

to świadczy o przewadze procesów syntezy kolagenu nad jego rozpadem w stawach dotkniętych osteochondrozą, jednak może być to zarówno przyczyną zaburzenia kostnienia śródczęstki, jak również świadczyć o toczącej się reakcji naprawczej w chorym stawie (32).

Rola insulinopodobnego czynnika wzrostu

Insulinopodobny czynnik wzrostu IGF (insulin-like growth factor-1 – IGF-1), inaczej somatomedyna C, jest jednym z dwóch insulinopodobnych czynników wzrostu produkowanych w wątrobie pod wpływem działania hormonu wzrostu (growth hormone – GH) z przedniego płata przysadki. Hormon wzrostu poprzez IGF-1 (w większym stopniu) i IGF-2 (w niewielkim stopniu) pobudza wzrost kości poprzez pobudzanie proliferacji chondrocytów w chrząstce nasadowej. Badanie przeprowadzone na 168 koniach gorąckich różnych ras, znajdujących się w 2 szpitalach w Belgii, wykazało wzrost stężenia całkowitego IGF-1 w surowicy dorosłych (starszych niż 15-miesięczne) koni chorych na osteochondrozę ($0,81 \pm 0,29$ ng/ml/kg m.c.), w stosunku do koni zdrowych ($0,70 \pm 0,19$ ng/ml/kg m.c.), co może sugerować zaangażowanie tego czynnika w patogenezie osteochondrozy u koni (33). Jednak w związku z faktem, że osteochondroza rozpoczyna się już u bardzo młodych źrebiąt, jest mało prawdopodobne, że ten podniesiony poziom IGF-1 we krwi jest przyczyną pojawienia się zmian. Bardziej prawdopodobne jest, że poziom IGF-1 odzwierciedla procesy naprawcze zachodzące w uszkodzonej chrząstce, bowiem IGF-1 oprócz pobudzania wzrostu i proliferacji chondrocytów stymuluje te komórki do produkcji składników macierzy pozakomórkowej, m.in. kolagenu, proteoglikanów i hialuronianu (33).

