

Techniki laboratoryjne wykorzystywane w diagnostyce chorób transmisyjnych u zwierząt. Część II. Badania dodatkowe

Wojciech Zygmier¹, Olga Gójska-Zygmier², Anna Rodo³, Karol Sobków⁴

z Zakładu Parazytologii i Inwazyjologii Katedry Nauk Przedklinicznych¹ i Zakładu Patomorfologii Zwierząt Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej³ Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie oraz Centrum Zdrowia Małych Zwierząt – Kliniki Multiwet w Warszawie² i Weterynaryjnego Laboratorium Diagnostycznego – Lab-Wet w Warszawie⁴

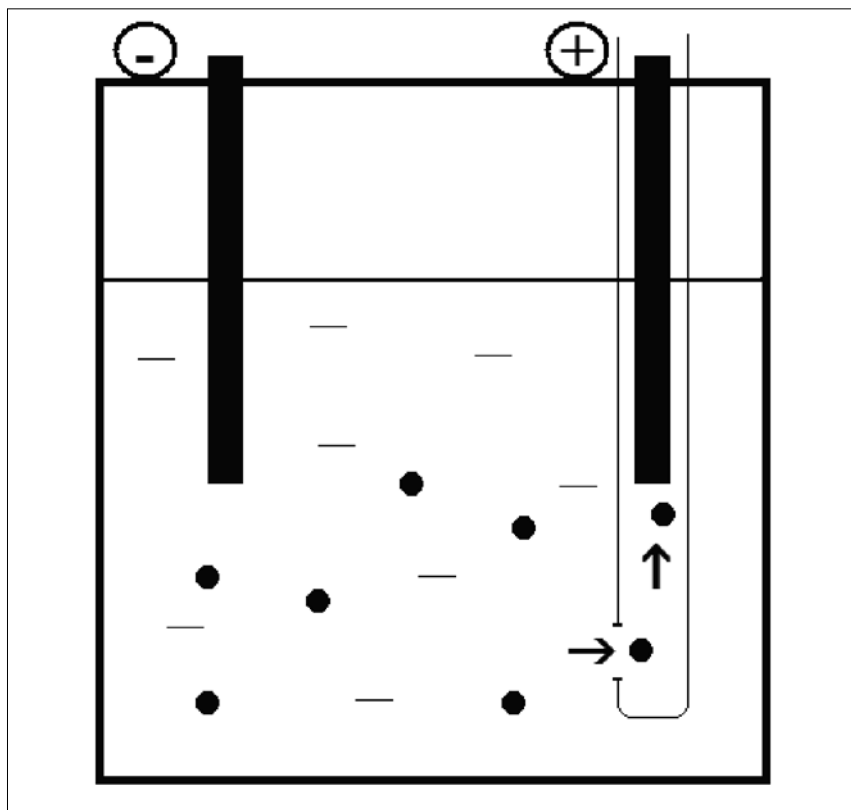
Choroby transmisyjne zwierząt stanowią grupę groźnych chorób zakaźnych i pasożytniczych przenoszonych przez pasożytnicze stawonogi, z których znaczną część stanowią zoonozy (1, 2).

W pierwszej części artykułu (3) przedstawiono podział chorób transmisyjnych oraz opisano techniki laboratoryjne wykorzystywane w rozpoznawaniu zakażeń bądź inwazji u zwierząt powodowanych

przez patogeny przenoszone przez stawonogi. Poza testami ukierunkowanymi na wykrywanie zarazków, w diagnostyce laboratoryjnej chorób transmisyjnych zastosowanie znajdują również badania dodatkowe nieprowadzące bezpośrednio do wykrycia patogenu, jednakże wskazujące na uszkodzenia różnych narządów oraz ułatwiające postawienie podejrzenia choroby transmisyjnej. Do badań tych zaliczyć można badanie morfologiczne krwi, badania biochemiczne surowicy oraz badanie ogólne moczu.

