

Analiza genotypowa pałeczek *Salmonella Gallinarum* i *Salmonella Pullorum* wyizolowanych od niosek

RAFAŁ CHMIELEWSKI, ALINA WIELICZKO*, MACIEJ KUCZKOWSKI*,
MICHAŁ MAZURKIEWICZ*, MACIEJ UGORSKI

Katedra Biochemii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

*Zakład Chorób Drobiu Katedry Epizootiologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 45, 50-366 Wrocław

Chmielewski R., Wieliczko A., Kuczkowski M., Mazurkiewicz M., Ugorski M.

Genotypic analysis of *Salmonella Gallinarum* and *Salmonella Pullorum* strains isolated from laying hens

Summary

Ten *Salmonella Gallinarum* and six *Salmonella Pullorum* strains isolated from laying hens were analysed by genotypic typing methods including ERIC-PCR, REP-PCR and amplification of 16S-23S spacer region by PCR. Analysis of DNA banding patterns generated by ERIC-PCR revealed the presence of 4 different genotypes in the case of *S. Gallinarum* isolates and 3 in the case of *S. Pullorum* isolates. They were grouped by dendrogram analysis into 3 distinct lineages. Strains of *S. Gallinarum* analysed by REP-PCR generated 8 DNA patterns, and strains of *S. Pullorum* gave 4 different profiles of DNA. In both cases, these isolates could be divided into 2 distinct genomic groups by their REP-PCR fingerprints. ERIC- and REP-PCR were found to be more discriminatory for typing of *S. Gallinarum* and *S. Pullorum* than PCR-amplification of 16S-23S rDNA spacer region. With this method, 2 and 3 different profiles of DNA were obtained, respectively, for *S. Gallinarum* and *S. Pullorum* isolates. They were subdivided in 2 related groups by dendrogram analysis. In summary, data obtained by genotyping methods for *Salmonella Gallinarum* and *Salmonella Pullorum* isolates from regions located in south-west part of Poland revealed close phylogenetic relationships between strains belonging to *S. Gallinarum* and *S. Pullorum* biovars, and proved that ERIC- and REP-PCR are highly discriminatory techniques useful for epidemiological evaluation.

Keywords: *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, laying hens, genotypic typing

Pałeczki *Salmonella Gallinarum-Pullorum* są drobnoustrojami wysoce specyficznymi dla drobiu grzebiącego, w szczególności dla kur i kurcząt, u których wywołują tyfus i pulorozę (9). Na terenie Polski udział tego serowaru w zakażeniach pałeczkami *Salmonella* był do niedawna niewielki i ograniczał się tylko do sporadycznych przypadków (8, 12). Dopiero ostatnie 2 lata przyniosły znaczący wzrost zakażeń kur niosek stad towarowych tymi drobnoustrojami. Ocenę aktualnej sytuacji epizootycznej w zakresie występowania tyfusu w stadach towarowych kur nieśnych utrzymywanych w klatkach na terenie Polski południowo-zachodniej oraz charakterystykę fenotypową wyizolowanych szczepów *S. Gallinarum* i *S. Pullorum* przeprowadzili ostatnio Wieliczko i wsp. (11).

Metody fenotypowe, generalnie charakteryzują się stosunkowo niską rozdzielczością, stąd nie są one najbardziej użyteczne w badaniach, których celem jest analiza różnorodności czy określenie stopnia podobieństwa pomiędzy szczepami należącymi do tego samego gatunku bakterii. Te informacje są natomiast bardzo ważne z punktu widzenia badań o charakterze epi-

demiologicznym. Dlatego metody fenotypowe są coraz częściej zastępowane metodami genotypowymi, gdzie przedmiotem analizy jest bakteryjny DNA. Z tym, że w przypadku *S. Gallinarum-Pullorum* brak jest w zasadzie prac tego typu. Z nielicznych danych wynika, że w badaniach z użyciem elektroforezy pulsacyjnej, nie udało się wykazać różnic wśród szczepów *S. Pullorum* (6), natomiast istnienie polimorfizmu genetycznego obserwowano pomiędzy szczepami izolowanymi od kurcząt wykorzystując metodę RAPD i analizę genów rybosomalnego RNA (2, 3). Zróżnicowanie genetyczne obserwowano także u szczepów *S. Gallinarum* analizując geny rRNA (2).

