

Stan układu krzepnięcia krwi koni zakażonych wirusem grypy

JOLANTA DĄBROWSKA, EUGENIUSZ WIŚNIEWSKI, WIESŁAW KRUMRYCH,
WOJCIECH ROŻEK*, JACEK JANISZEWSKI

Zakład Chorób Koni Bydgoskiego Oddziału Państwowego Instytutu Weterynaryjnego,
Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

*Zakład Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Dąbrowska J., Wiśniewski E., Krumrych W., Rożek W., Janiszewski J.

State of the coagulation system in horses infected with equine influenza virus

Summary

The study was carried out in 13 Polish Primitive Horses. Ten of them were subjected to stress and infected with equine influenza virus (the mixture of subtype A/equi/1 and A/equi/2). Three horses were left as controls. The coagulation time by Lee and White method and caolin-kephalin and prothrombin times in plasma citrate were determined with a coagulometer. Concentration of fibrinogen (Quick method) and platelet count (procaine method) were determined as well. The means of the above parameters before and after infection in relation to the values in control animals were compared. The results of the experiment show that the caolin-kephalin and prothrombin times have been shortened in infected horses, the platelet count has been decreased and the concentration of fibrinogen has been increased. The changes in the coagulation system were statistically significant. Thus the results of the experiment have confirmed the hypothesis that in the course of influenza infection disturbances in the coagulation system may occur.

Keywords: horse, blood coagulation, influenza.

Influenza koni to choroba zakaźna prawdopodobnie najczęściej występująca u tego gatunku zwierząt. Dane piśmiennictwa wskazują, że odsetek koni, które przechodzą naturalną infekcję wirusem grypy, sięga 60-70%, a w niektórych regionach nawet do 100% populacji w zależności od kraju (7, 15, 18-20). Mimo szeroko stosowanych programów profilaktycznych grypa jest w dalszym ciągu poważnym problemem klinicznym. Zwłaszcza, że jako choroba tła wirusowego pozbawiona jest praktycznie bezpośrednich metod leczniczych. Straty gospodarcze z tytułu występowania grypy wynikają przede wszystkim z czasowego wyeliminowania chorych osobników z użytkowania, ale także ze sporadycznych przypadków śmiertelnych. Wiele prac badawczych poświęconych jest patogenie tej choroby, jednak jak dotąd w piśmiennictwie brak jest informacji o wpływie zakażenia wirusem grypy na stan układu krzepnięcia krwi. Wydaje się to godne zainteresowania zwłaszcza, że istnieją w organizmie bardzo silne powiązania pomiędzy wieloma elementami układu krzepnięcia krwi a reakcjami obronnymi organizmu (1, 4, 6, 9, 12, 16, 21).

Celem pracy było wykazanie zaburzeń krzepnięcia krwi u koni zakażonych wirusem grypy, a w szczególności ustalenie rodzaju zaburzeń hemostazy, stop-

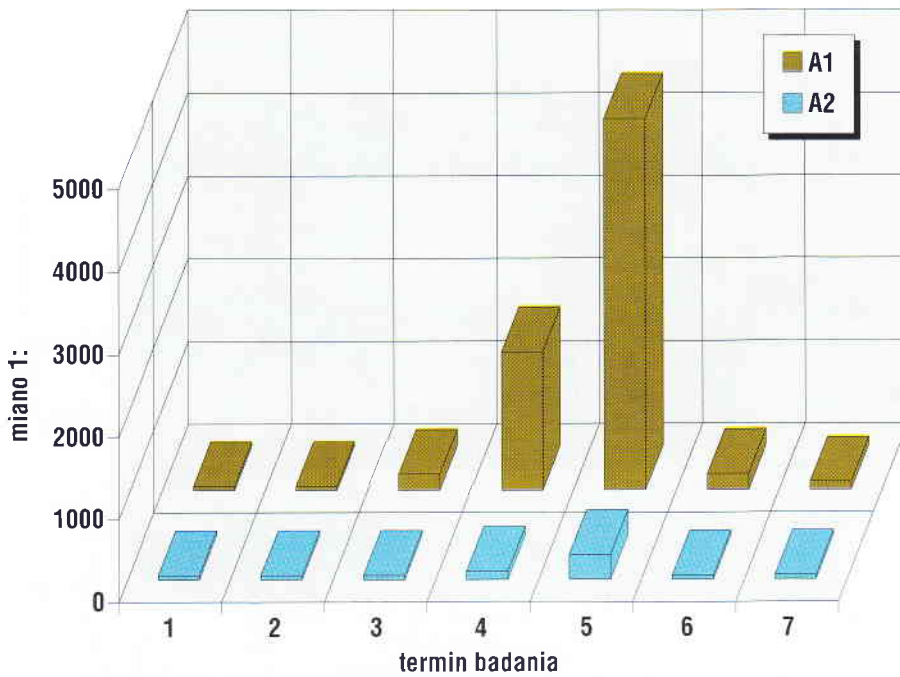
nia nasilenia zaburzeń krzepnięcia krwi oraz ich dynamikę w przebiegu choroby.

