

9. Schatzmann U.: Berl. Munch. tierarztl. Wschr. 96, 311, 1983.
10. Schebitz H.: Mh. Vet.-Med. 10, 503, 1955.
11. Smith M.: Nord. Vet. Med. 23, 537, 1971.
12. Steffey E. P.: Am. Large Anim. Pract. 3, 97, 1981.
13. Überreiter Wien. tierarztl. Mschr. 45, 337, 1958.

14. Weaver B. M. Q., Walley R. V.: Eq. vet. J. 7, 9, 1975.

Adres autora: doc. dr hab. Kornel Ratajczak, ul. Zaolziańska 6a/12, 53-334 Wrocław

JOLANTA DĄBROWSKA, EUGENIUSZ WIŚNIEWSKI, WIESŁAW KRUMRYCH,
JANUSZ DANIEK, JACEK JANISZEWSKI

Wpływ doświadczalnej endotoksemii na niektóre wskaźniki krzepnięcia krwi u koni

Zakład Chorób Koni Bydgoskiego Oddziału Instytutu Weterynarii w Puławach, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Summary

Influence of experimental endotoxaemia on some indices of blood coagulation in horses

The studies were carried out on 8 horses including two controls. Three animals were given *E. coli* endotoxin twice at 24-hour intervals intravenously in a dose of 1.0 µg/kg of body weight. The other three received the endotoxin 3 times in doses of 0.2 µg and 0.1 µg (after 3 hours) and 0.2 µg after 24 hours. In all six horses the signs of endotoxaemia of a different extent were observed. In the first group (3 horses) only insignificant statistical alterations were noticed regarding blood coagulation indices, while in the second group significant disturbances were found, i.e. a decrease in the number of thrombocytes, an increase of fibrinogen concentrations, the prolongation of the prothrombin and, in some animals, also of coagulation times and a drop of AT III activity that indicate the occurrence of DIC syndrome.

Zaburzenia krzepnięcia krwi towarzyszą wielu chorobom koni. Jednym z czynników wywołujących wymienione zaburzenia są endotoksyny uwalniane ze ścian bakterii w trakcie ich rozpadu, co występuje w przebiegu niektórych procesów chorobowych. U koni endotoksyny są uwalniane najczęściej z bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* (2, 3, 12, 14). Ich pojawienie się we krwi doprowadza do uszkodzenia śródbłonna naczyń krwionośnych, odsłonięcia kolagenu i zapoczątkowania procesów wykrzepiania. Szczególnie duże zagrożenie dla zdrowia i życia zwierzęcia ma miejsce wtedy, gdy endotoksyny znajdują się we krwi w dużym stężeniu i są uwalniane do krwioobiegu przez dłuższy czas. W takich przypadkach dochodzi do rozsianego wewnątrznaczyniowego wykrzepiania (DIC – Disseminated Intravascular Coagulation). Powstające skrzepiny utrudniają mikrokrążenie, gromadzą się i zaczopowują naczynia krwionośne najpierw małego, a później większego kalibru. Aby w wyniku niedotlenienia nie doszło do martwicy narządowej, uruchamiany jest układ fibrynolityczny, mający za zadanie rozpuszczenie powstałych skrzepin. Nie zawsze jednak jest możliwa kompensacja tego układu. W międzyczasie „zużywa się” pula czynników krzepnięcia niezbędnych do prawidłowej hemostazy i dochodzi do krwawień, które mogą być groźne dla życia, bowiem organizm nie może ich zatrzymać (9, 10). Zespół DIC nie jest samodzielną jednostką chorobową, ale komplikuje większość chorób systemowych u koni, co niejednokrotnie przedstawiono w piśmiennictwie (1, 4, 8, 11,

13, 15). Proces ten może być wywołany przez wiele różnych stymulatorów, które uszkadzają śródbłonek naczyń krwionośnych i/lub aktywują płytki krwi i białka krzepnięcia. Oprócz endotoksyn należą do nich również: kwas mlekowy, krążące kompleksy antygen-przeciwciała, tromboplastyna tkankowa uwalniająca się na skutek urazów lub obumierania tkanek (9).

