

ZDZISŁAW STARONIEWICZ, JANUSZ A. MADEJ*

Doświadczalne zakażenie myszy pałeczkami *Yersinia enterocolitica*

Katedra Mikrobiologii Weterynaryjnej oraz
* Katedra Anatomii Patologicznej i Weterynarii Sądowej Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Pomimo wzrastającego zainteresowania pałeczką *Yersinia enterocolitica* zarówno w medycynie ludzkiej, jak i weterynaryjnej, stosunkowo mało poznana została patogeniza zakażeń spowodowanych przez ten drobnoustrój. W dużym stopniu przyczynił się do tego fakt, że pierwsze próby zakażenia laboratoryjnych zwierząt, które mogłyby służyć jako model dla oceny właściwości chorobotwórczych *Y. enterocolitica* były nieudane. W latach sześćdziesiątych Mollaret i Guillon (cyt. 14) przeprowadzając badania na 15 różnych gatunkach zwierząt, stosując różne drogi zakażenia oraz używając 106 szczepów *Y. enterocolitica* serotyp O:3 i O:9 izolowanych w Europie stwierdzili że wszystkie szczepy bakteryjne okazały się niepatogenne dla zwierząt między innymi takich jak króliki, świnki morskie, szczury czy myszy. Doprowadziło to do błędnego wniosku, że *Y. enterocolitica* jest drobnoustrojem niechorobotwórczym dla zwierząt laboratoryjnych. W związku z tym przez długi okres zaniechano badań eksperymentalnych. Dopiero w ostatnich latach przeprowadzone badania wykazały, że tylko niektóre szczepy *Y. enterocolitica* są patogenne dla określonych gatunków zwierząt doświadczalnych (2, 4, 10, 12, 14, 16). W eksperymentalnych modelach zakażeń uzyskiwano zróżnicowane wyniki badań, osiągnęto różny stopień sukcesu i oceniano zazwyczaj właściwości chorobotwórcze szczepów izolowanych od ludzi.

Niniejsza praca jest kontynuacją wcześniejszych badań (17) w których stwierdzono, że świnie są naturalnym rezerwuarem wirulentnych szczepów *Y. enterocolitica* należących do serotypu 3, który dominuje również u ludzi. Celem obecnych badań była próba zakażenia myszy różnymi drogami szczepem *Y. enterocolitica* serotyp 3 izolowanym z migdałków świń rzeźnych i ustalenie jaka postać doświadczalnej jersiniozy możliwa jest do wywołania.

Materiał i metody

Badanie przeprowadzono na 130 myszach szczepu BALB/c, samicach w wieku 4—5 miesięcy o masie ciała 16—18 g. Do zakażenia zwierząt użyto szczepu 4/S/87 *Yersinia enterocolitica*, serotyp 3, izolowanego z migdałków świń rzeźnych (17). Szczep poddany był ocenie na wirulencję. Wykazywał pozytywną autoaglutynację, był patogenny dla myszy, a jego wzrost na magnesium-oxalate agar w temperaturze 37°C był zahamowany. Z pałeczek *Y. enterocolitica* hodowanych na podłożu Tryptic Soy Agar (Difco) w 22°C przez 48 godz. sporządzono zawiesinę w buforowanym płynie fizjologicznym o gęstości $6,7 \times 10^8$ komórek/cm³. Wszystkie myszy otrzymały dawkę

0,15 cm³ zawiesiny żywych bakterii. Jedną grupę zwierząt (65 myszy) zakażono doustnie poprzez sondę wprowadzoną do przelyku a drugą grupę (również 65 myszy) podskórnie. Zwierzęta poddano badaniom bakteriologicznym i histopatologicznym 3, 5, 10, 12, 17, 19, 24 i 26 dnia po zakażeniu. Bezpośrednio po uspieniu i wykonaniu sekcji pobierano wycinki śledziony, wątroby, węzłów chłonnych krezkowych oraz jelita biodrowego do badań histopatologicznych. Z odpowiednio utrwalonego materiału sporządzono skrawki parafinowe, które następnie barwiono rutynowo hematoksyliną + eozyną.

