczepu *E. faecalis* HLAR/VRE (95%), zaś najniższą dla *S. agalactiae* (26%). Żaden z testowanych *Enterococcus* nie wykazywał aktywności hamującej wzrost szczepu MRSA. Istotne statystycznie różnice w poziomie aktywności przeciwdrobnoustrojowej pomiędzy *E. faecalis* i *E. faecium* wykazano w stosunku do *L. monocytogenes* i *S. agalactiae* ($p < 0,05$). Analiza molekularna wykazała obecność przynajmniej jednego genu kodującego bakteriocynę u 66% szczepów (90% *E. faecium*, 53% *E. faecalis*), z czego najczęściej występującym wśród *E. faecium* był *entA* (85%), zaś wśród *E. faecalis* *enxAB* i *entB* (19%). Nie stwierdzono obecności genów kodujących mr10AB, *bacA* i *munA*. *E. faecium* charakteryzowała częstsza obecność kilku genów kodujących bakteriocyny w obrębie jednego izolatu w porównaniu do *E. faecalis* (obecność więcej niż 2 bakteriocyn stwierdzono u 92% *E. faecium* i 22% *E. faecalis*; $p > 0,05$).

Wyniki prezentowanych badań potwierdzają, że bakteriocyny produkowane przez *E. faecium* oraz *E. faecalis* mogą stanowić alternatywę dla antybiotyków w kontroli rozprzestrzeniania się niebezpiecznych dla zdrowia człowieka i zwierząt patogenów opornych na działanie leków antybakteryjnych.

ANALIZA PORÓWNAWCZA AKTYWNOŚCI *IN VITRO* LEKÓW AZOLOWYCH NOWEJ GENERACJI WOBEC IZOLATÓW *MICROSPORUM CANIS* UZYSKANYCH OD ASYMPTOMATYCZNYCH KOTÓW

D. Łagowski, S. Gnat, A. Trościańczyk, A. Nowakiewicz

Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

Dermatofitoza jest chorobą zakaźną, która dotyka obecnie około 25% populacji na świecie. Dane epidemiologiczne wskazują, że niemal połowę tych zakażeń u ludzi stanowią zoonozy. W tym kontekście istotnym i wciąż słabo określonym rezerwuarem patogenów są zwierzęta asymptomatyczne. *Microsporum canis* to zoofilny dermatofit, który jest wysoce transmisyjny. Częstość występowania infekcji powodowanych przez *M. canis* u zwierząt jest zwykle wyższa u kotów niż u psów, a ponad 90% dermatomykoz u kotów i 75% u psów jest z nim związana. Natomiast wysoka częstość występowania zakażeń *M. canis* u ludzi jest związana z dużą liczbą psów i kotów trzymanych w mieszkaniach. Bezobjawowo zakażone koty uważa się za krytyczny czynnik w epidemiologii. Szacuje się, że aż 50% ludzi mających kontakt z nosicielami, zwłaszcza z kotami, może zostać zarażonych.

Leczenie dermatofitoz prowadzone jest najczęściej za pomocą leków alliloaminowych. Jednak, ze względu na coraz szerzej notowaną oporność na te leki, a szczególnie na terbinafinę, dynamicznie rozwijaną grupę stanowią azole. W ostatnich latach zsyntetyzowano m.in. sertakonazol, lanokonazol, lulikonazol, eberkonazol, efinakonazol, parmikonazol.

Analiza *in vitro* wrażliwości tych substancji przeprowadzona według protokołu CLSI M38ed3 wobec izolatów *M. canis* uzyskanych od asymptomatycznych kotów ujawniła znaczne zróżnicowanie ich efektywności. Najaktywniejszymi lekami przeciwko *M. canis* były sertakonazol, lanokonazol i eberkonazol, a następnie lulikonazol, parmikonazol i efinakonazol w kolejności malejącej aktywności. Istotne jest, że średnie wartości MIC sertakonazolu były statystycznie niższe niż te obserwowane dla *M. canis* izolowanego od kotów z symptomatycznymi dermatofitozami. Ponadto oznaczone zakresy MIC lanokonazolu i eberkonazolu były niższe niż uzyskiwane dla *M. canis* pozyskanego od kotów symptomatycznych i ludzi z *tinea corporis*, którzy zarazili się od kotów.

Podsumowując, stwierdzenie wysokiej aktywności *in vitro* nowych leków azolowych wobec *M. canis* może zaowocować efektywniejszymi terapiami wobec zwierząt o statusie nosicielstwa. Należy jednak pamiętać, że wysoka skuteczność najprawdopodobniej wynika ze zbyt krótkiego czasu od wdrożenia do użycia tych substancji, aby mogła wytworzyć się tolerancja.

Słowa kluczowe: dermatofity, *Microsporum canis*, leczenie, azole

Badania finansowane z projektu Młodzi Naukowcy: WKD/MN-2/WET/21.

OKREŚLENIE WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWWIRUSOWYCH KOMPOZYTU TLENKU GRAFENU Z NANOCZĄSTKAMI SREBRA – BADANIA MODELOWE Z WYKORZYSTANIEM MYSIEGO KORONAWIRUSA (MHV-JHM)

J. Cymerys¹, A. Słońska¹, M. Bartak¹, A. Lange², S. Jaworski², E. Sawosz-Chwalibóg²,
M. W. Bańbura¹

¹Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Instytut Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Obraz ludzkich koronawirusów jako stosunkowo niegroźnych patogenów zmienił się wraz z pojawieniem się w 2002 roku koronawirusa SARS-CoV-1. Wysoka zakaźność patogenu doprowadziły do znaczącego wzrostu zainteresowania podrodziną *Coronavirinae*, aczkolwiek trudno zignorować fakt, że prace nad nowymi lekami/terapiami przeciwwirusowymi nie zostały niejednokrotnie doprowadzone nawet do etapu badań przedklinicznych. Cenę tego zaniedbania płaci teraz populacja na całym świecie, gdyż żyjemy w czasie pandemii nowego szczepu wirusa SARS-CoV-2.

W kontekście pandemii wywołanej przez SARS-CoV-2, doskonałym modelem do testowania nowych terapii przeciwwirusowych okazał się zwierzęcy przedstawiciel betakoronawirusów – MHV (mouse hepatitis virus). W niniejszej pracy zbadano właściwości przeciwwirusowe tlenku grafenu (GO) i nanocząstek srebra (AgNPs) oraz ich kompozytów na modelu *in vitro*: koronawirus (MHV-JHM) - hodowla mysich hepatocytów (klon NCTC 1469).

Zasada badania opierała się na określeniu miana zakaźnego wirusa (TCID₅₀) metodą Spearmana-Kärbera w hodowli hepatocytów inkubowanych z GO, Ag oraz ich kompozytów (GO-Ag) w różnych kombinacjach stężeń: (i) Ag 3 ppm i 10 ppm; (ii) GO 3 ppm i 10 ppm; (iii) kompozyt Ag 3 ppm i GO 3 ppm; (iv) kompozyt Ag 3 ppm i GO 10 ppm; (v) kompozyt Ag 10 ppm i GO 3 ppm; (vi) kompozyt Ag 10 ppm i GO 10 ppm i (vii) kompozyt Ag 25 ppm o GO 5 ppm. W celu ustalenia stężeń AgNPs i GO wykonano testy cytotoksyczności (XTT). Przeprowadzono również obserwacje morfologii i określono żywotność komórek w hodowli zakażonych MHV-JHM i poddanych działaniu nanokompozytów w czasie rzeczywistym, przy użyciu systemu JuliBr™. Obecność antygeny wirusowego wykrywano przy użyciu immunofluorescencji bezpośredniej (mikroskopia konfokalna).

Przeprowadzone badania wykazały, iż: (i) nanocząstki srebra (Ag) 3 i 10 ppm spowodowały istotną redukcję miana wirusa MHV-JHM, w granicach 2,5 logarytmu; (ii) nanocząstki tlenku grafenu (GO) 3 i 10 ppm nie spowodowały redukcji miana wirusa MHV-JHM; (iii) wszystkie badane kompozyty spowodowały redukcję miana wirusa w granicach 2- 2,5 logarytmu (iv) najsilniejsze działanie przeciwwirusowe wykazał kompozyt 25 ppm AgNPs i 5 ppm GO (spadek miana o 4,5 logarytmu).

Uzyskane wyniki pozwalają wysunąć wniosek, iż połączenie nano-cienkich płatków GO z nanocząstkami Ag w kompozyt wzmacnia jego przeciwwirusowe działanie, co może znaleźć potencjalne zastosowanie jako preparat wirusobójczy.

Słowa kluczowe: koronawirus, MHV-JHM, tlenek grafenu, nanocząstki srebra

Badania finansowane przez NCBIR - METAGRAFEN (projekt nr SZPITALEJEDNOIMIENNE/23/2020).

BADANIE ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI PRZY POMOCY AUTOMATYCZNEGO SYSTEMU DO OZNACZEŃ – BADANIE PILOTAŻOWE

M. Żychska¹, L. Witkowski¹, T. Nowak², A. Kwieciński², K. Wódz², S. Smulski³, P. Kwieciński²

¹Samodzielny Zakład Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Vet-Lab Brudzew, Polska

³Katedra Chorób Wewnętrznych i Diagnostyki, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Antybiotykooporność (ang. antimicrobial resistance – AMR) bakterii jest ciągle rosnącym zagrożeniem dla zdrowia ludzi i zwierząt. Ma ona szczególnie znaczenie z punktu widzenia strategii One Health i tych antybiotyków, które mogą być wykorzystywane na masową skalę u zwierząt gospodarskich, a równocześnie są koniecznym elementem terapii poważnych zakażeń u ludzi. Celem niniejszego badania było sprawdzenie przydatności automatycznego systemu oznaczania lekowrażliwości z użyciem standardowych płytek do określania wartości MIC wybranych chemioterapeutyków dla końskich izolatów należących do różnych rodzajów.

W badaniu wykorzystano szczepy bakteryjne pochodzące z próbek materiału klinicznego pochodzącego od koni, wyizolowane i zidentyfikowane w komercyjnym laboratorium mikrobiologicznym. Badanie lekowrażliwości badanych szczepów wykonano z użyciem Thermo Scientific™ Sensititre™ ID/AST System. Do badania szczepów *Pseudomonas* spp. (4), *Staphylococcus* spp. (1), *Alcaligenes* spp. (1), *Streptococcus* spp. (4) użyto uniwersalnego panelu (płytki) rekomendowanego przez producenta dla patogenów końskich. Natomiast w przypadku szczepu *Escherichia coli* zastosowano płytkę dedykowaną temu gatunkowi bakterii. Oznaczenie przeprowadzono zgodnie ze wskazaniem producenta systemu. W przypadku oznaczeń dla *E. coli*, mniejsza liczba antybiotyków o szerszym zakresie badanych stężeń na płytce pozwoliła na dokładniejsze określenie wartości MIC. Z kolei, uniwersalna płytka dedykowana oznaczeniom dla patogenów końskich w panelu antybiotyków zawiera również takie, które nie mają znaczenia klinicznego w terapii zakażeń u koni, i tym samym zbyt mały jest zakres badanych stężeń tych antybiotyków, które odgrywają istotną rolę w ich leczeniu.

Biorąc pod uwagę wyniki tego badania pilotażowego, wskazane jest opracowanie nowego panelu (płytki), w którym zawarte zostaną wyłącznie antybiotyki o dużym znaczeniu klinicznym w przypadku terapii zakażeń wywołanych u koni przez ważne patogeny takie, jak *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. i *Rhodococcus* spp. Z uzyskanych danych wynika, że należy także zmienić oznaczane stężenia poszczególnych antybiotyków, tak, aby ich zakresy odpowiadały aktualnej wiedzy na temat kryteriów interpretacji wyników, a także lekooporności badanych patogenów końskich.

Słowa kluczowe: antybiotykooporność, choroby zakaźne, medycyna koni

Badanie częściowo finansowane przez: Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, decyzja 9506/E-385/R/2018.

ZASTOSOWANIE METODY REAL-TIME PCR DO WYKRYWANIA *BACILLUS ANTHRACIS*, *BRUCELLA* SPP., *BURKHOLDERIA MALLEI*, *FRANCISELLA TULARENSIS* ORAZ *YERSINIA PESTIS*

S. Budniak, A. Kędrak-Jabłońska, M. Krupa, J. Złotnicka, A. Szczawińska, M. Rekxa, B. Wasiński, K. Szulowski

¹Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Bacillus anthracis, *Brucella* spp., *Burkholderia mallei*, *Francisella tularensis* i *Yersinia pestis* mogą być przyczyną węgliką, brucelozy, nosacizny, tularemii i dżumy u zwierząt, jak i u ludzi. Według Centers for Disease Control and Prevention (CDC) *B. anthracis*, *F. tularensis* i *Y. pestis* ze względu na łatwość ich rozprzestrzeniania i wysoką śmiertelność należą do czynników bioterrorystycznych kategorii A. Natomiast *Brucella* spp. i *B. mallei* charakteryzujące się umiarkowaną łatwością rozprzestrzeniania, umiarkowaną zachorowalnością i niską śmiertelnością są zaliczone do kategorii B.

Celem badań było opracowanie optymalnych metod przygotowania matrycowego DNA oraz testów Real-time PCR do wykrywania wymienionych drobnoustrojów.

Do badań użyto po siedem szczepów *B. anthracis* i *Brucella* spp., trzy szczepy *B. mallei*, a także po cztery szczepy *F. tularensis* i *Y. pestis*. Dodatkowo przy ocenie swoistości testów wykorzystano szczepy innych gatunków drobnoustrojów. Izolację DNA przeprowadzono metodą gotowania oraz przy użyciu zestawu DNeasy Blood and Tissue Kit, Qiagen, USA. W oparciu o dane z piśmiennictwa wybrano sekwencje starterów do amplifikacji (Matero i wsp., 2010, Tomaso i wsp., 2004).

W etapie wstępnym dokonano optymalizacji warunków wszystkich reakcji multiplex Real-time PCR. Następnie opracowano testy Real-time PCR z wykorzystaniem sond MGB oraz typu TaqMan. Reakcje umożliwiły wykrywanie genu *Pag* zlokalizowanego w DNA plazmidu pXO1 i genu *cap* zlokalizowanego w DNA plazmidu pXO2 szczepów *B. anthracis*, genu IS711 *Brucella* spp., genu *23kDa* *F. tularensis*, genu *flipP* *B. mallei* oraz genu *pla* *Y. pestis*. Określono czułość i swoistość opracowanych reakcji. W przypadku wszystkich testów Real-time PCR wykazano wysoki współczynnik regresji wynoszący 0,99, który wskazuje na wysoki stopień liniowości reakcji.

Następnie opracowano multiplex Real-time PCR pozwalający na równoczesne wykrywanie genu *pag* i genu *cap* szczepów *B. anthracis*. W kolejnym dwóch reakcjach stwierdzano obecność *Brucella* spp. i *F. tularensis*, a także *B. mallei* i *Y. pestis*.

Opracowane testy Real-time PCR pozwoliły na wykrycie badanych genów na podstawie obserwacji krzywych amplifikacji. Wszystkie reakcje charakteryzowały się znaczną czułością i wysoką swoistością.

Słowa kluczowe: *Bacillus anthracis*, *Brucella* spp., *Burkholderia mallei*, *Francisella tularensis*, *Yersinia pestis*, Real-time PCR

AUTOMATYZACJA WYSOKOPRZEPUSTOWEGO SEKWENCJONOWANIA W OBSZARZE DIAGNOSTYKI WETERYNARYJNEJ I NADZORU NAD BEZPIECZEŃSTWEM ŻYWNOŚCI

E. Iwan, A. Giza, D. Wasyl

Zakład Analiz Omicznych, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy (PIWet-PIB) w 2017 r. rozpoczął wdrażanie sekwencjonowania wysokoprzepustowego (HTS) w obszarze diagnostyki weterynaryjnej i nadzoru nad bezpieczeństwem żywności. Aby sprostać rosnącemu zapotrzebowaniu na wysokoprzepustowe sekwencjonowanie podjęto decyzję o automatyzacji kluczowych etapów tego badania. Wydajność procedury ekstrakcji DNA/RNA zwiększono przez wykorzystanie automatycznej stacji do izolacji, wspomaganej przez system pomiaru stężeń. Umożliwiło to szybszą i efektywniejszą ekstrakcję materiału genetycznego o wysokiej jakości. Dzięki zaadaptowaniu stacji pipetującej do istniejących protokołów, etap przygotowania bibliotek do sekwencjonowania również został w pełni zautomatyzowany. Pozwoliło to na standaryzację procedury i skrócenie czasu jej wykonania o połowę. Sam proces sekwencjonowania został usprawniony przez doposażenie laboratorium w sekwenator o wyższej przepustowości. Pozwoliło to na zwiększenie możliwości analitycznych oraz podjęcie nowych kierunków badawczych z zakresu sekwencjonowania pełnych genomów organizmów (WGS), czy szeroko pojętej metagenomiki.

Wykorzystując podejście WGS, w PIWet-PIB aktualnie wykonuje się m.in.: typowanie genetyczne, analizy filogenetyczne i badania epidemiologiczne patogenów (np. *Salmonella spp.*, VTEC, *L. monocytogenes*, *Campylobacter spp.*, *Aeromonas spp.*, *Shewanella spp.*). Oznaczane są markery genetyczne (np. geny oporności, wirulencji, czy plazmidy). Rozwijane są metody genetyczne służące kontroli jakości szczepionek weterynaryjnych. Sekwencjonowanie próbek metagenomicznych wykorzystywane jest do identyfikacji i charakterystyki wirusów (wirus zakaźnego zapalenia oskrzeli ptaków - IBV, wirus białaczki bydła - BLV, grypa ptaków, SARS-CoV-2 u norek), oceny ich zmienności genetycznej czy ewolucji. Analizy metagenomiczne są również wykorzystywane do charakterystyki mikrobiomu bakteryjnego w kontekście onkologii, zdrowia zwierząt i produkcji żywności.

Podsumowując, automatyzacja sekwencjonowania wysokoprzepustowego wiązała się z: koniecznością zakupu nowych urządzeń, dodatkowymi nakładami pracy i czasu potrzebnymi na optymalizację protokołów badawczych oraz szkolenie personelu. Jednak pozwoliła na dwukrotne zwiększenie przepustowości laboratorium, ujednolicenie procedur, skrócenie czasu przygotowania próbek i podjęcie nowych kierunków badań.

PROFILE LEKOWRAŻLIWOŚCI I WIRULENCJI SZCZEPÓW *ESCHERICHIA COLI* IZOLOWANYCH OD GADÓW HODOWLANYCH

M. Dec, D. Stępień-Pyśniak, K. Szczepaniak, A. Puchalski, R. Urban-Chmiel

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

W ostatnich obserwuje się wzrost zainteresowania hodowlą gadów egzotycznych w Polsce. Niestety obok uroków terrarystyki pod uwagę należy brać także potencjalne zagrożenie zdrowotne na jakie mogą być narażenie hodowcy tych zwierząt. Wielu autorów potwierdziło, że gady są nosicielami pałeczek *Salmonella*, w tym serotypów wywołujących zakażenia u ludzi. Niewiele natomiast wiadomo nt. lekowrażliwości i wirulencji szczepów *E. coli* występujących u tych zwierząt.

Materiał badawczy stanowiły próbki kału pobrane od 67 gadów, tj. węże (n=31), jaszczurki (n=18) i żółwie (n=18). Zwierzęta nie wykazywały objawów chorobowych i pochodziły od prywatnych właścicieli oraz ze sklepów zoologicznych. Bakterie *E. coli* izolowano na podłożu MacConkeya, a czyste kultury identyfikowano za pomocą spektrometrii masowej MALDI-TOF. Lekowrażliwość izolatów określano metodą Kirby-Bauera, a geny oporności oraz geny wirulencji wykrywano przy użyciu reakcji PCR. Grupa filogenetyczna izolatów została ustalona na podstawie profili elektroforetycznych produktów multiplex PCR.

Bakterie *E. coli* wykryto w 48% próbek, łącznie wyizolowano 32 szczepy. Największą częstotliwość występowania *E. coli* odnotowano u węży (52%), nieco mniejszą u żółwi (44%) i jaszczurek (44%). Geny kodujące czynniki wirulencji potwierdzono u 50% izolatów. Najczęściej wykrywano gen *traT* (37%) kodujący białko determinujące oporność bakterii na działanie dopełniacza oraz geny *fyuA* (22%) i *irp-2* (16%) odpowiedzialne za syntezę sideroforów. Profile wirulencji badanych szczepów były charakterystyczne dla pozajelitowych patogennych szczepów *E. coli*, które mogą egzystować także jako komensale. Większość (72%) izolatów *E. coli* odznaczała się wrażliwością na wszystkie użyte w badaniu substancje przeciwdrobnoustrojowe. Wśród pozostałych 31% szczepów z największą częstotliwością odnotowywano oporność na streptomycynę (22%) i znacznie rzadziej na inne leki, tj. gentamycyna (6.25%), amikacyna (6.25%), tetracyklina (6.25%), ampicylina (3.12%), amoksycylina z kwasem klawulanowym (3.12%), trimetoprim (3.12%). Jeden (3.12%) szczep został zakwalifikowany jako wielooporny. U czterech izolatów odznaczających się opornością fenotypową potwierdzono występowanie genów oporności (*aadA*, *tetA*, *tetB*, *tetM*, *blaTEM*). Większość (66%) izolatów *E. coli* reprezentowało grupę filogenetyczną B1, charakterystyczną jest dla szczepów niepatogennych.