Klinicznymi objawami DIC są często wybroczyny, plamica, sączenie z ran chirurgicznych, krwawienia z miejsca nakłucia żyły lub wyraźne wewnętrzne krwawienia. Zwykle są to krwawienia naczyń kapilarnych z wielu nie powiązanych ze sobą miejsc (17). Diagnoza jest głównie wysuwana na podstawie licznych laboratoryjnych badań koagulologicznych, gdyż nie ma jednego swoistego testu do rozpoznawania tego stanu.

Ponieważ endotoksyny są najczęściej wymieniane przez różnych autorów jako czynnik komplikujący wiele chorób u koni, postanowiono na doświadczalnym modelu endotoksemii prześledzić ich wpływ na niektóre wskaźniki krzepnięcia krwi koni.

Material i metody

Eksperyment prowadzono na 8 klinicznie zdrowych koniach różnej płci, w wieku od 5 do 15 lat, odrobaczonych, w dobrym stanie odżywienia i utrzymania. Do badań użyto Pyrogen Standard (1 ampulka zawiera 500 gamma lipopolisacharydu z *E. coli*, Kroeger 08), produkcji Wytwórni Surowic i Szczepionek w Krakowie. Najmniejsza dawka pirogenna (MPD – Minimal Pyrogenic Dose) tego preparatu dla królika wynosi 0,1 gamma (µg)/kg m.c. Przed iniekcją endotoksynę rozpuszczono w 500 ml jałowego płynu fizjologicznego. Badania wykonano na dwóch grupach zwierząt:

W grupie 1 trzem koniom podano dożylnie we wlewie kroplowym 0,1 µg/kg m.c. endotoksyny *E. coli* dwukrotnie w odstępach 24 h. Badania kliniczne i pomiary wskaźników krzepnięcia krwi (czasy krzepnięcia, kaolinowo-kefalinowy, protrombinowy, trombinowy, stężenie fibrynogenu, liczbę płytek krwi, aktywność AT III) wykonano przed podaniem endotoksyny, 3 h po wlewie, a następnie w odstępach 24 h przez 4 dni. Eksperyment prowadzono w obecności 1 konia kontrolnego.

W grupie 2 kolejnym trzem koniom podano dożylnie endotoksynę *E. coli* trzykrotnie w dawkach: 0,2 µg/kg m.c., po trzech godzinach dodano po 0,1 µg/kg m.c., a następnie po 24 h od pierwszego podania jeszcze po 0,2 µg/kg m.c. Te same badania, co w pierwszej grupie wykonano przed wlewie endotoksyny, po 3, 6, 24, 27, 48, 50, 72 godzinach. W badaniach uczestniczył 1 koń kontrolny. Oznaczenia wykonano przy użyciu metod opisanych we wcześniejszej publikacji (6).

U wszystkich koni wykonano pomiary: temperatury wewnętrznej, liczby tętna i oddechów, czasu wypełniania naczyń kapilarnych, badano spojówki oczu i błonę śluzową jamy ustnej.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu testu t-Studenta, mającej na celu stwierdzenie istotności różnic pomiędzy wartością wyjściową (przed podaniem endotoksyny) a rezultatami kolejnych badań.

Wyniki i omówienie

U koni doświadczalnych, już w kilka minut po iniekcji endotoksyny, obserwowano krótkotrwałe pobudzenie i niepokój ruchowy, po którym występowała sennaś, ziewanie, stękanie, częste oddawanie kału, dreszcze, a następnie poty. Zwierzęta te miały gorączkę, wzrosła liczba tętna i oddechów, wydłużył się czas wypełniania naczyń kapilarnych, zaobserwowano też sinicę błon śluzowych. Opisane zmiany są klinicznym obrazem endotoksemii (18), której szczegółowy przebieg u pojedynczych koni różnił się w czasie, a nasilenie zmian uzależnione było od wrażliwości osobniczej danego zwierzęcia oraz wysokości stosowanej dawki endotoksyny. U koni kontrolnych nie stwierdzono zmian klinicznych przez cały okres trwania doświadczenia.

Badania laboratoryjne krwi koni doświadczalnych, które otrzymały niższą dawkę endotoksyny (grupa 1), wykazały niewielkie (statystycznie nieistotne) zmiany badanych wskaźników krzepnięcia. Mieściły się one w granicach norm fizjologicznych wyznaczonych we wcześniejszych badaniach (6).