Do badań bakteriologicznych pobierano zawsze jednakowe próbki narządów i homogenizowano w 1 cm³ buforowanego płynu fizjologicznego. Liczbę bakterii w śledzionie, wątrobie, węzłach chłonnych oraz w jelicie określano metodą płytkową przez 10-krotne rozcieńczenie homogenizowanego narządu. Homogenat w ilości 0,1 cm³ posiewano na podłożu MacConcey agar. Po inkubacji w 25°C przez 48 godz. laktozo-ujemne kolonie identyfikowano na podstawie właściwości hodowlanych, biochemicznych, morfologicznych i serologicznych. Wzrost bakterii na podłożach oceniano obliczając średnią posiewów: 0=brak wzrostu, 1=1—10 kolonii, 2=11—100 kolonii 3=101—200 kolonii i 4=>200 kolonii.

Wyniki i omówienia

Badania bakteriologiczne. Wyniki badań bakteriologicznych po zakażeniu doustnym myszy pałeczkami *Y. enterocolitica* serotyp 3 przedstawia tab. 1. Już w trzecim dniu trwania doświadczenia obserwowano ogólne zakażenie u niektórych badanych zwierząt. Bakterie bowiem stwierdzono nie tylko w jelicie biodrowym, w miejscu wynikającym ze sposobu zakażenia, ale w wątrobie, śledzionie i węzłach chłonnych krezkowych. U wszystkich badanych myszy *Y. enterocolitica* w dużej ilości była obecna w jelicie między 3 a 5 dniem po zakażeniu, a począwszy od 10 dnia już tylko u niektórych zwierząt. Najwyższe koncentracje drobnoustrojów w śledzionie, wątrobie oraz węzłach chłonnych notowano między 5 a 10 dniem po zakażeniu. Również w tym okresie obserwowano u zwierząt doświadczalnych objawy ze strony przewodu pokarmowego w postaci biegunek o różnym stopniu nasilenia. Począwszy od 12 dnia po zakażeniu notowano spadek liczby bakterii w narządach u wszystkich badanych myszy. W wątrobie i śledzionie od 24 dnia, a w jelicie od 26 dnia po zakażeniu już nie wykrywano obecności pałeczek *Y. enterocolitica*. Natomiast przez cały okres trwania obserwacji stwierdzono obecność bakterii w węzłach chłonnych u około 75 % myszy, a między 5 a 7 dniem po zakażeniu u wszystkich badanych zwierząt. W czasie doświadczenia notowano również przypadki padnięć od 4 do 12 dnia po zakażeniu. Najwyższy

Tab. 1. Wyniki badań bakteriologicznych myszy zakażonych doustnie *Y. enterocolitica*

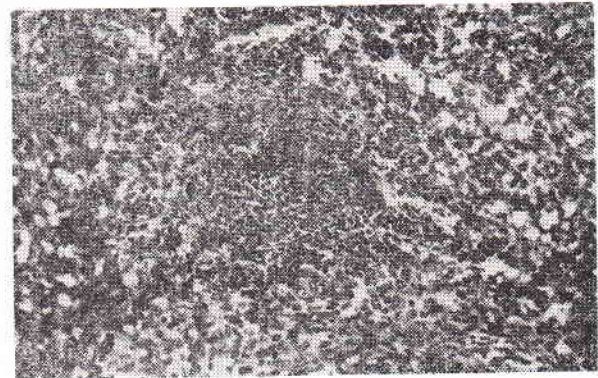
Dni po zakażeniu myszy	Liczba badanych myszy	Liczba myszy padłych	Średnia liczba izolowanych bakterii							
			Śledziona		wątroba		węzły chłonne krezkowe		jelita biodrowe	
			A	B	A	B	A	B	A	B
3	5	2	3	1,4	2	1,2	4	2,4	5	3,2
4		1								
5	5	3	5	3,8	5	3,2	5	3,4	5	2,6
6		3								
8		7								
9		3								
10	5	1	4	3,0	4	2,4	5	2,8	4	2,4
12	5		3	2,0	2	1,4	5	2,2	3	1,2
17	5		3	1,4	2	1,0	5	1,6	3	0,8
19	5		3	1,6	1	0,8	2	1,2	1	0,2
24	5		0	0	0	0	2	0,6	1	0,2
26	5		0	0	0	0	1	0,2	0	0

