

Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie

EDWARD KOMAR, MARCIN KOMAR, PIOTR ŻMUDA

*Przydatność badania krwi w diagnostyce zakaźnej zanokcicy
owiec w warunkach terenowych*

The usefulness of haematological examinations in field diagnostics of foot-rot in sheep

Słowa kluczowe: zanokcica zakaźna, owce, badania krwi, diagnostyka.

Key words: infectious foot-rot, sheep, haematological examinations, diagnostic.

Zakaźna zanokcica owiec (*paronychia contagiosa ovium*) jest chorobą wywołaną przez beztlenową bakterię *Dichelobacter nodosus* przy udziale *Fusobacterium necrophorum* i *Corynebacterium pyogenes*. Zmiany chorobowe dotyczą skóry przestrzeni międzypalcowej od stadium zapalenia do martwicy rogu racicowego. Rozpoznanie zakaźnej zanokcicy owiec opiera się na następujących badaniach.

Badanie mikrobiologiczne, którego celem jest identyfikacja *Dichelobacter nodosus*. Jest ono wysoce swoiste. *Dichelobacter nodosus* jest beztlenowcem o dużych wymaganiach odżywczych. Dlatego też konieczny jest dodatek rogu racicowego do podłoża hodowlanego w celu wykazania produkcji elastazy. Według Natermana i wsp. (11) brak wzrostu *Dichelobacter nodosus* wcale nie świadczy o jego braku w uszkodzonym rogu racicowym. Często już w badaniach kolejno pobranego materiału uzyskuje się wzrost. Jednakże w warunkach terenowych trudno jest wykonać kilkakrotne posiewy.

Badanie histopatologiczne pozwala na stwierdzenie zmian chorobowych występujących w skórze właściwej ścian (tworzywa ściennego) racic, świadczących o uszkodzeniach skóry właściwej i jej listewek. Test PCR, a także z użyciem przeciwciał monoklonalnych są testami serologicznymi służącymi do wykazania obecności kwasu nukleinowego *Dichelobacter nodosus*. Ze względu na konieczność odpowiedniej bardzo drogiej aparatury i odczynników nie mogą być stosowane w warunkach terenowych. Badanie biochemiczne surowicy z oznaczaniem poziomu haptoglobiny, badania serologiczne z określaniem aktywności lizozymu oraz zawartości surowiczych immunoglobulin klasy są kosztowne i trudne do wykonania w terenie.

Próby wykorzystania odczynu OWD, a także testu immunofluorescencji do diagnostyki zanokcicy nie powiodły się.

Dotychczas nie wykonywano badań hematologicznych w celach diagnostycznych. Jakkolwiek nie są one swoiste, to jednak dostarczają orientacyjnych danych o istnieniu infekcji. Tego typu badania są tanie i możliwe do wykonania w średnio wyposażonej lecznicy weterynaryjnej. Ze względu na to postanowiono wykonać badania hematologiczne u chorych na zakaźną zankocię owiec o różnym stopniu zaawansowania choroby oraz przy różnych metodach leczenia. Uzyskane wyniki skonfrontowano z wynikami uzyskanymi dla zdrowych owiec.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 30 chorych owcach w trzech grupach eksperymentalnych (I, II, III) i w grupie kontrolnej (zdrowe owce), każda licząca 10 zwierząt, płci obojga, rasy mieszanej, tj. krzyżówki owiec górskich z fryzami F1, o masie ciała 40-50 kg w wieku od 8 miesięcy do 2 lat. Krew do badań pobierano zawsze rano przed rannym karmieniem z żyły szyjnej zewnętrznej na mieszaninę szczawianową. Określano wartość hematokrytu, liczbę leukocytów i obraz białokrwinkowy.

W grupie I zastosowano maść do pielęgnacji rogu kopytowego z dodatkiem 0,625% laktobionianu erytromycyny. W tej grupie były owce z 3 i 4 stopniem nasilenia zmian chorobowych. Przed leczeniem wykonano u nich korekcję racic, a chorobowo zmienione racice poddano zabiegowi chirurgicznego opracowania w celu oddzielenia nekrotycznie zmienionych tkanek. Krew do badań owiec pobierano czterokrotnie w odstępach dwutygodniowych. Maść nakładano na zmienione chorobowo racice co 2 dni trzykrotnie. Postęp leczenia kontrolowano co dwa tygodnie.