Niniejsze badania zostały podjęte celem określenia polimorfizmu genetycznego oraz ewentualnych podobieństw klonalnych scharakteryzowanych uprzednio metodami fenotypowymi szczepów *S. Gallinarum* i *S. Pullorum* izolowanych od kur nieśnych ze stad towarowych pochodzących z południowo-zachodniej Polski. W badaniach tych wykorzystano metody genotypowe takie jak REP-PCR, ERIC-PCR i analizę rejonu międzygenowego 16S-23S rRNA przy pomo-

cy PCR (4, 5, 7). W metodzie REP-PCR użyto starterów komplementarnych do powtórzonych sekwencji DNA o nazwie powtarzające się pozagenowe palindromiczne sekwencje, tzw. sekwencje REP (Repetitive Extragenic Palindrome sequences). Są one utworzone z odwróconych sekwencji powtórzonych (inverted repeats) o długości 35-40 nukleotydów, które występują pomiędzy genami w policistronowych operonach albo w nie podlegających translacji odcinkach położonych przy końcach 3' jednostek transkrypcyjnych (10, 13). Natomiast w metodzie ERIC-PCR startery są komplementarne do powtórzonych sekwencji DNA noszących nazwę powtarzające się międzygenowe konsensowe sekwencje enterobakterii (sekwencje ERIC – Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus sequences) (10, 13). Sekwencje ERIC, o długości 124-127 nukleotydów również występują pomiędzy genami w policistronowych operonach, albo w nie podlegających translacji odcinkach genomu poprzedzających lub następujących po otwartych ramkach odczytu. Analizując polimorfizm rejonu międzygenowego 16S-23S rRNA wykorzystuje się jego wysoką zmienność pod względem długości i składu nukleotydów jak również liczby kopii (4). W metodzie tej stosuje się startery komplementarne do wysoce konserwatywnych fragmentów sekwencji genów rybosomalnego RNA – końca 3' genu 16S i końca 5' genu 23S rRNA.

Materiał i metody

Szczepy. Szczepy *Salmonella Gallinarum* i *Salmonella Pullorum* izolowane od kur niosek pochodzących ze stad towarowych były uprzednio poddane typizacji serologicznej, badaniu właściwości biochemicznych oraz wrażliwości na chemioterapeutyki (11). Izolaty wykorzystane w analizie genotypowej przedstawia tab. 1.

Analiza genotypowa

Izolacja DNA. Pojedyncze kolonie bakteryjne rosnące na agarze odżywczym zawieszano w 0,9% NaCl. Całkowite DNA izolowano zgodnie z metodą podaną przez Rademakera i wsp. (7). Komórki bakteryjne traktowano mieszaniną: 5 M tiocyjanian guanidyny, 0,03 M N-laurylosarkozyna, 0,1 M EDTA, przez 5 min. w temperaturze 4°C. Po wirowaniu prób przez 5 minut przy 12 000 × g, osad zawierający DNA przemywano za pomocą 7,5 M octanu amonu, a następnie alkoholu izopropylowego. Stężenie DNA określano porównując intensywność świecenia prążków DNA w badanej próbce z intensywnością świecenia prążków reprezentujących standard DNA o znanym stężeniu (100 bp Ladder-Sigma-Aldrich, USA) po ich elektroforezie w żelu agarozowym w obecności bromku etydyny, w świetle UV.