Podsumowując można stwierdzić, że częstotliwość występowania *E. coli* u gadów jest dużo mniejsza w porównaniu ze ssakami czy ptakami. Ze względu na niską prevalencję lekooporności oraz nieobecność genów wirulencji charakterystycznych dla patotypu EHEC wydaje się, że szczepy *E. coli* kolonizujące jelito gadów nie stanowią szczególnego zagrożenia dla ludzi.

Słowa kluczowe: gady, *E. coli*, lekowrażliwość, wirulencja, grupy filogenetyczne

ZRÓŻNICOWANIE GENETYCZNE I LEKOWRAŻLIWOŚĆ *CAMPYLOBACTER JEJUNI* IZOLOWANYCH OD PSÓW ZE SCHRONISKA

M. Murawska, M. Sypecka, J. Bartosik, A. Sałamaszyńska-Guz

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Campylobacter jejuni jest obecnie główną przyczyną zapalenia żołądka i jelit u ludzi, zwłaszcza w krajach wysokorozwiniętych. Głównymi rezerwuarami tej bakterii są zwierzęta gospodarskie, takie jak drób, bydło i trzoda chlewna oraz produkty, które się z nich pozyskuje. Zwierzęta domowe, takie jak psy i koty przeważnie nie są podatne na zakażenie *Campylobacter*, jednak mogą one stanowić rezerwuuar bakterii dla właścicieli zwierząt, pracowników schronisk oraz lekarzy weterynarii. Celem podjętych badań była ocena lekowrażliwości i zróżnicowania genetycznego szczepów *C. jejuni* pochodzących od psów ze schroniska dla zwierząt.

Próbki kału (N=124) posiewano bezpośrednio na podłoże selekcyjne mCCDA. Identyfikacji dokonano na podstawie morfologii kolonii, preparatów mikroskopowych, właściwości biochemicznych (wytworzenie katalazy i oksydazy) oraz poprzez amplifikację fragmentu genu *mapA* metodą PCR. Lekowrażliwość szczepów była badana przy użyciu Etest (MIC). Zróżnicowanie genetyczne zidentyfikowanych szczepów zostało zbadane metodą elektroforezy pulsacyjnej w zmiennym polu elektrycznym (PFGE). Szczepy pochodzące od psów zostały porównane z ludzkim izolatem *C. jejuni* 81-176.

Wyzolowano 20 szczepów *Campylobacter* spp., w tym 9 szczepów *C. jejuni*. Wśród wyizolowanych szczepów stwierdzono oporność na ciprofloksacynę (6/9 szczepów), ampicylinę (5/9 szczepów) i tetracyklinę (3/9 szczepów), uzyskując 6 unikalnych wzorów lekowrażliwości. Analiza zróżnicowania genetycznego metodą PFGE pozwoliła wyróżnić 6 odrębnych pulsotypów dla 9 szczepów pochodzących od psów. Na szczególną uwagę zasługują dwa z wyodrębnionych pulsotypów. W jednym z nich znalazły się trzy szczepy, pochodzące od dwóch różnych psów. Wykazano większe podobieństwo genetyczne między jednym ze szczepów pochodzących od jednego psa, a szczepem od drugiego psa (taki sam wzór lekowrażliwości, zbliżone wartości MIC), niż pomiędzy szczepami od tego samego psa. W drugim pulsotypie znalazły się dwa szczepy, pochodzące od różnych zwierząt, o identycznym wzorze lekowrażliwości i wartościach MIC (zaklasyfikowane jako wielolekooporne).

Uzyskane wyniki badań wskazują, że psy pochodzące ze schroniska mogą być źródłem lekoopornych i zróżnicowanych genetycznie szczepów *C. jejuni*, a także sugerują możliwość przenoszenia się szczepów między osobnikami oraz krążenia ich w środowisku bytowania. W związku z tym osoby mające z nimi częsty kontakt, powinny zachować ostrożność i odpowiednią higienę, aby zminimalizować ryzyko zakażenia *C. jejuni*.

Słowa kluczowe: *Campylobacter jejuni*, zwierzęta domowe, lekowrażliwość, zróżnicowanie genetyczne, PFGE

CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA GATUNKÓW BETA-HEMOLITYCZNYCH PACIORKOWCÓW WYWOŁUJĄCYCH ZAKAŻENIA U ZWIERZĄT

I. Stefańska¹, E. Kwiecień¹, D. Chrobak-Chmiel¹, M. Kizerwetter-Świda¹, L. Witkowski²,
M. Żychska², M. Binek¹, M. Rzewuska¹

¹Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Samodzielny Zakład Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Instytut Medycyny Weterynaryjnej,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Beta-hemolityczne paciorkowce z grupy serologicznej C i G (GCGS, ang. Group C and G Streptococci) są ważnym czynnikiem etiologicznym zakażeń u różnych gatunków zwierząt, jak i człowieka, także o charakterze zoonotycznym. Identyfikacja GCGS jest trudna, a w rutynowej diagnostyce zakażeń paciorkowców beta-hemolitycznych u zwierząt zwykle określa się jedynie typ hemolizy i grupę serologiczną wg schematu R. Lancefield. Brak pełnej identyfikacji powoduje, że dane dotyczące częstości zakażeń powodowanych przez poszczególne gatunki paciorkowców beta-hemolitycznych u różnych gospodarzy są niedoszacowane, co utrudnia ocenę znaczenia klinicznego tych patogenów.

Celem pracy była ocena częstości występowania różnych gatunków beta-hemolitycznych paciorkowców powodujących zakażenia u zwierząt. Badaniem objęto łącznie 180 szczepów z grupy GCGS wyosobnionych z materiału klinicznego od koni (47,2%), psów (34,4%), norek (6,7%), kotów (5%), żubrów (2,2%), dzików (2,2%), jenotów (1,7%), i kóz (0,6%), wyizolowane w Laboratorium Diagnostycznym Zakładu Mikrobiologii Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. Hodowlę prowadzono na podłożu Columbia agar i inkubowano 24 godz. w warunkach tlenowych. Uzyskane izolaty identyfikowano na podstawie cech fenotypowych (w tym serotypowanie wg Lancefield), oraz w badaniu PCR wykrywającym najważniejsze gatunki beta-hemolitycznych paciorkowców: *S. equi* subsp. *equi*, *S. equi* subsp. *zooepidemicus*, *S. canis* oraz *S. dysgalactiae* (Moriconi i wsp., 2017).

Analiza wyizolowanych szczepów wykazała, że najczęstszym beta-hemolitycznym gatunkiem uzyskanym od zwierząt był *S. canis* (42,7%) który wyizolowano od 59 psów (98,3%), 9 kotów (100%), 6 norek (50%) i 3 jenotów (100%). Drugim najczęstszym patogenem z grupy GCGS był *S. equi* subsp. *zooepidemicus* (30%), który wyizolowano od 47 koni (55,3%), 6 norek (50%) i psa (1,6%). *S. equi* subsp. *equi* wyizolowano od 28 koni (33,7%), a *S. dysgalactiae* zidentyfikowano u 21 zwierząt (11,7%), w tym u 10 koni (1,8%), 4 żubrów (100%), 2 psów (3,2%), 4 dzików (100%) i kozy. Objęte analizą szczepy wyizolowano głównie z wymazów z nosa (28,3%), z układu moczowo-płciowego (16,7%), z narządów wewnętrznych (wątroba, płuca, śledziona) (10,5%), z ropni (8,9%), z ucha (6,7%), i skóry (4,4%). W 95 próbkach (52,8%) wyizolowano paciorkowce w czystej kulturze jako jedyny czynnik etiologiczny zakażenia. W przypadku zakażeń mieszanych, najczęstszymi ko-patogenami były bakterie z rodzaju *Staphylococcus* (63,5%), w tym *S. pseudintermedius* (29,4%) i *S. aureus* (25,9%), oraz *E. coli* (20%).

Różnicowanie gatunkowe paciorkowców beta-hemolitycznych ma istotne znaczenie z punktu widzenia epidemiologicznego, a zastosowana metoda wydaje się skuteczna do identyfikacji molekularnej tych patogenów.

Słowa kluczowe: *Streptococcus canis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equi*, paciorkowce beta-hemolityczne, różnicowanie genetyczne

IZOLACJA I IDENTYFIKACJA *PASTEURELLA MULTOCIDA* SEROTYPU B:2 U ŻUBRA W POLSCE

A. Kędrak-Jabłońska¹, S. Budniak¹, M. Krzysiak^{2,3}, E. Plis-Kuprianowicz³, M. Larska⁴,
A. Szczawińska¹, M. Reksa¹, M. Krupa¹, K. Szulowski¹

¹Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska

²Instytut Nauk Leśnych, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Politechnika Białostocka, Białystok, Polska

³Białowiecki Park Narodowy, Białowieża, Polska

⁴Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Polska

Posocznica krwotoczna zgodnie z OIE jest to ostra, o wysokiej zachorowalności i śmiertelności choroba bydła i bawołów. W Polsce była ona chorobą zwalczaną z urzędu do 2001 roku. Posocznica krwotoczna jest wywoływana przez bakterie *Pasteurella multocida*, należące do serotypów B:2 i E:2 zgodnie z klasyfikacją Carter-Heddleston, czyli serotypów 6:B i 6:E według systemu Namioka-Carter. Na zakażenie tym drobnoustrojem, występujące prawie na całym świecie, wrażliwe jest bydło domowe, świnie, owce, kozy, konie, bawoły, zebu, bizony, jelenie, daniela, reny, jaki, wielbłądy.

Celem badań była izolacja i identyfikacja drobnoustrojów w materiale klinicznym pochodzącym od padłego żubra.

Materiał do badań stanowiły narządy wewnętrzne padłego około ośmiomiesięcznego cielęcia żubra wolno żyjącego z populacji Puszczy Białowieskiej. Próbkę do badań bakteriologicznych posiewano na agar z dodatkiem 5% krwi końskiej oraz podłoże McConkeya. Właściwości fizjologiczne i biochemiczne badano testem API 20E firmy bioMérieux oraz metodami tradycyjnymi według ogólnie przyjętych zasad. W celu oznaczenia podgatunków *P. multocida* szczep wysiewano na płynne podłoże zawierające dulcytol, ksylozę, trehalozę i maltozę. Wykonywano test multiplex PCR pozwalający na równoczesną identyfikację gatunku oraz określenie typów otoczkowych A, B, D lub F, a następnie reakcję PCR służącą do identyfikacji szczepów *P. multocida* serotypu B:2 wywołującego posocznice krwotoczną (OIE Terrestrial Manual 2021).

Wyizolowany szczep według profilu biochemicznego w teście API 20E należał do gatunku *P. multocida*. Badany szczep fermentował ksylozę, a nie rozkładał dulcytolu, maltozy i trehalozy. Na podstawie badań biochemicznych, zgodnie z kryteriami Muttersa i wsp. oraz Bisgaard i wsp. szczep został zakwalifikowany do podgatunku *P. multocida* subsp. *multocida*. W reakcji multiplex PCR w przypadku badanego szczepu wykazano obecność zarówno fragmentu o wielkości 460 pz swoistego dla gatunku *P. multocida*, jak i fragmentu 760 pz świadczącego o obecności otoczki typu B. W kolejnej reakcji stwierdzono obecność fragmentu 620 pz świadczącego o tym, że szczep posiadał otoczkę typu B i antygen somatyczny 2.

Reasumując, przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie przypadku posocznicy krwotocznej u żubra w Polsce.

Słowa kluczowe: *Pasteurella multocida*, posocznica krwotoczna, PCR, żubr

UOGÓLNIONE ZAKAŻENIE *MYCOBACTERIUM AVIUM* U SZNAUCERA MINIATUROWEGO

O. Szaluś-Jordanow¹, E. Augustynowicz-Kopeć², A. Zabost², M. Czopowicz¹, A. Moroz¹,
M. Mickiewicz¹, A. Łobaczewski³, R. Sapieryński¹, M. Krasztel¹, T. Frymus¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, Warszawa, Polska

³Całodobowa Klinika Weterynaryjna Auxilium, Milanówek, Polska

Bakterie rodzaju *Mycobacterium* to mikroorganizmy tlenowe, wolno rosnące, nie mające zdolności do poruszania i nie wytwarzające form przetrwalnikowych. Ze względu na rodzaj wywoływanej choroby prątki dzieli się na powodujące gruźlicę: *Mycobacterium tuberculosis complex* oraz będące przyczyną mykobakterioz, chorób infekcyjnych o różnym obrazie klinicznym: prątki „atypowe” MOTT (ang. *Mycobacterium other than tuberculosis*).

Do prątków MOTT należy m.in., *Mycobacterium avium-complex* (MAC), który ostatnio staje się coraz większym problemem w medycynie weterynaryjnej. Prątki MAC izolowane są z materiałów pochodzących od zwierząt zarówno wolno żyjących jak i domowych. W literaturze opisano predyspozycję do wystąpienia mykobakterioz o etiologii *Mycobacterium avium* u psów rasy basset oraz u sznaukerów miniaturowych.

Do lecznicy weterynaryjnej doprowadzono sznaukera miniaturowego w wieku 1,5 roku z uogólnionym powiększeniem węzłów chłonnych dostępnymi w badaniu klinicznym, a także z powiększeniem węzłów chłonnych kręgowych stwierdzonym w badaniu USG. Podejrzewając chłoniaka wykonano biopsję cienkoigłową. W badaniu cytologicznym nie stwierdzono nowotworzenia, natomiast stwierdzono obecność prątków. Podjęto decyzję o chirurgicznym pobraniu węzła chłonnego, a także moczu oraz popłuczyn z drzewa oskrzelowego do dalszych badań. Z przesłanego materiału wykonano preparat bezpośredni, posiew na podłoże Löwensteina-Jensena (L-J) i na płynną pożywkę Bactec MGIT. Jednocześnie wykonano badanie genetyczne (test FluoroType MTBDR), w którym nie wykryto obecności DNA *M. tuberculosis complex* we wszystkich trzech przesłanych materiałach. Na pożywce płynnej zaobserwowano wzrost bakterii po 5 dniach (mocz, wymaz) i 8 dniach (węzeł chłonny). Molekularna identyfikacja gatunkowa testem GenoType *Mycobacterium* CM wykazały przynależność szczepów do gatunku *M. avium*. Szczepy te były wrażliwe na klarytromycynę i amikacynę. Równoległe wykonano pełne badanie histopatologiczne pobranego węzła w którym potwierdzono obecność bardzo dużej liczby prątków bez cech nowotworzenia.

Po pobraniu węzła chłonnego zaczęto podawać pacjentowi klarytromycynę i kontynuowano to leczenie po uzyskaniu wyników antybiotykowrażliwości. Mimo leczenia stan psa po początkowej poprawie stopniowo się pogarszał doszło do powiększenia innych węzłów chłonnych. Ze względu na zły stan ogólny i brak poprawy po celowanym leczeniu właściciele podjęli decyzję o eutanazji.

Słowa kluczowe: *Mycobacterium avium*, pies, sznauker miniaturowy

BADANIE *IN VITRO* ZDOLNOŚCI SZCZEPÓW *STAPHYLOCOCCUS PSEUDINTERMEDIUS* WYIZOLOWANYCH OD ZDROWYCH I CHORYCH PSÓW DO ADHEZJI I INWAZJI DO PSICH KERATYNOCYTÓW

D. Chrobak-Chmiel, A. Golke, E. Kwiecień, M. Murawska, M. Krupa, M. Rzewuska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Gatunek *Staphylococcus pseudintermedius* występuje u psów jako oportunistyczny patogen, wywołujący m.in. ropne zapalenia skóry. W przebiegu kolonizacji tkanek gospodarza przez ten drobnoustrój kluczowym etapem jest adhezja. W procesie tym biorą udział liczne białka adhezyjne, wśród których najważniejszą grupą są białka Sps. Dotychczas u *S. pseudintermedius* opisano 18 takich białek (A-R).

W celu określenia profili genów kodujących białka Sps wśród szczepów *S. pseudintermedius* pochodzących od zdrowych psów (n=11) oraz od psów ze zdiagnozowaną ropowicą skóry (n=10) wykorzystano technikę multiplex PCR. Badanie zdolności do adhezji i inwazji do psich keratynocytów (linia CPEK; CELLnTEC Advanced cell Systems, Bern, Switzerland) w warunkach *in vitro* wykonano dla czterech wybranych szczepów (po dwa szczepy wyizolowane od zdrowych i chorych psów). W teście adhezji po dwóch godzinach od zakażenia (czas niezbędny do adhezji i wnikięcia bakterii do keratynocytów) dokonano lizy keratynocytów, następnie wykonano serię rozcieńczeń lizatu i wysiano po 100 µl na podłoże Columbia agar z dodatkiem 5% krwi baraniej (CAK). W teście inwazji zakażone komórki CPEK inkubowano dwie godziny dłużej w podłożu z dodatkiem gentamycyny (200 µg/ml), a następnie po lizie komórek wysiano przygotowane rozcieńczenia przygotowane jak opisano powyżej. Po 24 h inkubacji posiewów policzono średnią liczbę kolonii gronkowców. Wyniki podano w jtk/ml.

U wszystkich badanych szczepów wykryto geny: *spsA*, *spsB*, *spsC*, *spsE*, *spsG*, *spsI*, *spsK*, *spsL*, *spsM* oraz *spsN*. Ponadto, gen *spsR* występował tylko u szczepów wyizolowanych od chorych psów, natomiast gen *spsH* wykryto jedynie wśród izolatów pochodzących od zdrowych zwierząt. U żadnego z badanych szczepów nie stwierdzono genu *spsO*. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w zdolności do adhezji i inwazji do psich keratynocytów badanych szczepów pochodzących od chorych i od zdrowych psów.

Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że szczepy *S. pseudintermedius* wyizolowane od zdrowych i od chorych psów nie różnią się znacząco profilem genów *sps*. W związku z powyższym, wydaje się, że to raczej czynniki zależne od gospodarza warunkują adhezję, pierwszy etap zakażenia wywołanego przez *S. pseudintermedius*.

Słowa kluczowe: adhezja, białka Sps, keratynocyty, psy, *Staphylococcus pseudintermedius*

WYSTĘPOWANIE PLAZMIDÓW U *TRUEPERELLA PYOGENES*

E. Kwiecień, I. Stefańska, M. Rzewuska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska,

W obrębie rodzaju *Trueperella* sklasyfikowanych jest sześć gatunków, z których najważniejszym jest *Trueperella pyogenes*. Te Gram-dodatnie, nieregularne pałeczki są patogenami oportunistycznymi wywołującymi zakażenia o charakterze ropnym u zwierząt gospodarskich i dzikich. W przypadku bakterii chorobotwórczych ważnym zagadnieniem jest kwestia oporności na chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe. W rozprzestrzenianiu się genów oporności istotną rolę pełnią mobilne elementy genetyczne, takie jak plazmidy i transpozony. Dostępne dane na temat występowania plazmidów u *Trueperella* spp. i ich roli w chorobotwórczości tych bakterii są jednak bardzo ograniczone. Dotychczas jedynie u gatunku *T. pyogenes* opisano dwa plazmidy koliste, z czego jeden niosący geny oporności.

Celem pracy było przeprowadzenie analizy profilów plazmidów występujących w klinicznych szczepach *T. pyogenes* wyizolowanych w Polsce.

Badanie wykonano dla kolekcji 110 szczepów *T. pyogenes* wyizolowanych od różnych gatunków zwierząt z różnych typów zakażeń. Do izolacji plazmidowego DNA wykorzystano zestaw Plasmid Mini AX (A&A Biotechnology) w oparciu o procedurę podaną przez producenta, z niewielkimi modyfikacjami. Koliste wektory plazmidowe o znanych wielkościach zastosowano jako markery wielkości podczas rozdziału elektroforetycznego próbek. Ponadto, wyizolowany plazmidowy DNA poddano analizie restrykcyjnej przy użyciu enzymów *NotI* i *Sall*.

Występowanie plazmidów stwierdzono u 12 (10.9%) badanych szczepów *T. pyogenes*, w tym 11 bydłych i jednego świńskiego. Badanie wykazało, że u wszystkich tych szczepów był to plazmid o wielkości około 2500 par zasad. W wyniku analizy restrykcyjnej stwierdzono, że plazmid ten zawiera jedno miejsce cięcia dla *NotI* oraz dwa miejsca cięcia dla *Sall*. Ten sam profil restrykcyjny wykryto u plazmidów wyizolowanych z 12 szczepów, co sugeruje, iż zawierają one taki sam plazmid, chociaż musi to być poparte dalszymi badaniami.