Badanie morfologiczne krwi

Na badanie morfologiczne krwi składają się: analiza ilościowa poszczególnych elementów morfotycznych krwi pełnej, ocena dodatkowych parametrów



Ryc. 1. Schemat działania elektronicznego analizatora hematologicznego. Symbolami plus i minus oznaczono elektrody, strzałki wskazują kierunek przepływu strumienia mierzonych i liczonych komórek

$$\text{RBC (10}^{12}/\text{l)} \times \text{MCV (10}^{-15}\text{l)} = \text{Ht (l/l)}$$

$$\downarrow$$

$$[\text{Hb (g/dl)}/\text{Ht (l/l)}] \times 100 = \text{MCHC (g/dl)}$$

Ryc. 2. Wzory obliczeń hematokrytu oraz średniego stężenia hemoglobiny w krwince czerwonej. RBC – liczba krwinek czerwonych, MCV – średnia objętość krwinki czerwonej, Ht – hematokryt, Hb – stężenie hemoglobiny, MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej; RBC, MCV i Hb – wartości oznaczone za pomocą analizatora hematologicznego. W pierwszym wzorze na podstawie wartości liczby krwinek czerwonych i średniej objętości krwinki czerwonej obliczany jest hematokryt. W drugim wzorze na podstawie wartości stężenia hemoglobiny oraz hematokrytu obliczane jest średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej. Wartość Hb oraz MCHC w wielu laboratoriach podawana jest w mmol/l. Współczynnik przeliczeniowy dla tych wartości wynosi 0,6206 (3, 17)

czerwonokrwińkowych, ocena mikroskopowa krwinek oraz leukogram. Pierwsze dwie składowe badania przeprowadzane są w analizatorach hematologicznych, które mierzą wielkość i liczbę komórek oraz określają stężenie hemoglobiny. W laboratoriach weterynaryjnych używane są dwa typy analizatorów: laserowe i elektroniczne. W analizatorach laserowych przepływający strumień komórek rozprasza promień lasera, a rozproszenie to jest proporcjonalne do wielkości komórki. Z kolei w analizatorach elektronicznych strumień komórek przepuszczany jest przez roztwór izotoniczny z zanurzonymi w nim podłączonymi do prądu elektrodami. W aparacie takim elektroda dodatnia umieszczona jest wewnątrz szklanej rurki z małym otworem, przez który przepływają komórki

krwi. Wpływające przez ten otwór komórki przejściowo zakłócają przepływ prądu. Aparat liczy każde zakłócenie przepływu prądu, a wielkość zmiany napięcia jest proporcjonalna do objętości komórki (4). Schemat działania elektronicznego analizatora hematologicznego przedstawiono na rycinie 1. Badanie w analizatorze hematologicznym przebiega w dwóch etapach. W etapie pierwszym w roztworze izotonicznym mierzona jest objętość i liczba krwinek czerwonych i płytek krwi. Następnie do roztworu dodawany jest czynnik powodujący lizę erytrocytów i trombocytów, po czym mierzone są liczba i wielkość krwinek białych oraz stężenie hemoglobiny. Ponadto analizator z uzyskanych danych oblicza hematokryt oraz średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej. Wzory

Laboratory methods in diagnostics of animal transmissible diseases. Part II. Additional examinations

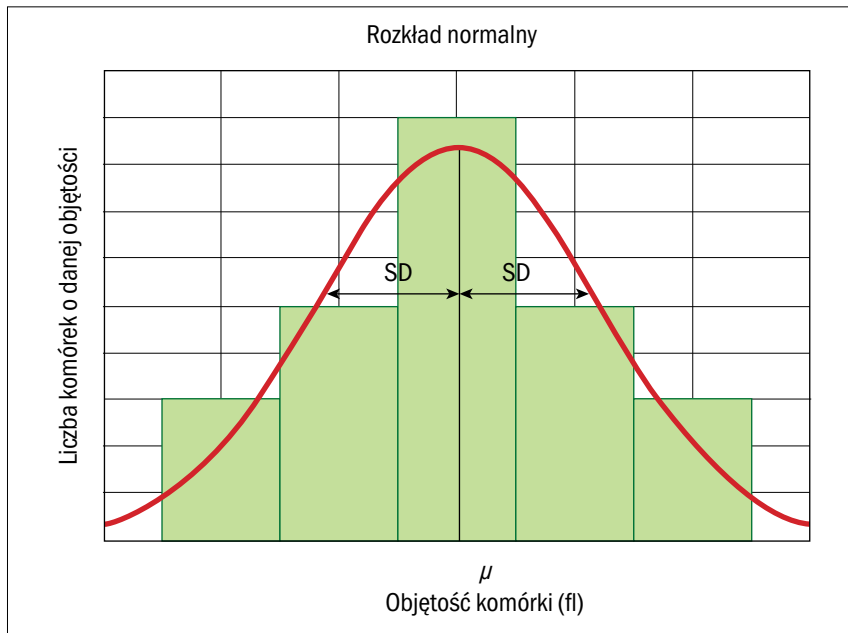
Zygnier W.¹, Gójska-Zygnier O.², Rodo A.³, Sobków K.⁴, Division of Parasitology and Parasitic Diseases, Department of Preclinical Sciences¹, Division of Animal Pathomorphology, Department of Pathology and Veterinary Diagnostics³, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences-SGGW and Small Animals Health Center – Multiwet Clinic in Warsaw² and Veterinary Diagnostic Laboratory – Lab-Wet in Warsaw⁴.