W grupie II zastosowano ceftiofur sodu domięśniowo w dawce 1,0 mg/kg m.c. co 24 godz. przez 5 dni. W tej grupie były owce z 2, 3 i 4 stopniem zaawansowania zmian chorobowych po uprzednio dokonanej rutynowej korekcji racic. Krew pobierano przed podaniem antybiotyku, a następnie po 1, 2 i 4 tygodniach od pierwszego podania leku. Efekt terapeutyczny ceftiofuru oceniano co dwa tygodnie w dniu pobierania krwi.

W grupie III były owce z 2, 3 i 4 stopniem zaawansowania zmian, u których zastosowano do kąpieli 10% wodny roztwór siarczanu cynku z dodatkiem 0,02% Tween 2000. Racice poddano uprzednio korekcji i opracowaniu chirurgicznemu. Krew pobierano w pierwszym dniu doświadczenia i równocześnie stosowano kąpiele lecznicze przez pierwsze trzy dni codziennie, a następnie dwa razy w tygodniu do całkowitego wyleczenia. Krew pobierano 4-krotnie, tj. przed rozpoczęciem leczenia oraz po 2, 4 i 6 tygodniach od pierwszego pobrania.

Wyniki poddano analizie statystycznej określając wartości średnie, odchylenie standardowe oraz istotność zmian w porównaniu do wyników grupy kontrolnej przy $\alpha \leq 0,01$ i 0,05.

W ocenie efektów terapeutycznych zwracano uwagę na procesy gojenia i odtwarzania rogu racicowego.

WYNIKI

Oznaczenie wartości hematokrytu (Ht), liczby leukocytów oraz obrazu białokrwinkowego uzyskane w określonych okresach dla owiec chorych porównano z wynikami badań przeprowadzonych u zwierząt grupy kontrolnej (owce klinicznie zdrowe) i zamieszczono w tab. 1, 2 i 3. Wyniki podano w formie uproszczonej w celu umożliwienia lekarzom terenowym korzystania z nich. Wartości wskaźników hematologicznych grupy kontrolnej owiec mieściły się w granicach wartości określonych dla zwierząt zdrowych (51, 61).

Tab. 1. Wyniki badań krwi ($\bar{x} \pm S$) owiec grupy I (leczenie Ungulan + 0,625% laktobionian erytromycyny; $n = 10$)

Examinations of blood of sheep from group I (treated with Ungulan+ 0.625% erythromycine lactobionate)

Parametry – Parameters	Kontrola Control	0	14 d	28 d	42 d
Hematokryt – Hematocrit	29,45±1,71	30,15±1,84	32,85±1,82	35,00±2,61	33,70±1,97
Leukocyty – Leucocytes	9,25±2,14	11,02±3,58	9,19±2,33	7,92±1,79	7,84±1,99
Eozynofile – Eosinophils	5,6±2,2	4,4±1,8	6,9±2,9	8,5±3,3**	9,2±4,4**
Segmentowane – Segmented Neut.	27,2±4,17	36,6±8,72*	28,4±6,07	24,1±4,08	26,7±4,27
Limfocyty – Lymphocytes	63,6±5,1	55,0±8,3	1,2±7,9	64,4±4,9	61,4±8,1
Monocyty – Monocytes	4,0±2,4	2,8±2,2	3,6±2,01	3,0±1,50	3,0±2,5

Objaśnienia: * = $\alpha \leq 0,05$, ** = $\alpha \leq 0,01$, 0 – przed leczeniem, d – dni po leczeniu; 0 – before the treatment, d – days after treatment.

Tab. 2. Wyniki badania hematologicznego ($\bar{x} \pm S$) owiec grupy II leczonych ceftiofurem sodu
Results of haematological examinations of sheep of group II (i.m. ceftiofure sodium)

Parametry – Parameters	Kontrola Control	0	7 d	14 d	28 d
Hematokryt – Hematocrit	29,20±3,09	29,2±1,33	30,9±1,93	30,1±1,98	30,2±0,98
Leukocyty – Leucocytes	12,88±2,52	19,3±6,25	13,8±2,05	13,72±2,49	9,99±2,06
Eozynofile – Eosinophils	8,80±3,19	10,80±3,92	8,10±3,83	7,80±3,52	5,50±2,62**
Segmentowane – Segmented Neut.	26,40±7,0	33,3±9,0	21,1±9,2	27,7±7,1	27,8±7,74
Limfocyty – Lymphocytes	61,10±5,6	50,1±8,4	64,0±7,94	64,0±7,9	63,7±7,7**
Monocyty – Monocytes	3,5±1,75	5,3±1,27*	2,6±1,43	0,5±0,67**	3,0±1,09

Objaśnienia jak w tab. 1; explanations as for Table 1.

