

# Wskaźniki hematologiczne i biochemiczne w surowicy krwi indyków zakażonych patogennym szczepem pałeczek *E. coli*

ANNA KRASNOŁĘBSKA-DEPTA, ANDRZEJ KONCICKI, BEATA MAZUR-GONKOWSKA

Katedra Chorób Ptaków Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UW-M, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn

Krasnołębska-Depta A., Koncicki A., Mazur-Gonkowska B.

## Haematological and biochemical indices in the serum of turkeys infected with a pathogenic strain of *E. coli*

### Summary

Investigations were performed on 37 white broad-breasted BUT9 turkeys. Twenty-five turkeys at the age of 7 weeks were infected with a pathogenic serotype of *E. coli* 078:K:80H:9. A bacterial suspension having a density of  $4 \times 10^9$  CFU/ml in 1 ml was injected into the turkeys' back breast air sac. The birds were clinically observed. Blood was collected from the 12 remaining living infected birds and from the 12 control birds from the wing vein. The hematological tests included: hematocrite count (Ht), hemoglobin (Hb), red blood cell count (RBC), white blood cell count (WBC) as well as the percentage composition of white cells. The biochemical tests included: total protein content, glucose, total cholesterol, triglycerides, uric acid, urea, creatinine, calcium (Ca), inorganic phosphorus (P) as well as the activity of the following enzymes: alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (AP), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK). The birds were diagnosed with anemia, leucocytosis, lymphopenia and heterophylia 120 hours after infection. Moreover, the serum contained increased levels of total protein, uric acid, urea and calcium in addition to increased activities of the following enzymes: ALT, AST and LDH. The same serum contained reduced levels of glucose and total cholesterol.

**Keywords:** turkeys, colibacillosis, haematology, blood

Kolibakterioza stanowi znaczący problem w wielokostadnej hodowli drobiu. Choroba ta może występować w postaci niepowikłanej, chociaż na ogół pałeczki *E. coli* wnikają wirusowe, bakteryjne i pasożytnicze schorzenia układu oddechowego i przewodu pokarmowego (3, 13, 19, 20, 23, 25). Do naturalnego zakażenia ptaków pałeczkami *E. coli* dochodzi głównie drogą układu oddechowego, a także przez przewód pokarmowy lub uszkodzoną skórę (3, 9). Również eksperymentalną kolibakteriozę u kurcząt i indyków wywoływano zakażając je wymienionymi drogami lub drogą iniekcji dożylną czy do worków powietrznych (1, 7-10, 13-15, 25). Po wniknięciu do organizmu bakterie te wywołują lokalny proces zapalny, jednak w większości przypadków przełamują miejscową barierę obronną i dostają się do krwi, co prowadzi do wystąpienia bakteriemii i uogólnienia procesu chorobowego (6, 8-11, 14, 21). Przypuszcza się również, że infekcja może się szerzyć przez kontakt chorobowo zmienionych worków powietrznych z workiem osierdziowym i torebką wątroby (21). Kolibakterioza u drobiu może przebiegać jako ostra posocznica, charakteryzująca się powiększeniem wątroby, śledziony, zwiększoną ilością płynu w jamach ciała, lub jako podostre włóknikowo-ropne zapalenie błon surowiczych (zapalenie worków powietrznych, worka osierdziowego, torebki wątroby) (2, 3, 6, 18).

W wyniku zakażenia pałeczkami *E. coli* stwierdza się u kurcząt i indyków zmiany zapalne w workach

powietrznych, płucach, worku osierdziowym, mięśniu sercowym, torebce wątroby, wątrobie, śledzionie, otrzewnej, kościach, stawach, błonie śluzowej jelit, gałce ocznej, jajowodzie, tkance podskórnej, mięśniach, pęcherzyku żółtkowym (2, 4, 6, 9, 15, 18). Stan zapalny upośledza funkcjonowanie tych narządów, co prowadzić może do zaburzeń homeostazy ustrojowej manifestującej się zmianami wartości wskaźników hematologicznych i biochemicznych. Potwierdzeniem tego są zmiany wartości wskaźników hematologicznych u kurcząt eksperymentalnie zakażonych pałeczkami *E. coli* (22).

