

# PATOLOGIA I TERAPIA

ANNA ALBRYCHT, MARIA ROSNOWSKA

## Niektóre wskaźniki biochemiczne we krwi krów w początkowym okresie białaczki limfatycznej przewlekłej

Zakład Badania Chorób Bydła Instytutu Weterynarii  
w Puławach

Kierownik: doc. dr S. CAKAŁA

Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej SDL  
AM w Warszawie

Kierownik: prof. dr med. J. KRAWCZYŃSKI

Białaczka u bydła występuje najczęściej w postaci białaczki limfatycznej. Według Götze i wsp. (9), a także Bendixena (2), kliniczne objawy poprzedza okres utajony, charakteryzujący się limfocytozą. Objaw ten stanowi obecnie podstawę wczesnego rozpoznawania a także zwalczania choroby. Za pomocą badań hematologicznych można wykryć duży odsetek zwierząt dotkniętych białaczkowymi zmianami guzowatymi a także znajdujących się w stanie subklinicznym. Jednakże u pewnych zwierząt występowanie charakterystycznych zmian we krwi obwodowej nie jest regułą i to zarówno przed jak i po pojawieniu się objawów klinicznych (2, Wiesner, Winquist, Hare — cyt. za 19, 22)

Dotychczasowe próby wczesnego i pewnego rozpoznania choroby na drodze serologicznej, immunologicznej, cytologicznej nie dały zadowalających wyników.

Przedmiotem niniejszych badań było zachowanie się niektórych wskaźników biochemicznych we krwi krów z hematologicznymi objawami białaczki. Interesowało nas, czy w stadium subklinicznym białaczki limfatycznej zachodzą odchylenia od normy między innymi w zakresie enzymów, białek czy też elektrolitów. Dotychczasowe publikacje na ten temat dotyczą, zarówno jeśli chodzi o krowy dorosłe jak i o cielęta, przede wszystkim zwierząt z klinicznymi objawami w końcowym stadium postaci guzowatej białaczki (14, 17).

### Materiał i metody

Łącznie przebadano 18 krów rasy nizinnej czarnobiałej, w wieku 5—7 lat, podlegających stałym badaniom laboratoryjnym i klinicznym. Jedną grupą liczącą 9 zwierząt (grupa badana), stanowiły krowy, u

których w minionym okresie 5—12 miesięcy, na podstawie systematycznych badań hematologicznych wykonywanych regularnie co 2 tygodnie, stwierdzono powtarzającą się limfocytozę i rozpoznano stadium subkliniczne przewlekłej białaczki limfatycznej. Krowy te pochodziły z obór hodowli zarodowej, w których niejednokrotnie w ostatnich latach rozpoznano przyżyciowo i po śmierci enzoootyczną białaczkę limfatyczną.

W okresie prowadzenia niniejszych badań laboratoryjnych stwierdzono ponadto w tej grupie zwierząt kliniczne zmiany nasuwające podejrzenie białaczki u 2 krów; u jednej był to guz wielkości pięści w jamie miednicznej, a u drugiej wytrzeszcz białek ocznych. Zmiany te u obydwu krów nie nasilały się w ciągu 8-mio miesięcznych obserwacji. Natomiast u krowy innej, trzeciej w miesiąc po zakończeniu przedstawionych badań rozwinęły się kliniczne objawy białaczki w postaci powiększenia węzłów chłonnych zewnętrznych i wewnętrznych oraz guzowatych zmian w macicy. W 4 tygodnie od stwierdzenia powyższych objawów krowę poddano ubojowi, a pośmiertnie poza węzłami chłonnymi i macicą rozpoznano zmiany białaczkowe w nerkach, mięśniu sercowym i trawieńcu. U pozostałych krów, podlegających dalszym obserwacjom w ciągu minionych dotychczas 6 miesięcy, nie stwierdzono klinicznych objawów choroby. Zwierzęta tej całej grupy określano dalej mianem krów białaczkowych.