Uzyskane wyniki potwierdziły, że u szczepów *T. pyogenes*, szczególnie bydłych, występują w genomie plazmidy. Jednak, w celu dokładnej charakterystyki, w tym określenia jakie zawierają geny, konieczne jest ich zsekwencjonowanie. Dopiero analiza bioinformatyczna uzyskanych sekwencji umożliwi ich porównanie z dostępnymi w bazie NCBI sekwencjami opisanymi już plazmidów *T. pyogenes*, a tym samym pozwoli wyjaśnić czy plazmidy wyizolowane w tych badaniach należą do wcześniej poznanych, czy też są to nowe plazmidy, jeszcze nie opisane u tego gatunku bakterii.

Słowa kluczowe: analiza restrykcyjna, geny oporności, plazmidy, *Trueperella pyogenes*

RÓŻNICOWANIE GENETYCZNE SZCZEPÓW *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS* WYIZOLOWANYCH OD OWIEC

A. Szprynca¹, E. Kwiecień¹, A. Didkowska¹, P. Żmuda², I. Stefańska¹, D. Chrobak-Chmiel¹, K. Anusz¹, E. Bagnicka³, M. Rzewuska¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

²Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Kraków, Polska

³Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN, Jastrzębiec, Polska

Bakterie z gatunku *Corynebacterium pseudotuberculosis* to Gram-dodatnie nieregularne pałeczki, które są patogenami oportunistycznymi zwierząt. Bakterie te są czynnikiem etiologicznym serowaciejącego zapalenia węzłów chłonnych (CLA), jednej z ważniejszych chorób bakteryjnych owiec i kóz. Występowanie CLA wiąże się na ogół z dużymi stratami ekonomicznymi w hodowli małych przeżuwaczy. Z epidemiologicznego punktu widzenia ważne są różnice w genomie szczepów *C. pseudotuberculosis*, ponieważ mają one związek z przebiegiem choroby, który może być łagodnym lub ostrym.

Celem przeprowadzonych badań była ocena zróżnicowania genetycznego oraz ustalenie pokrewieństwa szczepów *C. pseudotuberculosis* wyizolowanych od owiec w Polsce.

Do badań wykorzystano 16 szczepów *C. pseudotuberculosis* wyizolowanych z węzłów chłonnych owiec pochodzących z sześciu różnych stad w obrębie dwóch powiatów. Do oceny zróżnicowania genetycznego szczepów zastosowano dwie metody: BOX-PCR oraz RAPD-PCR. W przypadku metody RAPD-PCR w pierwszym etapie przeprowadzono optymalizację w celu doboru odpowiedniego startera. Profile otrzymane w wyniku rozdziału elektroforetycznego produktów amplifikacji analizowano z wykorzystaniem oprogramowania BioNumerics wersja 7.6 (Applied Maths). Dla zastosowanych metod obliczono wartość numerycznego indeksu różnicowania (D).

W wyniku typowania metodą BOX-PCR wśród badanych szczepów zidentyfikowano 10 różnych genotypów, natomiast przy zastosowaniu metody RAPD-PCR ze starterem Primo2 wyodrębniono 12 różnych genotypów. Szczepy izolowane od owiec z tego samego stada nie zawsze miały ten sam genotyp. Natomiast w przypadku niektórych szczepów izolowanych od zwierząt pochodzących z różnych stad, wykazano przynależność do tego samego genotypu. Analiza dendrogramu wykazała, że w metodzie BOX-PCR wszystkie badane szczepy *C. pseudotuberculosis* grupowały się w obrębie dwóch klastrow, zaś przy metodzie RAPD-PCR zostały wyodrębnione trzy klastry oraz trzy pojedyncze szczepy o odrębnych genotypach. W oparciu o otrzymane wyniki stwierdzono stosunkowo wysokie pokrewieństwo między badanymi szczepami *C. pseudotuberculosis*. Indeks różnicowania dla zastosowanych metod wyniósł D=0.949 dla BOX-PCR oraz D=0.934 dla RAPD-PCR. Zastosowane metody wydają się być dobrym narzędziem do określenia pokrewieństwa genetycznego szczepów *C. pseudotuberculosis*.

Słowa kluczowe: BOX-PCR, CLA, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, owce, RAPD-PCR, różnicowanie genetyczne

WYSTĘPOWANIE PAŁECZEK *SALMONELLA* SPP. W NAWOZACH ORGANICZNYCH, ORGANICZNO-MINERALNYCH ORAZ ŚRODKACH POPRAWIAJĄCYCH WŁAŚCIWOŚCI GLEBY (2019-2020)

A. Śmiałowska-Węglińska, E. Mikos-Wojewoda, M. Zając, M. Skarżyńska, D. Wasyl, W. Koza¹, R. Kwit, P. Pasim, E. Skrzypiec, D. Wojdat, D. Wnuk, A. Lalak, M. Skóra, K. Szulowski

¹Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Salmonelloza jest jedną z głównych chorób zoonotycznych dających objawy w głównej mierze ze strony układu pokarmowego. Czynnikiem etiologicznym występowania infekcji są pałeczki *Salmonella spp.*, urzęsione bakterie Gram-ujemne o względnie beztlenowych wymaganiach środowiskowych. Zakażenia powodowane powyższym patogenem przyczyniają się w dużej mierze do strat ekonomicznych dla producentów drobiu. Poza udokumentowaną obecnością *Salmonella spp.* w próbkach pochodzących z hodowli brojlerów, niosek, indyków, czy trzody chlewnej obecność bakterii stwierdza się także w nawozach organicznych, organiczno-mineralnych i środkach poprawiających właściwości gleby. Nawozy organiczne są produkowane z wykorzystaniem surowców pochodzenia zwierzęcego lub roślinnego, w przypadku nawozów mineralnych do produkcji stosowane są związki nieorganiczne powstałe w wyniku przemian fizyko-chemicznych.

Występowanie *Salmonella spp.* w próbkach nawozów podlega kontroli zgodnie z przepisami krajowymi i unijnymi (Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 z dnia 21 października 2009 r.; Rozporządzenie Komisji (UE) nr 142/2011 z dnia 25 lutego 2011 r. w sprawie wykonania rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009). Według zapisów zawartych w powyższych dokumentach, nawozy oraz środki poprawiające właściwości gleby, czyli tzw. polepszacze gleby powinny być zupełnie pozbawione obecności pałeczek *Samonella*.

W badaniach wykonanych w latach 2019-2020 przez Zakład Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynarii w Puławach przebadano łącznie 855 próbek (2019 r. – 349; 2020 r. – 506) nawozów organicznych, organiczno-mineralnych, środków poprawiających wzrost i uprawę roślin, poprawiających właściwości gleby oraz zawierających osad ściekowy. Z przebadanych próbek, wyizolowano 35 (2019 r. – 14; 2020 r. – 21) szczepów o charakterystycznych dla *Salmonella spp.* właściwościach biochemicznych, dla których wykonano identyfikację serologiczną. W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano m.in. izolaty: *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Infantis, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Typhimurium 1,4,[5],12:i:- (szczep jednofazowy), *Salmonella* Derby, *Salmonella* Agona.

Realizowane badania wskazują na rosnącą tendencję występowania zanieczyszczeń nawozów spowodowanych przez bakterie z rodzaju *Salmonella*.

Słowa kluczowe: nawóz, środek poprawiający właściwości gleby, *Salmonella spp.*

Badania finansowane w ramach Programu Wieloletniego na lata 2019-2023 zadania 16 (Ocena sytuacji epidemiologicznej zakażeń Salmonella u zwierząt).

METODY MOLEKULARNE I KONWENCJONALNE DETEKCJI DERMATOFITÓW – ANALIZA PORÓWNAWCZA

S. Gnat¹, D. Łagowski¹, M. Dyląg², A. Trościańczyk¹, M. Osińska¹, A. Nowakiewicz¹

¹Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, Polska

²Zakład Mykologii i Genetyki, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polska

Dermatofity to grzyby strzępkowe, które wykazują unikalną wśród mikroorganizmów zdolność do rozkładu keratyny obecnej w powierzchniowej warstwie skóry, włosach i paznokciach. Zakażenia powodowane przez te grzyby u ludzi i zwierząt to najczęstsze grzybice na całym świecie, przysparzające znacznych trudności w diagnostyce i terapii. Obecnie w wielu laboratoriach naukowych na świecie prowadzone są badania mające na celu udoskonalanie technik detekcji i identyfikacji grzybów, które posiadałyby wartość aplikacyjną w laboratoriach klinicznych i klinikach weterynaryjnych. Istotnym zadaniem tych metod jest umożliwienie szybkiego monitorowania sukcesu terapeutycznego i wykrywanie statusu nosicielstwa. Zaawansowane technologicznie metody wykrywania dermatofitów obejmują metody molekularne oparte na qPCR. Celem prezentowanych badań była analiza porównawcza efektywności detekcji dermatofitów w próbkach od asymptomatycznych zwierząt towarzyszących metodą qPCR oraz metodami konwencjonalnymi. Każda pobrana próbka była podzielona na trzy części i poddana analizie techniką qPCR ze starterami „pan-dermatofitowymi”, analizie metodą bezpośredniej mikroskopii świetlnej oraz metodom opartym na hodowli.

Zastosowanie techniki qPCR ze starterami „pan-dermatofitowymi” pozwoliło wykryć obecność dermatofitów w próbkach z 10,84% (45% vs 34,17%) wyższą skutecznością niż bezpośrednia analiza materiału w mikroskopie świetlnym. Ponadto ze wszystkich próbek z dodatnim wynikiem qPCR uzyskano hodowlę dermatofitów. Analiza zgodności wyników wykazała, że badanie bezpośrednie metodą qPCR i ocena mikroskopowa wykazały 75,93% identycznych wyników. W 50% i 22,5% pozytywnych wyników qPCR i badań mikroskopowych uzyskano kulturę grzyba. Natomiast w 25,93% próbek uzyskano pozytywne wyniki dla wszystkich trzech badanych metod.

Podsumowując, wydaje się, że metoda qPCR może być z powodzeniem stosowana do detekcji dermatofitów u asymptomatycznych nosicieli, a więc w przypadkach, kiedy identyfikacja gatunkowa nie jest kluczowym celem.

TRICHOSPORONOZA U KURY OZDOBNEJ – OPIS PRZYPADKU

I. Bąk¹, M. Biegańska¹, K. Adamczyk², M. Rzewuska¹¹Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska²Zakład Chorób Drobiu, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Dane literaturowe wskazują, że zwierzęta, w tym ptaki mogą być nosicielami grzybiczych patogenów i gatunków oportunistycznych, które mogą stać się źródłem zakażeń dla ludzi. Skolonizowane takim gatunkami osobniki stanowią rezerwuariusz wirulentnych, lekoopornych szczepów grzybów. Prezentowane doniesienie opisuje przypadek grzybicy głębokiej u koguta (*Gallus gallus domesticus*) wywołanej przez drożdże *Trichosporon* sp.

Opis przypadku: Zwłoki koguta ozdobnej rasy Silk poddano sekcji (Zakład Chorób Ptaków, Instytut Medycyny Weterynaryjnej SGGW). W wywiadzie odnotowano osłabienie, wychudzenie i biegunkę, obserwowane przez właściciela. Podczas sekcji stwierdzono wychudzenie zwłok, zmiany w miększu wątroby, krwotoczne zapalenie jelit spowodowane zastojem treści oraz serowate zmiany w jelitach ślepych, utrudniające pasaż jelitowy. Pobrano materiały do badań mikrobiologicznych (wątroba) i parazytologicznych (kał). Wycinki wątroby posiano na podłoża bakteriologiczne (agar z krwią, McConkey'a i SS) i inkubowano w 37°C w warunkach tlenowych oraz na podłożu Sabouraud (SDA), inkubowane przez 7 dni w 30°C.

Stwierdzono brak wzrostu na podłożach bakteriologicznych oraz wzrost licznych, białoszarych kolonii drożdży na podłożu SDA. Wyhodowane kolonie drożdży zostały poddane rutynowej ocenie morfologicznej oraz identyfikacji przy użyciu testów API Candida. Szczep zidentyfikowano jako *Trichosporon* sp. Wyizolowano jego DNA (wg protokołu, Genomic Mini AX Yeast Spin), a następnie zamplifikowano przy użyciu powszechnie stosowanych u grzybów starterów ITS1 i ITS4 oraz poddano sekwencjonowaniu w firmie zewnętrznej. Przeprowadzone badania potwierdziły przynależność wyizolowanego szczepu do rodzaju *Trichosporon*, ale nie pozwoliły na dokładną identyfikację gatunku.

Dla wyizolowanego szczepu wykonano mykogram przy użyciu metody krążkowo-dyfuzyjnej (pierścienie Mastring-S). Wykazano jego wrażliwość na ketokonazol, ekonazol, natamycynę i nystatynę, słabą wrażliwość na klotrimazol oraz oporność na mykonazol, amfoterycynę B i fluorocytozynę.

Opisywany przypadek potwierdza oportunistyczny charakter zakażenia grzybami *Trichosporon*. Wydaje się, że czynnikiem predysponującym do rozwoju trichosporonozy narządowej mogła być inwazja pasożytów z rodzaju *Histomonas* sp., stwierdzona w badaniach parazytologicznych.

Słowa kluczowe: ptaki, *Trichosporon*, drożdże

ANALIZA WARIANTÓW NUKLEOTYDOWYCH POSZCZEGÓLNYCH SEGMENTÓW WIRUSA INFLUENZY KONI H3N8 GENEROWANYCH PASAŻAMI NA ZARODKACH KURZYCH

M. Kwaśnik, W. Socha, P. Sztromwasser, J. Rola, W. Rożek

Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Wysoki wskaźnik zmienności wirusów grypy typu A i w konsekwencji występowanie tak zwanych pseudogatunków (*quasispecies*), stanowi wyzwanie dla programów szczepień zarówno na etapie projektowania szczepionki, jak i jej wytwarzania. Niedopasowanie szczepionek spowodowane dryfem antygenowym wirusa prowadzi do nawrotu epidemii grypy i stwarza potrzebę regularnych aktualizacji składu szczepionki. Mniej zbadanym aspektem ryzyka związanego z dryfem genetycznym są mutacje wywołane podczas procesów produkcyjnych szczepionek. Obecnie większość producentów wykorzystuje zarodki kurze do namnażania szczepów szczepionkowych, ponieważ pozwala to na produkcję dużych ilości wirusów o wysokim mianie.

Celem badań była analiza występowania wariantów z uwzględnieniem zmienności pojedynczego nukleotydu (z ang. Single Nucleotide Variant, SNV) w całym genomie wirusa grypy koni (EIV) podczas niskich pasaży na zarodkach kurzych. Zastosowanie technologii sekwencjonowania nowej generacji (NGS) pozwoliło na określenie względnej częstości występowania SNV w populacji pseudogatunków. Wirusowe RNA z pasaży 0 (wymazy z nosa), pasaży 2 i 5 zsekwencjonowano przy użyciu technologii nowej generacji. W sumie zaobserwowano 50 SNV o częstości występowania powyżej 2%, z których 29 spowodowało zmiany aminokwasowe. Największą zmienność stwierdzono w pasażu 2, przy czym najbardziej zmiennym segmentem był segment IV kodujący hemaglutyninę (HA). Trzy warianty, HA (W222G), PB2 (A377E) i PA (R531K), miały wyraźnie zwiększoną częstotliwość wraz z kolejnymi pasażami, stając się dominującymi. Żaden z pięciu niesynonimicznych wariantów HA nie wpływał bezpośrednio na główne miejsca antygenowe; jednak wcześniej donoszono, że S227P wpływa na antygenowość EIV.

Nasze wyniki sugerują, że chociaż adaptację swoistą dla gospodarza zaobserwowano w niskich pasażach EIV w ECE, nie powinna ona stwarzać znaczącego ryzyka dla skuteczności szczepionki przeciw grypie.

Słowa kluczowe: wirus grypy koni, szczepionki, warianty genetyczne, NGS, adaptacja, quasigatunki

Badania finansowane przez KNOW, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego: 05-1/KNOW2/2015 (K/02/1.0).

SIALODACRYOADENITIS VIRUS – ZAPOMNIANE ZAGROŻENIE ZOONOTYCZNE

M. Bartak, A. Słońska, M. Bańbura, J. Cymerys

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Sialodacryoadenitis Virus (SDAV) jest znanym czynnikiem etiologicznym powodującym częste infekcje u szczurów laboratoryjnych. Zidentyfikowany w latach 60 ubiegłego wieku był określony jako antygenowo podobny do mysiego wirusa zapalenia wątroby (MHV). Później został zaklasyfikowany jako otoczkowy wirus RNA należący do rodzaju betakoronawirusów. Dotychczas jego rola była rozważana jedynie w kontekście badań nad zakażeniami układu oddechowego i zapaleniem gruczołów ślinowych. W obrazie klinicznym, chore osobniki wykazywały zmiany chorobowe takie jak: ostre zapalenie ślinianek i gruczołów łzowych, tkanki limfoidalnej, czy dróg oddechowych i oka.

Niepełne dane literaturowe, na które składają się głównie prace z ubiegłego wieku, nie podjęły w wystarczającym stopniu tematu charakterystyki SDAV, w szczególności potencjalnego tropizmu do ośrodkowego układu nerwowego. Dotychczas nie poznano mechanizmów wnikania, replikacji i uwalniania wirionów potomnych SDAV z komórek ośrodkowego układu nerwowego. Trwająca pandemia po raz kolejny udowodniła rolę rodziny *Coronaviridae* jako niezwykle groźnego czynnika etiologicznego chorób odzwierzęcych. Ułatwiona zdolność koronawirusów do przekraczania bariery międzygatunkowej i zmiany gospodarza, który znajduje się w bliskim sąsiedztwie człowieka podkreśla potrzebę wznowienia badań nad charakterystyką zakażenia SDAV, gdyż potencjalnie może on stanowić zagrożenie zoonotyczne. Zważając na fakty przynależności tego wirusa do tego samego rodzaju koronawirusów co dobrze znany i wyjątkowo groźny SARS-CoV-2 oraz jego głównego gospodarza jakim jest powierzchnie występujący szczur. Szczury zamieszkują duże aglomeracje miejskie, stanowiąc od wieków ogromne zagrożenie epidemiologiczne. Spośród 2277 istniejących gatunków gryzoni, 217 jest rezerwuarem 66 chorób odzwierzęcych wywoływanych przez wirusy, bakterie, grzyby i pierwotniaki.

Tym samym niniejszy przegląd przedstawia aktualny stan wiedzy na temat charakterystyki SDAV i jego prawdopodobnego potencjału zoonotycznego.

Słowa kluczowe: koronawirusy, SDAV, zoonozy, patogenez

ROLA MIKROTUBUL PODCZAS ZAKAŻENIA PIERWOTNEJ HODOWLI ASTROCYTÓW KOŃSKIM HERPESWIRUSEM TYPU 1 – BADANIA *IN VITRO*

A. Słońska, J. Cymerys, M. Bartak, M. Bańbura

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Koński herpeswirus typu 1 (EHV-1), należący do podrodziny *Alphaherpesvirinae*, jest ważnym czynnikiem zakaźnym koni, ze względu na zdolność do wywoływania różnych zaburzeń klinicznych, od łagodnych zakażeń układu oddechowego, poronień, po ciężkie zaburzenia neurologiczne, takie jak mieloencefalopatia. Docelowymi komórkami OUN alfa herpeswirusów są neurony, gdzie dochodzi do ustalenia stanu latencji, jednakże wiadomo, że mogą również zakażać inne komórki mózgu - astrocyty. W literaturze można znaleźć doniesienia dotyczące zakażenia astrocytów przez ludzkie herpeswirusy (HHV-1, -2, i -6), mimo to dokładne mechanizmy związane z zakażeniem tych komórek przez szczepy zwierzęce nie zostały poznane. Celem prezentowanych badań było zatem określenie roli mikrotubul podczas zakażenia EHV-1 mysich astrocytów hodowanych *in vitro*.

W doświadczeniach wykorzystano dwa szczepy końskiego herpeswirusa typu 1 – terenowy szczep nie-neuropatogeny (Jan-E EHV-1) i szczep neuropatogeny (EHV-1 26). Wszystkie badania były prowadzone z wykorzystaniem astrocytów wyizolowanych z płodów myszy Balb/C. Wpływ zakażenia na strukturę mikrotubul oceniano immunofluorescencyjnie (2 i 24 g.p.z.) za pomocą mikroskopii konfokalnej (FV10i, Olympus). W celu określenia udziału mikrotubul podczas replikacji EHV-1 w astrocytach zastosowano inhibitor polimeryzacji – nokodazol (Sigma-Aldrich) oraz analizę real-time PCR (Roche Diagnostics).