Piśmiennictwo

1. Ytrehus B., Carlson C. S., Ekman S.: Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. *Vet. Pathol.* 2007, **44**, 429-48.
2. Ekman S., Carlson C. S., van Weeren P. R.: Workshop report third international workshop on equine osteochondrosis, Stockholm, 29–30th May 2008. *Equine Vet. J.* 2009, **41**, 504-507.
3. Vander Heyden L., Lejeune J. P., Caudron I., Detilleux J., Sandersen C., Chavatte P., Paris J., Delière B., Serteyn D.: Association of breeding conditions with prevalence of osteochondrosis in foals. *Vet. Rec.* 2012, **172**, 68.
4. Lepeule J., Bareille N., Robert C., Ezanno P., Valette J. P., Jacquet S., Blanchard G., Denoix J. M., Seegers H.: Association of growth, feeding practices and exercise conditions with the prevalence of developmental orthopaedic disease in limbs of French foals at weaning. *Prev. Vet. Med.* 2009, **89**, 167-177.
5. Jonsson L., Dalin G., Egenvall A., Nasholm A., Roepstorff L., Philipsson J.: Equine hospital data as a source for study of prevalence and heritability of osteochondrosis and palmar/plantar osseous fragments of Swedish Warmblood horses. *Equine Vet. J.* 2011, **43**, 695-700.
6. Weaver M. P., Wilant L.: Owner survey of tarsocrural effusion (bog spavin) in Clydesdale horses. *Vet. Rec.* 2012, **170**, 286.
7. Wittwer C., Hamann H., Rosenberger E., Dist O.: Prevalence of osteochondrosis in the limb joints of south German Coldblood horses. *J. Vet. Med.* 2006, **53**, 531-539.
8. Lewczuk D., Bereznowski A., Hecold M., Klos Z.: Częstość występowania martwicy chrzęstno-kostnej u ogierów w zakładach treningowych – doniesienie wstępne. *Roczn. Nauk. Pol. Tow. Zootechn.* 2011, **3**, 31-38.
9. Furniss C., Carstens A., van den Berg S.: Radiographic changes in Thoroughbred yearlings in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 2011, **82**, 194-204.
10. Van Grevenhof E. M., Ducro B. J., van Weeren P. R., van Tartwijk J. M., van den Belt A. J., Bijma P.: Prevalence of various radiographic manifestations of osteochondrosis and their correlations between and within joints in Dutch Warmblood horses. *Equine Vet. J.* 2009, **41**, 11-16.
11. Lykkjen S., Roed K., Dolvik N.: Osteochondrosis and osteochondral fragments in Standardbred trotters: prevalence and relationships. *Equine Vet. J.* 2012, **44**, 332-338.
12. Muirhead T., McClure J.T., Bourque A., Pack L.: Osteochondrosis of the occipital condyles and atlanto-occipital dysplasia in a Belgian horse. *Can. Vet. J.* 2003, **44**, 984-986.
13. Reiland S., Asheim A., Jeffcott L.B., Ekman S.: Spinal osteochondrosis in the horse. *Svensk-Veterinartidning* 1983, **35**, 63-65.
14. Beck C., Middleton D., Maclean A., Lavelle R.: Osteochondrosis of the second cervical vertebra of a horse. *Equine Vet. J.* 2002, **34**, 210-212.
15. Voute L. C., Henson F. M. D., Platt D., Jeffcott L. B.: Osteochondrosis lesions of the lateral trochlear ridge of the distal femur in four ponies. *Vet. Rec.* 2011, **168**, 265.
16. Olstad K., Ytrehus B., Ekman S., Carlson C. S., Dolvik I. N.: Epiphyseal cartilage canal blood supply to the tarsus of foals and relationship to osteochondrosis. *Equine Vet. J.* 2008, **40**, 30-39.
17. Olstad K., Ytrehus B., Ekman S., Carlson C. S., Dolvik I. N.: Epiphyseal cartilage canal blood supply to the metatarsophalangeal joint of foals. *Equine Vet. J.* 2009, **41**, 865-871.
18. Carlson C.S., Cullins L.D., Meuten D.J.: Osteochondrosis of the articularepiphyseal cartilage complex in young horses: evidence for a defect in cartilage canal blood supply. *Vet. Pathol.* 1995, **32**, 641-647.
19. Olstad K., Ytrehus B., Ekman S., Carlson C. S., Dolvik I. N.: Epiphyseal cartilage canal blood supply to the distal femur of foals. *Equine Vet. J.* 2008, **40**, 433-439.
20. Olstad K., Ytrehus B., Ekman S., Carlson C. S., Dolvik I. N.: Early lesions of articular osteochondrosis in the distal femur of foals. *Vet. Pathol.* 2011, **48**, 1165-1175.
21. Vander Heyden L., Lejeune J. P., Caudron I., Detilleux J., Sandersen C., Chavatte P., Paris J., Delière B., Serteyn D.: Association of breeding conditions with prevalence of osteochondrosis in foals. *Vet. Rec.* 2012, **172**, 68.
22. Lepeule J., Bareille N., Robert C., Ezanno P., Valette J. P., Jacquet S., Blanchard G., Denoix J. M., Seegers H.: Association of growth, feeding practices and exercise conditions with the prevalence of developmental orthopaedic disease in limbs of French foals at weaning. *Prev. Vet. Med.* 2009, **89**, 167-177.
23. Ralston S. L.: Hyperglycemia/hyperinsulinemia after feeding a meal of grain to young horses with osteochondritis dissecans (OCD) lesions. *Pferdeheilkunde* 1996, **3**, 320-322.
24. Pearce S. G., Firth E. C., Grace N. D., Fennessy P. E.: Effect of copper supplementation on the evidence of developmental orthopaedic disease in pasture-fed New Zealand Thoroughbreds. *Equine Vet. J.* 1998, **30**, 211-218.
25. Gee E., Davies M., Firth E., Jeffcott L., Fennessy P., Mogg T.: Osteochondrosis and copper: histology of articular cartilage from foals out of copper supplemented and non-supplemented dams. *Vet. J.* 2007, **173**, 109-117.
26. Van de Lesta C.H.A., Brama P.A.J., van El B., DeGroot J., van Weeren P. R.: Extracellular matrix changes in early osteochondrotic defects in foals: a key role for collagen? *Biochem. Biophys. Acta.* 2004, **1690**, 54-62.
27. Van Weeren P. R., Barneveld A.: The effect of exercise on the distribution and manifestation of osteochondrotic lesions in the Warmblood foal. *Equine Vet. J.* 1999, **31**, 16-25.
28. Henson F. M., Davies M. E., Jeffcott L. B.: Equine dyschondroplasia (osteochondrosis) – histological findings and type VI collagen localization. *Vet. J.* 1997, **154**, 53-62.
29. Semevolos S. A., Brower-Toland B. D., Bent S. J., Nixon A. J.: Parathyroid hormone-related peptide and Indian hedgehog expression patterns in naturally acquired equine osteochondrosis. *J. Orthop. Res.* 2002, **20**, 1290-1297.
30. Stacy A., Semevolos M., Strassheim L., Haupt J., Nixon A.: Expression patterns of hedgehog signaling peptides in naturally acquired equine osteochondrosis. *J. Orthop. Res.* 2005, **23**, 1152-1159.
31. Riddick T. L., Dueterdieck-Zellmer K., Semevolos S. A.: Gene and protein expression of cartilage canal and osteochondral junction chondrocytes and full-thickness cartilage in early equine osteochondrosis. *Vet. J.* 2012, **194**, 319-325.
32. De Grauw J.C., Donabédian M., van de Lest C.H.A., Perona G., Robert C., Lepage O., Martin-Rosset W., Van Weeren P.R.: Assessment of synovial fluid biomarkers in healthy foals and in foals with tarsocrural osteochondrosis. *Vet. J.* 2011, **190**, 390-395.

Katarzyna Kliczkowska, e-mail: pilotek@autograf.pl

Znaczenie badania stężenia surowiczego amyloidu A w diagnostyce chorób koni*

Agnieszka Turło, Anna Cywińska, Anna Winnicka

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Określenie udziału zapalenia w rozwoju choroby jest pomocne w potwierdzeniu rozpoznania, ustaleniu rokowania oraz

monitorowaniu postępów leczenia. Podstawowych, najistotniejszych dla klinicysty informacji na temat procesu zapalnego

dostarcza badanie stężeń białek ostrej fazy (acute phase proteins – APP). Jest to grupa swoistych dla gatunku białek osocza o różnorodnej budowie, uwalnianych do krwioobiegu w reakcji na różnego typu uszkodzenie tkanek. Reakcja ta, będąca początkiem procesu zapalnego, nazywana jest reakcją ostrej fazy (acute phase response – APR). Jej celem jest przywrócenie homeostazy dzięki pobudzeniu nieswoistych mechanizmów immunologicznych i adaptacyjnych, w tym syntezy białek ostrej fazy. Dzięki precyzyjnemu odzwierciedlaniu

* Praca była współfinansowana w ramach projektu badawczego N N308 577139 (kierownik: prof. dr hab. Anna Winnicka)

Serum amyloid A concentration in diagnostics of equine diseases

Turło A., Cywińska A., Winnicka A., Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This article reviews the current information about serum amyloid A (SAA), dynamics in healthy and diseased horse with a special interest in its clinical application. Accurate recognition of inflammatory processes in a horse may often be difficult, especially in the absence of specific clinical signs. Various diagnostic tests can be employed, among them acute phase proteins (APP) levels are of increasing importance. Serum concentrations of these proteins increase markedly during acute phase response (APR), the primary reaction to tissue injury commencing inflammatory process. Serum amyloid A has been identified as the most sensitive APP in horses, since its concentration in blood increases 10 to 100-fold during inflammatory diseases of digestive, reproductive and respiratory tracts and also in numerous systemic disorders. Due to its short half-life, SAA concentration provides objective information about severity and time course of inflammation. Potential application of SAA for detecting subclinical conditions and monitoring equine training has been investigated. Increasing availability of diagnostic tests suitable for laboratory and/or in-clinic use, turns SAA into a popular and reliable determinant of horse health status.