Grupę drugą — kontrolną stanowiło 9 krów zdrowych, podlegających równolegle z grupą badaną stałym badaniom klinicznym i laboratoryjnym. Pochodziły one z obór, gdzie wykluczono białaczkę na podstawie wywiadów, badań klinicznych i hematologicznych. W okresie prowadzonych badań nie obserwowano u nich jakichkolwiek objawów chorobowych. Obydwie grupy zwierząt trzymano w jednakowych warunkach.

Średnie wartości hematologiczne w poszczególnych grupach zwierząt, będące podstawą powyżej omówionego podziału w oparciu o kryteria wg Tolly'ego (cyt. za 10), przedstawiono w tab. 1.

Krew od zwierząt pobierano z żyły jarzmowej rano, przed podaniem paszy. Po trzykrotnym wirowaniu w odstępach godzinnych najpierw krwi a następnie surowicy, badano w surowicy aktywność następują-

Tab. 1. Skład morfotyczny krwi krów białaczkowych (grupa badana) i krów zdrowych (grupa kontrolna)\*

	Grupa badana		Grupa kontrolna	
	Zakres	Średnia	Zakres	Średnia
Eryocyty/mm <sup>3</sup>	4900000 — 6600000	5900000	4980000 — 6320000	6600000
Leukocyty/mm <sup>3</sup>	16400 — 46200	29400	6100 — 8300	7400
Limfocyty/mm <sup>3</sup>	14600 — 42900	25500	2000 — 5500	4050
Bazofile %	0 — 1	0,1	0 — 1	0,1
Eozynofile %	0 — 8	4,9	3 — 16	9,9
Neutrofile %	0 — 17	8,9	15 — 57	35,0
Limfocyty %	72 — 99	86,0	27 — 77	55,0
Monocyty %	0 — 2	0,5	0 — 2	0,5

\*) Hematologiczne badania były przeprowadzone w Pracowni Patologii Komórkowej.

cych enzymów: aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) i alaninowej (AlAT), dehydrogenazy mleczanowej (LDH), glutaminianowej (GLDH), jabłczanowej (MDH), fosfatazy zasadowej (AP), esterazy cholinowej (ChE), aldolazy (ALD) i amylazy (Am). Z elektrolitów oznaczano sód, potas, wapń, żelazo i chlorki. Z prób chwiejności koloidalnej osocza wykonano próbę tymolową, jodową i Kunkela, a następnie oznaczano białko całkowite i rozdzielano je elektroforetycznie na poszczególne frakcje. Oznaczano także w surowicy kreatyninę, mocznik i kwas moczowy.

Aminotransferazy oznaczano metodą spektrofotometryczną przy użyciu NADH<sub>2</sub>, gotowym zestawem firmy Fermognost (13, 24). Dehydrogenazę mleczanową i glutaminianową oznaczano spektrofotometrycznie przy pomocy gotowych zestawów firmy Boehringer (3). Dehydrogenazę jabłczanową oznaczano wg Bergmeyer'a przy użyciu AspAT jako enzymu wskaźnikowego (21). Fosfatazę zasadową oznaczano metodą kolorymetryczną wg Bessey i Lowry (4). Esterazę cholinową oznaczano metodą kolorymetryczną Hestrina w mod. Vincenta i Segonzaca (20). Aldolazę oznaczano metodą kolorymetryczną Bruns'a, używając gotowego zestawu firmy Merck (6). Amylazę oznaczano kolorymetrycznie z użyciem skrobi jako substratu metodą podaną przez Heinkla (11). Sód i potas oznaczano metodą fotometrii płomieniowej. Chlorki oznaczano metodą miareczkową Bruns'a (7). Przy oznaczeniu wapnia korzystano z metody podanej przez Kovasca i Tarnoky (16). Żelazo oznaczano metodą Ramsay'a z użyciem o-fenantroliny (18). Próby chwiejności koloidalnej osocza, poziom białka całkowitego i rozdział na frakcje białkowe wykonano według wskazówek podanych przez Bogdanikową (5). Mocznik

oznaczano metodą enzymatyczną (13). Do oznaczenia kreatyniny użyto surowicy, stosując metodę Rehberga wg Więclawka i Osińskiego (23). Kwas moczowy oznaczano metodą opracowaną przez Folina wg Harejsi'e-ga (13).