Objaśnienia: A — liczba dodatnich prób na 5 testowanych zwierząt, B — średnia posiewów: 0= brak wzrostu, 1=1–10 kolonii, 2=11–100 kolonii, 3=101–200 kolonii, 4=>200 kolonii.

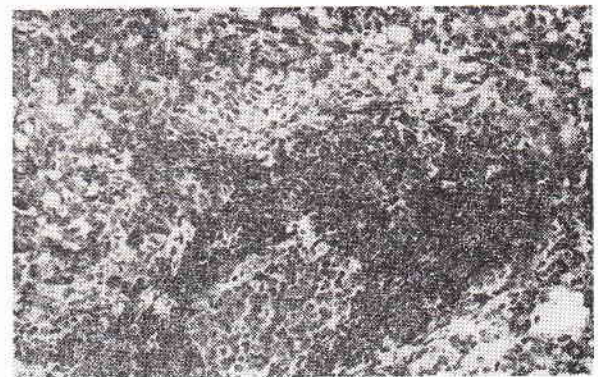
Tab. 2. Wyniki badań bakteriologicznych myszy zakażonych podskórnie *Y. enterocolitica*

Dni po zakażeniu myszy	Liczba badanych myszy	Liczba myszy padłych	Średnia liczba izolowanych bakterii							
			Śledziona		wątroba		węzły chłonne krezkowe		jelita biodrowe	
			A	B	A	B	A	B	A	B
3	5	2	5	3,4	5	3,0	3	1,0	1	0,4
4		0								
5	5	7	5	4,0	5	3,8	5	3,0	4	2,0
6		12								
7		11								
8		7								
9		3								
10	5	3	5	3,4	5	3,2	4	1,4	2	0,8
11		2								

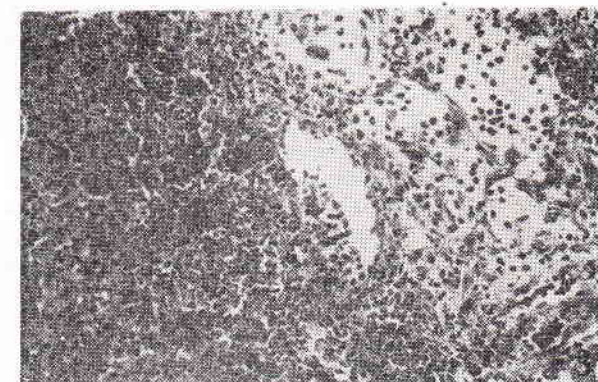
Objaśnienia: jak w tab. 1.



Ryc. 1. Ognisko ropno-martwicowe w korze węzła chłonnego przy doświadczalnym zakażeniu myszy *Yersinia enterocolitica*. Pow. ok. 220X. Barw. H+E



Ryc. 2. Namnożone histocyty i makrofagi w ośrodkowym grudki chłonnej węzła przy doświadczalnym zakażeniu myszy *Yersinia enterocolitica*. Pow. ok. 220X. Barw. H + E



Ryc. 3. Liczne makrofagi i uwolnione komórki siateczki w zatokach węzła chłonnego przy doświadczalnym zakażeniu myszy *Yersinia enterocolitica*. Pow. ok. 220X. Barw. H + E

wskaźnik śmiertelności stwierdzono między 8 a 9 dniem po zakażeniu.