W zakażonych mysich astrocytach obecność antygeny wirusowego stwierdzono na terenie cytoplazmy, głównie wokół jądra komórkowego, już w 2 g.p.z. W 2 i 24 g.p.z. nie zaobserwowano istotnych zmian w architekturze cytoszkieletu tubulinowego w porównaniu z kontrolą. Stwierdzono natomiast nagromadzenie i kolokalizację antygeny wirusowego i włókien β -tubuliny, co zostało potwierdzone analizą przy użyciu programu ImageJ. Dodanie nokodazolu do hodowli astrocytów zakażonych badanymi szczepami EHV-1 spowodowało spadek w poziomie replikacji wirusa, we wszystkich badanych stężeniach inhibitora w porównaniu z kontrolą zakażoną bez dodatku inhibitora. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że w zakażonych astrocytach mikrotubule pełnią ważną rolę podczas replikacji EHV-1, najprawdopodobniej uczestnicząc w transporcie wirionów do miejsca replikacji.

Słowa kluczowe: mikrotubule, koński herpeswirus typu 1, astrocyty

Badania finansowane przez NCN: DEC-2017/01/X/NZ3/00205.

METODA SANGERA W DOBIE SEKWENCJONOWANIA WYSOKOPRZEPUSTOWEGO

A. Giza, E. Iwan, D. Wasyl

¹*Zakład Analiz Omicznych, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska*

Sekwencjonowanie wysokoprzepustowe (HTS) to technika coraz częściej wykorzystywana w medycynie weterynaryjnej i nadzorze nad bezpieczeństwem żywności. Pomimo tego metoda Sangera pozostaje użytecznym narzędziem z powodzeniem stosowanym w analityce weterynaryjnej.

Obie metody charakteryzują się niezwykle małym błędem odczytu, ale różnią się zasadniczo – długością analizowanego fragmentu, ilością uzyskiwanych danych, ich analizą oraz kosztem. HTS produkuje większą ilość danych, których uzyskanie w przeliczeniu na pojedynczy nukleotyd jest dużo tańsze, lecz całkowity koszt badania może być znaczny. Ponadto umożliwia równoczesne sekwencjonowanie całych genomów lub transkryptomów. Metoda Sangera dostarcza mniej danych, przez co koszt pojedynczej analizy jest niższy, a technika bardziej dostępna. Sam wynik pozwala tylko na analizę pojedynczych genów lub ich fragmentów, dlatego jest prostszy w interpretacji. Stąd o ile HTS daje większe możliwości analityczne, metoda Sangera nadal często pozostaje techniką pierwszego wyboru, a w wielu przypadkach jest metodą referencyjną.

Sekwencjonowanie Sangera w dobie HTS znajduje zastosowanie w celowanej analizie niewielkich obszarów genów, np. w diagnostyce chorób jednogenowych, czy poszukiwaniu mutacji odpowiedzialnych za zjadliwość mikroorganizmów. Umożliwia również genotypowanie bakterii, czy sekwencjonowanie niewielkich genomów wirusów. Sanger jest metodą referencyjną przy walidacji panelowych metod HTS, jak również w pewnych sytuacjach służy do potwierdzania zidentyfikowanych wariantów pojedynczego nukleotydu lub małych insercji/delecji. Jest również metodą z wyboru w przypadku sekwencjonowania ampikonów większych niż 600pz, co wynika z ograniczeń technologii HTS.

Zarówno sekwencjonowanie Sangera, jak i HTS są wykorzystywane do rutynowej diagnostyki i badań naukowych. Metodę Sangera częściej stosuje się do analiz o niewielkiej skali, z kolei HTS jest wykorzystywany do projektów, gdzie istotne jest sekwencjonowanie dużych obszarów lub nawet całych genomów. Wiele laboratoriów nie ma jednak zaplecza sprzętowego i informatycznego do sekwencjonowania i analizy danych wysokoprzepustowych. Sam wybór metody – Sanger, czy HTS powinien być uzależniony od celu badań i możliwości analitycznych laboratorium. Z kolei czasem zasadne jest równoległe zastosowanie obu technik, jako metod nawzajem się uzupełniających.

OCENA PRZYDATNOŚCI METODY PCR DO WYKRYWANIA OBECNOŚCI I IDENTYFIKACJI *BACILLUS ANTHRACIS* Z PRÓBEK ŚRODOWISKOWYCH

S. Budniak, A. Kędrak-Jabłońska, A. Szczawińska, M. Reksa, M. Krupa, K. Szulowski

Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Bacillus anthracis wywołuje zakaźną chorobę zwaną węglikiem. Zakażenie następuje za pośrednictwem paszy lub wody zawierającej przetrwalniki węglika. Pierwotnym źródłem zarazków są zwłoki zwierząt padłych. Węglik jako choroba związana z przebywaniem zarazka w glebie występuje na terenach posiadających gleby wilgotne, błotniste lub zalewane okresowo w czasie powodzi. Niebezpieczne są również ścieki z garbarni, w których przerabia się skóry pochodzące z różnych części świata. Podobne zagrożenie stanowią także grzebowiska.

Przedmiotem badań była ocena przydatności testów PCR do wykrywania *B. anthracis* w kontaminowanych doświadczalnie próbkach środowiskowych, takich jak ziemia i woda.

Do badań użyto cztery szczepionkowe i dwa terenowe szczepy laseczki węglika oraz izolaty innych gatunków rodzaju *Bacillus*. Przy ocenie swoistości testów PCR wykorzystano dodatkowo szczepki sześciu gatunków drobnoustrojów. W pierwszym etapie badań opracowywano metody przygotowania spor *B. anthracis* do kontaminacji próbek środowiskowych. Izolację matrycowego DNA z kontaminowanych doświadczalnie próbek ziemi i wody przeprowadzano przy użyciu zestawu Genomic Mini i Anty-inhibitor Kit oraz zestawu Genomic Mini, AX Soil firmy A&A Biotechnology, Gdynia, Polska. Do wykrywania *B. anthracis* w próbkach środowiskowych w dwóch reakcjach PCR jako markery użyto 2 geny odpowiedzialne za wirulencję: *pag* kodujący białko PA oraz *cap* kodujący otoczkę, zlokalizowane w DNA plazmidów pXO1 i pXO2. W kolejnym etapie pracy reakcja multiplex PCR umożliwiła jednocześnie wykrycie genów *B. anthracis* zlokalizowanych w DNA plazmidu pXO1, tj. genu *lef*, genu *pag* i genu *cya*, w plazmidzie pXO2 genu *cap* oraz specyficznej sekwencji chromosomalnej Ba813.

Doświadczenia pozwoliły na opracowanie optymalnych metod przygotowania matrycowego DNA z próbek środowiskowych kontaminowanych sporami *B. anthracis*. Zastosowane testy PCR zgodnie z Beyer i wsp. (2005) oraz OIE (2018) pozwoliły na wykrywanie genu *pag* i genu *cap*. Reakcja multiplex PCR wg Ramisse i wsp. (1996) pozwoliła na wykrycie genów zlokalizowanych w DNA plazmidu pXO1 i pXO2 oraz obecności sekwencji chromosomalnej Ba813. Wszystkie testy PCR charakteryzowały się znaczną czułością i wysoką swoistością.

Potwierdzono przydatność wszystkich zastosowanych testów PCR do wykrywania *B. anthracis* w próbkach środowiskowych.

Słowa kluczowe: *Bacillus anthracis*, węglik, PCR

WYKRYWANIE *BACILLUS ANTHRACIS* W PRÓBKACH ŚRODOWISKOWYCH PRZY UŻYCIU METODY REAL-TIME PCR OPARTEJ NA FLUORESCENCJI BARWNIKA SYBR GREEN I

S. Budniak, A. Kędrak-Jabłońska, A. Szczawińska, M. Krupa, M. Reksa, K. Szulowski

Zakład Mikrobiologii, ¹Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Polska

Bacillus anthracis wywołuje zakaźną chorobę zwaną węglikiem. Szczególnie wrażliwe na zachowanie są zwierzęta roślinożerne, rzadziej węglik występuje u wszystkożernych, mięsożernych oraz u ludzi. U człowieka może przebiegać w trzech postaciach: skórnej, płucnej oraz jelitowej.

Przedmiotem badań było wykorzystanie metody Real-time PCR z barwnikiem interkalującym SYBR Green I do wykrywania *B. anthracis* w kontaminowanych doświadczalnie próbkach środowiskowych, takich jak ziemia i woda.

Do badań użyto cztery szczepionkowe i dwa terenowe szczepy laseczki węglika oraz izolaty innych gatunków rodzaju *Bacillus*. Przy ocenie swoistości testów wykorzystano dodatkowo szczepy sześciu gatunków drobnoustrojów. Do wykrywania *B. anthracis* w próbkach środowiskowych w Real-time PCR jako markery użyto 2 geny odpowiedzialne za wirulencję, *pag* kodujący białko PA oraz *cap-C* kodujący otoczkę, zlokalizowane w DNA plazmidów pXO1 i pXO2. Przeprowadzono również test na obecność sekwencji chromosomalnej *rpoB*. Izolację matrycowego DNA z kontaminowanych doświadczalnie próbek ziemi i wody przeprowadzano przy użyciu zestawu Genomic Mini i Anty-inhibitor Kit, a także zestawu Genomic Mini, AX Soil firmy A&A Biotechnology, Gdynia, Polska. Do badań użyto zestaw QuantiTect SYBR Green PCR Kit, Qiagen. W reakcjach wykorzystywano aparat Rotor-Gene Q oraz oprogramowanie Rotor-Gene Q Series Software Version 2.0.2, Qiagen.

Zastosowane testy Real-time PCR z barwnikiem interkalującym SYBR Green I zgodnie z Ellerbok i wsp. (2002) pozwoliły na wykrywanie genu *pag* i genu *cap-C* kontaminowanych sześcioma szczepami *B. anthracis* próbkach ziemi i wody. W przypadku wszystkich badanych szczepów wykryto sekwencję chromosomalną *rpoB*. Swoistość amplifikacji potwierdzono określając temperaturę topnienia produktu PCR. Czułość i liniowość reakcji określono korzystając ze współczynnika regresji. Wykazano wysoki współczynnik regresji wynoszący 0,99 dla wszystkich reakcji. Testy Real-time PCR charakteryzowały się znaczną czułością i wysoką swoistością.

Reasumując, zastosowane testy Real-time PCR z wykorzystaniem barwnika interkalującego SYBR Green I pozwoliły na wykrycie obu markerów wirulencji i specyficznej sekwencji chromosomalnej w próbkach środowiskowych kontaminowanych doświadczalnie *B. anthracis*.

Słowa kluczowe: *Bacillus anthracis*, węglik, Real-time PCR, SYBR Green I

ZASTOSOWANIE METODY REAL-TIME PCR OPARTEJ NA WYKORZYSTANIU NUKLEOLITYCZNYCH SOND TYPU TAQMAN DO WYKRYWANIA *BACILLUS ANTHRACIS* W PRÓBKACH ŚRODOWISKOWYCH

A. Kędrak-Jabłońska, S. Budniak, M. Reksa, A. Szczawińska, M. Krupa, K. Szulowski

Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny- Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

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.

Przedmiotem badań było zastosowanie metody Real-time PCR z wykorzystaniem sond nukleolitycznych typu TaqMan do wykrywania *B. anthracis* w kontaminowanych doświadczalnie próbkach środowiskowych, takich jak ziemia i woda.

Do badań użyto cztery szczepionkowe i dwa terenowe szczepy laseczki węglik oraz izolaty innych gatunków rodzaju *Bacillus*. Przy ocenie swoistości testów wykorzystano dodatkowo szczepy sześciu gatunków drobnoustrojów. Do wykrywania *B. anthracis* w kontaminowanych doświadczalnie próbkach środowiskowych w Real-time PCR użyto geny zlokalizowane w DNA plazmidów pXO1 (gen *pag*) i pXO2 (gen *cap-C*) oraz specyficzną sekwencję chromosomalną *rpoB*. Izolację matrycowego DNA z kontaminowanych doświadczalnie próbek ziemi i wody przeprowadzano przy użyciu zestawu Genomic Mini i Anty-inhibitor Kit, a także zestawu Genomic Mini, AX Soil firmy A&A Biotechnology, Gdynia, Polska. Do badań użyto zestaw QuantiTect Probe PCR Kit, Qiagen. W reakcjach wykorzystywano aparat Rotor-Gene Q oraz oprogramowanie Rotor-Gene Q Series Software Version 2.0.2, Qiagen.

Reakcje Real-time PCR na podstawie obserwacji krzywych amplifikacji pozwoliły na wykrywanie genu *pag* i genu *cap-C* w próbkach ziemi i wody kontaminowanych sześcioma szczepami *B. anthracis*. W przypadku wszystkich badanych szczepów stwierdzono sekwencję chromosomalną *rpoB*. Określono czułość przeprowadzonych reakcji Real-time PCR. Dla kontaminowanych próbek środowiskowych wykazano współczynnik regresji wynoszący powyżej 0,99, który wskazuje na wysoki stopień liniowości reakcji. We wszystkich reakcjach Real-time PCR uzyskano produkty amplifikacji specyficzne dla *B. anthracis*, natomiast izolaty innych gatunków drobnoustrojów nie wykazały obecności produktów reakcji.

Reasumując, zastosowane testy Real-time PCR z wykorzystaniem sond typu TaqMan, umożliwiające wykrycie obu markerów wirulencji oraz specyficznej sekwencji chromosomalnej w kontaminowanych *B. anthracis* próbkach środowiskowych, charakteryzowały się znaczną czułością i wysoką swoistością.

Słowa kluczowe: *Bacillus anthracis*, węglik, Real-time PCR, TaqMan probe



SESJA DOBROSTANU ZWIERZĄT I OCHRONY ŚRODOWISKA



ŚRODOWISKO ELEKTROMAGNETYCZNE ZIEMI W KONTEKŚCIE DOBROSTANU ZWIERZĄT

B. Tombarkiewicz

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Kraków, Polska

W kształtowaniu dobrostanu zwierząt szczególne miejsce zajmuje zoohigiena, która w badaniach nad środowiskiem hodowlanym, wiele uwagi poświęca określeniu wpływu całego kompleksu czynników środowiskowych na zdrowie i wydajność zwierząt. Jednym z bardzo ważnych elementów środowiska naturalnego (dotychczas często pomijanym) jest środowisko elektromagnetyczne. Wszystkie istoty żywe na przestrzeni dziejów ewoluowały w naturalnym polu elektromagnetycznym (PEM) naszej planety, wykształciły mechanizmy jego detekcji oraz „nauczyły się” wykorzystywać jego obecność, i często w sposób zauważalny reagują na jego zmiany. Źródłem naturalnego środowiska elektromagnetycznego Ziemi (pola elektromagnetycznego) są: Słońce, Ziemia, zjawiska atmosferyczne, wyładowania elektryczne, oraz różnego rodzaju zjawiska kosmiczne, a stanowią go naturalne pole magnetyczne (PGM) i naturalne pole elektryczne Ziemi.

Postępująca industrializacja i „technicyzacja” życia, obok wielu korzyści i udogodnień niesie ze sobą m.in. degradację środowiska elektromagnetycznego Ziemi. O skali tego zjawiska świadczy fakt, że w terminologii sozologicznej pojawiło się pojęcie „smog elektromagnetyczny”. Na skutek wytwarzania i powszechnego używania coraz większej liczby urządzeń elektrycznych, naturalne środowisko elektromagnetyczne Ziemi zakłócanie jest przez tzw. źródła sztucznego PEM. Zarówno sieć elektroenergetyczna jak i każde urządzenie zasilane energią elektryczną wytwarza PEM, niezależnie od tego, czy jest to efekt pożądaný (np. przez radiowe i telewizyjne stacje nadawcze, stacje przeznaczone do radionawigacji i radiolokacji, stacje bazowe radiokomunikacji, telefony komórkowe), czy też efekt uboczny (np. przez sprzęt elektryczny).

Rozwój cywilizacyjny spowodował, że znaczna część populacji ludzkiej narażona jest również na zaburzenia PGM m.in. poprzez stalowe elementy konstrukcji budynków oraz środków transportu. Problem ten dotyczy również zwierząt hodowlanych utrzymywanych w systemach przemysłowym i półprzemysłowym, gdyż konstrukcje i wyposażenie budynków inwentarskich zawierają wiele elementów stalowych zaburzających pole geomagnetyczne.

Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy dysfunkcje organizmów spowodowane zaburzeniami środowiska elektromagnetycznego Ziemi mogą dotyczyć zarówno sfery psychicznej, jak i somatycznej zwierzęcia. Reakcja organizmu na zaburzenia naturalnego środowiska elektromagnetycznego zależy od wielu czynników m.in. wieku, stanu fizjologicznego i stanu zdrowia zwierzęcia oraz czasu ekspozycji na niekorzystne warunki.

Słowa kluczowe: pole geomagnetyczne, pole elektromagnetyczne, zdrowie, zwierzęta

DOBROSTAN ZWIERZĄT DZIKICH ŻYJĄCYCH W NATURZE – PROBLEMATYKA I PROBLEMY

T. Kaleta

Instytut Nauk o Zwierzętach, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Badania dotyczące dobrostanu zwierząt koncentrują się na gatunkach w jakiś sposób kontrolowanych przez człowieka (zwierzęta gospodarskie, towarzyszące, eksponowane w zoo itd). Tymczasem na całym świecie pojawiło się wiele problemów wynikających ze ścierania się interesów ludzi z potrzebami zwierząt dzikich. Wymienić tu można choćby konflikty na tle szkód wyrządzanych przez te zwierzęta w gospodarstwie człowieka, bądź nawet bezpośredniego jego zagrożenie ludzi przez drapieżniki. Z drugiej strony, racjonalna ochrona zwierząt w środowisku naturalnym wymaga od człowieka podjęcia działań, które mogą negatywnie wpływać na dobrostan. Wszystko poczynawszy od relokacji zwierząt, a kończąc na selekcji określonej populacji (wraz ze sposobem likwidacji) może być zrealizowane w sposób, który jest bardziej lub mniej dolegliwy dla zwierząt. Istotnym problemem jest również relacja ze zwierzętami dzikimi w kontekście chorób odzwierzęcych.

Niniejsza praca stanowi przegląd niektórych rozwiązań pro-dobrostanowych, kiedy następuje konflikt pomiędzy zwierzętami dzikimi i człowiekiem. Przykładową sytuacją jest ochrona upraw roślinnych i zwierząt domowych przed gatunkami dzikimi. Do wyboru istnieje tu szereg metod takich, jak odstraszanie i wywoływanie awersji, grodzenie, strzeżenie przez psy, odpowiednie użytkowanie pastwiska, translokacja zwierząt dzikich, wreszcie ich likwidacja (Nunny, 2020). Na podstawie dotychczasowych doświadczeń okazuje się, że każda z tych metod ma wady. Wszystkie je możemy przeanalizować badając wpływ na dobrostan zwierząt dzikich.

Innym problemem jest pomiar dobrostanu zwierząt dzikich, sporządzenie bonitacji w oparciu na koncepcji "pięciu wolności". Jest to możliwe przede wszystkim w sytuacji, gdy zwierzęta dzikie mogą być stale obserwowane przez człowieka na przykład w warunkach azylu. System taki opracowano np. dla tygrysów sumatrzańskich (*Panthera tigris sumatrae*) (Saab i wsp., 2019).

Odrębnym problemem związanym z dobrostanem jest przeciwdziałanie i kontrola chorób których źródłem są zwierzęta dzikie. Jak się wydaje, kluczowe jest tu zapobieganie, a więc stałe monitorowanie zdrowotności populacji dziko żyjących i związane z tym badania podejrzanych przypadków (Artois i wsp., 2009).