Material i metody

Materiał do badań stanowiły koniki polskie: 11 klaczy i 2 ogiery, w wieku 2-9 lat o masie ciała od 300 do 400 kg. Konie były klinicznie zdrowe, odrobaczone, w dobrym stanie odżywienia i utrzymania.

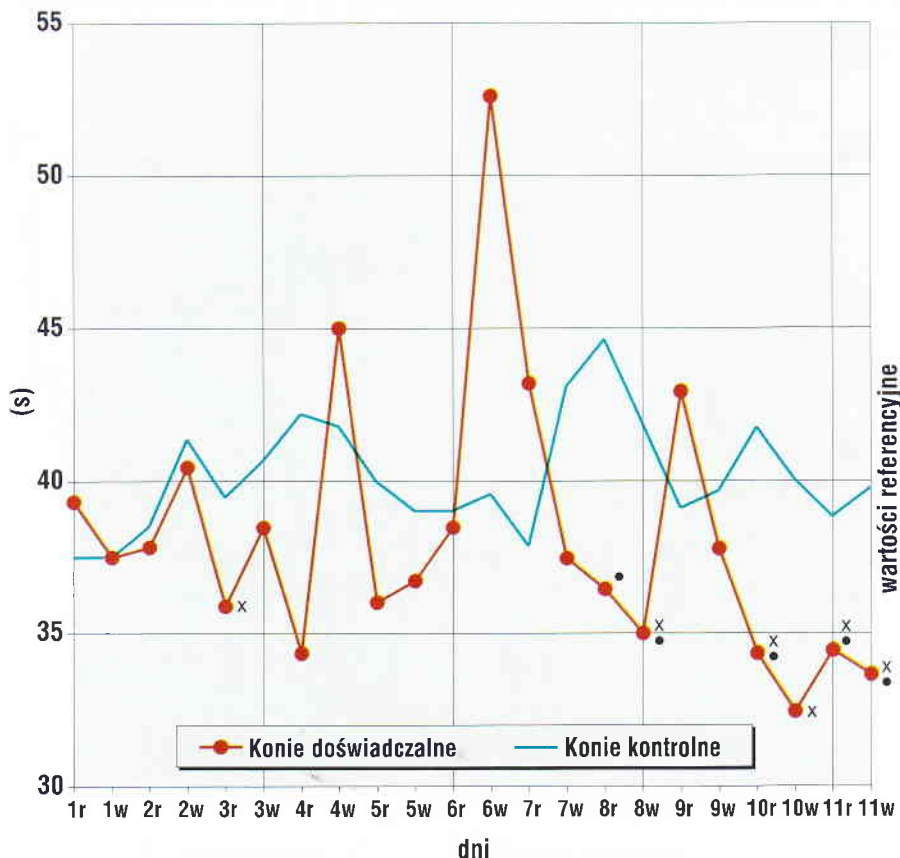
W roku poprzedzającym doświadczenie zwierzęta były izolowane od kontaktów z innymi końmi. Przed zakażeniem konie były dwukrotnie badane klinicznie (drugi raz bezpośrednio przed zakażeniem). Badania te obejmowały pomiar ciepłoty wewnętrznej, liczbę tętna i oddechów, stan dostępnych błon śluzowych oraz czas wypełniania naczyń kapilarnych.

Trzykrotnie (rok wcześniej, 12 dni przed rozpoczęciem badań i bezpośrednio przed zakażeniem) pobrano krew do badań serologicznych na obecność przeciwciał dla obu podtypów wirusa grypy (A/equi/1 i A/equi/2). Opisane badania wstępne wykonywano w stajni macierzystej, po czym 10 wybranych do zakażenia koni przeprowadzono do innego pomieszczenia z oddzielną obsługą, a 3 kontrolne pozostawiono w stajni. Postępowanie takie miało na celu izolację zakażonych koni oraz poddanie ich stresowi nowego pomieszczenia i obsługi, co w założeniu powinno sprzyjać infekcji.