W grupie I (zwierzęta leczone maścią z antybiotykiem) stwierdzono podwyższenie wartości hematokrytu i liczby leukocytów oraz procentowego udziału neutrofilów segmentowanych w obrazie białokrwinkowym oraz obniżenie procentowego udziału eozynofilów, limfocytów i monocytów 14, 24 i 42 dnia od rozpoczęcia leczenia (tab. 1). W miarę postępu leczenia wzrastała wartość hematokrytu, stopniowo obniżała się liczba leukocytów, a także odsetek neutrofilów segmentowanych i monocytów. W krwi obwodowej równocześnie wzrastał procentowy udział limfocytów, eozynofilów i monocytów. Statystycznie wysoce istotne różnice ($\alpha \leq 0,01$) występowały w procentowym składzie eozynofilów po 24 i 42 dobach po leczeniu. Statystycznie istotny udział neutrofilów segmentowanych ($\alpha \leq 0,05$) obserwowano w grupie owiec chorych.

W grupie II leczonej ceftiofurem wartość hematokrytu wahała się w granicach prawidłowych (tab. 2). Liczba leukocytów w grupie leczonej w porównaniu do kontrolnej była wysoka, ale nieistotna statystycznie. Obserwowano wahanie wartości procentowego udziału eozynofilów w grupie leczonej. Wartości statystycznie wysoce istotne eozynofile osiągnęły dopiero w ostatnim badaniu kontrol-

Tab. 3. Zachowanie się wybranych parametrów krwi ($\bar{x} \pm S$) owiec grupy III (leczonej kąpielami 10% roztworu siarczanu cynku)

Blood parameters in group III (treated by bathing in 10% water solutions of zincum sulphate)

Parametry – Parameters	Kontrola Control	0	14 d	28 d	42 d
Hematokryt – Hematocrit	26,4±2,06	26,3±2,49	28,5±2,73	29,0±1,48*	28,8±1,40*
Leukocyty – Leucocytes	13,08±3,52	12,22±3,52	19,38±4,71**	9,41±1,81*	9,09±2,05**
Eozynofile – Eosinophils	11,4±2,94	7,70±4,90	12,40±3,27	8,40±5,57	10,30±5,67
Segmentowane – Segmented Neut.	25,8±2,23	22,20±5,88	23,70±5,06	27,00±4,65	27,20±6,37
Limfocyty – Lymphocytes	59,0±2,86	64,4±8,08	60,3±6,23	63,5±5,85*	60,3±6,45
Monocyty – Monocytes	3,30±1,49	2,70±1,27	3,10±1,58	1,10±0,83**	2,20±1,83

Objaśnienia jak w tab. 1; explanations as for Table 1.

nym ($\alpha \leq 0,05$), tj. po 4 tygodniach. Udział neutrofilów segmentowanych ulegał wahaniom, ale zaobserwowane zmiany nie były statystycznie istotne. Procentowy udział limfocytów był niski w porównaniu do grupy kontrolnej. Statystyczną wysoką istotność wykazano w ostatnim badaniu w grupie chorych owiec ($\alpha \leq 0,01$). Udział monocytów obniżał się statystycznie wysoce istotnie po 2 tygodniach ($\alpha \leq 0,01$), po tym okresie osiągał wartości zbliżone do wartości w grupie kontrolnej.