This is the Part II of review on the laboratory diagnostics of arthropod-borne diseases in animals. These infectious diseases are considered very important for veterinary practitioner. Many of them are zoonoses and their course may be frequently severe. Different transmission diseases are diagnosed with the use of different methods. For some diseases traditional methods such as bacterial culture or cytology are satisfactory but in many others serological and/or molecular biology techniques are also required. Moreover, there are also hematology and biochemistry methods and urinalysis that may add to complete the diagnosis of transmission diseases. In Part I of the review the authors described major laboratory methods used for the diagnosis of arthropod-borne diseases in animals and gave the examples. In Part II, the additional laboratory techniques and their significance in diagnosis of arthropod-borne animal diseases are presented.

Keywords: hematology, complete blood count, biochemical examination, urinalysis.

obliczeń dla tych parametrów przedstawiono na rycinie 2.

Dodatkowo analizatory hematologiczne obliczają wskaźniki anizocytozy dla krwinek czerwonych (red blood cell distribution width – RDW) oraz płytek krwi (platelet distribution width – PDW). Wskaźnik anizocytozy jest matematycznym indeksem opisującym względną szerokość krzywej rozkładu objętości komórek i oblicza się go ze stosunku odchylenia standardowego do średniej arytmetycznej objętości komórek. Zatem, im wyższe będzie odchylenie standardowe, wskazując na duży rozrzut wartości objętości komórek, tym wyższa będzie wartość wskaźnika anizocytozy. Przykładowo średnia objętość krwinki czerwonej (mean corpuscular volume – MCV) może pozostawać w normie, jednakże wartość ta wynikać może z dużej liczby zarówno mikrocytów (np. sferocytów), jak i młodocianych krwinek o dużej objętości. W związku z tym sama wartość średniej objętości krwinki przy ocenie niedokrwistości może nie dać odpowiedzi, czy we krwi występują zarówno krwinki małe, jak i duże, natomiast wartość



Ryc. 3. Histogram rozkładu objętości krwinek czerwonych lub płytek krwi. SD – odchylenie standardowe, μ – średnia arytmetyczna, czyli MCV lub MPV, gdzie MCV jest średnią objętością krwinki czerwonej, natomiast MPV jest średnią objętością płytki krwi. Wskaźnik anizocytozy dla erytrocytów oblicza się ze wzoru $RDW = (SD \div MCV) \times 100\%$, natomiast wskaźnik anizocytozy dla płytek krwi oblicza się ze wzoru $PDW = (SD \div MPV) \times 100\%$.

wskaźnika anizocytozy odpowie na to pytanie. Sytuacja taka może być obserwowana np. w przebiegu niedokrwistości spowodowanej niszczeniem krwinek przez własny układ immunologiczny, prowadząc do powstawania sferocytów z równoczesnym przyspieszonym uwalnianiem ze szpiku niedojrzałych, o większej objętości, krwinek czerwonych, co obserwowane jest np. w przebiegu babeszjozy (4, 5, 6, 7, 8). Przykładowy histogram dla rozkładu objętości krwinek czerwonych lub płytek krwi przedstawiono na **rycinie 3**.

Kolejną składową morfologicznego badania krwi jest mikroskopowa ocena rozmazu krwi, w którym, poza wymienionymi wcześniej wykrywaniem niektórymi patogenami, takimi jak np. *Babesia*, *Theileria* czy *Anaplasma*, ocenia się również w przypadku krwinek czerwonych: zabarwienie, wielkość i kształt krwinek, obecność różnych struktur na powierzchni bądź wewnątrz erytrocytów oraz sposób układania się krwinek względem siebie. Ponadto w mikroskopowym badaniu krwi ocenia się również wielkość płytek krwi, obecność różnych struktur w ich wnętrzu oraz ich układanie się w rozmazie. Z kolei w przypadku białych krwinek określane jest leukogram, zmiany w leukocytach oraz obecność różnych struktur w ich wnętrzu (4, 9, 10, 11, 12).