Ryc. 1. Miano przeciwciał HI dla podtypów A₁ i A₂ wirusa w surowicy koni doświadczalnie zakażonych wirusem grypy*

Objaśnienia: 1 – rok przed zakażeniem, 2 – 12 dni przed zakażeniem, 3 – w dniu zakażenia, 4 – 9 dni po zakażeniu, 5 – 14 dni po zakażeniu, 6 – 30 dni po zakażeniu, 7 – 42 dni po zakażeniu, * – badano testem zahamowania hemaglutynacji.



Ryc. 2. Średnie wartości czasu kaolinowo-kefalinowego (PTT) koni doświadczalnych i kontrolnych

Objaśnienia: r – rano, w – wieczór, x – różnica statystycznie istotna (przy $p < 0,05$) między średnimi wartościami w kolejnych dniach badań a wartością początkową, • – różnica statystycznie istotna (przy $p < 0,05$) między średnimi wartościami u koni doświadczalnych i kontrolnych w poszczególnych dniach badań.

Do zakażenia użyto zawiesinę 2 podtypów wirusa grypy koni A/equi/1/Praha/56 i A/equi/2/Kentucky/81 o mianie hemaglutynacyjnym co najmniej 256 i mianie zakaźnym 5,2 log dla podtypu A/equi/1 i 6,2 log dla A/equi/2. Każdy koń doświadczalny otrzymał kroplomierzem po 2 ml wymienionej zawiesiny wirusów do obu worków spojówkowych i po 5 ml do nozdrzy w postaci aerozolu. Zwierzęta zakażano w godzinach rannych, a pierwsze badanie kliniczne i pobieranie krwi do oznaczeń miało miejsce w godzinach wieczornych. Kolejne badania wykonywano dwa razy dziennie (rano i wieczorem) przez 10 dni po zakażeniu.

Z badań koagulologicznych wykonano oznaczenia czasów kaolinowo-kefalinowego (PTT) i protrombinowego (PT) na koagulometrze typ 104 oraz krzepnięcia metodą Lee i White'a. Liczbę płytek krwi określono metodą prokainową przy użyciu testów Thrombo Plus firmy Starstedt, a stężenie fibrynogenu metodą kolorymetryczną Quicka (3).

W 9, 14, 30 i 42 dniu po infekcji pobierano surowicę do badań serologicznych oraz od 3 do 14 dnia po zakażeniu wymazy ze spojówek i jam nosowych do badań wirusologicznych.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej testem t-Studenta, przyjmując różnicę pomiędzy dwiema średnimi za statystycznie istotną przy $p < 0,05$. Wyniki badań zwierząt doświadczalnych zarejestrowane po zakażeniu wirusem grypy, odnoszono do rezultatu wyjściowego, uzyskanego w tej grupie koni bezpośrednio przed infekcją oraz do efektów analogicznego badania koni kontrolnych.

Wyniki i omówienie

Przed rozpoczęciem eksperymentu zwierzęta doświadczalne znajdowały się w dobrej kondycji, były zdrowe, na co wskazywały wyniki badań klinicznych. Ciężar wewnętrzny wahała się w granicach 37,3-38,0°C, liczba tętna wynosiła 30-40/min., a liczba oddechów 12-16/min. Czas wypełniania naczyń kapilarnych kształtował się w przedziale 1,2-2,0 s, błony śluzowe i spojówki nie wykazywały cech zapalenia. Wartości wskaźników krzepnięcia krwi oznaczone przed zakażeniem koni, mieściły się w granicach