Podjęte badania miały na celu określenie wpływu eksperymentalnego zakażenia indyków patogennym szczepem *E. coli* na wskaźniki hematologiczne i biochemiczne surowicy krwi.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 37 indykach białych szerokopierśnych typu BUT 9. Ptaki odchowywano w izolowanych wiewiarniach Katedry Chorób Ptaków zgodnie z obowiązującą technologią i żywiono pełnoporcjowymi mieszankami paszowymi. W wieku 7 tygodni 25 indyków zakażono drogą iniekcji do worka powietrznego piersiowego tylnego patogennym dla nich serotypem *E. coli* O78:K:80H:9; który otrzymano z PIWet. w Puławach, podając im po 1 ml zawiesiny bakterii o gęstości  $4 \times 10^9$  jtk/ml. Ptaki zakażone poddano obserwacji klinicznej, a po upływie 120 godz. od zakażenia od pozostałych przy życiu

12 zakażonych i 12 kontrolnych indyków pobrano krew z żyły skrzydłowej celem wykonania badań hematologicznych i biochemicznych. Następnie ptaki doświadczalne uśmiercono przez dekapitację i wykonano badanie anatomopatologiczne oraz badanie bakteriologiczne narządów wewnętrznych.

W zakresie badań hematologicznych oznaczano: liczbę hematokrytową (Ht) metodą mikrohematokrytu, zawartość hemoglobiny (Hb) metodą kolorymetryczną, liczbę krwinek czerwonych (RBC) i białych (WBC) metodą komorową (do wybarwienia krwinek białych używano płynu Natta-Herricka). Ponadto określano odsetkowy skład krwinek białych (leukogram) barwiąc rozmazy krwi metodą Pappenheima.

W zakresie badań biochemicznych w surowicy krwi oznaczano: zawartość białka całkowitego, glukozy, cholesterolu całkowitego, trójglicerydów, kwasu moczowego, mocznika, kreatyniny, wapnia (Ca) i fosforu nieorganicznego (P). Ponadto oznaczano w surowicy krwi metodą kinetyczną aktywność enzymów: aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST), fosfatazy zasadowej (AP), dehydrogenazy kwasu mlekowego (LDH), kinazy kreatynowej (CK). Oznaczeń dokonywano przy użyciu zestawów diagnostycznych firm: Alpha Diagnostic i Pointe Scientifik przy użyciu fotometru typ Epoll 20. Wyniki badań poddano analizie statystycznej testem NIR.

## Wyniki i omówienie

U zakażonych patogennym szczepem *E. coli* indyków badaniem klinicznym stwierdzono osowiałość, utratę łaknienia i duszność. W okresie obserwacji wynoszącym 120 godz. padło 12 ptaków. U pozostałych przy życiu i uśmierconych indyków badaniem sekcyjnym stwierdzono zróżnicowany obraz zmian anatomopatologicznych: włóknikowe zapalenie worków powietrznych i przekrwienie płuc u 2 szt., u 7 szt. ponadto powiększenie i przekrwienie wątroby i włóknikowe zapalenie jej torebki, a u dalszych 3 szt. także włóknikowe zapalenie stawów skokowych. Badaniem bakteriologicznym z narządów indyków izolowano pałeczki *E. coli*. Obraz zmian anatomopatologicznych i wyniki badania bakteriologicznego wskazują, że u większości zakażonych indyków doszło do uogólnienia procesu chorobowego. Inni autorzy po eksperymentalnym zakażeniu pałeczkami *E. coli* kurcząt i indyków drogą aerozolową i drogą iniekcji do worka po-

**Tab. 1. Wartości wskaźników hematologicznych u indyków zakażonych pałeczkami *E. coli* ( $\bar{x} \pm s$ ; n = 12)**

Wskaźniki	Grupa kontrolna	Grupa badana
Ht %	31,8 ± 2,16	23,66 ± 1,03*
Hb g/dl	15,40 ± 1,86	10,98 ± 0,45*
RBC 10 <sup>12</sup> /l	2,46 ± 0,13	1,92 ± 0,08*

Objaśnienie: \*różnica statystycznie istotna przy  $p \leq 0,01$

**Tab. 2. Liczba całkowita i odsetkowy skład krwinek białych (leukogram) u indyków zakażonych pałeczkami *E. coli* ( $\bar{x} \pm s$ ; n = 12)**

Wskaźniki	Grupa kontrolna	Grupa badana
WBC 10 <sup>9</sup> /l	23,00 ± 2,61	53,60 ± 4,91*
Limfocyty %	53,5 ± 6,45	38,4 ± 12,58
Heterofile %	39,00 ± 6,87	54,60 ± 12,77
Eozynofile %	1,50 ± 0,57	0,80 ± 0,44
Monocyty %	1,25 ± 0,95	1,00 ± 0,00
Bazofile %	3,25 ± 1,70	3,20 ± 1,64

Objaśnienie: jak w tab. 1.