Keywords: serum amyloid A, horse, inflammatory diseases, diagnostics.

zmian zachodzących w organizmie, stężenia białek ostrej fazy mogą pomagać we wstępnym różnicowaniu chorób bakteryjnych i wirusowych, wykrywaniu chorób podklinicznych oraz ustalaniu rokowania i ocenie skuteczności leczenia.

Reakcja ostrej fazy pojawia się natychmiast po zadziałaniu czynnika powodującego uszkodzenie tkanek. Opisano ją w przebiegu zakażeń wirusowych i bakteryjnych, chorób nowotworowych oraz w następstwie urazów, oparzeń, niedokrwienia tkanek, zabiegów chirurgicznych, udaru cieplnego oraz ciężkiego wysiłku fizycznego. Reakcja ostrej fazy rozpoczyna zapalenie i towarzyszy zarówno ostrej, jak i przewlekłej jego postaci (1). Pobudzana jest przez makrofagi, komórki dendrytyczne i monocyty rozpoznające pochodne kwasu arachidonowego i wolne rodniki, uwalniane z uszkodzonych tkanek. Powoduje to aktywację tych komórek i wydzielanie cytokin, spośród których największe znaczenie mają interleukina 1 (IL-1), interleukina 6 (IL-6) oraz czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF-alfa). Efektem działania cytokin prozapalnych są zmiany fizjologiczne, biochemiczne i behawioralne

o charakterze ogólnym, takie jak gorączka, leukocytoza, brak apetytu, apatia i nasilony katabolizm prowadzący do utraty masy ciała (1, 2). Ponadto, pod wpływem tych mediatorów, w hepatocytach dochodzi do zmian nasilenia syntezy i uwalniania białek ostrej fazy, a w konsekwencji wzrostu lub spadku ich stężenia we krwi obwodowej (1, 2).

Do białek ostrej fazy zaliczane są te, których stężenie w osoczu zmienia się po uszkodzeniu tkanek o co najmniej 25% (1). W zależności od tego, czy dochodzi do wzrostu czy spadku stężenia danego białka, klasyfikowane jest ono jako pozytywne (do których należy większość opisanych APPs, w tym; surowicy amyloid A, fibrynogen, haptoglobina i białko C-reaktywne) lub negatywne (albumina i transferyna). Chociaż wątroba jest głównym miejscem syntezy białek ostrej fazy, opisano też miejscowe wytwarzanie surowiczego amyloidu A (SAA). W postaci izoformy SAA3 występuje on w gruczole mlekowym klaczy oraz mazi stawowej koni z doświadczalnie wywołanym zapaleniem stawów (3,4). Główną rolą białek ostrej fazy jest regulacja stanu zapalnego, ograniczenie zniszczenia tkanek i przyspieszenie gojenia (1). W zależności od dynamiki zmian ich stężeń w czasie reakcji ostrej fazy, wyróżnia się główne białka ostrej fazy oraz te o umiarkowanym i niewielkim znaczeniu (2). Główne białka ostrej fazy charakteryzują się niewykrywalnym lub śladowym stężeniem we krwi zdrowych zwierząt, które podczas reakcji ostrej fazy wzrasta 10–1000 razy. Zmiana ta odbywa się szybko, w ciągu pierwszych 24 do 48 godzin od powstania uszkodzenia. U koni głównym białkiem ostrej fazy jest surowicy amyloid A (6). Białka o umiarkowanym znaczeniu są wykrywalne u zwierząt zdrowych, a wzrost ich stężenia w zapaleniu jest nie większy niż 5–10 razy i rozpoczyna się po trzecim dniu od zadziałania czynnika uszkodzającego. U koni należą do nich fibrynogen, białko C-reaktywne (C-reactive protein – CRP), haptoglobina (Hp) i alfa 1-kwaśna glikoproteina (AGP). Chociaż fibrynogen spełnia kryteria zaliczające go do grupy o umiarkowanym znaczeniu, jest on jednym z najlepiej poznanych białek ostrej fazy, rutynowo wykorzystywanym w diagnostyce chorób koni. Jest łatwo wykrywalny i osiąga wysokie stężenia we krwi chorych koni. Dzięki tym cechom może być niekiedy traktowany jako najważniejsze, a nawet błędnie określane jako główne białko ostrej fazy. Należy jednak pamiętać, że wrażliwością na zmiany w przebiegu procesu zapalnego fibrynogen ustępuje surowiczemu amyloidowi A. Stężenie białek o niewielkim znaczeniu wzrasta powoli (w ciągu tygodni) i rzadko przekracza swoją dwukrotną wartość. Taką charakterystykę wykazuje je w osoczu końskim ceruloplazmina (7).

Surowicy amyloid A

Surowicy amyloid A (SAA) jest apoproteina, która występuje jako składnik lipoprotein o wysokiej gęstości (high density lipoprotein – HDL). Chociaż jego rola w reakcji ostrej fazy nie została dokładnie wyjaśniona, potwierdzono modulujący wpływ SAA na proces zapalny. Do efektów jego działania należą: hamowanie proliferacji limfocytów i komórek śródbłonka, agregacji płytek krwi, fagocytozy, ale także pobudzanie migracji monocytów i neutrofilów, syntezy prostaglandyn i metaloproteinaz (8). Pozawątrobowe występowanie izoformy SAA3 u koni może wskazywać na jego udział w kształtowaniu odporności miejscowej (3, 4).