Reakcja PCR. Sekwencje starterów użytych w reakcji PCR do amplifikacji sekwencji DNA typu REP, ERIC oraz rejonu międzygenowego 16S-23S rRNA przedstawia tabela 2. Mieszanina do reakcji PCR obejmowała: 10 mM bufor Tris-HCl pH 8,8, z dodatkiem 1,5 mM MgCl₂, 10 mM KCl oraz 0,1% Triton X-100, 50 ng matrycowego DNA, 0,1 mM każdego ze starterów (Bionovo, Polska), 1,25 mM każdego z doeksynukleotydów (dATP, dTTP, dGTP i dCTP,

Tab. 1. Szczepy *S. Gallinarum* i *S. Pullorum* użyte w badaniach genotypowych (n = 16)

Szczep	Serowar/Biowar
1	<i>S. Pullorum</i>
2	<i>S. Gallinarum</i>
A	<i>S. Gallinarum</i>
B	<i>S. Pullorum</i>
C	<i>S. Gallinarum</i>
C ₁	<i>S. Gallinarum</i>
D	<i>S. Gallinarum</i>
E ₁	<i>S. Pullorum</i>
E ₂	<i>S. Pullorum</i>
F	<i>S. Pullorum</i>
G	<i>S. Gallinarum</i>
G ₁	<i>S. Gallinarum</i>
H	<i>S. Gallinarum</i>
H ₁	<i>S. Gallinarum</i>
I	<i>S. Pullorum</i>
K	<i>S. Gallinarum</i>

Tab. 2. Sekwencje starterów użytych w badaniach genotypowych

Nazwa startera	Sekwencja nukleotydów
REP-IRDT*	5' – III NCG NCG NCA TCN GGC – 3'
REP2-DT*	5' – NCG NCT TAT CNG GCC TAC – 3'
ERIC-IR*	5' – ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCA C – 3'
ERIC-2*	5' – AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G – 3'
G1**	5' – GAA GTC GTA ACA AGG – 3'
L1**	5' – CAA GGC ATC CAC CGT – 3'

Objaśnienia: *sekwencje wg Versalovic i wsp. (10), **sekwencje wg Jensen i wsp. (5)

Pharmacia, Szwecja) oraz 1 U polimerazy Taq (Finnzymes, Finlandia); całkowita objętość próby – 25 µl. Łańcuchową reakcję polimerazy prowadzono w termocyklerze firmy Biometra (Niemcy) według następującego schematu: (i) dla starterów stosowanych do amplifikacji sekwencji typu REP i ERIC pierwszy cykl obejmował denaturację matrycowego DNA przez 5 minut w temperaturze 95°C, dodanie polimerazy DNA przy temperaturze 94°C, przyłączenie starterów w temperaturze 50°C przez okres 1 min. oraz wydłużanie przyłączonych starterów przez 8 min. w temperatu-

rze 65°C; w trakcie kolejnych 34 cykli denaturacja matrycowego DNA trwała 1 minutę w temperaturze 94°C, natomiast przyłączenie starterów – 1 minutę w temperaturze 50°C oraz ich wydłużanie – 8 minut w temperaturze 65°C; (ii) dla starterów wykorzystywanych do amplifikacji rejonu międzygenowego 16S-23S rRNA reakcją PCR prowadzono w bardzo podobny sposób, za wyjątkiem skrócenia czasu wydłużania sekwencji starterowych do 5 minut.