Uzyskane wyniki badań bakteriologicznych po zakażeniu podskórnym przedstawia tab. 2. Ciężki przebieg zakażenia i śmiertelność wśród zwierząt obserwowano już od 3 dnia trwania doświadczenia. Bakterie w różnych ilościach były obecne w większości badanych tkanek. Wysoką koncentrację pałeczek *Y. enterocolitica* notowano w śledzionie i wątrobie u wszystkich badanych zwierząt i to przez cały okres trwania obserwacji. Natomiast stosunkowo małą liczbę bakterii stwierdzano w jelicie biodrowym. Jednak najwyższą liczbę drobnoustrojów w śledzionie, wątrobie, węzłach chłonnych krezkowych oraz w jelicie notowano w 5 dniu po zakażeniu. Większość doświadczalnych zwierząt była bardzo wrażliwa na podskórne zakażenie. W ciągu całego okresu trwania doświadczenia obserwowano dużą śmiertelność wśród myszy, a szczególnie między 5 a 8 dniem po zakażeniu. W wyniku tak dużej śmiertelności już po 10 dniach z 65 myszy zostały przy życiu tylko 2, które padły 11 dnia po zakażeniu.

Badania histopatologiczne. Węzły chłonne krezkowe. W 3 dniu po zakażeniu (p.z.) doustnym myszy *Y. enterocolitica* obserwowano w obrębie kory węzłów drobne ogniska zbudowane z histocytów, chaotycznie

rozrzucone pomiędzy grudkami chłonnymi. Po cząwszy od 5 dnia p.z. w centrum ognisk spotykano kwasochłonne bezpostaciowe masy, detritus komórkowy oraz skupiska kolonii bakterii otoczone komórkami nacieku zapalnego, złożonego z bardzo licznych neutrofilów, mniej licznych histocytów, komórek nabłonkowych, makrofagów i plazmacytów oraz zmienną ilość włókien (ryc. 1). Niezależnie od opisanych

ognisk martwiczo-ropnych obserwowano typowe ziarniniaki zbudowane tylko z neutrofilów i histiocytów, ale bez widocznej martwicy tkanki. Znacznie poszerzone ośrodki odczynowe grudek chłonnych zawierały w swym utkaniu liczne histocyty i makrofagi oraz niewielką ilość limfocytów i limfoblastów (ryc. 2). W 10 dni p.z. w zatokach spotykano liczne makrofagi, uwolnione komórki siateczki oraz nieliczne limfocyty i plazmocyty (ryc. 3). W strefie przykorowej węzła chłonnego obserwowano namnożenie się komórek siateczki z palczastymi wypustkami i obrzmienie śródbłonek naczyń, towarzyszące wędrowce limfocytów. U kilku myszy notowano ponadto okolonaczyniowy obrzęk tkanki oraz ogniskowe zapalenie naczyń chłonnych węzła. Przedstawione zmiany morfologiczne utrzymywały się między 12—17 dniem trwania doświadczenia. Począwszy od 19 dnia po zakażeniu *Y. enterocolitica* obserwowano w węzłach chłonnych obfitą ilość fibroblastów i fibrocytów oraz nieznaczny rozplm włókienek łącznotkankowych, których ilość nieco wzrastała między 24 a 26 dniem po zakażeniu.

Śledziona. W narządzie tym począwszy od 5 dnia p.z. obserwowano podobne ziarniniaki oraz ogniska martwicowo-ropne jak w węzłach chłonnych, ale były one zdecydowanie większe w śledzionie. W grudkach chłonnych notowano wyraźną deplecję limfocytów i limfoblastów oraz rozplm w tych miejscach komórek siateczki. W poszerzonych zatokach obecne były makrofagi obładowane materiałem degradacji, tj. hemosyderyną i kruszywem komórkowym, złuszczone komórki śródbłonka naczyniowego, limfocyty i pojedyncze plazmocyty. Począwszy od 12 dnia p.z. bardzo często wokół grudek chłonnych spotykano duże skupiska ziaren hemosyderyny, zaś w obrębie miazgi czerwonej wzmożony rozplm megakariocytów. Między 19 a 24 dniem po zakażeniu obserwowano nieznaczny rozplm fibroblastów oraz tkanki łącznej włóknistej z jednoczesnym pogrubieniem i miejscowym zeszkliwieniem torebki śledziony.