Wzrost stężenia surowiczego amyloidu A we krwi towarzyszy procesom zapalnym zarówno na tle zakaźnym, jak i niezakaźnym. Stwierdzono to w przypadku doświadczalnie wywołanego zapalenia stawów (4), chorób układu oddechowego (zakażenie *Rhodococcus*, bakteryjne zapalenie płuc, nawracającej obturacji dróg oddechowych (recurrent airway obstruction – RAO), zakażeń wirusowych (9, 10, 11, 12), morzysk (13, 14), biegunek u źrebiąt (12), w następstwie zabiegów chirurgicznych (15), porodu (16) oraz ciężkiego wysiłku związanego z udziałem w rajdach długodystansowych (17). O jego przydatności diagnostycznej decyduje niemal niewykrywalne stężenie we krwi koni zdrowych, które zmienia się adekwatnie do stopnia uszkodzenia tkanek i rozwoju procesu zapalnego. Za normę przyjmuje się 0,5–20 mg/l (9, 16, 18, 19). Takie stężenia oznaczano we krwi koni zdrowych. Jest to bardzo szeroki przedział, uwzględniający duże różnice osobnicze. Dlatego pomocne jest wykonywanie pomiarów u poszczególnych koni w stanie zdrowia. Pozwala to na określenie normy stężenia surowiczego amyloidu A dla danego osobnika i późniejszą ocenę zmiany jego stężenia. Wiek i płeć nie mają istotnego wpływu na stężenie surowiczego amyloidu A u koni (12, 18). Również w czasie ciąży pozostaje ono w granicach wartości referencyjnych. Wzrasta jednak po wyźrebieniu (16), co może wynikać z uszkodzenia tkanek miękkich powstającego podczas wypierania płodu. Do wzrostu stężenia SAA dochodzi już w 6 godzin od powstania uszkodzenia; szczytową wartość, przekraczającą 10–100 razy wyjściową, osiąga po 36–48 godzinach (4, 16, 18, 20). U koni z eksperymentalnym zapaleniem stawów oraz poddawanym zabiegom chirurgicznym (kastrowanie, artroskopia, wnetrikulektomia, laryngoplastyka), powrót do wartości prawidłowych następował w granicach od 5 do 7 dni po zabiegu (4, 20, 15). W przypadku zakażeń bakteryjnych i wirusowych, spadek stężenia SAA był ściśle związany z ustępowaniem objawów klinicznych (9, 11, 12, 16).

W praktyce oznaczanie stężenia surowiczego amyloidu A może być pomocne we wczesnym wykrywaniu chorób zakaźnych (4, 9, 11, 12), choć ostatecznym potwierdzeniem zakażenia jest dodatni wynik badania bakteriologicznego. Wzrost stężenia SAA może ułatwić lekarzowi decyzję o szybkim podjęciu odpowiedniej terapii, zanim otrzymana on wyniki badania mikrobiologicznego. Ma to szczególne znaczenie w leczeniu chorób noworodków, które objawiają się często w sposób nieswoisty (ogólne osłabienie, niechęć do ssania). U źrebiąt z bakteriami, septycznym zapaleniem stawów czy bakteryjnym zapaleniem płuc stwierdzano wysokie stężenia surowiczego amyloidu A, czego nie wykazano w przypadku zaburzeń w przyswajaniu przeciwciał siarowych oraz chorób niezakaźnych (12, 18, 19). U źrebiąt, u których głównym objawem klinicznym była biegunka, stężenia surowiczego amyloidu A pozostawały w zakresie wartości referencyjnych (12). W badanej grupie nie było jednak przypadków bakteryjnych zakażeń układu pokarmowego, po których można by oczekiwać zwiększenia wytwarzania SAA. Wartością graniczną, powyżej której sugeruje się zakażenie bakteryjne jest 100 mg/l; wartości niższe, ale przekraczające granice referencyjne, mogą świadczyć o zapaleniu na tle niezakaźnym (19). Zakres ten obejmuje również fazy narastania lub wygasania zapalenia na tle zakaźnym. Stężenie surowiczego amyloidu A jest zatem wskaźnikiem dynamicznym i warto powtarzać jego oznaczanie w toku leczenia. Rodzajem zakażenia miejscowego, którego obecność nie wpływa na stężenie surowiczego amyloidu A, jest ropień kikutu pępownicy (19). Sugeruje się, że jest to spowodowane izolacją ogniska zapalnego.

Występują istotne różnice pomiędzy stężeniem SAA we krwi w przebiegu zakażeń wirusowych i bakteryjnych. U koni zakażonych wirusem grypy koni (EIV) oraz końskim herpeswirusem typu 1 (EHV-1) obserwowano niższe wartości, niż u koni z septycznym zapaleniem stawów lub zapaleniem płuc, spowodowanym przez *Rhodococcus equi* (18). U źrebiąt z biegunką będącą objawem rotawirusu oraz biegunką na tle niezakaźnym, stężenia surowiczego amyloidu A były podobne (12). Wskaźnik ten może być więc pomocny we wstępnym, szybkim różnicowaniu bakteryjnej etiologii choroby.