### Wyniki

Wyniki badań zestawiono w tab. 2, podając wartość średnią i odchylenie standardowe badanych parametrów dla krów białczkowych i krów grupy kontrolnej.

Stosując test „t” Studenta wykazano, że poziom kwasu moczowego był znamienne niższy u krów białczkowych w porównaniu z grupą kontrolną. Wynosił on  $0,76 \pm 0,16$  mg%, podczas gdy u krów kontrolnych  $0,94 \pm 0,11$  mg% ( $P < 0,05$ ).

Pozostałe wartości badanych parametrów grupy białczkowej i kontrolnej nie różniły się znamienne. Jedynie daje się zauważyć duży rozrzut wyników u krów białczkowych w aktywności dehydrogenazy jabłczanowej ( $457 \pm 170$  j/ml), w stężeniu żelaza ( $141 \pm 44$  mEq/l), oraz w poziomie mocznika ( $34 \pm 15$  mg%).

Nie zamieszczone w tabeli wyniki prób chwiejności koloidalnej osocza również nie różniły się istotnie w obu grupach. Próba jodowa we wszystkich przypadkach wypadła ujemnie.

Tab. 2. Wyniki badań biochemicznych surowicy 9 krów białczkowych, w stadium subklinicznym białczki limfatycznej przewlekłej (B) i 9 krów kontrolnych (K), zdrowych

Aktywność enzymów									
B	K	B	K	B	K	B	K	B	K
Asp AT j/ml		ALAT j/ml		LDH mIU		GLDH mIU		MDH j/ml	
61 $\pm 19$	66 $\pm 14$	17 $\pm 4$	15 $\pm 3$	330 $\pm 48$	319 $\pm 53$	0,35 $\pm 0,22$	0,36 $\pm 0,12$	457 $\pm 170$	508 $\pm 62$
AP IU		ChE % hydrolizy		ALD mIU		Am j. Volghemutha			
50 $\pm 17$	57 $\pm 19$	43 $\pm 8,5$	36 $\pm 4,2$	0,57 $\pm 0,24$	0,72 $\pm 0,17$	4,0 $\pm 1,4$	4,0 $\pm 0,34$		

Poziom elektrolitów w mEq/L									
Na		K		Ca		Fe		Cl	
136,0 $\pm 3,0$	135 $\pm 7,7$	4,5 $\pm 0,27$	4,5 $\pm 0,08$	4,62 $\pm 0,48$	4,67 $\pm 0,54$	141 $\pm 44$	116 $\pm 27$	106 $\pm 1,6$	106 $\pm 3,3$

Poziom białka całkowitego i poszczególnych frakcji g%									
Białko całk.	Albuminy		Globuliny						
			alfa		beta		gamma		
7,60 $\pm 0,36$	7,90 $\pm 0,49$	4,40 $\pm 0,43$	4,32 $\pm 0,54$	0,73 $\pm 0,16$	0,72 $\pm 0,16$	0,89 $\pm 0,18$	0,77 $\pm 0,17$	1,72 $\pm 0,33$	1,99 $\pm 0,37$

Kreatynina mg %		Mocznik mg %		Kwas mocz. mg %	
1,50 $\pm 0,18$	1,40 $\pm 0,16$	34 $\pm 15$	34 $\pm 9$	0,76 $\pm 0,16$	0,94 $\pm 0,11$

Średnia wartość dla próby tymolowej w grupie krów białaczkowych wynosiła 2,3 j Mc Lagana i taką samą wartość średnią uzyskano dla krów zdrowych. Średnia wartość próby Kunkela w grupie krów chorych wynosiła  $3,9 \pm 1,2$  j Mc Lagana przy wartości średniej dla zwierząt kontrolnych  $5,7 \pm 0,5$  j Mc Lagana.

### Dyskusja

W badaniach nad białaczką u bydła bardzo duże zainteresowanie budzą do dziś próby wczesnego jej rozpoznawania.