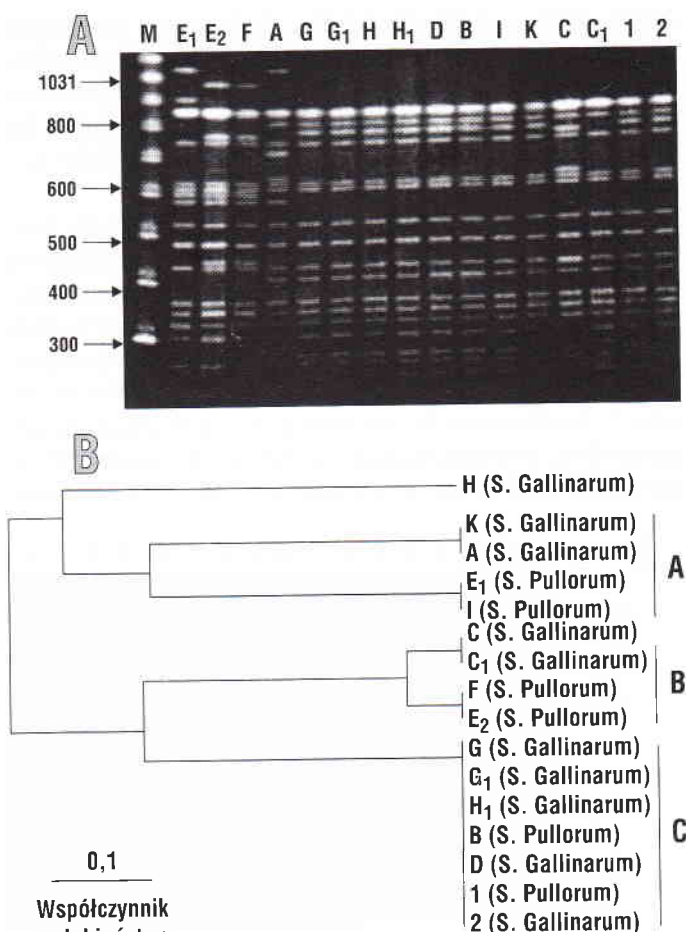
Rozdział i analiza produktów PCR. Produkty reakcji PCR rozdzielano w 2% żelu agarozowym o długości 19 cm, przy napięciu 25V przez 16 godzin. Nanoszono próbki o objętości 8-10 µl. Żel wybarwiony bromkiem etydyny fotografowano w świetle ultrafioletowym aparatem do dokumentacji firmy Viller-Lormant (Francja). Każdy z eksperymentów powtarzano przynajmniej 3 razy. Obrazy rozdzielonych produktów reakcji PCR analizowano stosując program CrossChecker (Department of Plant Breeding Wageningen University and Research Centre) i BioEdit (Tom Hall Department of Microbiology North Carolina State University) przy użyciu metody par skojarzonych (UPGMA) i współczynnika podobieństwa wg Jaccarda, co wykorzystano następnie do konstrukcji drzew podobieństw.

Wyniki i omówienie

Przeprowadzona ostatnio analiza szczepów *S. Gallinarum* i *S. Pullorum* izolowanych od kur niosek stad towarowych pochodzących z terenów południowo-zachodniej Polski wykazała, że są one mało zróżnicowane pod względem profili biochemicznych (11). I tak, wszystkich 10 izolatów *S. Gallinarum* należało do tego samego biotypu, natomiast wśród 6 izolatów *S. Pullorum* wyróżniono tylko dwa profile biochemiczne. Znacznie większe zróżnicowanie wśród badanych szczepów obserwowano, jeżeli chodzi o ich wrażliwość na chemioterapeutyki. Aż 5 różnych profili oporności obserwowano dla 6 szczepów *S. Pullorum* i 8 – dla 10 izolatów *S. Gallinarum*.

Obie metody fenotypowe, zastosowane we wcześniejszych badaniach, pozostawiają bez odpowiedzi pytanie, co do zróżnicowania szczepów *S. Gallinarum-Pullorum* na poziomie genomu bakteryjnego jak również nie pozwalają na ustalenie ewentualnych podobieństw pomiędzy badanymi izolatami. Stąd analizę szczepów izolowanych od kur nieśnych poszerzono o metody genotypowe: REP-PCR, ERIC-PCR oraz analizę rejonu międzygenowego 16S-23S rRNA przy pomocy PCR.

W wyniku amplifikacji genomowego DNA pochodzącego z 6 izolatów *S. Pullorum* i 10 izolatów *S. Gallinarum* przy pomocy starterów komplementarnych do powtórzonych sekwencji typu ERIC otrzymano, odpowiednio, 3 i 4 różnych profili zamplifikowanych fragmentów DNA (ryc. 1A). Liczba prążków DNA uzyskanych dla jednego izolatu wahała się od 15-20, natomiast ich wielkość wynosiła od 1050 pz do około 100 pz. We wszystkich 16 analizowanych próbach występowały fragmenty DNA o długościach odpowiadających 820 pz, 600 pz, 400 pz i 300 pz. Analiza obrazów elektroforetycznych produktów PCR metodą par