Wykrywanie i leczenie chorób układu oddechowego jest ważnym elementem praktyki lekarza hipiatry, ponieważ należą do najczęściej występujących chorób koni, mogą utrudniać lub uniemożliwiać założone użytkowanie konia i łatwo rozprzestrzeniają się w stadzie. Stężenie surowiczego amyloidu A jest wskaźnikiem przydatnym w monitorowaniu leczenia zapalenia płuc wywołanego

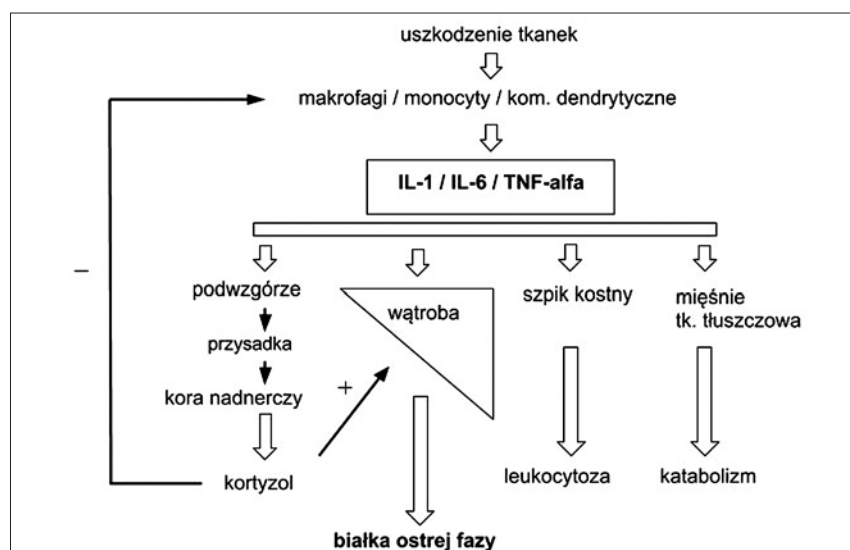
przez *Str. zooepidemicus* (9), *Rhodococcus equi* (19) oraz zakażeń wirusem grypy koni (EIV) (11). We wszystkich tych przypadkach spadek stężenia SAA był ściśle związany z ustępowaniem objawów klinicznych. W przebiegu grypy koni stężenie SAA zmniejsza się wraz z przejściem choroby w postać przewlekłą; stała, wysoka wartość związana była z występowaniem wtórnych zakażeń bakteryjnych (11). U źrebiąt z kliniczną rodokozą notowano znaczący wzrost stężenia surowiczego amyloidu A typowy dla zakażeń bakteryjnych (>100 mg/l). Wskaźnik ten nie sprawdził się jednak jako test przeglądowy, wykonywany co 2 tygodnie w ciągu 8 pierwszych tygodni życia (21). Ostateczne potwierdzenie przydatności określania stężenia surowiczego amyloidu A we wczesnej diagnostyce rodokozy wymaga dalszych badań. Niedawno opublikowane wyniki wskazują na przydatność jego monitorowaniu przebiegu chorób na tle alergicznym. U koni z RAO, narażonych na niekorzystne warunki środowiskowe, wzrost stężenia SAA towarzyszył epizodom zaostrzenia objawów klinicznych (10). Pobudzenie odpowiedzi ogólnej w przebiegu RAO sugeruje, że leczenie tej choroby ograniczone do układu oddechowego (miejscowo stosowane glikokortykosteroidy i leki rozszerzające oskrzela) może nie być wystarczające. Nawet przy silnie wyrażonych objawach były to jednak wartości niższe niż oznaczane w przypadku chorób zakaźnych. Być może stężenie SAA okaże się przydatnym kryterium pomagającym odróżnić zakaźne choroby układu oddechowego od niezakaźnych.

Innym przykładem zapalenia miejscowego, któremu towarzyszy wzrost stężenia surowiczego amyloidu A we krwi obwodowej, jest zapalenie stawów (4, 20). Nie

stwierdzono natomiast jego występowania w chorobach oka (wrzód rogówki, zapalenie błony naczyniowej oka; 22). W przypadku chorób dotyczących wyłącznie rogówki bariera krew–oko pozostaje nienaruszona. Jednak przy zapaleniu błony naczyniowej dochodzi do zaburzenia jej funkcjonowania i zapoczątkowanie reakcji ostrej fazy powinno być możliwe. Autorzy sugerują, że brak wzrostu stężeń białek ostrej fazy u koni z *uveitis* może wynikać z małej, porównując do takich narządów, jak płuca lub jelito grube, ilości tkanek objętych zapaleniem (22).

W diagnostyce chorób objawiających się bólem w jamie brzusznej (morzysk) wyniki badania klinicznego i badań obrazowych często nie są wystarczające dla postawienia rozpoznania. Do przypadków szczególnie trudnych diagnostycznie należą przewlekłe stany zapalne błony śluzowej jelit (*enteritis, colitis*) i otrzewnej. Jako choroby o podłożu zapalnym, powodują wzrost stężenia SAA; a za wartość graniczną wskazującą na ich występowanie uznano 50 mg/l (13). Dlatego uzasadnione może być wykorzystanie SAA również w diagnostyce morzysk. Poza wymienionymi przykładami, wzrost stężenia SAA wykazano u koni cierpiących na dysautonomię (*equine grass sickness*; 14). Chociaż choroba ta wynika z polineuropatii, obejmującej zarówno ośrodkowy, jak i obwodowy układ nerwowy, do jej głównych objawów należą bóle morzyskowe i atonia jelit. Ponieważ jedynym sposobem na przyżyciowe potwierdzenie rozpoznania jest biopsja i badanie histopatologiczne jelita biodrowego (23), stężenie surowiczego amyloidu A może stać się przydatnym narzędziem wskazującym na potrzebę wykonania bardziej skomplikowanych badań.

Stężenie surowiczego amyloidu A, ze względu na krótki czas, w którym wraca do wartości wyjściowych, może służyć jako



Ryc. 1. Schemat reakcji ostrej fazy. Po uszkodzeniu tkanek dochodzi do uwolnienia z makrofagów, monocytów i komórek dendrytycznych cytokin prozapalnych, oddziałujących na komórki różnych narządów, w tym hepatocyty, stymulując je do produkcji i uwalniania białek ostrej fazy

wskaźnik wczesnych zakażeń pooperacyjnych po zabiegach chirurgicznych. Natomiast jego związek z ustępowaniem procesu zapalnego pomaga ocenić skuteczność leczenia (9, 11, 12).