Niniejsze badania biochemiczne zostały przeprowadzone na 9 krowach obserwowanych przez szereg miesięcy w stadium subklinicznym enzootycznej białaczki limfatycznej. Jak wiadomo, zwierzęta takie nie wykazują żadnych chorobowych objawów klinicznych, pozostają w dobrej kondycji i w prawidłowej sprawności użytkowej aż do czasu ewentualnego rozwinięcia się obrazu węzłowicy (guzowatej postaci białaczki). W naszym przypadku przykładem przebiegu choroby przez takie stadia może być krowa wyszczególniona w materiałach. W okresie subklinicznym zarówno u niej jak i u 8 pozostałych zwierząt hematologicznie dodatnich w kierunku białaczki, nie stwierdzono w porównaniu ze zwierzętami zdrowymi, o prawidłowym składzie krwinek białych, żadnych wyraźnych istotnych i powtarzalnych różnic w zakresie badanych parametrów w surowicy. Jedyne poziomy kwasu moczowego był znamienne niższy u zwierząt białaczkowych.

Marshak i wsp. (17) badając niektóre wskaźniki laboratoryjne u bydła z białaczką, stwierdzili podwyższenie aktywności aminotransferazy asparaginianowej oraz w wielu przypadkach podwyższenie aktywności dehydrogenazy mleczanowej. Stwierdzili oni także znaczny spadek sodu, wapnia i magnezu w niektórych przypadkach białaczki połączonych z objawami biegunki. Poziomy fosforu i potasu czasami wykazywał tendencje zwykłe. Hugoson (14) zaobserwował u białaczkowych cieląt podwyższenie aktywności transferazy ornityno-karbamylowej oraz przesunięcia w zakresie białek krwi pod postacią hipoproteinemii, przebiegającej z podwyższeniem odsetka alfa-globulin. Powyższe wyniki uzyskano jednakże w końcowym okresie choroby, kiedy następowało upośledzenie czynności wielu zmienionych narządów oraz ogólne wyniszczenie zwierząt.

Enzymatyczne badania u krów białaczkowych surowicy, prowadzone przez innych autorów (15, Cardeilhac i wsp. — cyt. za 15, Freedland i wsp. — cyt. za 14), badania cytochemiczne krwi (22), a także elektroforetyczne badanie surowicy (Hartung i wsp. — cyt. za 14, Balbierz i wsp. — 1) nie doprowadziły do scharakteryzowania swoistych zmian chorobowych.

Według Marshaka i wsp. (17) białaczka limfatyczna u bydła przypomina pod wieloma

względami białaczkę u człowieka. W zakresie jednakże zmian biochemicznych we krwi zdają się zarysować rozbieżności. U ludzi np. zaznacza się m. in. wzrost poziomu alkalicznej fosfatazy, kwasu moczowego oraz przyspieszony opad krwinek. Uwidaczniają się też u ludzi pewne nieprawidłowości enzymatyczne w leukocytach (8).

U bydła odchylenia w zakresie wyników badań laboratoryjnych nie są znamienne, lub też szukać ich należałoby w zaawansowanym końcowym stadium choroby, kiedy w mniejszym lub większym stopniu zmiany anatomiczne upośledzają czynności poszczególnych narządów.

W konkluzji powyższych wywodów można więc podkreślić, że we wczesnym rozpoznawaniu białaczki, w stadium subklinicznym u bydła decyduje stwierdzenie przewlekłej limfocytozy. Kwestionowanie w ostatnich latach jej swoistości (19) stoi w sprzeczności z obserwacjami kliniczno-epizootologicznymi licznych badaczy.

Z przeprowadzonych badań i danych innych autorów wynika, że wskaźniki biochemiczne w surowicy, takie jak enzymy: aminotransferazy, dehydrogenazy, esteraza cholinowa, aldolaza, amylaza oraz elektrolity (Na, K, Ca, Fe, Cl) i białka w początkowym okresie białaczki limfatycznej przewlekłej utrzymują się w granicach fizjologicznych.

