

PATOLOGIA I TERAPIA

MARIAN GRUNDBOECK

Schemat badań hematologicznych i ich interpretacja w diagnostyce enzootycznej białaczki bydła

Z Pracowni Patologii Komórkowej Instytutu Weterynarii w Puławach

W masowo prowadzonych badaniach bydła w kierunku białaczki rozpoznawanie hematologiczne opiera się głównie na liczbie limfocytów w 1 μ l krwi. Pomocniczą rolę odgrywają tu: liczba białych krwinek w 1 μ l krwi, procent limfocytów oraz występowanie niedojrzałych i patologicznych komórek szeregu limfocytów. Eozynofilia występująca często w początkowej fazie choroby oraz niedokrwistość rozwijająca się w okresie nasilonych objawów klinicznych, bardzo rzadko są wykorzystywane w diagnostyce choroby ze względu na nieswoistość.

Warunkiem rozpoznania białaczki na podstawie limfocytozy jest stwierdzenie przewlekłego występowania tego objawu. Dlatego też, według przepisów obowiązujących w różnych państwach, do rozpoznania omawianej choroby niezbędne są przynajmniej dwa badania krwi w odpowiednim odstępie czasu, nie krótszym jednak jak 45 dni i nie dłuższym niż 9 miesięcy. Jeśli kolejno uzyskane wyniki są niezgodne, konieczne są dalsze oznaczenia odpowiednich parametrów. Układ i interpretacja tych badań są przedmiotem niniejszego artykułu.

Graniczne wartości poszczególnych parametrów hematologicznych w zakresie prawidłowym, podejrzanym i białaczkowym były ustalone przez wielu badaczy, a klucze białaczkowe są zestawieniem tych wartości w postaci tabel. Niektóre z tych kluczy uznawane są jako podstawa diagnostyki nawet w skali międzynarodowej. Tymczasem interpretacja wyników serii badań nie była jeszcze przedmiotem powszechnej dyskusji a dotychczasowe opracowania w tym zakresie mają charakter propozycji wstępnych.

Według ustawodawstwa duńskiego (4) zwierzęta wykazujące w pierwszym badaniu hematologicznym wyniki dodatnie lub wątpliwe bada się ponownie po 40—50 dniach. Jeśli uzyska się tu wynik dodatni, zwierzę badane jest po raz trzeci po upływie dalszych 30 dni. Dodatni wynik trzeciego badania jest podstawą rozpoznania białaczki i zwierzę traktowane jest na równi z bydlęciem wykazującym kliniczne objawy choroby.

Według danych z 1975 r. (3) rozpoznawanie hematologiczne białaczki w NRD opiera się w zasadzie na 3 badaniach krwi. Podstawą rozpoznania choroby są dwa wyniki dodatnie, wy-

nik dodatni i wątpliwy w dwu kolejnych badaniach względnie trzy wyniki wątpliwe. Tylko jeden wynik dodatni względnie wątpliwy przy dwóch wynikach ujemnych kwalifikuje zwierzę do grupy niepodejrzananej. W innych przypadkach konieczne są dalsze badania (tab. 1).

Tab. 1. Zasady hematologicznego rozpoznawania białaczki w NRD przy różnym układzie wyników w kolejnych badaniach krwi wg Rossow i wsp. (3)

1. badanie	2. badanie	3. badanie	Rozpoznanie
+	±	-	białaczka
+	-	+	białaczka
+	-	-	wolne od białaczki
±	±	±	białaczka
±	-	-	wolne od białaczki
+	-	±	konieczne dalsze badania
±	-	±	konieczne dalsze badania

W najnowszym schemacie rozpoznawania białaczki opracowanym w NRD (1) na uwagę zasługuje konieczność uzyskania przynajmniej dwóch wyników ujemnych dla zakwalifikowania zwierzęcia do grupy niepodejrzananej. Jeśli jednak te dwa wyniki ujemne przeplatane są dodatnimi względnie wątpliwymi, badania muszą być dalej kontynuowane (tab. 2).