W przypadku mikroskopowej oceny zabarwienia krwinek czerwonych w badaniu stwierdzić można oligochromazję, hipochromazję bądź też polichromazję. Termin oligochromazja wskazuje na prawidłowe zabarwienie krwinek. Hipochromazja, czyli występowanie krwinek z białym

środkiem, jest typowe dla niedoborów żelaza i najłatwiej zaobserwować można to zaburzenie u psów. Niedobory żelaza mogą być spowodowane przewlekłą stratą krwi i, w przypadku chorób transmisyjnych, nie są spowodowane przez patogeny przenoszone przez stawonogi, lecz przez intensywną długotrwałą inwazję samych stawonogów krwiopijnych, np. pcheł (9, 13). Warto jednak dodać, iż hipochromazja występuje również w przypadku występowania na obwodzie młodocianych krwinek posiadających nie w pełni zsyntetyzowaną hemoglobinę, co wskazuje na niedokrwistość regeneratywną. W tym wypadku w badaniu morfologicznym krwi obserwowane jest obniżenie wartości MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration – średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej) oraz wzrost MCV (9, 14). Z kolei polichromazja wskazuje na występowanie w rozmazie krwi erytrocytów barwiących się na niebiesko.

Występowanie polichromatofilnych erytrocytów w rozmazie krwi jest istotne z punktu widzenia oceny przyczyny niedokrwistości, gdyż takie erytrocyty są młodocianymi krwinkami uwolnionymi na obwód ze szpiku w odpowiedzi na rozpad krwinek bądź utratę krwi. Ich zabarwienie wynika z obecności w cytoplazmie organelli, takich jak rybosomy czy mitochondria. Obecność we krwi obwodowej polichromatofili informuje zatem lekarza o tym, iż szpik kostny jest wydolny i reaguje na rozwijającą się niedokrwistość (14, 15). W przypadku chorób transmisyjnych polichromazja jest obserwowana np. w przebiegu babeszjozy; z kolei

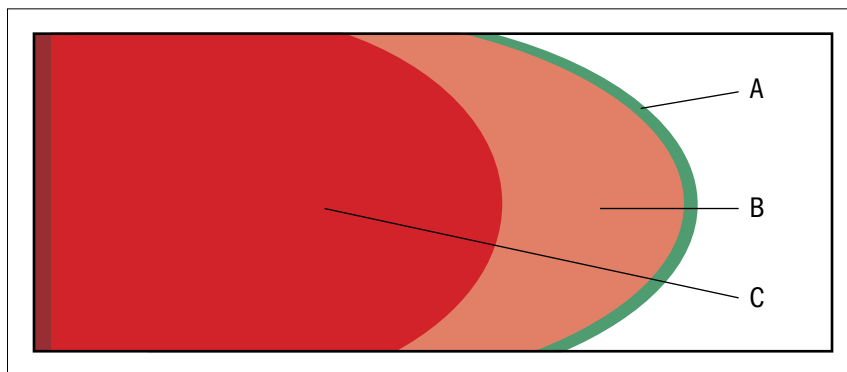
w przebiegu erlichiozy monocytarnej, podobnie jak w przypadku części psów zarażonych *Hepatozoon canis*, pomimo występowania niedokrwistości, nie obserwuje się odpowiedzi szpiku w postaci uwolnienia na obwód młodocianych erytrocytów (16, 17). Warto jednak podkreślić, iż lekarz weterynarii powinien zdawać sobie sprawę z faktu, iż o obecności bądź braku młodocianych krwinek we krwi obwodowej decyduje czas, jaki upłynął od początku straty bądź niszczenia krwinek, gdyż pierwsze niedojrzałe erytrocyty pojawiają się w ciągu 2–4 dni od początku procesu straty krwinek. W związku z tym w przypadku rozpoznania niedokrwistości nieregeneratywnej wskazane jest ponowne badanie krwi po kilku dniach (14, 15).