DOBROSTAN ZWIERZĄT W ŚWIADOMOŚCI SPOŁECZNEJ

R. Kołacz

Katedra Ochrony Zdrowia Publicznego i Dobrostanu Zwierząt, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń, Polska

Zainteresowanie dobrostanem zwierząt rośnie na całym świecie i coraz więcej osób jest zaniepokojonych jakością życia zwierząt. Dotyczy to zarówno zwierząt domowych, gospodarskich, laboratoryjnych, jak i dzikich. Debata społeczna koncentruje się głównie na dobrostanie zwierząt gospodarskich wykorzystywanych do produkcji żywności. Współczesne intensywne metody hodowli zwierząt wprowadzane w ostatnich latach niewiele mają wspólnego z tradycyjną hodowlą zapewniającą zwierzętom naturalne formy zachowania niezbędne dla ich dobrostanu. Wprowadzanie metod intensywnego chowu zwierząt odbywało się przy cichej zgodzie konsumenta, który chce nabywać żywność po możliwie najniższej cenie, nie troszcząc się o sytuację zwierząt, od których ta żywność pochodzi. Konsumenty dystansowali się od losu zwierząt przeznaczonych na pokarm. Pozwalało im to unikać konfliktów sumienia. Jednak w ostatnich 30 latach zaczęła się gwałtownie zmieniać świadomość i wrażliwość konsumentów. Konsumenty co jakiś czas dowiadują się z mediów o brutalnych metodach chowu, transportu czy uboju. Opisywane metody przemysłowego tuczu zwierząt wzbudzają często protesty społeczne przeciwko cierpieniu zadawanemu zwierzętom w tych hodowlach. Wielu konsumentów właśnie z przyczyn etycznych świadomie wybiera weganizm lub wegetarianizm. Wciąż jednak ponad 90% społeczeństwa deklaruje jedzenie mięsa i produktów zwierzęcych, jednak jest głęboko zaniepokojona problemami dobrostanu. Ostatnie badania Eurobarometru 2015 wykazały, że średnio 94% obywateli UE i 86% w Polsce uważa, że ochrona dobrostanu zwierząt hodowlanych jest ważna i bardzo ważna. Europejczycy (82%) i Polacy (77%) uważają również, że dobrostan zwierząt gospodarskich powinien być lepiej chroniony niż obecnie. Chęć zapłaty więcej za produkty pochodzące z ferm dobrostanu wyraża gotowość już tylko 59% Europejczyków i 36% Polaków. Konsumenty wymagają aby produkty spożywcze zwierzęcego pochodzenia były: bezpieczne dla zdrowia, były relatywnie tanie i pochodziły od zwierząt z wysokim poziomem dobrostanu. Z drugiej strony rolnik jako producent musi dbać o rentowność swojej pracy. Dobrym rozwiązaniem powyższego problemu jest certyfikacja ferm hodowlanych ze względu na dobrostan. Przyjęta ostatnio przez UE „strategia od pola do stołu” zakłada potrzebę etykietowania żywności wyprodukowanej w wyższych standardach dobrostanu niż minimalne, określone w przepisach UE. Celem tego ogólnounijnego znaku jakości jest informowanie konsumentów o poziomie dobrostanu zwierząt w całym cyklu hodowlanym, włączając w to transport jak i ubój.

Sowa kluczowe: dobrostan zwierząt, świadomość konsumentów, etykietowanie żywności

OBSERWACJE BEHAWIORU LĘGOWEGO KACZEK DOMOWYCH

K. Pawlak¹, K. Andres², B. Tombarkiewicz¹, M. Lis¹¹Katedra Zoologii i Dobrostanu Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Kraków, Polska²Katedra Rozrodu, Anatomii i Genomiki Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Kraków, Polska

W lęgach naturalnych wylęgowość dzikiego przodka kaczek sięgała nierzadko 100%, podczas gdy w lęgach sztucznych kaczek utrzymuje się na poziomie 70-75%. Wykonane badania miały na celu obserwację zachowań kaczki domowej w trakcie lęgów naturalnych. Okres pomiarowy obejmował nie tylko sam proces inkubacji jaj, ale również czas kompletowania znosu, który w niektórych przypadkach trwa ponad miesiąc. Eksperyment wykonano przy użyciu 5 sztucznych jaj wyposażonych w 5 czujników temperatury oraz jeden wielokierunkowy czujnik ruchu. Pomiaru były wykonywane w pracy ciągłej. W początkowym okresie lęgu czas spędzony przez kaczki poza gniazdem wynosił średnio od 9 do 20 h. W tym okresie kaczki podgrzewały jaja od 1 do 5 razy w ciągu doby do temperatury 20÷25°C. Przy częstszym pobycie kaczki w gnieździe, pojedynczy czas podgrzewania jaj wynosił od 30 do 45 min, przy rzadszym pobycie w gnieździe mógł on wynosić nawet 4 h. W późniejszym okresie łączny czas podgrzewania jaj w ciągu doby wzrósł do około 13 godzin. W okresie tym kaczki podgrzewały jaja do temperatury od 24 do 34°C; 6 do 12 razy na dobę przy średnim czasie pobytu na gnieździe równym od 30 min do 1,5h. W początkowym okresie „właściwego” wysiadywania temperatura jaj kształtuje się na poziomie 23÷25°C. Począwszy od 12÷14 doby inkubacji obserwowany jest stały wzrost temperatury aż do osiągnięcia średniej temperatury na poziomie 36°C. Taki średni poziom temperatury utrzymuje się aż do wylęgu. W początkowym okresie „właściwego” wysiadywania temperatura podczas schodzenia kaczki z gniazda spadała do poziomu 27÷29°C, natomiast w końcowym etapie lęgu temperatura spadała do poziomu 29÷35°C. W początkowym okresie właściwego lęgu liczba zejść kaczek z gniazd wynosiła od 6 do 9 razy na dobę przy średnim czasie przebywania poza gniazdem wynoszącym od 1 godziny do 30 minut. Na tydzień przed wylęgiem liczba zejść kaczek z gniazda wahała się między 5 a 7. Średni czas pojedynczego schłodzenia jaj wahał się między 45 min a 1h. Liczba obrotów jaj przez kaczki w ciągu doby uległa wahaniom w zależności od fazy inkubacji. W okresie od 1. do 11 doby inkubacji wynosiła ona średnio 10,7 do 15,3 obrotów na dobę a następnie wzrastała pomiędzy 12 a 16 dobą do 14,7 – 19,0 obrotów/dobę. Począwszy od 17 doby inkubacji obserwowano spadek liczby obrotów do 6,7-11,7 obrotów/dobę. W okresie klucia piskląt zaobserwowano powtórny wzrost liczby obrotów do 15,3÷16,3 obrotów/dobę.

Praca wykonana w ramach POIR.01.01.01-00-1010/17.

ZACHOWANIA NIEPOŻĄDANE JAKO WSKAŹNIK OBNIŻONEGO DOBROSTANU U KOTÓW DOMOWYCH

A. Wójcik, K. Solecka

Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Zaburzenia zachowania kota mogą być spowodowane wieloma różnorodnymi czynnikami, począwszy od zmian fizjologicznych zachodzących w jego organizmie, chorób somatycznych, a skończywszy na środowiskowych, np. wynikających z nieodpowiednich warunków życia, czy nieprawidłowych relacji z domownikami, zarówno ludźmi, jak i innymi zwierzętami.

Analiza występowania zachowań niepożądanych u kotów domowych niewychodzących z domu/mieszkania oraz u kotów domowych, które mają możliwość wychodzenia na zewnątrz została przeprowadzona na podstawie ankiety rozesłanej drogą internetową poprzez różne portale społecznościowe. W analizie zostały uwzględnione zachowania: agresja, drapanie, opuszczanie terytorium i włóczęgostwo, nadmierna pielęgnacja, nadmierna wokalizacja, oddawanie moczu lub kału poza kuwetą, aktywność nocna, ukrywanie się, zjadanie roślin. W ankiecie wzięło udział 3536 respondentów.

Analiza zachowań niepożądanych u kotów wykazała, że u kotów nie wychodzących z domu obserwowano więcej przypadków kotów drapiących meble/rzeczy osobiste domowników oraz gryzących rośliny domowe niż u kotów wychodzących. Natomiast kotów wypróżniających się poza kuwetą, stwierdzono więcej w grupie, która miała możliwość wychodzenia z domu. Pomimo braku zróżnicowania w przypadku pozostałych analizowanych zachowań niepożądanych u kotów, respondenci skarżyli się m. in. na nadmierną wokalizację (47%) czy też na epizody agresji kierowane na właścicieli (33%). Może to świadczyć, o tym że koty nie są wystarczająco stymulowane do ruchu i zabawy przez właściciela i odczuwają z tego powodu frustrację i/lub nudę. Ponad połowa ankietowanych oprócz kota utrzymywała w domu inne zwierzęta. Pomimo, że 98% ankietowanych zapewniało swoim zwierzętom miejsca do schowania się, 83% udostępniało im miejsca na wysokich szafkach lub platformach oraz 91% pozwalało poruszać się kotom po całej powierzchni domu, to jednak 1/3 kotów mieszkających wraz z innymi zwierzętami wykazywała w stosunku do nich agresję. Koty domowe dostosowują swoją aktywność do godzin aktywności opiekunów. Mimo to 29% ankietowanych zgłaszało, że ich koty są aktywne nocą i aż w 44% przypadków jest to aktywność, która przeszkadza domownikom. Może wynikać to z faktu, że respondenci niewystarczająco stymulują swoje zwierzęta za dnia, które w konsekwencji są bardziej aktywne w nocy.

CZYSTOŚĆ KRÓW W STADACH W ODNIESIENIU DO WARUNKÓW CHOWU ORAZ JEJ ZWIĄZEK Z ZABURZENIAMI ZDROWOTNYMI

**M. Herudzińska¹, P. Kaźmierczak¹, A. Grzeczka¹, S. Kulynycz², W. Niewitecki¹,
B. M. Jaśkowski⁴, G. Balicki³, J. M. Jaśkowski¹**

¹*Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń Polska*

²*Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Akademia Rolnicza w Połtawie, Ukraina*

³*Przychodnia Weterynaryjna Balwet, Gołuchów, Polska*

⁴*Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, Polska*

Celem badań było określenie wskaźnika czystości krów w świetle deklarowanych zaburzeń zdrowotnych. Badania przeprowadzono w miesiącach czerwiec-wrzesień 2021 roku w różniących się warunkami chowu stadach krów mlecznych. W doświadczeniu oparto się na czteropunktowej skali czystości zaproponowanej przez Ruuda i wsp. (2010). W każdym stadzie oceniano około 10% krów, typując do oceny co piątą krowę. W małych stadach, liczących kilka osobników oceniano wszystkie zwierzęta. Badania przeprowadzano zawsze między godziną 8 a 11 rano. Równocześnie przeprowadzano prosty wywiad, wpisując odpowiedzi w przygotowany wcześniej formularz.

Ogółem przebadano 395 krów, które pochodziły z 29 stad. Krowy w 14 stadach utrzymywane były w systemie wolnostanowiskowym, w 10 - w alkierzowym, 2 w wolno wybiegowym, 1 – pastwiskowym i 1 przyzagrodowym. Wskaźnik czystości dla krów pochodzących z gospodarstw alkierzowych wynosił 2,41 pkt. (od 1,23 pkt do 3,22 pkt) Analogiczny wskaźnik w stadach wolnostanowiskowych wyniósł 1,75 pkt. (od 1,28 do 3,26 pkt) natomiast wolno wybiegowych 1,29 pkt. Wskaźnik czystości krów utrzymywanych na pastwisku wynosił 1,35, w chowie przyzagrodowym 1,75 pkt. Zwracały uwagę znaczne różnice indywidualne wynoszące w niektórych gospodarstwach nawet od 1,15 do 3,89 pkt. Najbardziej zabrudzone były okolice zadu i tylnych kończyn, najmniej brzucha i wymienia. Większe zabrudzenie krów, niezależnie od systemu chowu wiązało się z częstszym występowaniem różnych komplikacji zdrowotnych. Przykładowo w stadach o zabrudzeniu > 2,5 pkt. niezależnie od warunków chowu notowano przeciętnie 2,25 komplikacje zdrowotne. W stadach czystych (<1,5 pkt) częstość komplikacji wynosiła 0,16.

Czystość krów w wybranych stadach krów mlecznych była na ogół zbliżona do notowanych w krajach Skandynawskich i Słowenii, w niektórych stadach jednak stopień zabrudzenia był znaczny. Generalnie najbrudniejsze krowy były w oborach uwiązowych, najczystsze w chowie wolno wybiegowym.

Słowa kluczowe: wskaźnik czystości, zaburzenia zdrowotne, stada, krowy

PSZCZOŁY I PESTYCYDY – WYNIKI BADAŃ ZATRUĆ PSZCZOŁ W LATACH 2014-2021

T. Kiljanek, S. Semeniuk, M. Goliszek, M. Małysiak, O. Burek, P. Łusiak, A. Posyniak

Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Na zlecenie Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi w PIWet-PIB realizowany jest program dotyczący diagnostyki zatruc pszczoł środkami ochrony roślin. Badania te są jednym z elementów Programu Wieloletniego Instytutu a dokładniej zadania pt. Monitorowanie stanu zdrowotnego i strat rodzin pszczelich w krajowych pasiekach. W ramach tych badań dotychczas diagnozowano łącznie niemal 500 przypadków podejrzeń zatruc pszczoł mogących wynikać z niewłaściwego stosowania środków ochrony roślin w rolnictwie.

Każda z otrzymanych do badań próbek martwych pszczoł poddawana jest kompleksowym badaniom toksykologicznym w kierunku oznaczania niemal 300 różnorodnych pestycydów (środki ochrony roślin, leki warroabójcze, produkty biobójcze).

W latach 2014 – 2020 pozostałości pestycydów stwierdzono w 96% zbadanych próbek martwych pszczoł. Próbkę pochodziły z terenu wszystkich województw. Największą ilość przypadków zatruc pszczoł notowano w rejonach o relatywnie największej liczbie rodzin pszczelich. Rzepak ozimy był uprawą, która na skutek błędów w stosowaniu środków ochrony roślin była najczęściej wskazywana, jako miejsce narażenia pszczoł na toksyczne działanie pestycydów. Do zatruc pszczoł dochodziło również w czasie kwitnienia sadów, roślin strączkowych oraz zbóż. Spośród 131 oznaczonych pestycydów najliczniejszą grupę stanowiły różnorodne insektycydy (49), fungicydy (43) oraz herbicydy (28). W próbkach stwierdzano ponadto pozostałości leków warroabójczych (5), akarycydów (5) lub regulator wzrostu. W próbce martwych pszczoł najczęściej stwierdzana jest jednoczesna obecność wielu substancji, nawet 22 pestycydów jednocześnie. Do najczęściej oznaczanych substancji stanowiących przyczyny zatrucia pszczoł w Polsce należą chloropiryfos, klotianidyna oraz dimetoat. W roku 2021 w konsekwencji zmian na rynku dopuszczonych do stosowania środków ochrony roślin następuje istotne zmniejszenie liczby zgłaszanych do Instytutu przypadków zatruc pszczoł. Bezpośrednią przyczyną obserwowanych zmian wydaje się być zwłaszcza cofnięcie zezwoleń na środki ochrony roślin zawierające chloropiryfos lub dimetoat.

Słowa kluczowe: pszczoły, zatrucia, pestycydy, środki ochrony roślin, produkty biobójcze

DOBROSTAN I PRAWA ZWIERZĄT W KODEKSIE ETYKI LEKARZA WETERYNARII

M. Tracz, A. Jackowska-Tracz, K. Anusz

Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Wykonywanie zawodu lekarza weterynarii w Polsce reguluje ustawa z dnia 21 grudnia 1990 r. o zawodzie lekarza weterynarii i izbach lekarsko-weterynaryjnych. Ustawa zobowiązuje lekarzy i lekarki weterynarii do wykonywania zawodu zgodnie z przepisami powszechnie obowiązującymi oraz z uchwałami samorządu weterynaryjnego. Do najważniejszych uchwał samorządu należy Kodeks Etyki Lekarza Weterynarii, który został przyjęty przez VII Nadzwyczajny Krajowy Zjazd Lekarzy Weterynarii uchwałą Nr 3/2008/VII z dnia 26 stycznia 2008 r.

Pojęcie dobrostanu zwierząt w Kodeksie Etyki Lekarza Weterynarii występuje zaledwie jeden raz, a pojęcie praw zwierząt trzy razy. Oba te zwroty znajdują się w rozdziale II kodeksu pod tytułem rola lekarza weterynarii w ochronie zdrowia publicznego oraz ochronie środowiska i praw zwierząt. Nowoczesne rozumienie terminu prawa zwierząt ukształtowane zostało przez Animal Right Movement w latach siedemdziesiątych i osiemdziesiątych XX w. Czołowymi twórcami tej idei są Tom Regan i Gary L. Francione. Uogólniając, zwierzęta jako istoty bezbronne i zbyt słabe by bronić się same objęte są prawami podstawowymi analogicznymi do praw podstawowych przynależnym ludziom, np. prawo do życia i poszanowania integralności cielesnej. Pojęcie dobrostanu powstało w wyniku działalności Animal Welfare Movement. Przedstawicielami tego ruchu są Jeremy Bentham i Peter Singer. Teoria dobrostanu zwierząt jako podstawową wartość stawiają realizację preferencji jednostek. Bogactwo tych preferencji stanowi czynnik hierarchizujący różne kategorie jednostek. Przy założeniu, że zwierzęta dążą jedynie do unikania cierpienia a ludzie dodatkowo posiadają świadomość śmierci, równe traktowanie ludzi i zwierząt występuje w zakresie zmniejszania cierpienia – w zakresie poszanowania życia brak jest takiej równości.

Kodeks jako akt prawny wewnątrz samorządu weterynaryjnego jest rozszerzeniem przepisów prawa publicznego. Polskie i unijne przepisy nie wprowadzają pojęcia praw zwierząt. W przepisach powszechnie obowiązujących używane jest pojęcie dobrostanu. Z tego względu należy przyjąć, że w rozdziale II Kodeksu Etyki Lekarza Weterynarii pojęcia praw zwierząt i dobrostanu zwierząt użyte są zamiennie; brak jest różnicowania znaczeniowego tych pojęć. Wskazane jest doprecyzowanie przepisów kodeksu w tym zakresie ze względu na znaczącą różnicę w znaczeniu tych pojęć.

WPŁYW BADANIA REKTALNEGO NA WARTOŚĆ CIŚNIENIA KRWI I TĘTNA ORAZ TEMPERATURĘ GAŁKI OCZNEJ U KRÓW

A. Grzczka, S. Graczyk, G. Wozniak, A. Hryniszyn, J. Wyszowska, M. Gehrke,
J. M. Jaśkowski

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń, Polska

Celem pracy była ocena wpływu badania rektalnego na wartość tętna, ciśnienia krwi oraz temperaturę oka u krów. Badanie przeprowadzono na 33 krowach wieloródkach, w miesiącach czerwiec-sierpień 2021, pochodzących z dwóch obór uwięziowych. Zwierzęta podzielono na trzy grupy. W grupie 1 ($n = 12$) i 2 ($n = 12$) i 3 ($n = 9$) oceniano wpływ badania odp.: krótkiego (ca 1 min (czas diagnozy *per rectum*, dokonywanej przez doświadczonego lekarza weterynarii) długiego (ca 3 min (czas analogicznego badania studentów), oraz bardzo krótkiego ($n=9$ ($<10s$ (czas włożenia i wyjęcia ręki). W każdej z grup dokonywano u krów trzykrotnego pomiaru: tętna - przed badaniem (wartość spoczynkowa), natychmiast po badaniu a następnie 2 i 4 minuty później; ciśnienia krwi – przed badaniem, natychmiast po badaniu i 4 minuty później oraz temperatury oka – przed badaniem, natychmiast po badaniu i 4 minuty później. Tętno mierzono manualnie, pomiar ciśnienia krwi przy pomocy ciśnieniomierza naramiennego OMRON M2 BASIC – CHEM-CR24, natomiast temperatury oka z wykorzystaniem kamery termowizyjnej FLIR TG165 (FLIR System, Inc 27700 SW Parkway Ave WILSONNVILLE OR 970, USA). W grupie 1 i 2 bezpośrednio po badaniu tętno wzrastało z 75,9 i 72,9 do 82,4 i 81,6 uderzeń/min ($p < 0,05$), a następnie obniżało się szybko do wartości wyjściowych. W grupie 3, wzrost tętna nie był istotny. Ciśnienie skurczowe i rozkurczowe krwi krów grupy 1 wynosiło odp. 127,5-132,2 i 82,5-88,5 ($p > 0,05$) oraz grupy 2 91-115,7 i 45,2-74,2 9 ($p > 0,05$). Nie stwierdzono też różnic w wartościach temperatury oka. Wynosiła ona w grupie 1 i 2 odp. 35,7-35,8 i 36,2-36,4°C. W podsumowaniu; badanie rektalne powodowało nieznaczną, krótkotrwałą reakcję zwierząt na badanie *per rectum* przejawiające się w przejściowym, niewielkim wzroście tętna. Badania są kontynuowane.