**Tab. 3. Wartości wskaźników biochemicznych w surowicy krwi indyków zakażonych pałeczkami *E. coli* ( $\bar{x} \pm s$ ; n = 12)**

Wskaźniki	Grupa kontrolna	Grupa badana
ALT IU/l	11,22 ± 3,30	19,66 ± 5,39*
AST IU/l	229,00 ± 56,48	331,16 ± 42,15*
AP IU/l	3771,87 ± 1000,78	1438,33 ± 595,45*
LDH IU/l	655,88 ± 163,58	1053,83 ± 321,53*
CK IU/l	940,11 ± 230,43	703,66 ± 332,69
Białko g/dl	4,33 ± 0,45	5,71 ± 0,62*
Cholesterol mg/dl	113,3 ± 29,68	145,00 ± 40,52*
Trójglicerydy mg/dl	82,70 ± 28,17	91,73 ± 23,59
Kwas moczowy mg/dl	4,03 ± 1,42	6,56 ± 2,28*
Glukoza mg/dl	319,2 ± 44,92	174,87 ± 120,1*
Kreatynina mg/dl	0,31 ± 0,02	0,34 ± 0,08
Mocznik mg/dl	6,37 ± 0,76	9,95 ± 3,64*
Ca mg/dl	8,28 ± 1,17	12,11 ± 1,16*
Fosfor mg/dl	7,50 ± 1,73	7,50 ± 1,60

Objaśnienie: jak w tab. 1.

wietrznego również obserwowali podobne zmiany anatomopatologiczne (1, 21, 25).

Wyniki badań hematologicznych przedstawiono w tab. 1 i 2. U indyków, 120 godz. po zakażeniu pałeczkami *E. coli*, stwierdzono statystycznie istotne obniżenie liczby krwinek czerwonych, liczby hematokrytowej i zawartości hemoglobiny, co wskazuje na występowanie niedokrwistości. Obniżenie liczby krwinek występowało również u kurcząt eksperymentalnie zakażonych pałeczkami *E. coli* (22). Obserwowane u doświadczalnych ptaków zmniejszenie zawartości HB może wynikać z niższej liczby krwinek czerwonych, bądź może być skutkiem występującej u indyków po zakażeniu pałeczkami *E. coli* hipoferremii infekcyjnej (17). Hipoferremię i obniżenie poziomu Hb obserwowano również u indyków z syndromem zielonej wątroby i zapalenia kości, w którym jednym z czynników etiologicznych są pałeczki *E. coli* (4).

U zakażonych indyków stwierdzono statystycznie wysoce istotny wzrost liczby krwinek białych. Charakterystyczną dla zakażeń bakteryjnych leukocytozę obserwowano również przy eksperymentalnej kolibakteriozie u kurcząt i wspomnianym wyżej syndromie u indyków (4, 22).

U doświadczalnych indyków wystąpiły zmiany w leukogramie, a mianowicie obniżenie procentowego udziału limfocytów (limfopenia) i zwiększenie procentowego udziału heterofilia) (tab. 2). Jednak ze względu na duże rozbieżności w leukogramie u poszczególnych osobników różnice te w stosunku do grupy kontrolnej nie były statystycznie istotne. Podobne zmiany w leukogramie obserwowano u kurcząt zakażonych *E. coli*, *M. synoviae* oraz w przebiegu syndromu zielonej wątroby i zapalenia kości u indyków (4, 5, 22). U kurcząt zakażonych *E. coli* i przy syndromie zielo-



nej wątroby i zapalenia kości u indyków stwierdzono ponadto obniżenie procentowego udziału bazofili i monocytów (11, 22). Gross (12) w badaniach nad eksperymentalną kolibakteriozą u kurcząt określał stosunek heterofili do limfocytów (H/L) i stwierdził, że u kurcząt zakażonych cechował się on znacznie wyższą wartością niż u kontrolnych. Autor wykazał również, że u osobników z wyższą wartością H/L stopień zaawansowania zmian anatomopatologicznych był mniej nasilony, co pozwala przypuszczać, że cechuje je wyższa odporność na zakażenie pałeczkami *E. coli*.