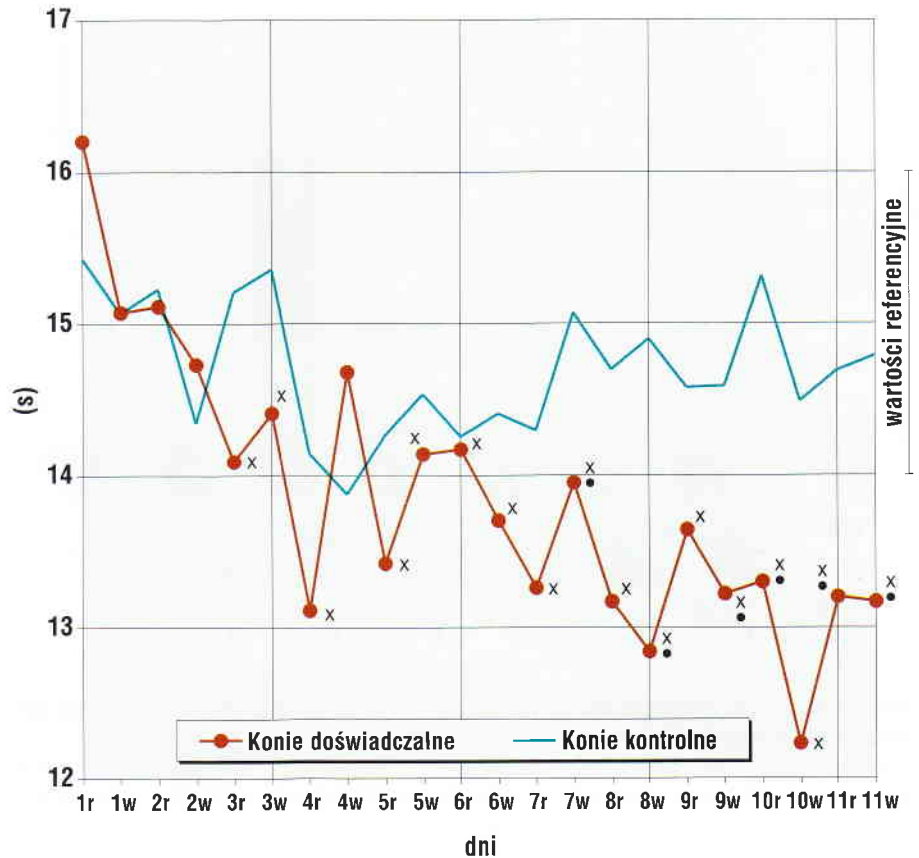
norm fizjologicznych. Rok przed zakażeniem u koni doświadczalnych nie stwierdzono przeciwciał przeciw obu podtypom wirusa. Podobny wynik zarejestrowano jeśli chodzi o wirusa A/equi/2 w 12 dniu przed infekcją, podczas gdy koncentracja przeciwciał przeciw A/equi/1 w tym samym czasie wynosiła od 0 do 1:20. W dniu zakażenia miano przeciwciał przeciw A/equi/1 kształtowało się w granicach od 0 do 1:640, a przeciw A/equi/2 od 1:10 do 1:20 (ryc. 1).

Po zakażeniu, objawy choroby zaobserwowano u 6 zwierząt. Pojawiły się one w dwa i pół dnia po infekcji i utrzymywały przez 1-2 dni. Wzrost ciepłoty wewnętrznej (od 38,6 do 38,9°C) odnotowano u 4 koni. Liczba tętna wzrosła u wszystkich zwierząt natomiast liczba oddechów i czas wypełniania naczyń kapilarnych pozostawały na niezmiennym poziomie. Przekrwienie i zapalenie spojówek wystąpiło u 6 koni, a u jednego zaobserwowano surowiczy wypływ z nozdrzy.

Ocena koncentracji przeciwciał HI wirusa w surowicy koni przeprowadzona w 9 dniu po zakażeniu wykazała w stosunku do podtypu A/equi/1 wzrost przeciwciał w granicach od 1:160 do 1:2560 ($\bar{x} = 1:1456$), podczas gdy w odniesieniu do podtypu A/equi/2 miano przeciwciał kształtowały się od 0 do 1:40. W 14 dniu od infekcji odnotowano dalszy wzrost mian, analogicznie od 1:1280 do 1:10 240 ($\bar{x} = 1:4736$) i od 1:80 do 1:160 ($\bar{x} = 1:152$). W kolejnych badaniach po 30 dniach miano to wynosiło odpowiednio od 1:20 do 1:320 ($\bar{x} = 1:85$) i od 0 do 1:10, a po 42 dniach od 1:10 do 1:160 ($\bar{x} = 1:52$) i od 0 do 1:20 (ryc. 1).