Tab. 2. Propozycje NRD dotyczące zasad rozpoznawania białaczki w ramach RWPG (1)

1. badanie	2. badanie	3. badanie	4. badanie	Rozpoznanie
-	-			wolne od białaczki
+	+			białaczka
±	+			białaczka
+	-	-		wolne od białaczki
±	-	-		wolne od białaczki
±	±	±		białaczka
+	-	±	-	konieczne dalsze badania
-	±	±	±	konieczne dalsze badania

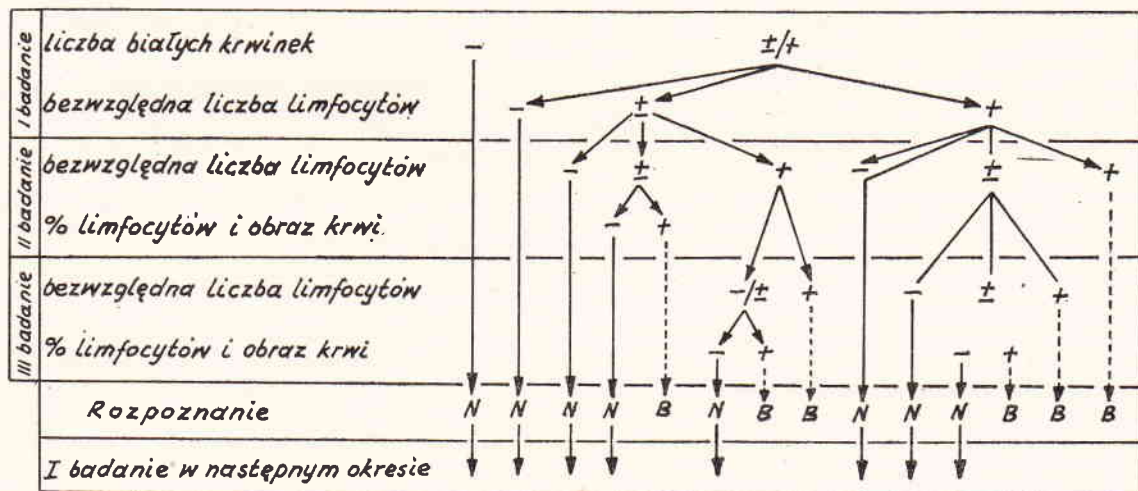
Krajowy schemat badań hematologicznych opracowany w Instytucie Weterynarii w Puławach oparty został na następujących założeniach:

1. powinien być utrzymany optymalny stosunek między wiarygodnością ostatecznego wyniku badań a obciążeniem laboratoriów diagnostycznych,
2. w każdym przypadku postawienie rozpoznania winno być możliwe w czasie nie dłuższym niż 5 miesięcy,
3. rozpoznanie winno opierać się na wszystkich podstawowych kryteriach diagnostycznych (liczba białych krwinek, bezwzględna i względna liczba limfocytów, morfologia krwinek),
4. winien być zachowany klucz hematologiczny przyjęty jako międzynarodowa podstawa rozpoznawania białaczki.

Schemat uwzględniający powyższe założenia został przedstawiony na ryc. 1. Upoważnia on

badaniu pierwszym według klucza europejskiego. Na podstawie ujemnego wyniku zalicza się zwierzę do grupy N. Dodatni wynik jest podstawą rozpoznania białaczki (B) wówczas, gdy również w poprzednim badaniu uzyskano dodatni wynik. Powtarzające się w obydwu badaniach wyniki wątpliwe wymagają dodatkowej oceny zwierzęcia na podstawie procentu limfocytów oraz morfologii tych komórek. Jeśli procent przekracza 75% (u sztuk w wieku poniżej dwóch lat 80%), zwierzę jest zaliczane do grupy B (białaczkowej). Inną podstawą rozpoznania białaczki może być stwierdzenie obecności limfocytów z wyraźnymi oznakami niedojrzałości względnie z wydatnymi odchyleniami od normy w ilości przekraczającej 1%. Zwierzęta, które w pierwszych dwóch badaniach wykazały jeden wynik dodatni i jeden wynik wątpliwy podlegają trzeciemu badaniu po 2—4 miesiącach.

Uzyskanie w trzecim badaniu dodatniego wyniku jest podstawą rozpoznania białaczki. Ujemny wynik jest podstawą zaliczenia zwierzę-



Ryc. 1. Krajowy schemat badań hematologicznych w kierunku białaczki bydła (Grundboeck, 2)

Objaśnienia: zakres prawidłowy liczby białych krwinek (znak —): poniżej 10 000; ocena bezwzględnej liczby limfocytów: wg klucza europejskiego; prawidłowy zakres procentu limfocytów: poniżej 75% (w wieku do 2 lat — poniżej 80%); prawidłowy obraz krwi: limfoblasty i nieprawidłowe limfocyty poniżej 1% leukocytów; rozpoznanie: N — zwierzę niebiałaczkowe, wartości w granicach normy, B — białaczka; badania I, II i III przeprowadza się w odstępach 2—4 miesięcy.