Wyniki badań biochemicznych przedstawiono w tab. 3. U zakażonych pałeczkami *E. coli* indyków wystąpił statystycznie istotny wzrost zawartości białka całkowitego w surowicy, który był obserwowany także przy innych schorzeniach bakteryjnych u drobiu, przy syndromie zielonej wątroby i zapalenia kości u indyków i mykoplazmozie u kurcząt, przy której stwierdzono ponadto obniżenie zawartości albumin i wzrost zawartości globulin w surowicy (4, 5). Wzrost zawartości białka całkowitego jest charakterystyczny dla zapalenia wątroby (24). Może on być spowodowany wzrostem zawartości globulin i innych białek ostrej fazy na skutek stanu zapalnego wywołanego przez bakterie (cyt. 4). Jak wynika z wcześniejszych badań przeprowadzonych w Katedrze, u indyków 120 godz. po zakażeniu pałeczkami *E. coli* stwierdzono wzrost zawartości w surowicy następujących białek ostrej fazy: ceruloplazminy, haptoglobiny fibrynogenu i transferyny (16).

W badaniach własnych obserwowano statystycznie istotne obniżenie zawartości glukozy w surowicy, które może być wynikiem stanu zapalnego wątroby i upośledzenia procesów glukoneogenezy (24). Stan zapalny wątroby może być również przyczyną stwierdzonego obniżenia zawartości cholesterolu całkowitego w surowicy (24).

Istotnemu wzrostowi w stosunku do grupy kontrolnej uległ poziom kwasu moczowego (będącego głównym końcowym produktem przemian białka u ptaków) oraz mocznika w surowicy. Takie zachowanie się tych wskaźników może być następstwem zapalenia wątroby i niewydolności nerek (24), a także przyspieszonego katabolizmu białek, który ma miejsce w chorobach bakteryjnych (cyt. 4).

U zakażonych indyków stwierdzono wzrost aktywności w surowicy enzymów ALT, AST i LDH, który może być wynikiem uszkodzenia wątroby i mięśnia sercowego (24). Interesujący jest obserwowany przy kolibakteriozie spadek aktywności AP, który można jedynie tłumaczyć występującą u indyków niedokrwistością (24). Takie zachowanie się tego enzymu stwierdzono również przy syndromie zielonej wątroby i zapalenia kości u indyków, któremu również towarzyszy niedokrwistość (4). Obniżenie aktywności (AP) może być przyczyną stwierdzonego u doświadczalnych indyków statystycznie istotnego wzrostu zawartości wapnia w surowicy, który może wynikać również z występującej u nich hiperproteinemii (24). Z pozosta-

łych badanych w surowicy wskaźników biochemicznych nie uległy zmianie: zawartość trójglicerydów, kreatyniny, fosforu nieorganicznego oraz aktywność kinazy kreatynowej (CK).

Reasumując, na podstawie otrzymanych wyników badań hematologicznych można stwierdzić, że 120 godzin po zakażeniu indyków patogennym szczepem pałeczek *E. coli* występuje u nich niedokrwistość i leukocytoza, a także zmiany w leukogramie jak limfopenia i heterofilia. Występujące zmiany wartości wskaźników biochemicznych: wzrost zawartości białka całkowitego, kwasu moczowego, mocznika, wapnia, obniżenie zawartości glukozy, cholesterolu całkowitego, jak również wzrost aktywności w surowicy enzymów: ALT, AST i LDH, mogą być wynikiem zaburzeń w funkcjonowaniu takich narządów jak wątroba, nerki, serce powstałych na skutek stanu zapalnego wywołanego przez pałeczki *E. coli*.