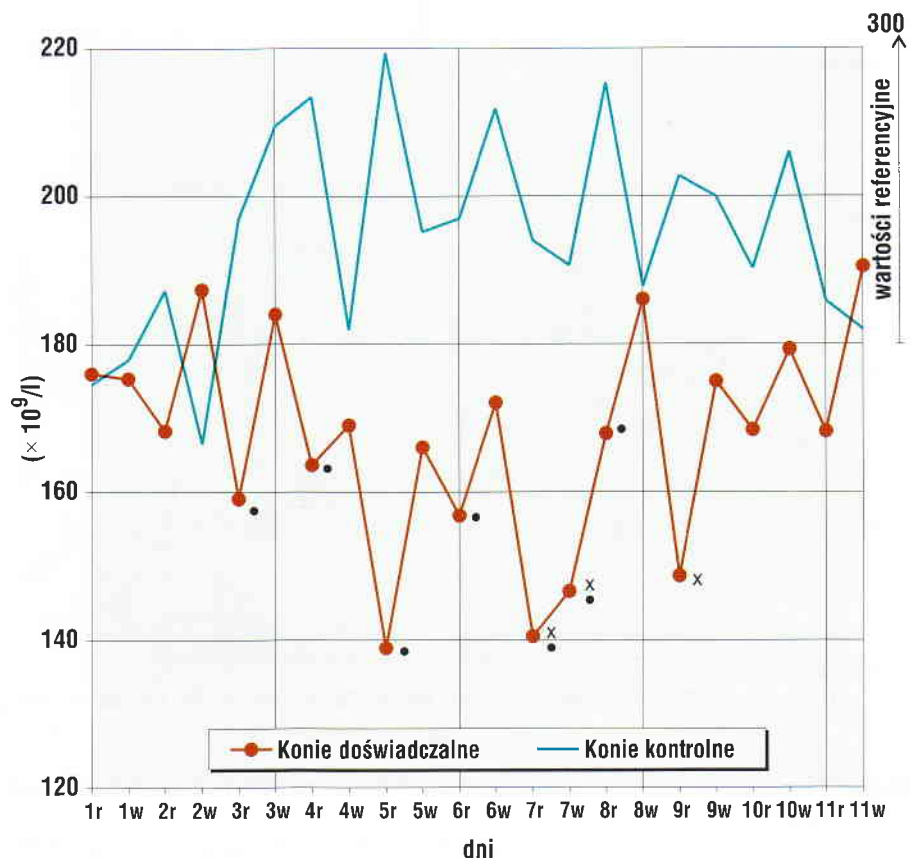
Nie wszystkie wskaźniki krzepnięcia krwi podlegały istotnym zmianom w trakcie eksperymentu. Średnie wartości czasu krzepnięcia (9,2-14,2 min.) i stężenia fibrynogenu (1,7-3,15 g/l) ulegały wahaniom, ale odchylenia te mieściły się w granicach wartości prawidłowych dla koników polskich, wyznaczonych we wcześniejszych badaniach (2, 3, 5).

Czas kaolinowo-kefalinowy w przebiegu eksperymentu podlegał naprzemiennemu skracaniu i wydłu-



Ryc. 3. Średnie wartości czasu protrombinowego (PT) koni doświadczalnych i kontrolnych

Objaśnienia: jak w ryc. 2.



Ryc. 4. Średnia liczba płytek krwi koni doświadczalnych i kontrolnych

Objaśnienia: jak w ryc. 2.

zaniu w granicach od 32,5 do 52,5 s, co świadczy o okresowej dominacji wykrzepiania lub fibrylizacji. Zjawisko to w tak dużym zakresie nie występowało u koni kontrolnych. Infekcja wirusem grypy spowodowała istotne skrócenie omawianego czasu w 3, 8, 10 i 11 dniu badań w stosunku do wartości wyjściowej. Podobnie w 8, 10, i 11 dniu eksperymentu zaobserwowano statystycznie istotne różnice pomiędzy średnimi wynikami PTT u koni doświadczalnych i kontrolnych (ryc. 2). W 6 dniu badań u kilku koni, zanotowano nieoznaczalny czas kaolinowo-kefalinowy, co obrazuje ryc. 2, ale ponieważ nie dotyczyło to całej grupy, w uśrednionych wynikach przy dużym odchyleniu standardowym nie była to różnica statystycznie istotna. Na uwagę zasługuje również fakt, że 6, 10 i 11 dnia trwania eksperymentu wyniki PTT odbiegały od wartości fizjologicznych ustalonych dla tej rasy w Zakładzie Chorób Koni (2, 3, 5).

Wyniki pomiarów PT wykazały, że czas ten podlegał sukcesywnemu skracaniu już od 3 dnia badań (od 14,1 do 12,2 s), czego nie zaobserwowano u koni kontrolnych. Od tego też dnia, aż do zakończenia doświadczenia większość średnich oznaczeń czasu protrombinowego różniła się istotnie od pomiarów wyjściowych. Statystycznie istotne różnice wystąpiły też pomiędzy wynikami zwierząt doświadczalnych i kontrolnych od 8 do 11 dnia badań. W większości oznaczeń, od 3 dnia wyniki PT koni użytych do eksperymentu były krótsze niż wartości prawidłowe dla koników polskich (ryc. 3).