Regularna analiza stężenia SAA we krwi koni chorych ułatwia ustalenie rokowania, ze względu na związek tego wskaźnika ze zmianami stanu zdrowia pacjenta. Bezpośrednią zależność wyniku leczenia i stężenia SAA sugerowano w przypadku chorób układu pokarmowego. Przeżywalność wśród koni, przyjętych do kliniki weterynaryjnej z objawami kolkowymi, była mniejsza przy wartościach >50 mg/l (13). Nie jest to bezwzględna granica oddzielająca rokowanie dobre od ostrożnego lub złego; warto jednak brać pod uwagę stężenie SAA jako informację wpływającą na prognozowanie przebiegu choroby.

Surowicy amyloid A sprawdził się jako wskaźnik wykrywania podklinicznych stanów zapalnych gruczołu mlekowego u bydła (24). Sugeruje się, że może mieć podobne znaczenie w monitorowaniu zdrowia koni. Dotychczas podjęto próbę jego zastosowania we wczesnym wykrywaniu rodokokozy u źrebiąt. Nie potwierdzono wprawdzie jego skuteczności w tej dziedzinie, jednak autorzy dopuszczają inne przyczyny niepowodzenia, takie jak: nieprawidłowy protokół badań, błędy w różnicowaniu źrebiąt podklinicznie chorych i zdrowych (nie wykonano badania bakteriologicznego u wszystkich źrebiąt z grupy kontrolnej). Kwestionowano też czułość i swoistość badania bakteriologicznego jako testu wykrywającego podkliniczną postać rodokokozy (21). Rozważa się też przydatność oznaczania stężenia surowiczego amyloidu A u koni wyścigowych, które osiągają słabsze wyniki. Założeniem takiego badania jest wykrywanie podklinicznych stanów zapalnych, które pogarszają kondycję koni. W badaniu przeprowadzonym u klinicznie zdrowych koni rajdowych stwierdzono, że konie z wyższym (choć pozostającym w dolnej granicy wartości referencyjnych) stężeniem SAA przed startem nie ukończyły zawodów z powodu kulawizny ujawniającej się w czasie ich trwania (25). Określenie przydatności pomiaru surowiczego amyloidu A w monitorowaniu stanu zdrowia koni hodowlanych i sportowych wydaje się obiecujące, jednak wymaga dalszych badań. Biorąc po uwagę jego znaczenie u koni chorych, wydaje się stwarzać możliwości takiego zastosowania.

Metody oznaczania SAA

Stężenie SAA do niedawna oznaczane było głównie dla potrzeb naukowych. Wykorzystywano w tym celu szereg metod, do których należały: test elektroimmunofuzji (26), immunofuzji radialnej (16),

chemiluminescencji (18), ELISA (27), odczyn aglutynacji lateksowej biernej odwróconej (28) oraz aglutynacji lateksowej z wykorzystaniem immunoturbidymetrii (19, 29). Wśród testów komercyjnych, przeznaczonych dla laboratoriów, zastosowanie znalazł ELISA (Phase SAA Multiplespecies Assay, Tridelata Development Ltd, Maynooth Ireland) oraz test immunoturbidymetryczny dla ludzi (LZ test SAA, Eiken Chemical Co, Tokyo Japan). Skuteczność ostatniego została potwierdzona dla końskiego SAA (29). Uznawany jest on obecnie za metodę referencyjną i stosowany w laboratoriach prowadzących rutynowe oznaczanie tego wskaźnika. Powstała również wersja testu immunoturbidymetrycznego możliwa do stosowania w praktyce klinicznej (Equinostic EVA1, Equinostic ApS, Birkerød Denmark), o potwierdzonej skuteczności (30). Wykrywa on oczekiwaną różnicę pomiędzy końmi z niskim (<10 mg/l) a wysokim (>270 mg/l) stężeniem SAA. W porównaniu z testem referencyjnym, wykazuje rozbieżności w ocenie stężeń pomiędzy 10 a 270 mg/l (31). Biorąc jednak pod uwagę, że u koni chorych stężenie SAA zwykle przekracza górną granicę tego przedziału, nie powinno to wpływać na przydatność kliniczną wspomnianego testu.

Podsumowanie

Surowicy amyloid A jest głównym białkiem ostrej fazy u koni, którego stężenie w surowicy wzrasta od 10 do 100 razy w odpowiedzi na uszkodzenie tkanek. Szybki wzrost i krótki okres półtrwania powodują, że dobrze sprawdza się w określaniu charakteru i monitorowaniu przebiegu zapalenia. Podwyższone stężenie SAA wykazano w chorobach układów: pokarmowego, oddechowego, rozrodczego oraz wieloukładowych; o etiologii zarówno zakaźnej, jak i niezakaźnej u koni dorosłych i źrebiąt. Badane są możliwości zastosowania określenia stężenia SAA w wykrywaniu chorób podklinicznych, ustalaniu rokowania czy kontrolowaniu kondycji koni sportowych. Opracowanie precyzyjnych i łatwych w użyciu testów komercyjnych może wpłynąć na popularyzację oznaczania stężenia surowiczego amyloidu A, jako przydatnego w codziennej praktyce klinicznej narzędzia diagnostycznego.

Piśmiennictwo

- Gabay C., Kushner I.: Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med.* 1999, **340**, 448-454.
- Cray C.: Acute phase proteins in animals. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2012, **105**, 113-150
- McDonald T.L., Larson M.A., Mack D.R., Weber A.: Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A 3 (M-SAA3) into colostrum. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2001, **83**, 203-211.