### Piśmiennictwo

- Balbierz H., Cogieł F., Nikołajczuk M., Senze A.: *Medycyna Wet.* 24, 65, 1968.
- Bendixen H. J.: *Studies of leukosis enzootica bovis*, USA, 1965.
- Bergmeyer H.: *Methods of Enzymatic Analysis*, Academic Press, New York a London, 1963.
- Bessey O., Lowry O., Brock M.: *J. Biol. Chem.* 164, 321, 1946.
- Bogdanikowa B.: *Klinika białek krwi*. Warszawa, 1960.
- Bruns F.: *Biochem. Z.* 325, 156, 1954.
- Bruns F.: *Gesundhws.* 19, 1552, 1964.
- Gallo R. C., Perry S.: *Nature* 218, 465, 1963.
- Götze R., Rosenberger G., Ziegenhagen G.: *Mh. Vet. Med.* 9, 717, 1954.
- Grundboeck M.: *Medycyna Wet.* 24, 257 i 360, 1968.
- Heinkel K.: *Klin. Wschr.* 34, 155, 1956.
- Homolka J.: *Diagnostyka biochemiczna*, PZWL, 1961.
- Horejsi J.: *Zakl. Vysetrovani ve vritrnm lekarstvi*, Praha, 1949.
- Hugoson H.: *Acta Vet. Scand. suppl.* 22, Stockholm, 1967.
- Kaiser H.: *Untersuchungen über Serumgehalt der Lactatdehydrogenase von Rindern in Leukosebeständen*. Diss. Hannover, 1967.
- Kovacs R., Tarnoky K.: *Clin. Path.* 13, 160, 1960.
- Marshak R., Coriell H., Lawrence W., Croshaw J., Schryver H., Altera K., Nichols W.: *Cancer Res.* 22, 202, 1962.
- Ramsay W.: *Biochem. J.* 53, 227, 1953.
- Sandersleben J.: *Vet.-med. Nachr.* 4, 247, 1966.
- Segonzac V.: *Annl. Biol. clin.* 3, 227, 1958.
- Shank R., Hoagland Ch.: *J. Biol. Chem.* 162, 133, 1946.
- Stöber M.: *Zytomorphologische und zytochemische Blutuntersuchungen beim Rind im Hinblick auf ihre Brauchbarkeit für die Diagnose der lymphatischen Leukose*, Habil. Hannover, 1965.
- Więclawek B., Osiński T.: *Analizy chemiczne krwi i moczu*, PZWL, 1956.
- Wróblewski F., La Due J.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 91, 569, 1956.

Adres autora: lek. wet. Anna Albrycht, Puławy, Al. Partyzantów 55, Instytut Weterynarii.

Альбрехт А., Росновска М. — Некоторые биохимические индикаторы крови коров в начальной стадии хронического лимфатического лейкоза.

Исследовали активность ферментов: AspAT, ALAT, LDH, GLDH, MDH, AP, ChE, ALD и Am — в сыворотке крови 9 коров с гематологически установленным хроническим лимфатическим лейкозом. Кроме того определяли полный белок и его отдельные фракции, исследовали коллоидальную лабильность плазмы (тимоловой, иодовой реакцией и по Кункелю), устанавливали уровень креатинина, мочевины, мочевой кислоты и электролитов Na, K, Ca, Fe и Cl. Авторы приходят к выводу что в субклинической форме лимфатического лейкоза исследованные параметры удерживаются в физиологических границах.

Albrycht A., Rosnowska M. — Some biochemical indices in blood of cows in the initial period of chronic lymphatic leukaemia.

The activity of AspAT, ALAT, LDH, GLDH, MDH, AP, ChE, ALD and Am was estimated in sera of 9 cows with haematological chronic lymphatic leukaemia. There was determined the total protein concentration with its separation on individual fractions; thymol, iodine and Kunkel's tests were also carried out. In addition, the level of creatinine, urea and uric acid and electrolites (Na, K, Ca, Fe and Cl) in sera were examined. It was found that the above biochemical indices fluctuated within physiological values in the course of subclinical lymphatic leukaemia.