Średnia liczba płytek krwi zarówno u koni doświadczalnych jak i kontrolnych w dniu rozpoczęcia doświadczenia była nieco niższa (177 i $176 \times 10^9/l$), od normy wyznaczonej dla tej rasy ($180-300 \times 10^9/l$) (3, 5). Liczba płytek krwi koni doświadczalnych od 3 do 8 dnia badań ($159-168 \times 10^9/l$) była istotnie niższa od liczby tych krwinek u koni kontrolnych ($180-218 \times 10^9/l$). Statystycznie istotne różnice dotyczą też liczby płytek krwi przed zakażeniem wirusem grypy w porównaniu do wartości uzyskiwanych u koni doświadczalnych w 7 i 9 dniu eksperymentu. Od 3 do 10 dnia badań wyniki oznaczeń liczby płytek krwi w grupie doświadczalnej osiągały wartości niższe od prawidłowych. Wyjątek stanowi tu wieczór 8 dnia (ryc. 4). Analiza indywidualnych wyników liczby tych krwinek u koni doświadczalnych dowodzi, że zakażenie wirusem grypy może wpływać na liczbę płytek krwi mimo niewielkiego nasilenia objawów klinicznych.

Po zakażeniu koni obydwoma podtypami wirusa w sposób opisany wyżej, przebieg choroby był łagodny i mało charakterystyczny dla grypy. Gdyby nie świadomość wykonanego zakażenia oraz jego potwierdzenie przez reizolację wirusa i wzrost miana przeciwciał, trudno by było łączyć obserwowane objawy z infekcją grypy. Wiadomo jednak, że taki nietypowy obraz grypy lub bezobjawowy przebieg choroby występuje nie tylko w infekcjach doświadczalnych, ale i w zakażeniach naturalnych (13, 17, 22, 23).

Wiadomo też, że odpowiedź naturalna przeciw grypie jest zróżnicowana oraz, że przeciwciała typu HA (przeciw hemaglutyninie) są stymulowane przez naturalne zakażenie i utrzymują się na ogół krótko, bo około 3 m-ce. W niektórych przypadkach odporność ta trwa do roku lub dłużej, a więc konie, które były uprzednio zakażone, a pozostają serologicznie ujemne, przy ponownym kontakcie z wirusem mogą nie wykazywać objawów choroby (8, 14). Być może taka sytuacja dotyczyła niektórych użytych do doświadczenia koni. Wskazuje też na to brak związku pomiędzy mianem przeciwciał u poszczególnych koni a nasileniem objawów chorobowych.

Analizując przyczynę tak mało efektywnego zakażenia, należy brać pod uwagę kilka czynników, a zwłaszcza wirulencję zarazka, jego dawkę, powierzchnię kontaktu, sposób zakażenia oraz stan immunologiczny użytego do doświadczenia zwierzęcia. Szczepki użytych wirusów przygotowano w Zakładzie Wirusologii PIWet. i tam też dobrano dawkę, którą należy zastosować u koni. Ważną kwestią wydaje się tu być sposób zakażenia. Dotychczas stosowano kilka metod inokulacji wirusa grypy do układu oddechowego, a wśród nich: umieszczenie nasączonego wirusem wacika w jamie nosowo-gardłowej, wkraplanie sondą lub strzykawką do gardła lub nosa, inokulację przez tchawicę oraz ekspozycję aerozolem wirusa przez zamgławienie w szczelnie zamkniętym pomieszczeniu (cyt. 17). Do zakażeń doświadczalnych używano podtypów wirusa grypy A/equi/1(H7N7) lub A/equi/2(H3N8), a najczęściej obu podtypów. Po zakażeniu podtypem A-1 uzyskiwano infekcje subkliniczne, w odróżnieniu od działania podtypu A-2, który z reguły dawał pełen obraz choroby (13, 17, 22). Mumford i wsp. (17) wykazali dużą skuteczność zakażenia poprzez ekspozycję aerozolem. Umieszczali konie w szczelnie zamkniętym pomieszczeniu, w którym przy pomocy specjalnego aparatu przez 30 minut wytwarzano mgłę z płynu zawierającego wirusa. Autorzy zwracają uwagę, że komputerowe sterowanie aparatem do zamgławiania pozwala uzyskać krople o średnicy mniejszej niż $5 \mu m$, które są zdolne osiągnąć również niższe partie układu oddechowego i zwiększyć pole kontaktu wirusa z nabłonkiem tego układu. W naszych warunkach nie było możliwe zastosowanie takiej aparatury, dlatego zdecydowano się na poddanie zwierząt stresowi, a następnie na wprowadzenie kroplomierzem zawiesiny wirusa do spojówek i rozpylaczem bezpośrednio do jam nosowych. Trzeba jednak zaznaczyć, że nie zawsze doświadczalne zakażenie wirusem grypy kończy się takim sukcesem jaki uzyskali Mumford i wsp. (17). Na ogół uważa się, że trudno jest zakażać konie, zwłaszcza szczepami laboratoryjnymi, toteż pewien odsetek zakażeń ma przebieg poronny (22).