- Jacobsen S., Niewold T.A., Halling-Thomsen M., Nanni S., Olsen E., Lindegaard C., Andersen P.H.: Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006, **110**, 325-330.
- Tizard I.R.: *Veterinary Immunology: an introduction.* Saunders/Elsevier, 2013.
- Jacobsen S., Andersen P.H.: The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. *Eq. Vet. Edu.* 2007, **19**, 38-46.
- Okumura M.: A study on equine plasma ceruloplasmin. *Jap. J. Vet. Res.* 1990, **38**, 76.
- Urieli-Shoval S., Linke R. P., Matzner Y.: Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states. *Curr. Opin. Hematol.* 2000, **7**, 64-69.
- Hobo S., Niwa S., Anzai T.: Evaluation of serum amyloid A and surfactant protein D in sera for identification of horses with bacterial pneumonia. *J. Vet. Med. Sci.* 2007, **69**, 827-830
- Lavoie-Lamoureux A., Leclere M., Lemos K., Wagner B., Lavoie J.P.: Markers of systemic inflammation in horses with heaves. *J. Vet. Intern. Med.* 2012, **26**, 1419-1426.
- Hulten C., Sandgren B., Skiöldbrand E., Klingeborn B., Marhaug G., Forsberg M.: The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as an inflammatory marker in equine influenza virus infection. *Acta Vet. Scand.* 1999, **40**, 323-333.
- Hulten C., Demmers S.: Serum amyloid A (SAA) as an aid in the management of infectious disease in the foal: comparison with total leukocyte count, neutrophil count and fibrinogen. *Equine Vet. J.* 2002, **34**, 693-698.
- Vandenplas M.L., Moore J.N., Barton M.H., Roussel A.J., Cohen N.D.: Concentration of serum amyloid A and lipopolysaccharide-binding protein in horses with colic. *Am. J. Vet. Res.* 2005, **66**, 1509-1516.
- Copas V.E., Durham A.E., Stratford C.H., McGorum B.C., Waggett B., Pirie R.S.: In equine grass sickness, serum amyloid A and fibrinogen are elevated, and can aid differential diagnosis from non-inflammatory causes of colic. *Vet. Rec.* 2013, **172**, 395.
- Jacobsen S., Nielsen J.W.: Acute phase response to surgery of varying intensity in horses: a preliminary study. *Vet. Surg.* 2009, **38**, 762-769.
- Nunokawa Y., Fujinaga T., Taira T., Okumura M., Yamashita K., Tsunoda N., Hagio M.: Evaluation of serum amyloid A protein as an acute-reactive protein in horses. *J. Vet. Med. Sci.* 1993, **55**, 1011-1016.
- Cywińska A., Szarska E., Górecka R., Witkowski L., Heold M., Bereznowski A., Schollenberger A., Winnicka A.: Acute phase protein concentrations after limited distance and long distance endurance rides in horses. *Res. Vet. Sci.* 2012, **93**, 1402-1406.
- Hulten C., Tulamo R.M., Suominen M.M., Burvall K., Marhaug G., Forsberg M.: A non-competitive chemiluminescence enzyme immunoassay for the equine acute phase protein serum amyloid A (SAA) ± a clinically useful inflammatory marker in the horse. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1999, **68**, 267-281.
- Stoneham S.J., Palmer L., Cash R., Rossdale P.D.: Measurement of serum amyloid A in the neonatal foal using a latex agglutination immunoturbidimetric assay: determination of the normal range, variation with age and response to disease. *Equine Vet. J.* 2001, **33**, 599-603.
- Hulten C., Sandgren B., Skiöldbrand E., Klingeborn B., Marhaug G., Forsberg M.: Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and alfa2-globulins during induced non-infectious arthritis in the horse. *Acta Vet. Scand.* 1999, **40**, 323-333.
- Cohen N.D., Chaffin M.K., Vandeplas M.L., Edwards R.F., Nevill M., Moore J.N., Martens R.J.: Study of serum amyloid A concentrations as a means of achieving early diagnosis of Rhodococcus equi pneumonia. *Equine Vet. J.* 2005, **37**, 212-216
- Labelle A.L., Hamor R.E., Macneill A.L., Lascola K.M., Breaux C.B., Tolar E.L.: Effects of ophthalmic disease on concentrations of plasmafibrinogen and serum amyloid A in the horse. *Equine Vet. J.* 2011, **43**, 460-465.
- Reed S. M., Bayly W.M., Sellon D.C.: *Equine Internal Medicine*, 2nd ed., Elsevier, 2004.
- Karremann H.J., Wentink G.H., Wensing T.: Using serum amyloid A to screen dairy cows for sub-clinical inflammation. *Vet. Q.* 2000, **22**, 175-178.
- Cywińska A., Górecka R., Szarska E., Witkowski L., Dziekan P., Schollenberger A.: Serum amyloid A level as a potential indicator of the status of endurance horses. *Equine Vet. J. Suppl.* 2010, **38**, 23-27.
- Pepys M.B., Baltz M.L., Tennent T.A., Kent J., Ousey J., Rossdale P.D.: Serum amyloid A (SAA) In Horses: objective

- measurement of the acute phase response. *Eq. Vet. J.* 1989, **21**, 106-109.
27. Satoh M., Fujinaga T., Okumura M., Hagio M.: Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for quantitative measurement of serum amyloid A protein in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1995, **56**, 1286-1291.
28. Wakimoto Y.: Slide reversed passive latex agglutination test. A simple, rapid and practical method for equine serum amyloid A (SAA) protein determination. *Japan. J. Vet. Res.* 1996, **44**, 43.
29. Jacobsen S., Kjelgaard-Hansen M., Hagbard Petersen H., Jensen A.L.: Evaluation of a commercially available human serum amyloid A (SAA) turbidimetric immunoassay for determination of equine SAA concentration. *Vet. J.* 2006, **172**, 315-319.
30. Jacobsen S., Kjelgaard-Hansen M.: Evaluation of a commercially available apparatus for measuring the acute phase protein serum amyloid A in horses. *Vet. Rec.* 2008, **163**, 327-330.
31. Hillstrom A., Tvedten H., Lilliehöök I.: Evaluation of an in-clinic serum amyloid A (SAA) assay and assessment of the effects of storage on SAA samples. *Acta Vet. Scand.* 2010, **52**, 8.