Słowa kluczowe: badanie rektalne, stres, tętno, ciśnienie, temperatura

LIS POSPOLITY (*VULPES VULPES*) JAKO BIOINDYKATOR ZANIECZYSZCZENIA ŚRODOWISKA

M. Giergiel, B. Sell, A. Posyniak, P. Jedziniak

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Puławy, Polska

Wpływ działalności człowieka na środowisko naturalne jest znaczący. Chemizacja rolnictwa i wzrastająca ilość stosowanych leków weterynaryjnych nie są obojętne dla zwierząt wolnożyjących. Łatwy dostęp do środków ochrony roślin, rodentycydów hydroksykumarynowych (trutek na gryzonie) oraz brak nadzoru nad ich sprzedażą doprowadził do zanieczyszczenia środowiska. W wyniku, częstego i/lub długiego kontakt z niektórymi substancjami toksycznymi może dochodzić do ich kumulacji w narażeniach. Badanie pozostałości ksenobiotyków w tkankach zwierzęcych może stanowić źródło informacji o stanie środowiska, wykorzystując zwierzęta wolnożyjące takie jak zwierzęta łowne i ptaki drapieżne jako bioindykatory. Lis jest drapieżnikiem powszechnie występującym w Polsce i na świecie, przystosowanym do życia w różnych środowiskach. Ważną częścią jego pożywienia są gryzonie, owady, rośliny, a także padlina. Z uwagi na zróżnicowaną dietę oraz miejsce przebywania, jest on narażony na różne substancje toksyczne co może być cennym źródłem informacji o skażeniu środowiska. W wielu krajach prowadzony jest odstrzał lisów w ramach monitoringu wścieklizny i innych chorób zakaźnych, dlatego też pozyskanie materiału do przeprowadzenia badań jest łatwiejsze niż w przypadku innych zwierząt wolnożyjących.

W ramach stażu post-doc w Science and Advice for Scottish Agriculture (SASA) w Szkocji zostały przeprowadzone badania wątrób lisów w kierunku obecności insektycydów, rodentycydów i leków weterynaryjnych z wykorzystaniem techniki chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas. Z przebadanych ok. 120 wątrób lisów w 84 (70%) potwierdzono obecność pozostałości: rodentycydów hydroksykumarynowych (86%), insektycydów (32%) i leków weterynaryjnych (26%). Wśród rodentycydów hydroksykumarynowych najczęściej stwierdzano obecność bromadiolonu, difenakum i brodifakum. W grupie pozostałych pestycydów najczęściej stwierdzano obecność fungicydów takich jak: spirokamina, fenipropiomorf i flutrafol, natomiast wśród leków weterynaryjnych najczęściej wykrywaną substancją był klozantel - lek przeciwpasożytniczy.

Uzyskane wyniki są dość zaskakujące i pokazują potrzebę przeprowadzania tego typu badań w całej Europie. Przeprowadzenie podobnych badań m.in. w Polsce pozwoliłoby na uzyskanie informacji o narażeniu lisów na substancje chemiczne, a pośrednio o stanie środowiska. Prowadzenie monitoringu zatrucia zwierząt wolnożyjących jest niezwykle istotnie nie tylko dla ich ochrony, ale również dla bezpieczeństwa człowieka.

Badania finansowane ze środków dotacji KNOW Konsorcjum "Zdrowe Zwierzę - Bezpieczna Żywność", Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego decyzja nr 05-1/KNOW2/2015.

OCENA DOBROSTANU BYDŁA PODCZAS TRANSPORTÓW DO RZEŻNI

M. Ciorga

Katedra Ochrony Zdrowia Publicznego i Dobrostanu Zwierząt, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska

Transport drogowy zwierząt, nawet jeżeli wykonywany jest zgodnie z obowiązującymi przepisami prawa, jest najbardziej stresogennym etapem praktyki hodowlanej związanej z zakupem zwierząt do gospodarstwa lub ich odstawą do rzeźni. Z licznych badań wynika, że najbardziej stresogennymi elementami transportu jest załadunek i rozładunek zwierząt oraz warunki przewozu: czas transportu, gęstość załadunku, brak ściółki, brak wody i paszy przy długich transportach, stres przegrzania oraz brutalność obsługi.

Celem niniejszej pracy była ocena dobrostanu bydła podczas transportów do jednego z większych zakładów mięsnych w okresie 6 miesięcy od stycznia do końca czerwca 2021 roku. Łącznie oceniono 191 transportów w tym 109 środków transportów posiadających uprawnienia do 8 godzin i 82 transporty z uprawnieniami powyżej 8 godzin, którymi przywieziono do rzeźni 4890 zwierząt. W tym okresie na 191 dostaw zwierząt 161 transportów zamykało się w czasie do 8 godzin a transportów trwających dłużej niż 8 godzin było 75, w tym 2 transporty nie posiadające uprawnień do przewozu zwierząt powyżej 8 godzin. Kryteriami oceny dobrostanu bydła w ocenianym transporcie była: zgodność z wytycznymi Rozporządzenia Rady (WE) Nr 1/2005 w sprawie ochrony zwierząt podczas transportu oraz Zaleceniami Temple Grandin,(2017), które obejmują: stan zdrowia i kondycji bydła przy rozładunku, czas oczekiwania na rozładunek i czas rozładunku, upadki i poślizgnięcia zwierząt przy rozładunku, stosowanie poganiaczy elektrycznych i postępowanie ze zwierzętami nie mogącymi się samodzielnie poruszać.

Zebrane wyniki wykazały, że w badanym okresie zachowano wysoki poziom dobrostanu. Ocena większości parametrów mieściła się w przedziale akceptowalnym lub nawet doskonałym. Brak było poślizgnięć przy rozładunku, upadki podczas transportu stanowiły niespełna 0,021% wszystkich przypadków. Elektrycznych poganiaczy w czasie rozładunku użyto w przypadku 37 zwierząt (0,76%), w magazynie żywca 6 razy (0,12%), a na hali ubojowej 148 razy na 4890 zwierząt, co stanowiło 3,03%. Wartości te według wytycznych są jak najbardziej akceptowalne. Największe wątpliwości dotyczyły warunków transportowych, gdzie w przypadku niektórych transportów trwających powyżej 8 godzin, nie zapewniono ściółki.

Słowa kluczowe: dobrostan, transport, bydło, zakłady ubojowe

OCENA STOPNIA NARAŻENIA PSÓW NA BISFENOL A (BPA) POPRZECZ ANALIZĘ PRÓBEK SIERŚCI

K. Makowska¹, J. Martín², A. Rychlik¹, I. Aparicio², J. Santos², E. Alonso², S. Gonkowski¹

¹Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

²Katedra Chemii Analitycznej, Uniwersytet w Sewilli, Sewilla, Hiszpania

Bisfenol A (BPA) jest powszechnie wykorzystywany do produkcji tworzyw sztucznych, w tym także opakowań i puszek do przechowywania żywności. Może on przenikać do pożywienia i środowiska oraz dostawać się do organizmów ludzi i zwierząt przez przewód pokarmowy, płuca i skórę. BPA oddziałuje między innymi na układ hormonalny, rozrodczy oraz krążenia, a także przyczynia się do występowania zaburzeń przemiany materii. Wiedza na temat narażenia psów na działanie BPA jest bardzo ograniczona, chociaż wiadomo że jest on obecny w karmie i otoczeniu zwierząt, np. w zabawkach czy miskach, przy których produkcji (w przeciwieństwie do produktów przeznaczonych dla ludzi) zawartość BPA nie jest kontrolowana.

Celem badań było oznaczenie poziomów BPA metodą chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) w sierści 30 psów. Analiza sierści w badaniach toksykologicznych nabiera coraz większego znaczenia ze względu na małą inwazyjność pobierania oraz łatwość przechowywania i transportu próbek. Niniejsze badania to pierwsze oznaczenia narażenia psów na BPA poprzez analizę próbek sierści. Badania były wykonane we współpracy międzynarodowej z Universidad de Sevilla (Hiszpania).

Obecność BPA stwierdzono w 93,33% badanych próbek. Jego stężenie wahało się od 7.05 ng/g do 436 ng/g (średnia arytmetyczna 81,30 ng/g). Wykazano też istotne statystycznie różnice w poziomach BPA pomiędzy zwierzętami chudymi (BCS 1-3) - 91.08 ± 14.27 ng/g, o prawidłowej masie (BCS 4-5) - 26.62 ± 6.137 ng/g i otyłymi (BCS 6-9) - 124.6 ± 38 ng/g. W doświadczeniu przeanalizowano również korelacje między poziomami BPA, a wiekiem i płcią. Jednakże w tym wypadku zaobserwowane różnice nie były istotne statystycznie.

Uzyskane wyniki wykazały, że psy są narażone w znacznym stopniu na działanie BPA, a co za tym idzie substancja ta może odgrywać ważną rolę w toksykologii weterynaryjnej jako czynnik sprzyjający powstawaniu różnego typu zaburzeń zdrowotnych u tego gatunku zwierząt. Ponadto badania wykazały, iż analiza sierści w ocenie narażenia psów na BPA może zastąpić „klasyczne” próbki do badań toksykologicznych, takie jak krew czy moczu.

OPIEKA LEKARSKO-WETERYNARYJNA W STADACH BYDŁA MLECZNEGO W POLSCE – BADANIA ANKIETOWE

M. Lech, J. Sobolewski

Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń, Polska

Dobrostan zwierząt jest bardzo złożonym pojęciem, uwzględniającym aspekty etyczne, naukowe, prawne oraz ekonomiczne. Elementem gwarantującym utrzymanie jego wysokiego poziomu jest odpowiednia opieka lekarsko-weterynaryjna. Współpraca hodowca - lekarz weterynarii gwarantuje nie tylko skuteczną diagnostykę, ale także zapewnienie wolności od bólu, urazów i chorób.

Badania ankietowe zostały przeprowadzone w okresie od 2018 r. do czerwca 2021 r. Formularz składał się z 85 pytań dotyczących różnych aspektów weterynaryjno - hodowlanych w stadach bydła mlecznego. Niniejsze doniesienie skupia się na sekcji dotyczącej opieki weterynaryjnej w stadach bydła mlecznego w Polsce (13 pytań). Uzyskano 663 wypełnionych ankiet.

Na podstawie ankiet zdefiniowano główne problemy zdrowotne w stadach krów mlecznych, którymi są: zapalenia wymienia (47,66%), kulawizny (35,90%) oraz biegunki cieląt (33,33%). W 28,21% gospodarstw zostały wykonane zabiegi chirurgiczne, a do najczęściej wskazywanych należały: korekcja przemieszczenie trawieńca, cesarskie cięcie, plastyka pochwy i sromu, usunięcie palca. Średni procent krów brakowanych w stadzie wynosił 19,60%, a średni wiek laktacyjny brakowanych krów to 4,2 laktacje.

Większość gospodarstw (85,43%) współpracuje z lekarzami weterynarii wolnej praktyki na podstawie ustnej umowy między hodowcą a lekarzem (71,79%). W 41,03% badanych gospodarstwach stado jest obsługiwane przez dwóch lub trzech lekarzy weterynarii. 72,55% lekarzy stad bydła mlecznego stanowią mężczyźni. 48,42% lekarzy weterynarii ma od 6 do 20 lat praktyki zawodowej. Średnia odległość siedziby lekarza weterynarii wynosi 34,5 km.

Uzyskane wyniki, umożliwiają identyfikację najczęstszych problemów chorób bydła mlecznego, będących jednocześnie głównymi przyczynami brakowania zwierząt. Możliwe staje się wyznaczenie kierunku, w którym powinni specjalizować się lekarze zajmujący się tym gatunkiem. Przeprowadzone ankiety umożliwiają również stworzenie obrazu lekarza weterynarii sprawującego opiekę nad stadami bydła mlecznego. Uzyskane wyniki mogą zostać wykorzystane do przygotowania strategii współpracy hodowca - lekarz weterynarii, która jest konieczna dla zapewnienia zdrowia zwierząt, będącego nieodłącznym elementem ich dobrostanu.

WPŁYW ZASTOSOWANIA MATERIAŁU ŚCIOŁOWEGO NA WYSTĘPOWANIE WYBRANYCH ZACHOWAŃ NIEPOŻĄDANYCH U CIELĄT

A. Ponieważ, D. Witkowska

Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Bardzo ważnym aspektem w utrzymaniu dobrostanu cieląt na odpowiednim poziomie jest rodzaj i jakość stosowanej ściółki, która istotnie wpływa na kształtowanie się mikroklimatu w całym budynku, a w konsekwencji na kondycję i zdrowie cieląt. Dobry materiał ściółkowy powinien wykazywać odpowiednie cechy: ciepłochronność, higroskopijność, zdolność wchłaniania amoniaku, nietoksyczność i biodegradowalność, łatwość usuwania podczas czyszczenia, czystość mikrobiologiczną oraz niską pylistość, zwłaszcza podczas dościelania. Wyniki badań wskazują jednak, że niektóre materiały o wyżej wspomnianych właściwościach mogą utrudniać zwierzętom poruszanie się oraz niekorzystnie wpływać na ich behavior.

W związku z powyższym celem niniejszych badań była obserwacja i analiza wybranych zachowań cieląt utrzymywanych na 7 różnych materiałach ściółkowych takich jak: pelet jasny, trociny średnie, torf, sieczka z słomy, len, konopie oraz (jako kontrola) pszenżytnia słoma stosowana rutynowo w gospodarstwie. Cielęta utrzymywane były jednakowo zgodnie z minimalnymi wymaganiami (Dz. U. 2010, Nr 56, poz. 344) w identycznie wyposażonych boksach (po 8 cieląt na każdym rodzaju podłoża) przez okres 2 tygodni. Ich zachowanie rejestrowano za pomocą kamer (Gemini Technology, Camera 1080P), a następnie dokonano analizy nietypowych zachowań behawioralnych.

Niepożądane zachowania behawioralne można było zaobserwować szczególnie w dniach dościelania materiału ściółkowego lub wymiany ściółek na nowe. Najczęściej niekorzystny behavior objawiał się w postaci kopania cieląt towarzyszących, lizania się i ssania elementów kojca. Kopanie współtowarzyszy występowało najczęściej ($P < 0.001$) u cieląt utrzymywanych na ściółkach z peletu (14,7%) i torfu (14,6%). Najrzadziej to zachowanie obserwowano na ściółce lnianej (u 8,6%) oraz na słomie z pszenżyta (9,5%). Ssanie elementów kojca najczęściej ($P < 0.001$) występowało u cieląt utrzymywanych na sieczce ze słomy (12,0%) oraz na słomie z pszenżyta (11,8%), a najrzadziej na ściółce z wiór drzewnych (8,7%). Z kolei na ściółce z wiór drzewnych lizanie się cieląt było najczęstsze ($P < 0.001$) i występowało u 14,48% osobników. Najrzadziej zachowanie lizania się występowało na ściółce konopnej (9,3%) i lnianej (9,6%).

Na podstawie niniejszych obserwacji można konkludować, że najbardziej przyjazną dla cieląt (pod względem występowania niepożądanych zachowań) jest ściółka lniana i konopna, natomiast najczęściej zachowań niepożądanych zwierzęta wykazują na ściółce z peletu.

Słowa kluczowe: cielęta, pelet, trociny, torf, sieczka, len, konopie, słoma, behavior, niepożądane zachowania



SESJA EDUKACJI I NOWOCZESNYCH FORM NAUCZANIA W WETERYNARII

NEUROLOGICZNE I PSYCHOLOGICZNE PODSTAWY UCZENIA SIĘ

G. Cebula, M. Nowakowski

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków, Polska

Jedną z podstawowych cech człowieka, ale także innych istot jest zdolność do uczenia się. W tym materiale chcielibyśmy omówić podstawowe teorie dotyczące sposobów nabywania i zapamiętywania wiedzy i umiejętności.

Nie da się mówić o uczeniu się i edukacji bez omówienia teoretycznych podstaw działania pamięci. Typowo ślad pamięciowy obejmujący dane z wszystkich naszych zmysłów, ale także myśli które mu towarzyszą, jest sumą impulsów elektrycznych powstających w naszych neuronach w różnych okolicach mózgu. Jest to coś co przepływa przez naszą pamięć, typowo nazywane pamięcią bieżącą. Tylko część z takich śladów pamięciowych pozostaje na dłużej z nami i jest przenoszona do pamięci krótkoterminowej. Decydujące znaczenie dla tego, które treści zostaną zapisane w pamięci krótkoterminowej ma uwaga. Na nią z kolei możemy wpływać poprzez właściwą motywację czy emocje. Z kolei dystraktory będą nam takie działania utrudniać. Dla nauczyciela jednak istotne jest, aby zawarte w pamięci krótkoterminowej informacje uległy procesowi konsolidacji i zostały przeniesione do pamięci długoterminowej. Tu znaczenie mają z kolei takie działania jak umieszczanie zapamiętanych informacji w kontekście (np. tworzenie map myśli) i powtarzanie. Po to, aby powstał długotrwały efekt pamięciowy w mózgu muszą, w obrębie neuronów, zajść zmiany strukturalne. Aby takie zmiany miały trwały charakter konieczne jest regularne używanie nabytej wiedzy i umiejętności.

Nauki psychologiczne także stopniowo opracowywały i rozwijały teorie odpowiadające na pytanie jak się uczymy. Ciekawe, że wraz z upływem czasu i rozwojem nowych teorii zmieniało się spojrzenie na rolę nauczyciela w procesie uczenia się.

Behawioryzm w centralnym miejscu procesu uczenia się stawiał nauczyciela, osobę która poprzez odpowiednie bodźce, wzmocnienie, niejako sterowała procesem mającym na celu uzyskanie potencjalnie trwałej zmiany. To podczas prac badawczych prowadzonych przez behawiorystów odkryto, że uczenie przebiega lepiej, kiedy korzysta się z nagród, a nie kar. Behawioryzm zakłada uczenie się od rzeczy prostych do złożonych i od części do całości.

Teorie uczenia się dorosłych, oparte o psychologię poznawczą kładą duży nacisk na uczenie się w oparciu o kontekst i wykorzystanie dotychczasowej wiedzy i doświadczenia. Nauczyciel wpływa bardziej na szeroko rozumiane środowisko tak, aby to ono pobudzało do uczenia się, a proces przebiega lepiej, kiedy zamiast zapamiętywać przekazywane dane trzeba samemu rozwiązać przedstawiony problem. To w oparciu właśnie o teorie z tej grupy pojawiła się szeroko obecnie używana na uczelniach wyższych metoda nauczania opartego o problem (PBL – *problem based learning*).

Wreszcie powstałe w XXI wieku teorie oparte o założenia konektywizmu widzą uczenie się nie jako proces indywidualny ale jako sieć osób i technologii przetwarzających i udostępniających wiedzę wykorzystywaną w procesie samokształcenia.

Słowa kluczowe: uczenie się, pamięć, nauczyciel

TECHNIKI E-LEARNINGU W NAUCZANIU ANATOMII ZWIERZĄT W CZASIE PANDEMII COVID19 – DOŚWIADCZENIE KATEDRY ANATOMII ZWIERZĄT WYDZIAŁU MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ UWM W OLSZTYNIE

M. Załęcki, M. Klimczuk, J. Kaleczyc

Katedra Anatomii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, Polska

Nauczanie Anatomii Zwierząt w klasycznej formie opiera się na przekazywaniu wiedzy teoretycznej w połączeniu z praktycznym zaznajamianiem studentów z prezentowanymi zagadnieniami. W tym celu wykorzystywane są różnorodne fizyczne preparaty anatomiczne (np. kostne, formalinowe, korozyjne, plastynowane, modele z tworzyw sztucznych etc.), a od pewnego czasu proces dydaktyczny wzbogacają komputerowe programy anatomiczne.

Wybuch pandemii COVID-2019 uniemożliwił w sposób nagły prowadzenie zajęć w klasycznej formie zajęć prosektoryjnych. Nowoczesne techniki nauczania zdalnego stały się jedyną możliwą formą przekazywania wiedzy studentom. Sytuacja wymusiła natychmiastową zmianę sposobu prowadzenia zajęć bez możliwości wcześniejszego przygotowania odpowiednich mechanizmów i wzorów opracowywania i przekazywania wiedzy. Ta bezprecedensowa sytuacja wymusiła znalezienie najlepszych dostępnych rozwiązań przekazywania wiedzy w bardzo krótkim czasie.

Katedra Anatomii Zwierząt w Olsztynie zdalny sposób przekazywania wiedzy studentom oparła na następujących filarach e-learningu:

1. Podstawowy kontakt umożliwiający ustalenie najważniejszych zagadnień dotyczących organizacji zajęć był prowadzony poprzez stronę Katedry stanowiącą część Portalu Weterynaryjnego (strona online Wydziału):
2. Do bezpośredniej komunikacji ze studentami oraz prowadzenia zajęć w formie "live" wykorzystana została usługa internetowa - Microsoft Teams;
3. W celu umożliwienia studentom nieograniczonego czasowo dostępu do tematyki zajęć przygotowywano filmy oparte o prezentację wraz z pełną narracją prowadzącego. Filmy umieszczane były na platformie YouTube w specjalnie stworzonym kanale do którego dostęp mieli wyłącznie studenci Wydziału;
4. Zagadnienia stricte praktyczne były przedstawiane w postaci:
 - a. Filmów przedstawiających preparację poszczególnych okolic anatomicznych z pełną narracją preparatora i opisami struktur na kadrach filmu oraz stosownymi opisami pod filmem. Opracowane filmy umieszczane były na kanale Youtube
 - b. Zdjęć przedstawiających różne ujęcia poszczególnych preparatów anatomicznych udostępnianych na platformie Microsoft Teams
 - c. Specjalistycznych programów komputerowych 3D przedstawiających budowę anatomiczną wybranych gatunków zwierząt prezentowanych podczas sesji live prowadzonych poprzez platformę Microsoft Teams.