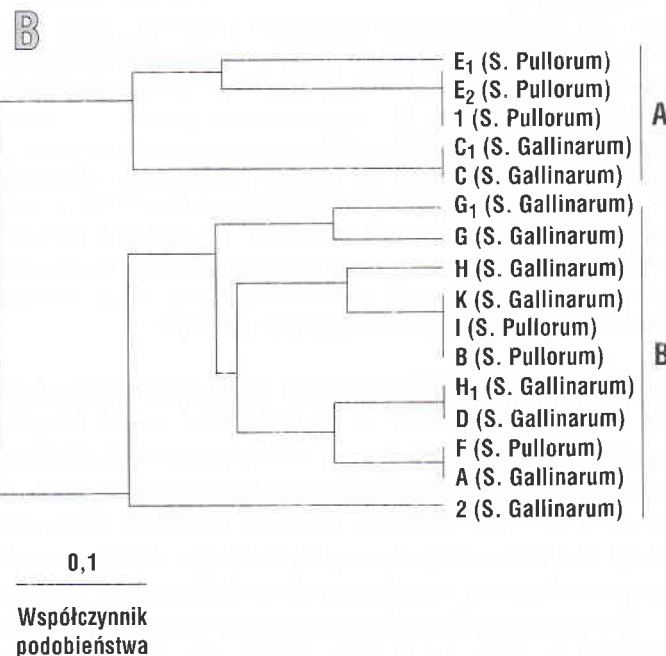
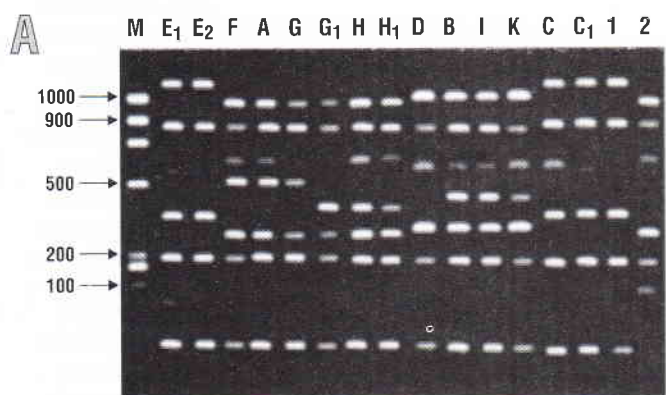
Ryc. 1A. Obraz produktów reakcji PCR otrzymanych z DNA *S. Gallinarum* i *S. Pullorum* ze starterami komplementarnymi do powtórzonych sekwencji typu ERIC po ich rozdzielaniu w 2% żelu agarozowym. M – standard DNA, pasma E₁ – 2 reprezentują produkty amplifikacji DNA poszczególnych izolatów *S. Gallinarum* i *S. Pullorum*; 1B. Drzewo podobieństw utworzone w oparciu o obrazy rozdzielonych produktów reakcji PCR. W konstrukcji drzewa podobieństw posłużono się metodą UPGMA z wykorzystaniem współczynnika Jaccarda. Długość odcinka opisanego jako „współczynnik podobieństwa” odpowiada 10% podobieństwa pomiędzy poszczególnymi izolatami.

skojarzonych (UPGMA) i przy pomocy współczynnika Jaccarda pozwoliła na wyróżnienie wśród 6 badanych szczepów *S. Pullorum* i 10 szczepów *S. Gallinarum* trzech grup genotypowych oznaczonych jako A, B i C (ryc. 1B). Wyjątek stanowił izolat H, który nie mógł być zakwalifikowany do żadnej z wyróżnionych grup (wyliczony współczynnik podobieństwa – 72%).