już w pierwszym badaniu do uznania zwierzęcia za niepodjęrzanę o białaczkę, jeśli liczba białych krwinek nie przekracza 10 000 w 1 μ l krwi. Przy wyższym poziomie leukocytów konieczne jest oznaczenie procentu limfocytów i obliczenie bezwzględnej liczby tych komórek. Liczbę tę ocenia się według klucza europejskiego (EWG) podanego w instrukcji hematologicznego rozpoznawania białaczki (2). Ujemny wynik jest podstawą zaliczenia zwierzęcia do grupy N (niepodjęrzanę o białaczkę), natomiast wynik dodatni lub wątpliwy nakłada obowiązek powtórnego badania po upływie 2—4 miesięcy.

W drugim badaniu (jak również w trzecim) liczba białych krwinek nie jest bezpośrednio wykorzystywana jako kryterium diagnostyczne. Rozpoznanie opiera się tu na bezwzględnej liczbie limfocytów ocenianej podobnie jak w

cia do grupy N (niepodjęrzanę) tylko wówczas, gdy wyniki w trzech badaniach wykazały kolejność +, ±, —. W pozostałych przypadkach o rozpoznaniu decyduje procent limfocytów względnie morfologia komórek szeregu limfocytów.

W przedstawionym schemacie nie została uwzględniona stosowana w niektórych państwach zasada uznania wyniku badania za dodatni tylko na podstawie dużej leukocytozy (np. powyżej 18 000). Rozpoznanie białaczki u zwierzęcia jest w znacznym stopniu równoznaczne z jego dyskwalifikacją (zwierzę takie nie podlega dalszym badaniom hematologicznym), a zatem stwierdzanie dodatnich wyników poszczególnych badań winno być dokonywane możliwie dokładnie, ze świadomością gospodarczych konsekwencji.

Podany schemat diagnostyczny jest dostosowany do rocznego cyklu badań obowiązującego w Polsce. Może być on wykorzystany bez zmian do cykli dłuższych, a do cykli 6-miesięcznych tylko z niezbędnym ograniczeniem czasokresów między badaniami.

Wprowadzenie omówionego schematu do badań rutynowych może być związane z pewnymi trudnościami. Jakościowe badania obrazu krwi nie mają jeszcze tradycji i personel laboratoryjny musi nabyć doświadczenia na tym odcinku. Prawidłowy pod względem technicznym obraz komórek zależy w znacznej mierze od właściwego konserwowania i przechowywania prób krwi, umiejętnego barwienia rozmazów a także od posiadania mikroskopów odpowiedniej klasy. Nadto, granice między komórkami zdecydowanie patologicznymi i prawidłowymi nie zawsze są wyraźne. Dlatego też dyskwalifikacja zwierzęcia na podstawie obrazu krwi może nastąpić tylko wtedy, gdy badający stwierdzi, że rozmaz jest sporządzony i wybarwiony w prawidłowy sposób oraz gdy nie ma wątpliwości, co do występowania w nim patologicznych komórek. W masowych badaniach hematologicznych widzi się zawsze zwierzę na tle populacji, dzięki czemu stwierdzenie odchylenia od normy jest łatwiejsze niż przy ocenie pojedynczych przypadków.

Należy sobie zdawać sprawę, że nawet przy najgenialniej skonstruowanym schemacie badań hematologicznych, pewna liczba przypadków białaczki nie zostanie rozpoznana, z drugiej zaś strony część rozpoznań choroby będzie dotyczyła zwierząt wolnych od białaczki. Wynika to z istnienia aleukemicznych form choroby oraz z nieswoistości metod hematologicznych. Dlatego też nawet znaczne zaostrożenie kryteriów rozpoznania hematologicznego oraz zwiększenie liczby badań krwi tylko w niewielkim stopniu może zwiększyć dokładność wykrywania choroby. Istotne usprawnienie diagnostyki białaczki bydła zostanie niewątpliwie osiągnięte dopiero wówczas, gdy obok badań hematologicznych będą stosowane w praktyce odczyny serologiczne.

EDJICHADI M., SZABUNIEWICZ M., EMMANUEL B.: Ostre zatrucie mocznikiem u owiec. (Acute urea toxicity in sheep). *Can. J. comp. Med.* 42, 63—68, 1978 (1).