## Piśmiennictwo

1. *Arp L. H., Graham L. G., Chevillie N. F.*: Comparison of clearance rates of virulent and avirulent *Escherichia coli* in turkeys after aerosol exposure. *Avian Dis.* 1979, 23, 386-391.
2. *Arp L. H.*: Pathology of spleen and liver in turkeys inoculated with *Escherichia coli*. *Avian Path.* 1982, 11, 263-279.
3. *Barnes H. J., Gross W. B.*: Colibacillosis. w *Diseases of Poultry*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1997, s. 131-141.
4. *Bayyari G. R., Huff W. E., Rath N. C., Balog J. M., Newberry L. A., Villines J. D., Skeels J. K.*: Immune and physiological responses of turkeys with green-liver osteomyelitis complex. *Poultry Sci.* 1997, 76, 280-288.
5. *Branton S. L., May J. D., Lott B. D., Maslin W. R.*: Various blood parameters in commercial hens acutely and chronically infected with *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*. *Avian Dis.* 1997, 41, 540-547.
6. *Chevillie N. F., Arp L. H.*: Comparative pathology of *Escherichia coli* infection in birds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1978, 173, 584-587.
7. *Dho M., Lafont J. P.*: *Escherichia coli* colonization of the trachea in poultry: comparison of virulent and avirulent strains in gnotobiotic chickens. *Avian Dis.* 1982, 26, 787-797.
8. *Dominick M. A., Jensen A. E.*: Colonization and persistence of *Escherichia coli* in axenic and monoxenic turkeys. *Am. J. Vet. Res.* 1984, 45, 2331-2335.
9. *Gomis S. M., Watts T., Riddell C., Potter A. A., Allan B. J.*: Experimental reproduction of *Escherichia coli* cellulitis and septicemia in broiler chickens. *Avian Dis.* 1997, 41, 234-240.
10. *Gross W. B.*: The development of "air sac disease". *Avian Dis.* 1961, 5, 431-439.
11. *Gross W. B.*: Blood cultures, blood counts and temperature records in an experimentally produced "air sac disease" and uncomplicated *Escherichia coli* infection of chickens. *Poultry Sci.* 1962, 41, 691-700.
12. *Gross W. B.*: Effect of range of social stress severity on *Escherichia coli* challenge infection. *Am. J. Vet. Res.* 1984, 45, 2074-2046.
13. *Gross W. B.*: Factors affecting the development of respiratory disease complex in chickens. *Avian Dis.* 1990, 34, 607-610.
14. *Harry E. G., Hemsley L. A.*: The association between the presence of septicaemia strains of *Escherichia coli* in the respiratory and intestinal tracts of chickens and the occurrence of coli septicaemia. *Vet. Rec.* 1965, 77, 35-40.
15. *Leitner G., Heller E. D.*: Colonization of *Escherichia coli* in young turkeys and chickens. *Avian Dis.* 1992, 36, 211-220.
16. *Mazur-Gonkowska B.*: Białka ostrej fazy i inne wybrane parametry odporności nieswoistej u indyków zakażonych wirusem HE lub pałeczkami *E. coli*. Praca dokt. Wdż. Medycyny Weterynaryjnej UWM Olsztyn, 2001.
17. *Mazur-Gonkowska B., Koncicki A.*: Przemiany żelaza w odpowiedzi ostrej fazy u indyków. *Med. Wet.* 2002, 58, 719-721.
18. *Nakamura K., Macda M., Imada Y., Mada T., Sato K.*: Pathology of spontaneous colibacillosis in a broiler flock. *Vet. Pathol.* 1985, 22, 592-597.
19. *Nakamura K., Yuasa N., Aba H., Narita M.*: Effect of infectious bursa disease virus on infections produced by *Escherichia coli* of high and low virulence in chickens. *Avian Path.* 1990, 19, 713-721.
20. *Nakamura K., Cook J. K. A., Frazier J. A., Narita M.*: *Escherichia coli* multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infectious bronchitis virus and/or *E. coli*. *Avian Dis.* 1992, 36, 881-890.
21. *Piercy D. W., West B.*: Experimental *Escherichia coli* infection in broiler chickens: course of the disease induced by inoculation via the air sac route. *J. Comp. Path.* 1976, 36, 203-210.
22. *Reddy P. R., Gross W. B., Krey H. P., Siegel P. B.*: Blood parameters of dwarf and normal pullets from growth selected lines before and after *Escherichia coli* challenge. *Poultry Sci.* 1975, 54, 674-681.
23. *Sponenberg D. P., Domermuth C. H., Larsen C. T.*: Field outbreaks of colibacillosis of turkeys associated with hemorrhagic enteritis virus. *Avian Dis.* 1985, 29, 838-842.
24. *Sznajda J.*: Biochemia kliniczna w praktyce lekarskiej. PZWL Warszawa, 1983, s. 951.
25. *Van den Hurk J. V., Allan B. J., Riddell C., Watts T., Potter A.*: Effect of infection with hemorrhagic enteritis virus on susceptibility of turkey to *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 1994, 38, 708-716.