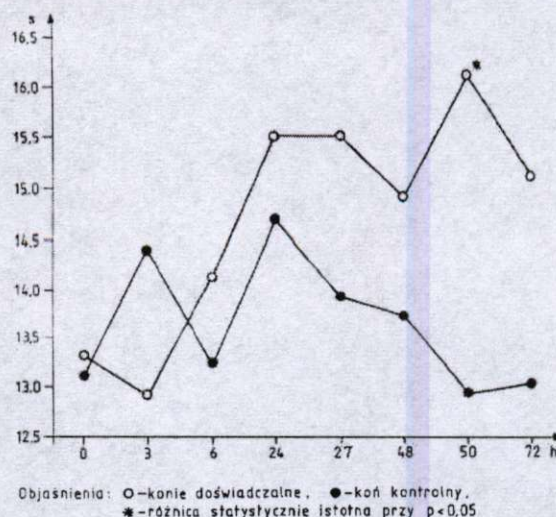
W drugiej grupie zwierząt, gdzie dawka i częstotliwość podawania endotoksyny była większa, zanotowano u koni doświadczalnych statystycznie istotne (przy $p < 0,05$) wydłużenie się czasu protrombinowego w 50. godzinie badania, a w 48 h spadek liczby płytek krwi i wzrost stężenia fibrynogenu w stosunku do pomiarów wyjściowych (ryc. 1-3). U poszczególnych koni zauważono przejściowe znaczne wydłużenie się czasu kaolinowo-kefalinowego i duży spadek aktywności AT III, ale w uśrednionych wynikach różnice te nie były statystycznie istotne. Wyniki koni kontrolnych w obydwu badanych grupach nie odbiegały od norm uznanych za fizjologiczne dla tego gatunku.

W pierwszej grupie koni zaburzenia krzepnięcia krwi, pomimo wystąpienia klinicznych objawów endotoksemii, były niewielkie, gdyż dawka endotoksyny potrzebna do wywołania tych zmian była prawdopodobnie zbyt mała i organizm przy pomocy mechanizmów obronnych (detoksykacja poprzez wątrobę, hemo- i homeostaza) nie dopuścił do ich wyzolenia.

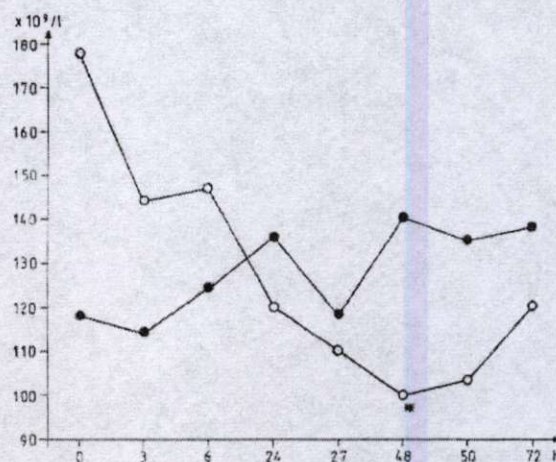
Przy wyższych dawkach i zwiększonej częstotliwości rozwinął się typowy obraz DIC (grupa 2). Świadczy o tym znamieny spadek liczby płytek krwi, wzrost stężenia fibrynogenu, wydłużenie się czasu protrombinowego, a w niektórych przypadkach również spadek aktywności AT III oraz wydłużenie się czasu kaolinowo-kefalinowego.

Zespół DIC diagnozowano między innymi w przebiegu ochwatu (4, 8, 9, 11), schorzeń przewodu pokarmowego (11, 13, 15) oraz salmonelozy, kolisepticemii, bronchopneumonii, wstrząsu i zapaleń naczyń (11).