Rozpatrując status immunologiczny zwierząt, to niskie miano przeciwciał dawały nadzieję na dobrą skuteczność zakażenia. Trzeba jednak przyznać, że

nieznany był poziom przeciwciał wydzielniczych jak również stan odporności komórkowej koni użytych do doświadczenia. Koniki polskie znane są z tego, że są bardziej odporne na różne choroby niż konie innych ras, a te dodatkowo były w bardzo dobrym stanie odżywienia i utrzymania. Wszystkie opisane wyżej powody przyczyniły się prawdopodobnie do tego, że u koni doświadczalnych nie udało się wywołać pełnoobjawowej grypy.

Podsumowując uzyskane wyniki należy podkreślić, że w efekcie zakażenia wirusem grypy można było przede wszystkim prześledzić patogenезę powstawania zmian w układzie krzepnięcia krwi w okresie inkubacji, a w mniejszym stopniu w samej chorobie i w okresie rekonwalescencji. Ponieważ przebieg choroby był łagodny, toteż zaburzenia krzepnięcia krwi nie były bardzo silnie wyrażone. Tym nie mniej w dniach od czwartego do dziewiątego istniało realne niebezpieczeństwo przełamania hemostazy na co wskazuje wydłużenie się znacznie ponad normę średniego czasu kaolinowo-kefalinowego w 6 dniu, sukcesywne skracanie się czasu protrombinowego od trzeciego do ostatniego dnia badań oraz obniżenie liczby płytek krwi utrzymujące się od 3 do 9 dnia doświadczenia. Świadczy to o tym, że wirus grypy przedostając się do krwi spowodował uszkodzenie komórek śródbłonka naczyń i/lub pobudził do agregacji płytki krwi zapoczątkowując procesy wykrzepiania. W celu utrzymania płynności krwi organizm uruchamia mechanizmy fibrynolityczne. Dlatego na wykresach wyraźnie widać naprzemienne wydłużanie się i skracanie badanych czasów (PTT i PT), spadek i wzrost liczby płytek krwi oraz podobną dynamikę jeśli chodzi o zmiany czasu krzepnięcia i stężenia fibrynogenu.

Z przebiegu doświadczenia wynika, że stan układu krzepnięcia krwi w słabo wyrażonej lub poronnej postaci grypy ulegał okresowym zmianom w zakresie wszystkich badanych wskaźników, choć nie były to jeszcze zaburzenia hemostazy. Występowały one zarówno w okresie inkubacji jak i w chorobie oraz przez jakiś czas po przechorowaniu (bo o rekonwalescencji nie można w tym przypadku mówić).

Przy prawdopodobnie sprawnie działających mechanizmach obronnych organizmu, choroba została szybko zwalczona, wątroba sprawnie uzupełniła zużyte czynniki krzepnięcia, a liczba płytek krwi mimo wyraźnego spadku, była wystarczająca do zabezpieczenia krzepnięcia. Nie doszło więc do rozwinięcia się poważnej skazy krwotocznej mimo, że było kilka wspomnianych momentów krytycznych. Przedstawiony obraz podprogowych zaburzeń krzepnięcia jest typowy dla zespołu rozlanego wewnątrznaczyniowego wykrzepiania (DIC) o łagodnym i odwracalnym przebiegu (10, 11). Tego typu zmiany w układzie krzepnięcia krwi nie są niebezpieczne dla życia i nie wymagają interwencji lekarza.