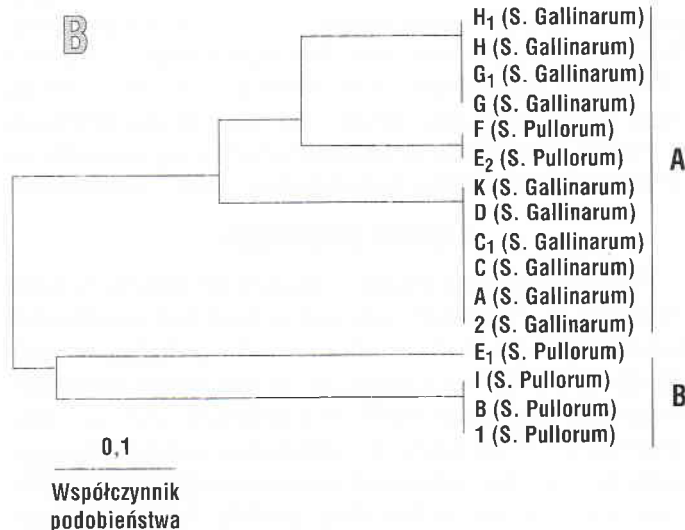
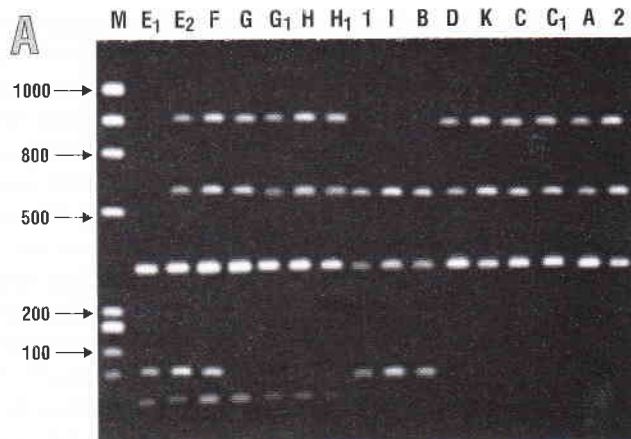
Dla starterów komplementarnych do powtórzonych sekwencji typu REP oraz rejonu międzygenowego 16S-23S rRNA, generalnie liczba zamplifikowanych fragmentów DNA była znacznie niższa w porównaniu z obrazami otrzymanymi ze starterami dla sekwencji typu ERIC. Stosując startery dla sekwencji typu REP wśród badanych szczepów *S. Pullorum* wyróżniono 4 różne profile zamplifikowanych fragmentów DNA, które ze względu na współczynniki podobieństwa dają się połączyć w dwie grupy genotypowe oznaczone jako A i B (ryc. 2AB). Natomiast dla szczepów *S. Gallinarum* otrzymano tych profili aż osiem (ryc.

2AB). Dały one również tylko dwie grupy genotypowe. We wszystkich analizowanych próbach stwierdzono obecność maksymalnie 7 prążków DNA o wielkościach od 1100 pz do około 50 pz. Wspólne prążki dla wszystkich izolatów miały długość 900 pz, 200 pz i około 50 pz.

W przypadku starterów komplementarnych do końca 3' genu 16S i końca 5' genu 23S rRNA, wyróżniono dla izolatów *S. Pullorum* trzy różne profile zamplifikowanych fragmentów, które można było połączyć w dwie grupy genotypowe (ryc. 3AB), natomiast tylko dwa profile prążków udało się wyróżnić w przypadku szczepów *S. Gallinarum*. Maksymalna liczba prążków w jednej próbie, o wielkościach od 900 pz do około 50 pz, wynosiła od 3-5 dla *S. Pullorum* i 3-4 dla *S. Gallina-*



Ryc. 2A. Obraz produktów reakcji PCR otrzymanych z DNA *S. Gallinarum* i *S. Pullorum* ze starterami komplementarnymi do powtórzonych sekwencji typu REP po ich rozdzielaniu w 2% żelu agarozowym. M – standard DNA, pasma E₁ – 2 reprezentują produkty amplifikacji DNA poszczególnych izolatów *S. Gallinarum* i *S. Pullorum*. 1B. Drzewo podobieństw utworzone w oparciu o obrazy rozdzielów reakcji PCR. W konstrukcji drzewa podobieństw posłużono się metodą UPGMA z wykorzystaniem współczynnika Jaccarda. Długość odcinka opisanego jako „współczynnik podobieństwa” odpowiada 10% podobieństwa pomiędzy poszczególnymi izolatami.