W mikroskopowej ocenie wielkości krwinek czerwonych stosowane są takie terminy, jak: izocytoza, mikrocytoza, makrocytoza oraz anizocytoza (18). Izocytoza wskazuje na prawidłową wielkość krwinek. Mikrocytoza z kolei, w przeciwieństwie do makrocytozy, wskazuje, iż w rozmazie krwi występuje przewaga krwinek o zmniejszonej objętości. W badaniu rozmazu krwi zaobserwować można dwa typy mikrocytów: sferocyty oraz mikrocyty niesferocytowe (18). W przebiegu niektórych chorób transmisyjnych związanych z niszczeniem krwinek o podłożu immunologicznym stwierdzano występowanie sferocytów, czyli czerwonych krwinek z uszkodzoną błoną komórkową, które utraciły swój dyskowaty dwuwklęsły kształt (5). Przykładami chorób transmisyjnych, w przebiegu których stwierdzano występowanie sferocytów, mogą być babeszjoza, mykoplazmoza hemotropowa czy leiszmanioza (19). Warto jednak podkreślić, iż najczęstszą przyczyną powstawania mikrocytów są niedobory żelaza, natomiast mikrocytoza może być wykryta znacznie wcześniej przy użyciu analizatora hematologicznego, w którym oceniona zostanie średnia objętość krwinki niż w badaniu mikroskopowym rozmazu krwi (9). Ponadto warto dodać, iż sferocytoza najłatwiej jest rozpoznawana u psów ze względu na wyraźną dwuwklęsłość erytrocytów, dzięki czemu wyraźnie widać różnicę pomiędzy prawidłowymi krwinkami czerwonymi a sferocytami, natomiast u pozostałych gatunków zwierząt zidentyfikowanie sferocytów jest niezmiernie trudne (9, 14). Inną obserwowaną w mikroskopowym badaniu rozmazu krwi zmianą dotyczącą wielkości erytrocytów jest makrocytoza. Makrocytoza związana jest ze wzrostem MCV, a więc najczęściej uwalnianiem na obwód niedojrzałych erytrocytów. Rzadkie przypadki makrocytozy, bez obserwowanej równocześnie polichromazji nie są związane z chorobami transmisyjnymi, natomiast mogą być związane z chorobami

mieloproliferacyjnymi u kotów, w związku z czym nie są omówione w tej pracy (9). Ostatnie określenie odnoszące się do wielkości erytrocytów to anizocytoza, czyli występowanie równocześnie erytrocytów różnej wielkości, a więc obserwowana jest zarówno w przypadku makro-, jak i mikrocytozy. Parametr ten mówi jednak niewiele bez podania równocześnie wartości MCV (14).

W przebiegu chorób transmisyjnych obserwowano występowanie krwinek o różnych kształtach. Zjawisko to określane jest terminem poikilocytoza. Spośród zmienionych erytrocytów w przebiegu chorób transmisyjnych występować mogą m.in. schistocyty, akantocyty, kodocyty czy ecentrocyty. Schistocyty są fragmentami erytrocytów. Ich występowanie w rozmazie krwi jest charakterystyczne dla rozwoju zespołu rozsianego krzepnięcia wewnątrznaczyniowego (disseminated intravascular coagulation – DIC) obserwowanego m.in. w przebiegu babeszjozy u psów, cytauksozoozy u kotów, gorączki plamistej Gór Skalistych czy dirofilariozy sercowo-płucnej. Stwierdzenie obecności schistocytów jest jednym z drugorzędnych kryteriów rozpoznania DIC. Schistocyty jednakże mogą również pojawić się w przebiegu niedokrwistości spowodowanej niedoborem żelaza (9, 14, 20, 21). Akantocyty z kolei są komórkami posiadającymi nieregularne wypustki. Ich obecność może być sporadycznie stwierdzana w rozmazach krwi zwierząt w przebiegu uszkodzenia wątroby (zwłaszcza u kotów), co ma miejsce w przebiegu wielu chorób transmisyjnych. Pojawiają się one na skutek zaburzonej gospodarki lipidowej prowadzącej do zmian w strukturze błony komórkowej erytrocytów. Warto jednak podkreślić, iż obecność akantocytów w rozmazie krwi u psów ras dużych najczęściej wskazuje na rozwój naczyniakomięsaka, nie jest to jednak tematem tej pracy (9, 14, 22). Kodocyty (komórki tarczowate) natomiast są komórkami ze skupioną w centrum hemoglobina. Komórki te występować mogą w przebiegu uszkodzeń wątroby, nerek czy też zaburzeń gospodarki lipidowej. Ecentrocyty natomiast, erytrocyty z hemoglobina przemieszczoną na jedną ze stron komórki, obserwowane są w przebiegu tlenowego uszkodzenia krwinek, co obserwowano m.in. w przebiegu babeszjozy u psów (8, 9, 12, 14).