Przedstawione sposoby e-learningu zapewniły technicznie bezproblemowe prowadzenie zajęć i zostały dobrze odebrane przez studentów, co potwierdzają statystyki kanału Youtube i zdawalności.

BADANIE PORÓWNAWCZE POTRZEB EDUKACYJNYCH LEKARZY WETERYNARII W OBSZARZE KOMUNIKACJI Z WŁAŚCIECIEM ZWIERZĘCIA

I. Kołomyjska¹, A. Efthimiadou², M. Charakis³, I. Athanasopoulos², G. Koulas³

¹KIKO Educational Solutions Sp. z o.o. Warszawa, Polska,

²Synolic, Ateny, Grecja,

³Charakis Research and Consulting Ltd, Limassol, Cypr

Lekarze weterynarii to wyspecjalizowana grupa profesjonalistów w dziedzinie medycyny weterynaryjnej, którzy po ukończeniu studiów muszą radzić sobie z różnymi specyficznymi sytuacjami w miejscu pracy. W swojej codziennej praktyce zawodowej często stają przed wyzwaniem zmieniających się potrzeb lub coraz bardziej wymagających postaw swoich klientów - właścicieli zwierząt, co może stanowić poważną barierę w pracy. Komunikacja z właścicielem zwierzęcia to bardzo specyficzny rodzaj kontaktu. Obejmuje kompetencje z obszaru komunikacji osobistej i wymaga pewnego poziomu empatii, ale także wiedzy, jak prowadzić rozmowę z klientem, by otrzymać niezbędne informacje, żeby skutecznie zdiagnozować problem zdrowotny, komunikować się w trakcie leczenia zwierzęcia i zachęcić do kontynuacji leczenia przez klienta, w celu pomyślnego ukończenia całego procesu medycznego z korzyścią dla pacjenta.

Przeprowadzone, w ramach projektu pt. „Developing communication competences among veterinary doctors” (akronim COMVET), międzynarodowe badanie porównawcze, postaw i potrzeb edukacyjnych dotyczyło dużej grupy czynnych zawodowo lekarzy weterynarii w kilku krajach Unii Europejskiej. W ramach badania zastosowano metody badawcze zarówno jakościowe, jak i ilościowe.

Głównym celem tego badania było poszerzenie wiedzy na temat potrzeb edukacyjnych lekarzy weterynarii w zakresie komunikacji interpersonalnej z właścicielami pacjentów zwierzęcych. Zebraliśmy i przeanalizowaliśmy dane dotyczące wzorców komunikacji lekarzy weterynarii, wyzwań zawodowych w komunikacji, motywacji własnej w środowisku zawodowym, radzenia sobie ze stresem oraz strategii radzenia sobie z trudnościami w codziennej praktyce i budowaniu relacji z klientem.

Wyniki badania wskazują potrzebę kształcenia lekarzy weterynarii w zakresie komunikacji interpersonalnej. Wielu respondentów przyznało, że miewa trudności w komunikacji z opiekunami zwierząt, a przeważająca większość z badanych lekarzy weterynarii wyraziła potrzebę edukacji i szkolenia w kierunku efektywnej komunikacji interpersonalnej z właścicielem zwierzęcia.

Słowa kluczowe: komunikacja interpersonalna, komunikacja lekarz weterynarii - opiekun, motywacja, professional communication, needs of veterinary doctors

Badanie zostało opracowane w ramach międzynarodowego projektu Partnerstw Strategicznych pt. „Developing communication competences among veterinary doctors” (akronim COMVET), współfinansowanego z Programu ERASMUS+ Unii Europejskiej.

EFEKTY STOSOWANIA TUTORINGU W NAUCZANIU STUDENTÓW WETERYNARII PRZEDMIOTÓW PODSTAWOWYCH

W. Kędzierski, J. Wawrzykowski, M. Jamioł, M. Kankofer

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublinie, Polska

Wieloletnie doświadczenie dydaktyczne pozwala na stwierdzenie, że postępy w nauce przedmiotów podstawowych, jak chemia i biochemia, wykazywane przez część studentów, są niesatysfakcjonujące. Zjawisko to ma wiele różnych przyczyn, jedną z nich jest niewątpliwie prowadzenie zajęć w stosunkowo dużych grupach, gdzie nie ma możliwości rozpoznania indywidualnych potrzeb studentów. W celu rozwiązania przedstawionego problemu, rozpoczęliśmy w Katedrze Biochemii prowadzenie nauki metodą tutoring. Do zajęć zakwalifikowaliśmy studentów niewykazujących postępów w nauce w celu przygotowania ich indywidualnie do egzaminu z chemii. Jeden nauczyciel akademicki pracował z grupą ok. 5 osób, spotykając się raz w tygodniu przez okres ok. trzech miesięcy – od momentu rozpoznania problemu do zakończenia semestru. W pracy wykorzystano głównie metodę tzw. blended learning, polegającą na wcześniejszym podaniu zagadnień do opracowania i omówieniu ich podczas spotkania. Omawianie poszczególnych problemów przez studentów nosi też cechy tzw. peer-teaching – uczenie przez rówieśników, gdyż studenci podczas spotkań tłumaczą poszczególne zagadnienia używając własnego języka oraz przykładów zrozumiałych dla danego pokolenia. Podczas przygotowywania się do zajęć studenci korzystali z materiałów opracowanych wcześniej przez nauczyciela – przedstawiających omawiane zagadnienia w sposób jak najbardziej przystępny, z uwypukleniem znaczenia omawianych problemów (jak właściwości elektrolitów, pH roztworu, buforów) w praktyce weterynaryjnej. Materiały te były zamieszczone na stronie internetowej dostępnej dla wszystkich studentów Wydziału. Projekt introdukcji metody tutoring do programu studiów weterynaryjnych przeprowadzono w ramach ministerialnego programu „Mistrzowie dydaktyki”.

Wszyscy studenci objęci programem zdali egzamin z chemii i kontynuują studia. W przekazanych opiniach, studenci pracując w małej grupie czuli się odpowiedzialni za opracowanie powierzonych im tematów, nie mogli liczyć na anonimowość, obserwowali postępy w nauce, co motywowało ich do dalszej pracy.

Metoda tutoring może być polecana na studiach weterynaryjnych jako metoda uzupełniająca w nauczaniu przedmiotów podstawowych.

Słowa kluczowe: blended learning, chemia, peer-teaching, studia, weterynaria

INDEKS AUTORÓW

Adamczyk E.....	247	Barc A.....	397, 398
Adamczyk K.....	362, 438	Barocha K.....	165
Adamiak Z.....	336	Barski D.....	101
Adaszek Ł.....	234, 323	Barszcz K.....	91, 198, 200, 342
Aleksandrowicz A.....	419, 420	Bartak M.....	424, 440, 441
Alonso E.....	460	Bartosik J.....	426
Altyn I.....	291	Bartyzel B.....	150
Andres K.....	452	Bąk I.....	438
Andrzejewska A.....	118	Bederska-Łojewska D.....	282
Antas M.....	301	Bednarek D.....	282, 250, 254
Antończyk A.....	201, 327, 334, 337, 338, 339	Bełcik A.....	96, 155, 156, 167
Anusz K.....	138, 139, 140, 142, 143, 146, 150, 157, 158, 159, 161, 162, 164, 165, 169, 172, 178, 183, 184, 186, 187, 188, 189, 194, 404, 435, 456	Bełkot Z.....	143, 151
Aparicio I.....	460	Bereznowski A.....	217, 223
Arent Z.....	208	Biazik A.....	233
Athanasopoulos I.....	467	Biegańska M.....	438
Augustynowicz M.....	381	Bielecki W.....	188
Augustynowicz-Kopeć E.....	432	Biernacka Z.....	107, 108, 109
Bagnicka E.....	268, 435	Bierowiec K.....	417
Bajzert J.....	113, 248, 256, 307	Bieżyński J.....	197
Balicki G.....	454	Bilska-Zajac E.....	96, 167
Balicki I.....	317	Binek M.....	415, 430
Bałańska B.....	102	Blank A.....	191, 421
Banaszkiewicz S.....	136	Bobrek K.....	354, 365
Bancerz-Kisiel A.....	125, 126	Bochniarz M.....	244, 246, 322, 323, 328
Bania J.....	136, 137	Bogdan J.....	143, 157, 164
Bańbura M.....	110, 424, 440, 441	Bomba A.....	259, 388
Bańcerowska L.....	396	Borawski W.....	337, 344
Baran R.....	256	Brodzki P.....	244, 246, 322, 323
Barański W.....	251, 252, 273	Bruczyńska M.....	119
		Brudaśca F.....	328
		Brzeski M.....	373
		Buczak K.....	197, 201, 337, 339

Budniak S.....	418, 426, 431, 443, 444, 445
Bugiel-Stabla K.....	318
Buras P.....	169
Burek O.....	455
Cebula G.....	465
Cebulska K.....	249
Cencek T.....	96, 97, 98, 155, 156, 167, 391
Chałabis-Mazurek A.....	149, 151, 370
Charakis M.....	467
Chełmońska-Soyta A.....	113
Chłopecka M.....	279
Chmielewska-Władyka M.....	350
Chmurska-Gąsowska M.....	321
Chodaczek G.....	210
Chrobak-Chmiel D.....	257, 340, 358, 360, 415, 430, 433, 435
Chrząszcz D.....	170
Chytek-Purchała M.....	283, 284, 285
Cieplińska K.....	281
Ciesielska K.....	103
Ciorga M.....	459
Čížek P.....	198
Cybulski P.....	300
Cymerys J.....	424, 440, 441
Cywińska A.....	104, 165, 189, 216
Czech-Załubska K.....	138
Czekaj H.....	353, 354, 356, 368
Czopowicz M.....	264, 265, 266, 267, 268, 269, 333, 340, 341, 342, 432
Czujkowska A.....	104
Czyżewska-Dors E.....	297
Dasiewicz K.....	309
Dąbrowska J.....	96, 97, 98, 155, 156
Dąbrowski M.....	281
Dąbrowski R.....	244, 246, 322, 323, 328, 329
Dec M.....	255, 363, 370, 373, 428
Degórska B.....	92
Dembele K.....	320
Demiaszkiewicz A.....	187
Deneka Ł.....	396
Denis E.....	174
Dervilly-Pinel G.....	176
Didkowska A.....	139, 140, 158, 159, 169, 183, 188, 435
Dolka B.....	358, 362
Dolka I.....	360
Domańska D.....	243
Domańska-Blicharz K.....	192, 193, 352, 355
Domino M.....	243
Domosławska A.....	325
Domrazek K.....	331
Dors A.....	299, 413
Drewnowska O.....	227
Drewnowska-Szczepakowska O.....	217, 229
Drzewiecka A.....	381, 399, 400
Dudek K.....	250, 282
Dunowska M.....	212, 213
Dyląg M.....	437
Dziadek K.....	364, 374
Dziekiewicz-Mrugasiewicz M.....	257
Dziwulska D.....	347
Dzięgelewska-Sokołowska Ż.....	258
Dzimira S.....	332
Efthimiadou A.....	467
Faron J.....	399
Ferenc K.....	306, 308, 309
Ferreira-Dias G.....	214, 215
Fił I.....	328
Florek M.....	262
Florowski T.....	309

Foksiński P.....	191, 421	Gołaś-Prączyńska M.....	145, 170
Frant M.....	117	Gołda R.....	230, 231
Frączkowska K.....	236	Gomółka-Pawlicka M.....	147, 163, 179
Frontczak-Baniewicz M.....	399	Gondek M.....	160
Frymus T.....	340, 341, 342, 432	Gonet M.....	137
Furmaga J.....	322, 323	Gonkowski S.....	460
Gagucki M.....	362	Gontarczyk A.....	96, 167
Gajda A.....	99, 144	Gozdowski D.....	172
Gajewska M.....	103, 258	Goździewska-Harłajczuk K.....	91, 198, 200
Gajewski Z.....	85, 243, 306, 308, 309	Górka A.....	330
Gajęcka M.....	273, 280, 281	Górski K.....	217, 227, 229
Gajęcki M.....	273, 280, 281	Grabowski T.....	78
Galemba G.....	309	Graczyk S.....	457
Gałązka M.....	104, 186	Gralak A.....	104
Gałużka A.....	321	Grelik A.....	283, 284
Gamian A.....	417	Grenda T.....	146, 288, 290
Gaweł A.....	86, 354, 361, 365	Grodzka M.....	322
Gąsiorek M.....	253, 278	Grudniewska J.....	385, 392
Gbylik-Sikorska M.....	99	Grzeczka A.....	454, 457
Gehrke M.....	457	Grzesik H.....	85
Gerus S.....	337	Grzymajło K.....	87
Giercuskiewicz-Hecold B.....	216	Guitton Y.....	176
Gierczak A.....	396	Hać-Szymańczuk E.....	178
Giergiel M.....	458	Hamouzová P.....	198
Gieryńska M.....	107, 108, 109	Hecold M.....	216
Giorgi M.....	99	Heikkinen K.....	172
Giza A.....	364, 371, 427, 442	Hejdysz M.....	105
Glińska-Suchocka K.....	344	Henklewska M.....	319
Głodek J.....	336	Henklewski R.....	233
Gnat S.....	411, 416, 422, 423, 437	Herudzińska M.....	454
Godynicki S.....	93	Holak P.....	336
Gogulski M.....	193	Hołysz M.....	210
Goldsztejn M.....	146, 288	Hopko M.....	384
Goliszek M.....	455	Hryniszyn A.....	457
Golke A.....	110, 433	Hutsch T.....	314, 396, 397, 398

Idziak M.....	318	Kaleczyc J.....	466
Iskrzak P.....	296	Kaleta T.....	450
Iwan E.....	192, 259, 427, 442	Kalicki M.....	190
Jabłoński A.....	300, 309	Kalisz G.....	221
Jacewicz J.....	92	Kankofer M.....	468
Jackowiak H.....	81, 82, 83, 93, 94, 95, 324	Kantor S.....	208
Jackow-Nowicka J.....	234, 238	Kapton I.....	166
Jackowska-Tracz A.....	138, 172, 178, 456	Karamon J.....	97, 98, 155, 156, 385
Jaklińska B.....	212	Karlik W.....	279
Jamioł M.....	468	Karwańska M.....	259
Janeczek M.....	403	Kaszak I.....	331
Jankowski M.....	344	Kaukonen E.....	362
Janowski T.....	241	Kawicka M.....	326
Janus I.....	211, 326	Kawińska A.....	314
Jaroszewski J.....	298	Kaźmierczak P.....	454
Jasiak M.....	218	Kędrak-Jabłońska A.....	418, 431, 426, 443, 444, 445
Jaśkowski B.....	454	Kędziera M.....	342
Jaśkowski J.....	454, 457	Kędzierski W.....	206, 207, 468
Jawor P.....	248, 256, 307	Kęsik-Maliszewska J.....	124
Jaworski S.....	424	Khan M.....	419
Jedziniak P.....	274, 279, 458	Kiełbowicz Z.....	197, 201, 228, 327, 334, 337, 339, 344
Jodełko A.....	245	Kierończyk B.....	100
Józefiak A.....	100	Kiljanek T.....	455
Judek J.....	408	Kiszczał L.....	404
Junkuszew A.....	79	Kizerwetter-Świda M.....	157, 164, 340, 415, 430
Jurka P.....	331	Klećkowska-Nawrot J.....	91, 198, 200
Juźwiak Ł.....	334, 337	Klich D.....	159, 186
Kaba J.....	262, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 333	Klimczuk M.....	466
Kaczmar E.....	316	Knysz P.....	160
Kaczmarek M.....	243	Kobielski J.....	187
Kaczmarek S.....	105	Kochanowski M.....	97, 98, 155, 156, 167
Kaczmarkowska A.....	158, 159, 165	Kociuba P.....	159
Kaczor S.....	187		
Kaczorek-Łukowska E.....	191, 421		

Kolenda R.....	419, 420	Krzysiak M.....	185, 194, 195, 418, 431
Kończak R.....	451	Krzyżek P.....	359
Kołodziejski P.....	105, 232	Książkiewicz M.....	104
Kołomyjska I.....	467	Kubiak K.....	344
Komsta R.....	234, 238	Kubiak Z.....	403
Koncicki A.....	347, 366, 375	Kubiak-Nowak D.....	337, 344
Kończyk-Kmiecik K.....	125, 126	Kubiś P.....	260
Koper M.....	107	Kucharski P.....	197, 201, 337, 338, 339
Kordas B.....	387	Kuczkowski M.....	86, 361
Korolczuk A.....	234, 238	Kulpa K.....	149
Korpysa-Dzirba W.....	96, 155, 156, 167	Kulynycz S.....	454
Korzeniowska-Kowal A.....	417	Kupa M.....	251
Kotlinowski J.....	397	Kupczyk P.....	209, 210
Kotula-Balak M.....	208, 321	Kurhaluk N.....	385, 392
Koulas G.....	467	Kursa O.....	367, 371
Kowalczyk J.....	366, 375, 347	Kuźmak J.....	259, 260, 261
Kowalik S.....	206, 207	Kwaśnik M.....	111, 263, 439
Kowalski K.....	104	Kwiatek K.....	146, 168, 176, 276, 277, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290
Koza W.....	299, 369, 372, 436	Kwiecień E.....	158, 159, 430, 433, 434, 435
Kozak B.....	146, 283, 284, 285, 288, 365	Kwieciński A.....	164, 425
Kozdrowski R.....	205	Kwieciński P.....	164, 425
Kozdruń W.....	353, 354, 356, 368	Kwit E.....	300
Kozłowska N.....	219, 237	Kwit R.....	299, 369, 372, 414, 436
Kozyra I.....	195	Lachowska S.....	197, 201, 337, 339
Krajewska-Wędzina M.....	120, 122, 123, 139, 183	Lachtara B.....	154, 173
Krakowska I.....	322, 323	Lalak A.....	414, 436
Krakowski L.....	244, 246, 322, 323	Lange A.....	424
Krasztel M.....	333, 340, 432	Larska M.....	111, 124, 185, 194, 195, 418, 431
Krause I.....	190	Laskowski Z.....	187
Krawenda M.....	88, 89	Latański M.....	79
Król B.....	277, 287	Latek U.....	279
Król J.....	136, 247, 412	Le Bizec B.....	176
Krumrych W.....	230, 231	Lech M.....	461
Krupa M.....	418, 431, 433, 426, 443, 444, 445	Leciejewska N.....	105, 232

Ledwoń A.....	360	Malinowska A.....	111
Lewicki M.....	326	Małek E.....	105, 232
Libera K.....	185	Małek M.....	343
Ligocka Z.....	332	Małysiak M.....	455
Lipczyńska-Ilczuk K.....	125, 126	Marek A.....	255, 370, 373
Lipiec M.....	120, 122, 123	Markiewicz W.....	298
Lipińska E.....	178	Markowska-Daniel I.....	265, 266, 267, 269
Lis M.....	86, 361, 452	Martin J.....	460
Lisiecka U.....	244	Martino P.....	328
Lisowska A.....	192, 351, 352	Martynyuk O.....	165
Lisowska B.....	229	Marycz K.....	216
Lisowski A.....	99	Marzec-Kotarska B.....	355
Liszka B.....	201, 332, 334, 337, 338, 339, 343	Maszewski S.....	152, 153
Loba W.....	296	Matczuk A.....	350
Löchelt M.....	260	Materniak-Kornas M.....	260
Łada P.....	125	Matyba P.....	300, 306, 309
Łagowski D.....	416, 422, 423, 437	Mazur M.....	277, 287
Łebkowska-Wieruszewska B.....	99	Mączyński M.....	112
Łobaczewski A.....	340, 341, 432	Mee J. F.....	305, 307
Łobocka M.....	77	Mendel M.....	279
Łopatek M.....	154, 174	Meroni G.....	328
Łopuszyński W.....	234, 238	Merta D.....	187
Łubiech K.....	291	Miążek A.....	137
Łucjanek M.....	145	Michalczuk M.....	362
Łucyszyn P.....	399	Michalski M.....	148, 175
Łukomska A.....	105, 232	Mickiewicz M.....	91, 264, 265, 266, 267, 269, 333, 340, 341, 342, 432
Łusiak P.....	455	Mielnik K.....	105, 232
Łuszczńska M.....	145, 170	Mikołajczyk S.....	152, 153
Maćkowiak-Dryka M.....	134, 149, 151, 177	Mikos-Wojewoda E.....	299, 369, 372, 414, 436
Madej J.....	365	Miszcak M.....	417
Madejska A.....	148, 175	Miśków-Baranowska M.....	381, 400
Majewska A.....	320	Moroz A.....	91, 264, 265, 266, 267, 269, 333, 340, 341, 342, 432
Majewski M.....	232	Mulica S.....	197
Maj-Paluch J.....	386		
Makowska K.....	460		