Badania przeprowadzono na dwudziestu siedmiu owcach, samcach i samicach o wadze 20—40 kg w trzech grupach doświadczalnych. Siedmiu owcom z grupy I podano mocznik w dawce 0,5 g/kg. Owcom z grupy II podano mocznik w dawce 0,6 g/kg, z grupy III 0,75 g/kg wagi ciała. Kontrole stanowiły po 2 owce w każdej grupie. Średni czas przeżycia w grupie I wynosił 165 min., w II 109 i w III 60 minut. Pierwsze objawy kliniczne zatrucia pojawiały się po 15—30 minutach w formie depresji, skurczów mięśni szcęk i warg. Później występowało drżenie mięśni, zgrzytanie zębami, porażenia, rozszerzenie źrenic, konwulsje i zatrzymanie moczu. Przyczyną padnięcia były zaburzenia w oddychaniu. W płazmie występował wzrost poziomu glukozy, amoniaku i mocznika.

G.

Piśmiennictwo

1. Anonim.: Zamečanija delegacii GDR k pervomu proektu k standartu SEV „Vet. sanitarnye metody i sredstva diagnostiki lejkoza krupnogo rogatogo skota. Wusterhajsen, 1977.
2. Grundboeck M.: Hematologiczne rozpoznawanie białaczki bydła. Załącznik do Instrukcji Nr 47 Ministerstwa Rolnictwa, Departamentu Weterynarii z dn. 15 maja 1978.
3. Rossow N., Teichner R., Wolter F. (red.): Sicherung der Tiergesundheit in der industriemässigen Milchproduktion, VEB G. Fischer Verl. Jena, 1975.
4. Stougaard E., Flensburg J.: *Bull. Off. int. Epiz.* 85, 367, 1976.

Adres autora: prof. dr Marian Grundboeck, ul. 22 Lipca 3/18, 24-100 Puławy.

Грундбек М. — Схема гематологических исследований и их интерпретация в диагностике энзоотического лейкоза крупного рогатого скота.

Была разработана польская схема оценки результатов гематологических исследований (Рис. 1). Согласно этой схеме вступительное определение числа лейкоцитов может являться лишь основанием для сечения животных не подозреваемых в болезни. Лейкоз может быть распознан у животных, которые показали:

- a) абсолютный лимфоцитоз в двух исследованиях, проведенных с 2—4 месячным интервалом,
- b) умеренный рост числа лимфоцитов в двух исследованиях, а сверх того повышение процента лимфоцитов либо наличие аномальных лимфоцитов в мазке крови,
- в) одно обнаружение лимфоцитоза, а также один или два результата с умеренным ростом лимфоцитов; сверх того рост процента лимфоцитов либо наличие патологических изменений в морфологии лимфоцитов.

Grundboeck M. — A scheme of hematologic examinations and their interpretation in the diagnosis of enzootic bovine leukosis.

Polish scheme of evaluation of hematologic results has been established (Fig. 1). According to the scheme, preliminary examination of white cell count may serve only as the basis to qualify the animals as unsuspected of the disease. Leukosis may be diagnosed in animals which have revealed:

- a) absolute lymphocytosis in two examinations 2—4 months apart;
- b) moderately increased lymphocyte counts in two examinations and moreover an elevation of lymphocyte percent or appearance of abnormal lymphocytes in blood smear;
- c) one detection of lymphocytosis and one or two results with a moderate increase of lymphocyte count. Besides, elevation of lymphocyte percentage or appearance of pathological changes in the lymphocytes morphology.

TRUEBLOOD M. S., SWIFT B. L., MC HOLLAND-RAYMOND S.: Herpesvirus bydła wyizolowany od owiec. (A bovine herpesvirus isolated from sheep). *Can. J. comp. Med.* 42, 97—99, 1978 (1).

Z tchawicy jagniąt poddanych ubojowi u których występowała konsolidacja odcinków brzusznych płuc, szczytowych płuc, wyizolowano w jednowarstwowej hodowli komórek płuc płodu cielęcia wirus, który na podstawie właściwości fizycznych i chemicznych zaliczono do grupy Herpes. Wyosobniony od jagniąt szczep zawierał DNA, był wrażliwy na działanie eteru i kwasów i ulegał inaktywacji w 56°C po 5 minutach. Wirus działał cytopatycznie na komórki hodowli nerki płodu cielęcia, jąder, tchawicy, płuc, śledziony i szpiku kostnego, komórek myszek L829 i pstrąga tęczowego.

G.