Poza stwierdzanymi na powierzchni bądź wewnątrz krwinek czerwonych patogenami, w mikroskopowym badaniu rozmazu krwi stwierdzić można również obecność ciałek Heinza lub ciałek Howell-Jolly'ego. Pierwsze z wymienionych struktur są zdenaturowaną hemoglobina. Zmiany takie są typowe dla tlenowego uszkodzenia krwinek czerwonych, co obserwuje się np. w przebiegu babeszjozy psów (8, 9, 21).



Ryc. 4. Strefy rozmazu krwi na szkiełku podstawowym: A – strefa brzeżna, B – strefa obliczeń, C – strefa główna

Należy jednak podkreślić, iż ciałka Heinza można również znaleźć w około 1% erytrocytów obserwowanych w rozmazach krwi zdrowych kotów (9). Z kolei ciałka Howell-Jolly'ego są pozostałościami jąder komórkowych erytroblastów, a ich obecność wskazuje na niedokrwistość regeneratywną (9).

W przypadku obserwowanego w rozmazie krwi układania się krwinek czerwonych względem siebie należy wymienić dwa zjawiska: formowanie rulonów oraz aglutynację. Układające się w rulony erytrocyty (nakładające się na siebie w jednej linii) wskazują na wzrost stężenia białek osocza, takich jak fibrynogen i immunoglobuliny, co jest typowe dla leiszmaniozy czy erlichiozy monocytarnej psów. Należy jednak dodać, iż niewielka liczba rulonów obserwowana jest również w rozmazach zdrowych psów i kotów, a w przypadku zdrowych koni stwierdzić można nawet znaczne formowanie rulonów (9, 23, 24). Z kolei zjawisko aglutynacji prowadzi do powstawania nieregularnych zlepów erytrocytów, co związane jest z występowaniem przeciwciał skierowanych przeciwko błonie komórkowej krwinek czerwonych i jest typowe dla rozwoju niedokrwistości o podłożu immunologicznej obserwowanej m.in. w przebiegu babeszjozy, leiszmaniozy czy erlichiozy monocytarnej (9, 21, 23, 24). Należy tutaj podkreślić, iż zjawisko aglutynacji może fałszywie zawyżać wartość MCV, w przypadku małych klastrow składających się z dwóch lub trzech krwinek, oraz obniżyć liczbę erytrocytów (9).

W przypadku oceny zmian w wielkości płytek krwi w badaniu mikroskopowym rozmazu krwi ocenia się wielkość płytek oraz ich ułożenie. Ponadto wewnątrz płytek krwi stwierdzić można obecność odpowiedzialnego za anaplazmozę trombocytarną patogenu, jakim jest *Anaplasma platys* (23). Analogicznie do oceny wielkości krwinek czerwonych w rozmazie można również stwierdzić obecność płytek małych bądź olbrzymich. Małe płytki krwi powstają na skutek uszkodzenia ich błony komórkowej w przebiegu małopłytkowości o podłożu immunologicznym,

a mechanizm ich powstawania jest analogiczny do mechanizmu formowania się sferocytów w przypadku krwinek czerwonych. Przy wydolnym szpiku w odpowiedzi na małopłytkowość do krążenia uwalniane są płytki olbrzymie. Należy pamiętać, iż analizator hematologiczny może takie płytki policzyć jako erytrocyty lub nawet leukocyty (25). Małopłytkowość, w przypadku chorób transmisyjnych, jest obserwowana m.in. w przebiegu babeszjozy, cytauksozoozy, anaplazmozy trombocytarnej, trypanosomozy afrykańskiej, hepatozoozy czy leiszmaniozy (21, 23, 24, 26, 27). W przypadku oceny układania się płytek krwi w rozmazie stwierdzić można, zwłaszcza w przebiegu babeszjozy u kotów, formowanie klastrow złożonych z płytek, które mogą powodować fałszywe obniżenie liczby płytek ocenianej przez analizator hematologiczny (28, 29).

Ostatnią składową mikroskopowej oceny rozmazu krwi jest leukogram. Z kolei składowymi leukogramu ocenianymi w przypadku chorób transmisyjnych są: procentowy skład poszczególnych krwinek białych, przeliczone, bezwzględne liczby poszczególnych leukocytów, ocena zmian w krwinkach białych, takich jak liczba segmentów jąder neutrofilów czy obecność zmian toksycznych oraz obecność przenoszonych przez stawonogi patogenów wewnątrzkomórkowych (10).