Mulińska W.....	110	Olech M.....	301
Murawska M.....	360, 429, 433	Olech W.....	139
Muszyńska B.....	282	Olejniak M.....	275
Nadolna-Ałtyn K.....	388, 391	Olszewski J.....	306, 308
Nalbert T.....	265, 266, 267, 269	Opałka A.....	247
Naumowicz K.....	389, 495	Opielak G.....	322, 323
Nicpoń E.....	343	Opolska J.....	351, 352
Nicpoń J.....	228, 339, 343	Orłowska A.....	121, 128, 192
Niczyporuk J.....	353, 368	Orłowska B.....	139, 183, 188
Niedźwiedź A.....	209, 210, 218, 220, 235	Orzechowski A.....	106
Niemczuk K.....	117, 192, 245, 357	Osek J.....	147, 154, 166, 171, 173, 174, 175
Niewiadomska J.....	84	Osiński Z.....	290
Niewitecki W.....	454	Osińska M.....	416, 422, 437
Niwińska A.....	85	Pajdak-Czaus J.....	127, 380, 383, 387, 392, 405
Niżański W.....	327, 330, 332	Pajurek M.....	152, 153
Noszczyk-Nowak A.....	84, 211, 326	Papis K.....	85
Noszka M.....	419	Pardyak L.....	208, 321
Nowacka-Kozak E.....	279	Parma P.....	399
Nowacka-Woszek J.....	296	Pasicka E.....	88, 89
Nowaczek A.....	255	Pasim P.....	299, 369, 372, 414, 436
Nowak A.....	281, 300	Paśawska U.....	226
Nowak M.....	137	Paszkievicz W.....	135, 149
Nowak T.....	164, 232, 363, 425	Patkowski D.....	337
Nowak W.....	253, 278	Patyra E.....	176, 283, 284, 289, 290
Nowakiewicz A.....	160, 411, 416, 422, 423, 437	Pawlak A.....	86, 209, 210, 315, 318, 319, 361
Nowakowski M.....	465	Pawlak K.....	452
Nowicka B.....	234, 238	Pawlicki P.....	208, 321
Nowicka N.....	251	Pawlikowski M.....	227
Nowicki A.....	251, 252	Pawliński B.....	243
Nowicki M.....	150, 404	Pawłowski K.....	362
Obmińska-Mrukowicz B.....	86, 112, 319, 361	Pawul-Gruba M.....	148, 175
Ochota M.....	327, 330	Paździor E.....	388, 390, 391
Odyniec M.....	126	Pękala-Safińska A.....	385, 388, 390, 391
Oktawiec Ł.....	220	Pękala-Sawińska A.....	392
Oláh D.....	264	Pickard D.....	419

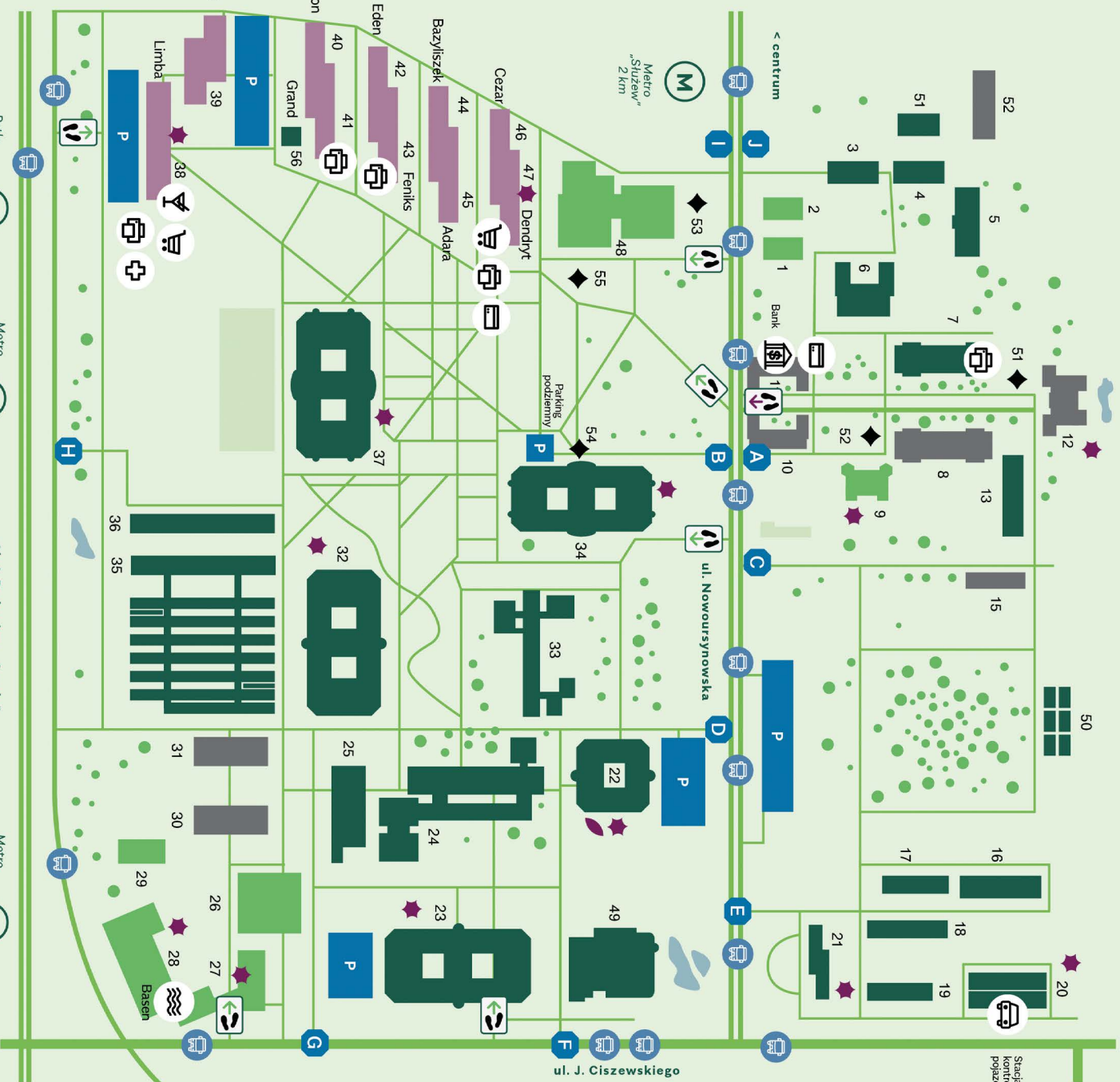
Piech T.....	322, 323	Prorok P.....	417
Piekarska K.....	353, 354, 356, 368	Prostek A.....	102, 103
Pieniądz W.....	109	Prozorowska E.....	93, 324
Pieszka M.....	282	Pruszyńska-Oszmątek E.....	105, 232, 253
Pietras-Oźga D.....	363	Prządka P.....	197, 201, 332, 334, 337, 338, 339, 344
Pietroń W.....	152, 153	Przeniosło-Siwczyńska M.....	383, 284, 285, 290
Pietruk K.....	275	Pszczola M.....	296
Pietruszka K.....	279	Puchalska M.....	142, 150, 161, 162, 172, 178, 404
Pietsch-Fulbiszewska A.....	321, 335	Puchalski A.....	255, 428
Pikuła A.....	351, 352	Pyrek P.....	222
Pingwara R.....	315	Pyziel-Serafin A.....	184, 186, 187, 188, 189
Piróg-Komorowska A.....	135	Pyzik E.....	255, 370
Platt-Samoraj A.....	127, 383	Pyz-Łukasik R.....	149, 134, 135
Plewa B.....	81, 82, 94	Radulski Ł.....	120, 122, 123
Plewako P.....	190	Rakowska A.....	223
Plis-Kuprianowicz E.....	431	Ramisz G.....	321, 335
Pławińska-Czarnak J.....	143, 157, 164, 165, 189, 404	Rapacz-Leonard A.....	224
Płoneczka-Janeczko K.....	130, 236	Reichert M.....	386, 388
Pniewski P.....	178	Reksa M.....	418, 431, 426, 443, 444, 445
Poapolatsep A.....	99	Rola J.....	111, 121, 124, 128, 145, 170, 192, 194, 195, 212, 213, 254, 263, 439
Podolska M.....	388, 391	Rola-Łuszczak M.....	259
Polak M.....	263	Roman M.....	140, 169
Polak Z.....	252	Rożek W.....	111, 263, 439
Polasik P.....	217	Rożyński M.....	382, 384, 389
Policht A.....	135	Różycki M.....	96, 97, 155, 156, 167, 385, 391
Polkowska I.....	217, 234, 238	Rudowska M.....	252
Pomorska-Mól M.....	185, 193, 297	Ruszkowski J.....	193
Pomorska-Zniszczyńska A.....	221	Rychlik A.....	460
Ponieważ A.....	462	Rykała M.....	209, 210, 218
Pop R.....	328	Rypuła K.....	130, 236, 417
Posyniak A.....	385, 455, 458	Rzewuska M.....	157, 158, 159, 340, 415, 430, 433, 434, 435, 438
Potârniche A.....	264		
Pougialis G.....	260		
Profaska-Szymik M.....	208		

Rzeżutka A.....	195	Skóra M.....	299, 369, 372, 436
Sadowska A.....	214, 215	Skrzypczak P.....	332, 337
Sady M.....	306, 308	Skrzypek T.....	308
Sajewicz-Krukowska J.....	352, 355	Skrzypiec E.....	299, 369, 372, 414, 436
Salamaszyńska-Guz A.....	429	Skrzypnik H.....	380
Samoilenko M.....	267	Słońska A.....	424, 440, 441
Santos J.....	460	Słowikowska M.....	235
Sapierzyński R.....	340, 341, 342, 432	Słowikowski B.....	210
Sartini I.....	99	Słowiński M.....	309
Sassek M.....	105, 232	Smreczak M.....	121, 128, 192
Sawicka-Durkalec A.....	367, 371	Smulski S.....	425
Sawosz-Chwialibóg E.....	424	Sobiech P.....	242
Schierack P.....	419	Sobiegraj W.....	385
Schubert J.....	136, 137	Sobolewska P.....	253, 278
Schulz P.....	380, 383, 405	Sobolewski J.....	406, 407, 461
Sell B.....	260, 458	Sobuś M.....	233
Semeniuk S.....	455	Socha P.....	126
Senderska-Płonowska M.....	225	Socha W.....	212, 254, 439
Serek P.....	209, 210	Sokalski R.....	344
Sidorczyk K.....	419	Sokołowska J.....	90, 162
Siedlecka M.....	130, 350	Solecka K.....	453
Siemionek J.....	196, 405	Sołtysiuk M.....	141, 147, 163, 179
Sienkiewicz W.....	92	Soroko M.....	288
Sieradzki Z.....	277, 287	Sosnowski M.....	166
Siergiej A.....	251	Soszczyńska E.....	291
Sikorska K.....	113	Sowińska A.....	197, 201, 334
Siotkas Y.....	362	Spînu M.....	264
Siwicki A.....	379, 380, 383, 389, 405	Spodniewska A.....	101
Siwińska N.....	113, 211, 222, 226, 235, 236	Spuzak J.....	344
Skarżyńska M.....	299, 369, 372, 414, 436	Sroka J.....	97, 98, 155, 156
Skarżyński D.....	214	Stachura P.....	140
Škevin S.....	332	Stanisz M.....	94
Skiersz-Szewczyk K.....	81, 82, 83, 95	Stasiak K.....	111, 213
Skorek E.....	143	Stawecki K.....	384
Skowronek M.....	168, 276, 286	Stefaniak T.....	225, 248, 256, 307

Stefańska B.....	253, 278	Sztromwasser P.....	212, 439
Stefańska I.....	430, 434, 435	Szudzik M.....	397
Stegmann K.....	200	Szulc-Dąbrowska L.....	107, 108, 109
Steiner-Bogdaszewska Ż.....	187	Szulowski K.....	120, 122, 123, 418, 431, 436, 426, 443, 444, 445
Stenzel T.....	141, 371	Szweda W.....	126, 127, 196, 380, 383, 405
Sterna J.....	313	Szymańska-Czerwińska M.....	245, 357
Stępień-Pyśniak D.....	255, 370, 373, 428	Ściebura D.....	417
Stolarek A.....	353, 354, 356	Śmiałek M.....	347, 366, 375
Strokowska N.....	150	Śmiałowska-Węglińska A.....	299, 369, 414, 436
Struzik J.....	107, 108, 109	Śmietanka K.....	117, 349, 364, 374
Stryszak A.....	381	Świątalska A.....	381, 400
Strzałkowska Z.....	165, 189	Świeca M.....	79
Styś-Fijoł N.....	353, 354, 356, 368	Świętoń E.....	364, 374
Sypecka M.....	429	Świtoński M.....	295, 296
Sysak A.....	112	Tabiś A.....	137
Szacawa E.....	250, 282	Tarasiuk K.....	321, 355, 364
Szadkowski M.....	317	Tarka S.....	341
Szafraniec G.....	358, 362	Terech-Majewska E.....	380, 381, 383, 387, 389, 392, 405
Szaluś-Jordanow O.....	91, 265, 266, 267, 269, 333, 340, 341, 342, 432	Tkachenko H.....	385, 392
Szara T.....	227	Tobolska A.....	336
Szarek J.....	389, 395	Toka F.....	107, 108, 109
Szczawińska A.....	418, 431, 426, 443, 444, 445	Tomaszek A.....	137
Szczepaniak K.....	370, 428	Tombarkiewicz B.....	449, 452
Szczepanik M.....	221	Tomczyk G.....	367, 371
Szczerba-Turek A.....	196	Tracz M.....	172, 178, 456
Szczotka M.....	261	Trela M.....	243
Szczotka-Bochniarz A.....	117, 301	Trewick S.....	213
Szczubiał M.....	244, 246, 329	Trębas P.....	121, 128, 192
Szczypka M.....	86, 361	Trościańczyk A.....	416, 422, 423, 437
Szeleszczuk P.....	348, 358, 360, 362	Tunikowska J.....	334, 339
Szewczyk R.....	171	Turek B.....	217, 227, 229
Szkucik K.....	134, 160, 177	Turek W.....	335
Szóstek-Mioduchowska A.....	214, 215	Turemka M.....	227
Szprynca A.....	435		

Turlewicz-Podbielska H.....	297	Wiszniewska-Łaszczych A.....	147, 163, 179
Tvarijonavičiute A.....	328, 329	Wiśniewski J.....	142, 143, 146, 150, 161, 162, 189, 404
Twardoń J.....	247	Witkowska A.....	387
Tykałowski B.....	347, 366, 375	Witkowska D.....	462
Ugorski M.....	332	Witkowska-Piłaszewicz O.....	243, 315
Urban-Chmiel R.....	255, 363, 370, 373, 428	Witkowski L.....	165, 189, 223, 266, 267, 269, 425, 430,
Urbańska D.....	268	Witkowski M.....	208
Urbańska K.....	106, 162, 314	Włodarczyk-Ramus M.....	96, 167
Uzar T.....	80	Wnuk D.....	372, 436
Valverde Piedra J.....	370	Wocławek-Potocka I.....	251
Van Nieuwerburgh F.....	332	Wojdat D.....	299, 369, 372, 436
Vasiu I.....	246, 328, 329	Wojtacka J.....	147, 163, 179
Vetter W.....	181	Wozniak G.....	457
Wałęcka-Zacharska E.....	136	Woźniak J.....	296
Warenik-Bany M.....	152, 153	Woźniak-Biel A.....	359
Wasiak M.....	386	Woźniakowski G.....	129
Wasiński B.....	426	Wódz K.....	143, 157, 164, 169, 363, 425
Wasył D.....	299, 369, 372, 388, 390, 414, 427, 436, 442	Wójcik A.....	453
Wasyłko W.....	109	Wójtowicz A.....	214, 215
Wawrzykowski J.....	468	Wrzesień R.....	398
Wąsowicz K.....	389	Wysiadecki G.....	91
Weiner A.....	168, 276, 286	Wysok B.....	141, 147, 163, 179
Welz M.....	117, 165, 189	Wyszkowska J.....	457
Wernicki A.....	255	Wzorek A.....	417
Werszko J.....	187	Zabielski R.....	133, 306, 308, 309
Wessely-Szponder J.....	79	Zablău S.....	264
Wichtowska A.....	199	Zabost A.....	432
Wieczorek K.....	154, 166, 171, 173, 174	Zacharski M.....	332
Wieliczko A.....	350, 359	Zajac M.....	299, 369, 372, 414, 436
Wierzicka M.....	219, 237	Zakęś Z.....	382, 384, 389
Wieszczczyński M.....	322, 323	Załęcki M.....	466
Wilczak J.....	102	Zaręba-Marchewka K.....	357
Wilczyński J.....	363	Zarzycka A.....	85
Winnicka A.....	315		

Zarzyńska J.....	133
Zduńczyk S.....	252, 325
Zdziennicka J.....	79
Zdzisińska B.....	323
Zębek S.....	300
Ziarno M.....	172, 178
Zielińska P.....	225, 228, 339, 343
Zielonka Ł.....	280, 281
Zięba P.....	411
Ziomek M.....	134, 135, 177
Ziółkowski P.....	210
Złotnicka J.....	426
Zwolska J.....	317
Zygmuntowicz A.....	298
Żak-Bochenek A.....	113, 211, 222, 226, 236
Żbikowski A.....	362
Żmigrodzka M.....	315
Żmuda P.....	140, 169, 435
Żmudzki J.....	127, 299
Żukow B.....	334
Żychska M.....	165, 223, 425, 430



Budynki wydziałowe

- 3, 5, 6, 7** Wydział Ekonomiczny, Drukarnia
- 51** Samodzielna Pracownia Pszczelnicza
- 4** Wydział Socjologii i Pedagogiki
- 13** Pracownia Sztuki Kształtowania Wydział Budownictwa i Inżynierii Słowności
- 16** Hala Maszyn Wydziału Technologii Drewna
- 17, 18, 19** Wydział Inżynierii Produkcji
- 20** Hala Maszyn Wydziału Inżynierii Produkcji, Stacja kontroli Pojazdów
- 21** Wydział Inżynierii Produkcji
- 22** Klinika Małych Zwierząt
- 23** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 24** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 25** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 26** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 27** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 28** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 29** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 30** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 31** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 32** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 33** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 34** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 35** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 36** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 37** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 38** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 39** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 40** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 41** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 42** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 43** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 44** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 45** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 46** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 47** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 48** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 49** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne
- 50** Ogrod Błotny
- 51** Samodzielna Pracownia Pszczelnicza
- 52** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne

Budynki administracyjne

- 8** Administracja Uczelni, Biuro Spraw Osobowych, Biuro Promocji, Biuro Kanier, Biuro Prasowe
- 10** Administracja Uczelni, Biuro Spraw Osobowych, Biuro Promocji, Biuro Kanier, Biuro Prasowe
- 11** Kwestoria, Bank
- 12** Rektorat, Kanier, Rector's and Chancellor's Office
- 15** Administracja Uczelni
- 30, 31** Administracja Uczelni
- 52** Administracja Terenów Zieleni
- 49** Centrum Wodne SGGW
- 50** Ogrod Błotny
- 51** Samodzielna Pracownia Pszczelnicza
- 52** Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Wydział Hodowli, Biotyżniennik i Ochrony Zwierząt, Centrum Analityczne

Domy studenckie

- 38** Administracja Domów i Stokłowskich
- 39** Hotel „IKAR”, Agencja studencka, Klub turystyczny, AZS, Akademicki Inkubator Przedsiębiorczości, ESN-Erasmus Student Network SGGW – „IKAR”
- 40, 41** Domy studenckie „GRAND”
- 42, 43** Domy studenckie „EDEN”
- 44, 45** Domy studenckie „ADARA”
- 46, 47** Domy studenckie „DENDRYT”, „CEZAR”, „SLEP”
- 51** Pomnik Edwarda habiego
- 52** Pomnik Juliana Ursyna Niemcewicz
- 53** Pomnik Władysława Grabskiego
- 54** Pomnik Stanisława Wawrzyńca
- 55** Dab Jana Pawła II
- Wyższy do SGGW**
- A** Brama Główna
- B** Parking podziemny
- C** Droga do Złębca
- D** Klinika Małych Zwierząt
- E** Wydział Inżynierii Produkcji
- F** Centrum Wodne
- G** Obiekt Sportowe
- H** Wjazd od ul. Rodowicza „Anody”
- I** Domy Akademickie
- J** Wjazd „Paskietka”

Przystanek autobusowy - Bus stop
Bankomat 24h - ATM

Sklep - Shop
Kluby studenckie - Student's clubs

Przychodnia lekarska - Student Health Centre
Apteka - Drugstore
Xero

Klinika weterynaryjna - Veterinary clinic
Automatyczny defibrylator zewnętrzny

Parking



SZKOŁA GŁÓWNA
GOSPODARSTWA
WIEJSKIEGO

ISBN 978-83-8237-043-0