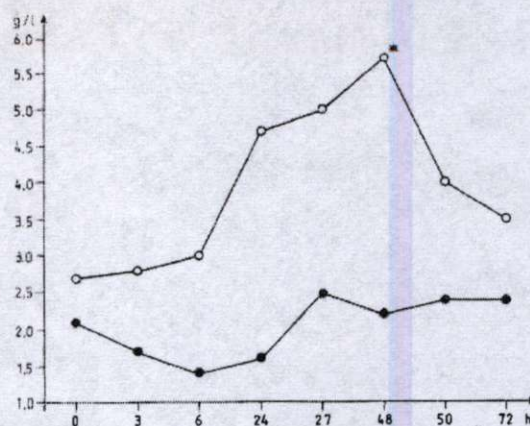
Trombocytopenia jest charakterystycznym objawem ostrej postaci DIC u ludzi, ale stwierdza ją też wielu badaczy u koni na eksperymentalnych modelach chorób, jak również w naturalnych przypadkach zachorowań (1, 10, 11). W przewlekłych kompensacyjnych koagulopatiach najczęściej spadek liczby płytek krwi jest minimalny. Jeśli dojdzie do znacznego zredukowania liczby płytek krwi ($< 40 \times 10^9/l$), to stan taki grozi rozległymi krwotokami w różnych miejscach (3, 9, 10, 12, 14, 16).



Ryc. 1. Średnie wartości czasu protrombinowego po trzykrotnym podaniu endotoksyny *E. coli* w łącznej dawce 0,5 µg/kg m.c.



Ryc. 2. Średnia liczba płytek krwi po trzykrotnym podaniu endotoksyny *E. coli* w łącznej dawce 0,5 µg/kg m.c.



Ryc. 3. Średnie stężenie fibrynogenu w osoczu krwi po trzykrotnym podaniu endotoksyny w łącznej dawce 0,5 µg/kg m.c.

U koni w ostrym DIC może dojść też do hiperfibrinogenemii. Niektórzy autorzy przypisują ten fakt temu, że DIC występuje u koni często w przebiegu chorób infekcyjnych, którym towarzyszy stan zapalny (9). Twierdzą, że w ostrej fazie zapalenia wątroba syntetyzuje duże ilości fibrynogenu, aby kompensować jego nadmierne zużycie na obwodzie. Jeśli jednak proces jest nieodwracalny, dochodzi do drastycznego spadku stężenia fibrynogenu w osoczu krwi (7, 12, 14, 16).

U ludzi w trakcie DIC dochodzi też do obniżenia aktywności AT III, ale u koni nie jest to tak jednoznaczne. W naszych badaniach zareagowały w ten sposób tylko niektóre konie. Wielu autorów stwierdziło obniżenie aktywności AT III u koni w przebiegu różnego rodzaju schorzeń jelita grubego, ale też w doświadczalnym podwiązaniu jelita cienkiego i spowodowaniu niedrożności (5, 16). Natomiast w erlichiozie nie obserwowano statystycznie istotnego spadku aktywności tego enzymu (14). Antytrombina III jest inhibitorem wielu czynników zarówno wykrzepiania, jak i fibrynolizy, dlatego w procesie rozsianego wewnątrznaczyniowego wykrzepiania zużywa się jej szczególnie dużo.

Wydłużenie się czasu protrombinowego i kaolinowo-kefalinowego nie zawsze jest rejestrowane w przebiegu DIC, ale jeśli ma miejsce, to wskazuje na proces postępującego zużycia poszczególnych białek krzepnięcia krwi, co może doprowadzić w końcu do wyczerpania się ich puli i nieodwracalnych krwawień (7, 9, 10, 12, 14, 16).

Doświadczalny model endotoksemii nie odzwierciedla w pełni toczącego się naturalnego procesu, gdzie endotoksyny są uwalniane do krwiobiegu w dużych stężeniach, przez długi okres czasu i w sposób ciągły. Dlatego zanotowane przez nas zmiany, jakkolwiek wyraźne, były tylko przejściowe. Oprócz dawki i sposobu podania w interpretacji wyników należy wziąć pod uwagę rasę, osobniczą wrażliwość na endotoksynę i sprawność mechanizmów obronnych poszczególnych koni. W przypadku naszych badań na wyniki szczególnie w grupie pierwszej mógł wpłynąć również stan pewnej tolerancji na endotoksynę związany z wcześniejszym jej stosowaniem u tych koni. W obawie o życie zwierząt nie zaryzykowano podawania endotoksyny w większej dawce i w inny sposób.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań można wnioskować o związku endotoksemii z zaburzeniami krzepnięcia krwi u koni. Endotoksyna *E. coli* podana dożylnie w łącznej dawce 0,5 µg/kg m.c./24 h, wywołuje u koni zaburzenia charakterystyczne dla zespołu DIC.