Ryc. 3A. Obraz produktów reakcji PCR otrzymanych z DNA *S. Gallinarum* i *S. Pullorum* ze starterami komplementarnymi do końca 3' genu 16S i końca 5' genu 23S rRNA po ich rozdzielaniu w 2% żelu agarozowym. M – standard DNA, pasma E₁ – 2 reprezentują produkty amplifikacji DNA poszczególnych izolatów *S. Gallinarum* i *S. Pullorum*. 1B. Drzewo podobieństw utworzone w oparciu o obrazy rozdzielów reakcji PCR. W konstrukcji drzewa podobieństw posłużono się metodą UPGMA z wykorzystaniem współczynnika Jaccarda. Długość odcinka opisanego jako „współczynnik podobieństwa” odpowiada 10% podobieństwa pomiędzy poszczególnymi izolatami.

rum. We wszystkich badanych próbkach *S. Pullorum* występował prążek DNA o wielkości około 350 pz, natomiast w próbkach *S. Gallinarum* – prążki o długościach 650 i 350 pz.

Rozpatrując izolaty *S. Gallinarum* i *S. Pullorum* łącznie jako *S. Gallinarum-Pullorum* metodą REP-PCR uzyskano 10 różnych profili zamplifikowanych fragmentów DNA, natomiast metodą ERIC-PCR – 6 różnych profili DNA. Wynika to z faktu, że część szczepów *S. Pullorum* charakteryzuje się identycznymi profilami prążków DNA co badane szczepy *S. Gallina-*

rum. Należy zaznaczyć, że wyliczona powtarzalność pomiędzy analogicznymi eksperymentami wyrażona jako współczynnik powtarzalności wyniosła 93,5%.

Podsumowując, analiza podobieństw wykazała bardzo wysokie podobieństwo genetyczne pomiędzy szczepami *S. Gallinarum* i *S. Pullorum*, na co wskazuje fakt identyczności profili prążków DNA uzyskiwanych metodami ERIC- i REP-PCR, oraz fakt przynależności części z nich do tych samych grup genotypowych. Należy tu podkreślić, że za pomocą powyższych metod udało się jednoznacznie odróżnić szczepy *S. Gallinarum-Pullorum* od innych serowarów *Salmonella*, takich jak *S. Enteritidis* czy *S. Typhimurium* (1). Wyniki niniejszych badań różnią się od otrzymanych przez Christensen i wsp. (2), którzy byli w stanie rozróżnić szczepy *S. Gallinarum* i *S. Pullorum*, łącząc je w dwie różne grupy genotypowe. Należy jednak zaznaczyć, że autorzy ci posługiwali się różną metodyką – analizą genów rybosomalnego RNA oraz innymi metodami analizy statystycznej.

Spośród trzech zastosowanych w niniejszych badaniach metod genotypowych, zarówno ERIC-PCR jak i REP-PCR wykazują wysokie zdolności różnicujące, mniej przydatną do typowania szczepów *S. Gallinarum-Pullorum* okazała się metoda oparta na analizie regionu międzygenowego 16S-23S rRNA.

Piśmiennictwo

1. Chmielewski R., Kuczkowski M., Wieliczko A., Mazurkiewicz M., Ugorski M.: Wykorzystanie powtórzonych sekwencji REP i ERIC w diagnostyce pałeczek z rodzaju *Salmonella*. Mat. Konferencji pt. Schorzenia układu pokarmowego u ptaków etiologia, diagnostyka i zwalczanie. Wrocław 1999, s. 60-61.