W grupie III leczonej roztworami siarczanu cynku w formie kąpeli (tab. 3) stwierdzono wahania wartości hematokrytu. Po początkowym nieistotnym wzroście po 14 dobach następował jego statystycznie istotny wzrost po 28 dobach oraz obniżenie statystycznie istotne po 42 dobach ($\alpha \leq 0,05$). Liczba leukocytów początkowo wzrastała statystycznie wysoce istotnie w 14 dobie ($\alpha \leq 0,01$) oraz obniżała się statystycznie istotnie po 28 dobach ($\alpha \leq 0,05$). Dalsze obniżenie statystycznie wysoce istotne ($\alpha \leq 0,01$) wystąpiło po 42 dobach. Procentowy udział neutrofilów segmentowanych i eozynofilów ulegał wahaniom, ale nie były one istotne statystycznie. Natomiast udział limfocytów w grupie badanej w porównaniu do kontrolnej był wyższy i osiągnął wartość statystycznie istotną po 28 dniach ($\alpha \leq 0,05$). Odsetek monocytów był w grupie owiec chorych niższy niż w grupie kontrolnej i ulegał obniżeniu, które było statystycznie wysoce istotne po 28 dobach ($\alpha \leq 0,01$) po leczeniu.

WNIOSKI

1. Badanie układu białokrwinkowego stanowi orientacyjną, praktycznie przydatną próbę diagnostyczną, która potwierdza istnienie infekcji. Jest ona możliwa do wykonania w warunkach terenowych.

2. Zmiany w układzie białokrwinkowym obserwowane w przebiegu zakaźnej zanokcicy owiec nie są specyficzne. Umożliwiają one jednak prognozowanie ustąpienia zmian chorobowych w zależności od sposobu leczenia.

PIŚMIENNICTWO

1. Archangelski I. I., Sidorčuk A. A., Absatirov G. G.: Preparaty cinka v borbe c kopytnoj gnilju ovec. Veterinarija **62** (9), 35, 1985.
2. Bektemirov M. A.: Diagnostika kopytnoj gnili ovec. Veterinarija **56** (1), 46, 1979.
3. Brzeski W.: Zakaźna zanokcica owiec – *paronychia contagiosa ovium*. Cz. I. Zmiany kliniczne, etiologia i patogeneza. Magazyn Wet. **6**, 18, 1997.
4. Brzeski W.: Zakaźna zanokcica owiec (*paronychia contagiosa ovium*) – kliniczna ocena przebiegu i charakteru zmian oraz leczenie i zapobieganie powikłaniom. Acta Acad. Agricult. Techn. Olstiensis, Suppl. A. **16**, 1, 1986.
5. Cygan Z., Buczek J.: Właściwości wyosobnionych szczepów *Bacteroides nodosus* w aspekcie przygotowywanej dla owiec szczepionki przeciwanokcicowej. Annale UMCS, sectio DD, **48**, 23, 1993.
6. Cygan Z.: Zakaźna zanokcica owiec. Medycyna Wet. **44**, 528, 1988.
7. Hecker J. F.: The Sheep as an Experimental Animal. Academic Press, Londyn, 1983.
8. Komar E., Balicki I., Mouallem H.: Wartości niektórych wskaźników biochemicznych krwi owiec. Medycyna Wet. **45**, 621, 1989.
9. Komar E., Komar M., Żmuda P.: Wybrane wskaźniki nieswoistej odporności w chorobach kończyn u owiec. Annales UMCS, sectio DD **55**, 125, 2000.
10. Liu D., Yong W. K.: Improved laboratory diagnosis of ovine footrot: an update. Vet. J. **153**, 99, 1997.
11. Nattermann H., Barwisch R., Briedermann L.: Experimentelle Reproduktion bei Merinofleischschafen unter Verwendung von *Bacteroides nodosus* –Isolaten vom Mufflon (*ovis ammon musimon*). Mh. Vet-Med. **48**, 651, 1993.
12. Smith J. G. H., Abraham K. J., Ellis R. P.: Identification and grouping of *Dichelobacter nodosus*, using PCR and sequence analysis. Mol. Cell. Probes **13**, 61, 1999.

SUMMARY

The objective of the studies was to evaluate the usefulness of haematological examinations in field diagnostics of foot-rot infections in sheep. The examinations were performed on 40 sheep (30 sick and 10 healthy), male and female, 30-45 kg of body weight at the age of 8 months to 2 years in four groups. In venous blood collected before eating the following parameters were measured: packed cell volume, white blood cell count and white blood formula. It was found that the examination of the blood leukocytes is a useful diagnostic test confirming the presence of infection. Although the changes in the while blood picture are not specific for infectious foot-rot they have a prognostic value and can be performed in field conditions.