Lek. wet. Anna Turło, e-mail: a_turlo@op.pl

Diagnostyka bakteriologiczna gatunków *Enterococcus* spp. istotnych w patologii drobiu

Beata Dolka, Piotr Szeleszczuk

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Pomimo postępu diagnostyki bakteriologicznej i wypierania tradycyjnych metod technikami biologii molekularnej, nadal klasyczne badanie bakteriologiczne jest powszechnie uważane za „złoty standard”, w oparciu o wyniki którego mogą być następnie wykonywane kolejne badania diagnostyczne. Bez wątplenia badanie bakteriologiczne ma najistotniejsze znaczenie w praktycznej diagnostyce zakażeń wywołanych przez enterokoki u drobiu.

Etiologia i znaczenie kliniczne zakażeń enterokokowych u drobiu

Enterokoki (grec. *enteron* – jelito, łac. *coccus*, grec. *kókkos* – ziarnko, nasionko) to bakterie z rodzaju *Enterococcus* należące do tzw. paciorkowców kałowych. Są one składnikiem autochtonicznej (naturalnej) mikroflory przewodu pokarmowego ptaków, ale także ludzi i różnych gatunków ssaków; są również składnikiem flory układu rozrodczego oraz skóry. Powszechnie występują w środowisku, m.in. w wodzie, glebie, na roślinach i owadach. Kał zawierający te zarazki jest także częstą przyczyną zanieczyszczeń paszy, żywności oraz wody pitnej. Enterokoki pełnią rolę wskaźników sanitarnych czystości wód oraz w jakości higienicznej produktów mięsnych (1, 2, 3, 4, 5, 6).

Terminu „*enterococcus*” po raz pierwszy użył Thiercelin (1899 r.) w celu wskazania pochodzenia dwoinek wyizolowanych z jelit, natomiast nazwa nowego rodzaju *Enterococcus* została zaproponowana w 1903 r. przez Thiercelin i Jouhad (7, 8). Wcześniej, zgodnie z podziałem paciorkowców (*Streptococcus*) opracowanym przez Rebeke Lancelfield (9), w oparciu o różnice w budowie

grupowo swoistego antygeny wielocukrowego C, enterokoki zaklasyfikowano do rodzaju *Streptococcus* grupy D. Według niektórych danych około 80% szczepów enterokokowych posiada antygen grupy D, nie ma go jednak m.in. *E. avium*, *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. dispar*, *E. saccharolyticus* (3, 10). Badania te były zgodne z klasyfikacją podaną przez Shermana w 1937 r., który zaproponował podział paciorkowców na 4 grupy: ropotwórcze (*pyogenic*), kałowe (*enterococci*), mlekowe (*lactic*) i zielonielące (*viridans*), dające zielony kolor na agarze z krwią; 1). Określenie paciorkowce kałowe, enterokoki i paciorkowce grupy D używano zamiennie. Ostatecznie nazwa rodzaju *Enterococcus* została oficjalnie ustanowiona w 1984 r. przez Schleifer i Kilpper-Bälz, dla oddzielenia enterokków od rodzaju *Streptococcus* (2).

Enterokoki u drobiu

Spośród 45 znanych gatunków bakterii z rodzaju *Enterococcus* (tab. 1; 1, 2, 6, 10), od różnych gatunków ptaków najczęściej izoluje się tylko kilka z nich, m.in. *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. cecorum*, *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. raffinosus* oraz *E. columbae* (3, 4, 5).

W piśmiennictwie można znaleźć dane, że ptaki kłują się z jałowym przewodem pokarmowym. Według innych autorów enterokoki licznie zasiedlają jelito ślepe i woreczek żółtkowy już w okresie inkubacji zarodków. Bakterie te mogą pochodzić np. z jajowodu nosici czy z worków powietrznych zlokalizowanych blisko jajnika. Należy również uwzględnić możliwość przedostawania się bakterii (ze steku czy

Bacteriological examination for *Enterococcus* spp. important in poultry pathology

Dolka B., Szeleszczuk P., Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

The aim of this article was to present some aspects of bacteriological examination used for enterococci isolates from poultry. In recent years the role of enterococcal infections in birds has largely increased. The genus *Enterococcus* comprises of 45 different species. Enterococci are commensal organisms in the intestines of animals but they can also survive and grow in soil, water, plants and food. However, enterococci have also been recognized as potentially pathogenic and placed among the most common nosocomial pathogens. They have become responsible for wild, pet-birds infections and have emerged poultry industry. In different bird species at least ten *Enterococcus* spp. can be isolated from GI tract and some, namely *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. cecorum* and *E. durans* have been most frequently associated with clinical avian diseases. Isolation and classification of enterococci to genus and species are essential for ultimate diagnosis, epidemiology and proper treatment. Different media and commercially available biochemical diagnostic systems/protocols are used for routine enterococci identification. Despite the progress in diagnostic techniques, employing molecular biology methods, conventional bacteriological examination is still regarded as the “gold standard” in microbiology and the most important in diagnosis of enterococcal infections in birds.

Keywords: *Enterococcus* spp., poultry, bacteriological examination.

środowiska) przez pory skorupy do zarodka (11, 12). Potwierdzono, że *Enterococcus faecalis* przejściowo zasiedla serce i płuca piskląt kurzych w okresie okołolęgowym (4). Kolonizacja przewodu pokarmowego przez enterokoki jest procesem stopniowym i wieloetapowym, a rozwój fizjologicznej flory jelitowej najintensywniej zachodzi po wykluciu. Stan mikroflory zasiedlającej przewód pokarmowy ptaka ma istotny wpływ na zdrowie organizmu i prawidłowe jego funkcjonowanie w przyszłości. Skład flory przewodu pokarmowego