CZESŁAW KUREK

## Badania nad *mastitis* u krów w woj. gdańskim.

### II. Wpływ higieny środowiska oborowego i sposobu udoju na powstawanie *mastitis* i produkcję mleka. Próba oceny niektórych pozycji strat ekonomicznych z powodu niehigienicznego pozyskiwania mleka

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku  
Kierownik: dr A. CZARNOWSKI

Ujemny wpływ nieodpowiednich warunków higienicznych środowiska oborowego, nieodpowiedniej pielęgnacji zwierzęcia, niewłaściwie prowadzonego udoju mechanicznego na zdrowotność gruczołów mlecznych krów i powstawanie *mastitis*, udokumentowany jest wielu pracami naukowymi (14, 21, 24, 36, 38). Zagadnienie strat ekonomicznych ponoszonych z tego tytułu jest problemem coraz częściej rozpatrywanym nie tylko przez badaczy poszczególnych krajów ale i przez FAO(WHO) Organizacji Narodów Zjednoczonych. Wg danych tej organizacji z 1962 r. (cyt za 37) łączne straty w dolarach w produkcji mleka, przemyśle mleczarskim, nieekonomicznej eksploatacji krów, wynoszą rocznie: Francja — 100 mln, USA — 225,8 mln, Irlandia — 9,76 mln, Anglia (straty wyłącznie w mleku) 3,6 mln. W Polsce, straty z powodu *mastitis* u krów szacowane są przez Chodkowskiego (8) i Wiśniewskiego (37) na 1 mld złotych rocznie.

O wadze zagadnienia świadczy fakt powołania w szeregu krajów specjalnej służby do zwalczania chorób wymienia jak np. na Węgrzech (9), gdzie postępowanie opiera się na podobnych zasadach jak zwalczanie brucelozy i gruźlicy u bydła. Rozbudowana akcja zwalczania *mastitis* u krów istnieje również w NRF, NRD, USA, Anglii (cyt. za 34). W Polsce, jedynie w woj. poznańskim realizowane jest od 1967 r planowe zwalczanie chorób wymienia i nadzór nad higieną mleka, w oparciu o odpowiednie normy prawne (15).

Ekonomiczny problem *mastitis* u krów polega na: 1) utracie wzgl. zaniżonej produkcji

mleka od 7,4% do 28,0% (2, 18, 32, 38); 2) zaniżonej zawartości w mleku tłuszczu od 7,5% do 29,7% (Hansen cyt. za 18, 18), laktozy z 4,7% do 0,88%, kazeiny z 2,58% do 1,27% (Dahlberg i Mac Dowall cyt. za 18), przy równoczesnym wzroście ilości chlorków, białka niekazeinowego, toksyn i produktów rozpadu bakteryjnego oraz elementów komórkowych; 3) nieekonomicznej eksploatacji krów w wyniku skrócenia okresu laktacyjnego; 4) zaburzeniach przebiegu pokarmowego młodych zwierząt karmionych mlekiem zakażonym gronkowcami i paciorkowcami, co prowadzi do zahamowań przyrostów i padnięć; 5) trudnościach technologicznych przemysłu mleczarskiego i awariach serowarskich; 6) wysokich kosztach leczenia *mastitis*; 7) zagrożeniu zdrowia człowieka drobnoustrojami znajdującymi się w mleku zakażonym pierwotnie i wtórnie z powodu niskiego poziomu higieny przy pozyskiwaniu, skupie i transporcie mleka.

Założeniem i celem drugiej części badań własnych jest:

1) Ocena aktualnych warunków sanitarno-higienicznych w oborach i ich wpływ na powstawanie *mastitis* przy udoju mechanicznym i ręcznym.

2) próba oceny niektórych pozycji strat ekonomicznych w produkcji mleka i tłuszczu, oraz istniejących w tym zakresie rezerw produkcyjnych,

3) ocena ilościowa i jakościowa produkcji oraz skupu mleka pochodzącego z obór wolnych od brucelozy i gruźlicy,