Wątroba. Między 3—5 dniem p.z. obserwowano wyraźny rozplm komórek gwiazdzistych oraz niektórych śródbłonek naczyń. Począwszy od 10 dnia p.z. spotykano liczne, drobne ziarniniaki zbudowane z histiocytów i pojedynczych granulocytów obojętnochłonnych. W 12 dni doświadczenia obserwowano podobne zmiany martwiczo-ropne jak i w węzłach chłonnych i śledzionie lub tylko drobne ogniska złożone z komórek neutrofilnych, histiocytów i komórek nabłonkowych. Opisanym zmianom towarzyszył silny rozplm komórek gwiazdzistych wątroby oraz pojawienie się skupisk megakariocytów. Przedstawiony obraz morfologiczny utrzymywał się aż do 24 dnia p.z. od którego to momentu rozpoczęła się nie-

znaczna, wyraźnie słabsza niż w węzłach chłonnych i śledzionie, fibroplazja.

Jelito biodrowe. Począwszy od 3 dnia p.z. występowały w *lamina propria* oraz w obrębie błony podśluzowej jelita pojedyncze, na ogół duże ogniska zapalno-martwicowe otoczone licznymi neutrofilami, co dawało charakterystyczny obraz mikroropni. Opisanym zmianom towarzyszyły z reguły wyraźne zaburzenia w krążeniu, manifestujące się drobnymi wylewami krwi z następującą hemosyderyzą (10 dzień p.z.) w tych ogniskach oraz obrzęk kosmków jelitowych. W 5 dniu p.z. obserwowano w kępkach Peyera różną ilość polimorficznych histiocytów i komórek nabłonkowych, wyjątkowo także komórek olbrzymich, tj. komórek układu MM (monocytno-makrofagalnego). Nacieki komórek MM spotykano także w przestrzeniach między grudkami chłonnymi (10—19 dzień p.z.), a więc tworzyły się para- i intrafolikularne ziarniniaki zapalne. Zmiany naprawcze w obrębie jelita biodrowego rozpoczęły się między 19 a 24 dniem po zakażeniu *Y. enterocolitica* i manifestowały się miernym odczynem fibroblastycznym.

Myszy zakażone podskórnie padały wśród objawów uogólnionej posocznicy. W związku z dużą śmiertelnością zwierząt badania histopatologiczne przeprowadzono tylko do 10 dni p.z.. Obraz zmian mikroskopowych był zbliżony do obserwowanego przy zakażeniu doustnym, ale manifestował się zwiększoną ilością mikroropni w badanych narządach.

Uzyskane wyniki wskazują, że myszy BALB/c są wrażliwe na zakażenie pałeczkami *Y. enterocolitica* serotyp 3 izolowanymi z migdałków świń rzeźnych. Bakterie podane w ilości 10^8 doustnie i podskórnie wywoływały ciężkie ogólne zakażenie połączone z dużą śmiertelnością zwierząt. Można wnioskować, że użyty szczep *Y. enterocolitica* 4/S/87 był stosunkowo wysoko wirulentny. Poza tym wykazywał on *in vitro* pozytywną autoaglutynację, a jego wzrost na podłożu magnezium-oxalate agar w temp. 37°C był zahamowany. A więc posiadał wrażliwy na temperaturę Ca^{2+} — zależny plazmid warunkujący jego chorobotwórczość. Według danych piśmiennictwa (3, 5, 6, 8) istnieje silna korelacja między szczepami izolowanymi od ludzi, zwierząt, z żywności pochodzenia zwierzęcego a ich patogennością dla myszy, autoaglutynacją i zahamowaniem wzrostu w temp. 37°C na magnezium-oxalate agar. *Y. enterocolitica* wykazująca właściwości wirulentne jest zdolna do wywołania *in vivo*: *conjunctivitis* u świnek morskich (6, 14), śmierci myszy (3, 6), inwazji do wątroby i śledziony u myszy zakażonej doustnie (6). Wpływ na wywołanie zakażenia u zwierząt doświadczalnych ma nie tylko wirulencja pałeczek *Y. enterocolitica*, ale również dobór szczepu myszy, droga podania, ilość bakterii i temperatura inkubacji drobnoustrojów (2, 4, 12). Quan i wsp. (12) stwierdzili w swoich badaniach, że myszy były