Piśmiennictwo

1. Bykowska K.: Receptory płytek krwi dla adhezywnych białek i ich znaczenie kliniczne. Post. Hig. 1993, 47, 33.
2. Dąbrowska J., Wiśniewski E.: Wartości fizjologiczne wskaźników krzepnięcia krwi koni. Medycyna Wet. 1992, 48, 470.
3. Dąbrowska J.: Charakterystyka układu krzepnięcia krwi koni. Praca dokt., P.I. Wet. Puławy, 1994.
4. Dąbrowska J., Wiśniewski E.: Niehemostatyczne funkcje płytek krwi. Medycyna Wet. 1995, 51, 712.
5. Dąbrowska J., Wiśniewski E., Krumrych W., Danek J.: Blood coagulation characteristics in horses. The influence of breed. Bull. vet. Inst. Puławy. 1997, 41, 121.
6. Fey K., Sasse H. H. L.: Relapsing immune-mediated thrombocytopenia of unknown origin in a stallion. Equine vet. Educ. 1998, 10, 127.
7. Frymus T.: Zwalczenie ważniejszych chorób wirusowych koni za pomocą szczepień. Medycyna Wet. 1991, 47, 502.
8. Hannat D., Mumford J. A.: Cell mediated immune response in ponies following infection with equine influenza virus (H3N8): the influence of induction culture conditions on the properties of cytotoxic effector cells. Vet. Immunol. Immunopath. 1989, 21, 327.
9. Henry M. M., Moore J. N.: Clinical relevance of monocyte procoagulant activity in horses with colic. J. Am. vet. med. Ass. 1991, 198, 843.
10. Janicki K.: Hematologia kliniczna. T. 1, PZWL, Warszawa 1991, s. 169-208.
11. Kalużny Z.: DIC-zespół rozlanego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego. Medycyna 2000, 1990, 2, 26.
12. Kemona H.: Udział płytek krwi w odporności nieswoistej, badania doświadczalne i kliniczne. Diag. Lab. 1986, 22, 201.
13. Kita J.: Postęp w badaniach nad wirusem grypy. Medycyna Wet. 1993, 49, 500.
14. Kita J.: Postęp w zapobieganiu grypie. Medycyna Wet. 1995, 51, 194.
15. Kita J.: Epizootia grypy koni w 1969 w Polsce. Arch. vet. Pol. 1993, 33, 3.
16. Matowicka-Karna J., Panasiuk A.: Aktywność bakteriofaga płytek krwi w przebiegu giardiozy. Diag. Lab. 1998, 34, 97.
17. Mumford J. A., Hannat D., Jessett D. M.: Experimental infection of ponies with equine influenza (H3N8) viruses by intranasal inoculation or exposure to aerosol. Equine vet. J. 1990, 22, 93.
18. Parzych R.: Epizootia grypy koni na terenie województwa łódzkiego w 1980 roku. Praca dokt., Wydział Wet. SGGW, Warszawa 1984.
19. Powell D. G., Watkins K. L., Li P. H., Shortridge F. K.: Outbreak of equine influenza among horses in Honk Kong during 1992. Vet. Rec. 1995, 136, 531.
20. Weremowicz S., Parzych R., Malicki K.: Laboratory investigations on equine influenza during the outbreak in Poland in 1980. Zentbl. Vet. Med. 1983, B 30, 232.
21. Zaczynska E.: Udział komórek śródbłonka naczyń krwionośnych w procesach immunologicznych. Wpływ wirusowych zakażeń. Post. Hig. 1994, 48, 243.
22. Zaleska M., Amusz K., Kita J.: Wpływ immunizacji przeciw grypie koni na parametry odporności komórkowej. Medycyna Wet. 1995, 51, 90.
23. Zinkernagel R. M.: Anti-viral immunity. Central-Europ. J. Immun. 1998, 23, 3.

Adres autora: dr Jolanta Dąbrowska, ul. Ujejskiego 64/137, 85-168 Bydgoszcz

MURONDOTI A., VAN DER KOLK J. H., VAN DER LINDE-SIPMAN J. S.: Cukrzyca typu 1 u ciężarnej jałowki trwale zakażonej wirusem biegunki bydła. (Type 1 diabetes mellitus in a pregnant heifer persistently infected with bovine viral diarrhoea virus). Vet. Rec. 144, 268-269, 1999 (10)

U jałowki w wieku 2 lat w 3 miesiącu ciąży wystąpił spadek masy ciała, osłabienie, wyniszczenie, osłabienie ruchów żwacza. Dzielne pobieranie wody wynosiło 22 l, poziom glukozy w płazmie krwi wynosił 9,7 mmol/L (norma 2,5-4,0 mmol/L), poziom β -hydroksymasłanu wynosił 6,75 mmol/L (1,2 mmol/L), insuliny 1,5 μ U/ml (<4,0 mU/ml). Ponadto wystąpiła umiarkowanego stopnia kwasica, w moczu glukoza i ketony. Po podaniu insuliny poziom glukozy w płazmie, ketonów i niezesteryfikowanych kwasów tłuszczowych spadł. Badanie sekwencyjne wykazało oprócz kacheksji zmniejszenie objętości trzustki i owrzodzenia żwacza. Trzustka zawierała małą ilość wysypek, a komórki wysypek zawierały niewielkie ilości insuliny. Test ELISA wykazał trwałe zakażenie wirusem BVDV.