Piśmiennictwo

1. Baxter G. M.: J. Am. vet. med. Ass. 189, 326, 1986.
2. Burrows G. E.: Am. J. vet. Res. 32, 243, 1971.
3. Burrows G. E.: Am. J. vet. Res. 40, 991, 1979.
4. Colles C. M., Jeffcoat L. L.: Vet. Rec. 100, 262, 1977.
5. Darien B. J., Potempa J., Moore J. N., Travis J.: Equine vet. J. 23, 211, 1991.
6. Dąbrowska J., Wiśniewski E.: Medycyna Wet. 48, 470, 1992.
7. Henry M. M., Moore J. N.: Equine vet. J. 23, 303, 1991.
8. Hood D. M., Gremmel S. M., Amoss M. S., Button C., Hightower D.: J. Equine Med. Surg. 8, 355, 1979.
9. Johnston I. B., Blackwell T. E.: Can. vet. J. 25, 195, 1984.
10. Kałużny Z.: Medycyna 2000. 2, 26, 1990.
11. Kociba G. J., Mansman R. A., Gerken D. F.: Proc. First. Internat. Symp. Equine Haemat. 554, 1975 (Publ. 1977).
12. Lavoie J. P., Madigan J. E., Cullor J. S., Powell W. E.: Equine vet. J. 22, 23, 1990.
13. Meyers K., Reed S., Keck M., Clem M., Bayly W.: Am. J. vet. Res. 43, 2233, 1982.
14. Morris D. D., Messick J., Whitlock R. H., Palmer J., Ward M. V., Feldman B. F.: Am. J. vet. Res. 49, 1030, 1988.
15. Morris D. D., Beech J.: J. Am. vet. med. Ass. 183, 1067, 1983.
16. Pablo L. S., Purohit R. C., Teer P. A., Newton J. C., Hammond L. S.: Am. J. vet. Res. 44, 2115, 1989.
17. Schiefer B., Searcy G.: Can. vet. J. 16, 151, 1975.
18. Wiśniewski E.: Wpływ endotoksyny *Escherichia coli* na podstawowe parametry kliniczne oraz wybrane wskaźniki hematologiczne i biochemiczne krwi koni. Praca hab., Puławy 1987.

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

STANISŁAW PACIEJEWSKI

Przeżywalność larw nicieni żołądkowo-jelitowych owiec w procesie suszenia traw

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Survival of larvae of gastro-intestinal nematodes during grass drying

In June and August, grass cut on the ground level from experimental fields on which gastro-intestinal nematodes have been cultivated was dried under room temperature (day and night temperature differences 16-26°C). A total of 13 samples of 10 g each were prepared. One sample of raw grass was kept in the Baerman apparatus and after 12 h the number and species of larvae were determined. Other samples were collected into large Petri dishes and one sample was examined every 2 days for the number of larvae both on the grass and the dish bottom.

In one sample of raw grass 254 invasive larvae were present. They were determined as *Haemonchus contortus* - 64%, *Ostertagia circumcincta* - 13%, *Trichostrongylus* sp. - 11%, *Chabertia ovina* - 10% and *Oesophagostomum venulosum* - 2%. After 6 days of the experiment the grass was dry and contained only 16.5% of viable larvae. At

the same time on the bottom of the dish as much as 47.2% of the viable larvae were found. After 12 days of the experiment viable larvae were absent on grass and after 18 days of drying viable larvae on the dish bottom were not found.

Nicienie żołądkowo-jelitowe owiec należą do pasożytów, które występują powszechnie u tego gatunku zwierząt i powodują największe straty materialne. Z tego też powodu podejmowane są różne czynności, które mają w znacznym stopniu ograniczyć inwazję tych pasożytów. Jedyną i najbardziej rozpowszechnioną metodą walki z tymi pasożytami jest ich niszczenie w organizmie żywiciela przy użyciu różnych chemioterapeutyków (2, 3, 4, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27).

Od szeregu lat czynione są próby zastosowania szczepionek przeciw inwazjom nicieni żołądkowo-jelitowych. Badania te jednak pozostają ciągle w sferze prób i nie doczekały się powszechnego ich zastosowania, a to ze względu na duże trudności z otrzymywaniem pełnowartościowych antygenów,