tysiącrotnie mniej wrażliwe na zakażenie podskórne niż dootrzewnowe. Podobne wyniki uzyskał Corbel (4), który notował wyższą śmiertelność u zwierząt przy zakażeniu dootrzewnowym niż podskórnym czy doustnym, a LD 50 była co najmniej 50-krotnie niższa dla gerbilia niż dla myszy. Duże różnice między liczbą bakterii niezbędnych do wywołania zakażenia, szczepem myszy i drogą podania notowali Carter i wsp. (2). Wykazali między innymi, że dawka poniżej 5×10^7 żywych bakterii podana doustnie myszom wywoływała tylko u niektórych zwierząt słabe zakażenie. Natomiast wzrastająca liczba do 5×10^8 bakterii powodowała bardzo ciężkie zakażenie i śmiertelność wśród zwierząt, szczególnie wesołą 8 dnia po infekcji.

W badaniach własnych również stwierdzono, że liczba 10^9 żywych bakterii podana doustnie powodowała ciężkie zakażenie jelit u wszystkich zwierząt, atakując następnie szybko węzły chłonne krezkowe i inne narządy. Zakażenie nie zawsze było przezwyciężane przez zwierzęta, powodując szczególnie dużą śmiertelność między 8 i 9 dniem trwania doświadczenia. Ponadto obserwowano, że myszy były bardziej wrażliwe na zakażenie podskórne niż doustne, które powodowało objawy uogólnionej posocznicy i ostatecznie prowadziło do śmierci zwierząt. Wyniki badań histopatologicznych i bakteriologicznych, wskazują, że zakażenie *Y. enterocolitica* daje początek miejscowej proliferacji bakterii w miejscu wprowadzenia z późniejszym rozsiewaniem do innych badanych tkanek. Pozwala to sądzić, że *Yersinia* posiada specyficzny tropizm do niektórych określonych tkanek. W związku z powyższym od 5 dnia po zakażeniu obserwowano w węzłach chłonnych duże ilości bakterii otoczonych komórkami nacieku zapalnego. Natomiast przy zakażeniu podskórnym występowanie zmian w jelicie biodrowym może sugerować specyficzną lokalizację lub też prawdopodobnie wtórnie zakażenie z wątroby, wynikające z obecności tych bakterii w żółci. Być może wtedy mogłoby dojść do zakażenia jelita lub też bezpośrednio przez tkankę limfoidalną. Podobny proces zakażenia, ale szczepami *Y. enterocolitica* izolowanymi od ludzi był opisany u myszy i gerbilia (1, 4). W przeprowadzonych badaniach własnych stwierdzono również, że zmiany histopatologiczne wytworzone przez *Y. enterocolitica* wykazywały pewne cechy wspólne niezależnie od miejsca pobierania wyinków. W wyniku zakażenia pojawiały się ogniska martwicowo-ropne, dające charakterystyczny obraz mikroropni oraz ziarniniaki zbudowane z neutrofilów i histiocytołów. Podobne zmiany obserwowane były przez innych autorów (1, 4, 12) nie tylko w zakażeniach doświadczalnych wywołanych przez szczepy izolowane od ludzi, ale również spotykano je w przebiegu naturalnej infekcji u człowieka (7, 13) i

zwierząt (9, cyt. 15).

Przedstawione wyniki badań wskazują, że niektóre szczepy *Y. enterocolitica* izolowane od zwierząt mogą zakażać myszy laboratoryjne i wytwarzać podobny proces chorobowy, jaki wywołują szczepy ludzkie. Pozwala to sądzić, że świnię są naturalnym rezerwuarem chorobotwórczych szczepów *Y. enterocolitica* i stanowią potencjalne źródło zakażenia dla człowieka.