2. Christensen J. P., Olsen J. E., Bisgaard M.: Ribotypes of *Salmonella enterica* serovar *Gallinarum* biovars *gallinarum* and *pullorum*, *Avian Pathol.* 1993, 22, 725-730.
3. Dodson S. V., Maurer J. J., Holt P. S., Lee M. D.: Temporal changes in the population genetics of *Salmonella pullorum*. *Avian Dis.* 1999, 43, 685-695.
4. Gurtler V., Stanisich V. A.: New approaches to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA spacer region. *Microbiol.* 1996, 142, 3-16.
5. Jensen M. A., Webster J. A., Straus N.: Rapid identification of bacteria on the basis of polymerase chain reaction-amplified ribosomal DNA spacer polymorphism. *Appl. Environ. Microbiol.* 1993, 59, 945-952.
6. Olsen J. E., Skov M. N., Christensen J. P., Bisgaard M.: Genomic lineage of *Salmonella enterica* serotype *gallinarum*. *J. Med. Microbiol.* 1996, 45, 413-418.
7. Rademaker J. L. W., Louws F. J., De Bruijn F. J.: Characterization of the diversity of ecologically important microbes by the rep-PCR genomic fingerprinting. W: A. D. L. Akkermans, J. D. van Elsas, F. J. de Bruijn (red.): *Molecular Microbial Ecology Manual*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1997, s. 1.
8. Rzedzicki J., Pawelec M.: Mat. VII Symp. Drobiarskiego pt.: Aspekty zootechniczno-weterynaryjne chowu drobiu grzebiącego ze szczególnym uwzględnieniem indyków. Polanica Zdrój 1997, s. 97-99.
9. Shivaprasad H. L.: Pullorum disease and fowl typhoid. W: *Diseases of Poultry*. Calnek B. W., Barnes H. J., Beard C. W., McDougald L. R., Saif Y. M., (wyd.), Iowa State University Press, USA, 1997, s. 82-96.
10. Versalovic J., Koeuth T., Lupski J. R.: Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucl. Acid Res.* 1991, 19, 6823-9831.
11. Wieliczko A., Kuczkowski M., Chmielewski R., Mazurkiewicz M., Ugorski M.: Właściwości fenotypowe pałeczek *Salmonella Gallinarum* i *Salmonella Pullorum* wyizolowanych od kur. *Medycyna Wet.* (oddane do druku).
12. Wieliczko A., Mazurkiewicz M.: Zakażenia pałeczkami *Salmonella* u drobiu na Dolnym Śląsku. *Medycyna Wet.* 1999, 55, 445-451.
13. Ugorski M., Chmielewski R.: Powtórzone sekwencje DNA typu REP i ERIC u bakterii – znaczenie diagnostyczne. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2000, 54, 3-15.

Adres autora: dr hab. Maciej Ugorski, prof. nadzw., ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

❖❖❖❖❖ RECENZJE I BIBLIOGRAFIA ❖❖❖❖❖

Intensywna terapia psów i kotów (Veterinary emergency medicine secrets). Wayne E. Wingfield, DVM, MS (redaktor naukowy oryginału), Wydawnictwo SGGW, Warszawa, 1999, wyd. I, str. 664, cena 60 zł + koszt wysyłki. ISBN 83-7244-155-3.

Jest to tłumaczenie książki wydanej w 1997 r. w Filadelfii, opracowanej przez 56 współautorów, głównie pracowników naukowych klinik weterynaryjnych z USA i Kanady. Redaktorem naukowym wydania polskiego jest prof. dr hab. Antoni Schollenberger. Treść książki oddają tytuły rozdziałów:

1. Zagrożające życiu nagłe przypadki, 2. Uraz, 3. Powszechnie występujące dolegliwości, 4. Nagłe przypadki okulistyczne, 5. Nagłe przypadki zaburzeń oddychania, 6. Nagłe przypadki zaburzeń krążenia, 7. Nagłe przypadki onkologiczne i hematologiczne, 8. Nagłe przypadki neurologiczne, 9. Nagłe przypadki zaburzeń metabolicznych, 10.

Ostre stany układu pokarmowego, 11. Ostre stany układu rozrodczego, 12. Ostre stany układu moczowego, 13. Toksykologia, 14. Zabiegi wykonywane w nagłych przypadkach. Dodatek: Leki stosowane w nagłych przypadkach.

Jest to interesująca, dobrze przetłumaczona i bogata w swojej treści książka, w której zastosowano inny niż w podręcznikach akademickich system narracyjny. Zasadnicze metody postępowania i leczenia nagłych przypadków oraz stanów zagrożenia życia psów i kotów przedstawiono w formie pytań i syntetycznych, a jednocześnie wyczerpujących odpowiedzi. Cennym uzupełnieniem treści są ryciny oraz tabele zawierające schematy postępowania oraz sposoby aplikacji i dawkowanie leków. Książkę można polecać wszystkim lekarzom weterynarii zajmującym się leczeniem małych zwierząt. Można ją zamawiać w Wydawnictwie SGGW, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa, tel/fax (0-22) 847-28-92.

Stanisław Wołoszyn