Piśmiennictwo

1. Carter P. B.: Infect. Immun. 11, 164, 1975.
 2. Carter P. B., Collins F. M.: Infect. Immun. 9, 851, 1974.
 3. Carter P. B., Zahorchak R. J., Brubaker R. R.: Infect. Immun. 28, 638, 1980.
 4. Corbel M. J.: Ann. Sclavo 23, 1, 1981.
 5. Doyle M. P., Hugdahl M. B., Taylor S. L.: Appl. Environ. Microbiol. 42, 661, 1981.
 6. Gemski P., Lazere J. R., Casey T.: Infect. Immun. 27, 662, 1980.
 7. Herrlinerg J. D., Schwarze E. W., Wuthe H. H.: Infektionen Kinderkrankheiten Notfälle 22, 65, 1981.
 8. Maleszewski J., Jakubczak A.: Medycyna Wet. 43, 402, 1987.
 9. McSpoorran K. D., Honsen L. M., Saunders B. W., Damsteegt A.: N. Z. vet. J. 32, 38, 1984.
 10. Pal C. H., Mors V., Seemayer T. A.: Infect. Immun. 28, 238, 1980.
 11. Papageorges M., Higgins R., Gossetin Y.: J. Am. vet. med. Ass. 182, 618, 1983.
 12. Quan T. J., Meek J. L., Tsuchiya K. R., Hudson B. W., Barnes A. M.: J. Infect. Dis. 129, 341, 1974.
 13. Scharpers R. F. M., Peif R., Lennert K., Knapp W.: Virchows Arch. A. Pathol. Anat. 390, 127, 1981.
 14. Schiemann D. A., Devenish J. A.: Infect. Immun. 29, 500, 1980.
 15. Schoon H.-A., Murmann A., Woicke J., Rosenbruch M., Amtsberg G.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 90, 341, 1983.
 16. Skurnik M., Polkonen K.: Scand. J. Infect. Dis. 18, 355, 1986.
 17. Staroniewicz Z.: Mat. VIII Kongresu PTNW, Warszawa. 4, 129, 1987.
- Adres autora: dr Zdzisław Staroniewicz, ul. Sopocka 21 m. 6, 50-344 Wrocław

Staroniewicz Z., Madej J. A. — Experimental infection of mice with *Yersinia enterocolitica*

A virulent strain of *Y. enterocolitica* isolated from slaughter pigs was used to infect mice BALB/c. A dose of 10^8 given orally caused a heavy infection in all the mice. The bacteria administered subcutaneously resulted in the signs of septicaemia and death. The PM lesions in various tissues were similar; granulomas containing neutrophils and histiocytes and micro-purulent foci produced the picture of micro-abscesses. The findings indicate that virulent strains of *Y. enterocolitica* isolated from pigs produce a similar process of disease as human strains do. It seems that pigs are a natural reservoir of virulent strains of *Y. enterocolitica* and constitute a potential source of infection.

BRAUN U. HERMANN M., PABST B.: Badania hematologiczne i biochemiczne bydła z rozszerzeniem i przemieszczeniem jelita grubego. (Haematological and biochemical findings in cattle with dilatation and torsion of caecum). Vet. Rec. 125, 396—398, 1989 (15)

Przebadano biochemicznie krew i treść żwacza 111 jałowic i krów z rozszerzeniem jelita grubego, któremu niekiedy towarzyszyło jego przemieszczenie. Zawartość białka całkowitego, fibrynogenu, mocznika, Na, K, Cl, Ca, fosforu nieorganicznego, magnezu, wartość pH, pCO_2 , pO_2 były w granicach normy u większości zwierząt. Stężenie Cl w treści żwacza nie odbiegało od normy u 89% zwierząt, a u pozostałych wyraźnie wzrosło. U 9 krów, które trzeba było poddać ubojowi stężenie żółci było wyraźnie wyższe niżeli u pozostałych zwierząt. U 28% sztuk najprawdopodobniej na skutek odwodnienia uległo wyraźnemu podwyższeniu stężenia mocznika we krwi.

G.