Przed określeniem procentowego składu poszczególnych krwinek białych należy znaleźć na rozmazie krwi pole, na którym to badanie zostanie przeprowadzone. W rozmazie krwi można rozróżnić 3 strefy: brzeżną, obliczeń oraz strefę główną (ryc. 4). Oszacowanie procentowe krwinek białych przeprowadza się w strefie obliczeń. Jest to strefa, w której komórki leżą w jednej warstwie. Procentowe określenie poszczególnych leukocytów przeprowadzane jest przez policzenie 100 krwinek białych i zaklasyfikowanie ich do poszczególnych kategorii (neutrofile pałeczkowane i segmentowane, eozynofile, monocyty i bazofile). Wynikami tego badania jest odpowiedź, jaki odsetek leukocytów stanowią np. eozynofile. Następnie, mnożąc

te przykładową liczbę eozynofiliów przeliczoną na ułamek dziesiątą przez całkowitą liczbę leukocytów określoną w analizatorze hematologicznym, uzyskuje się bezwzględną wartość dla liczby eozynofiliów we krwi (4). Dopiero to badanie w połączeniu z wynikiem dla całkowitej liczby krwinek białych we krwi daje odpowiedź, czy u danego zwierzęcia występuje eozynofilia, neutropenia czy też neutrofilia. Badanie to jest bardzo przydatne w diagnostyce wielu chorób i jest również użyteczne w diagnostyce chorób transmisyjnych u zwierząt.

Przykładowo w przebiegu babeszjozy i anaplazmozy granulocytarnej u psów stwierdzana jest często neutropenia, natomiast w przebiegu hepatozoonozy czy leiszmaniozy z kolei neutrofilia (16, 23, 24, 26). Ponadto wynik leukogramu w połączeniu z wynikiem z analizatora hematologicznego daje odpowiedź, czy w przebiegu choroby występuje przesunięcie obrazu w lewo, które świadczy o obecności młodocianych neutrofilów we krwi obwodowej. Przesunięcie obrazu w lewo towarzyszyć może zarówno neutropenii, jak i neutrofilii. W przypadku przesunięcia obrazu w lewo z równoczesną neutrofilią powodującą leukocytozę mówi się o regeneratywnym przesunięciu obrazu w lewo, natomiast w sytuacji, gdy liczba młodocianych neutrofilów przekracza liczbę neutrofilów segmentowanych z równocześnie pozostającą w normie całkowitą liczbą leukocytów bądź łagodną leukopenią, mówi się o degeneratywnym przesunięciu obrazu w lewo. Regeneratywne przesunięcie obrazu w lewo wskazuje, iż odpowiedź szpiku kostnego jest adekwatna do toczącego się procesu zapalnego, natomiast degeneratywne przesunięcie obrazu w lewo wskazuje na sytuację, w której zapotrzebowanie na neutrofile w przebiegu procesu zapalnego jest większe niż możliwości szpiku. Określenie jakiego typu występuje przesunięcie obrazu w lewo jest użyteczne w prognozowaniu przebiegu choroby (14). Warto dodać, iż u zwierząt występować może również fizjologiczna neutrofilia, która wynika z przejścia neutrofilów z puli brzeżnej do puli krążącej. Dzieje się tak w wyniku działania katecholamin uwalnianych w sytuacjach stresowych, jakimi dla zwierząt może być oczekiwanie w poczekalni lecznicy czy samo pobieranie krwi (14).

Poza przesunięciem obrazu w lewo występować może również przesunięcie obrazu w prawo, które oznacza wzrost liczby neutrofilów z hipersegmentacją jądra komórkowego – występuje 5 lub więcej płatków jądra (14). Są to neutrofile starsze, a ich obecność świadczy o przedłużonym pozostawianiu tych komórek we krwi obwodowej. Występowanie we krwi takich neutrofilów najczęściej spowodowane jest działaniem

egzogennych bądź endogennych glikokortykosteroidów, które powodują obniżenie ekspresji cząsteczek adhezyjnych na powierzchni tych komórek, prowadząc w ten sposób do ograniczenia ich przechodzenia z krążenia do tkanek. Neutrofilia spowodowana działaniem glikokortykosteroidów określana bywa terminem neutrofilia stresowa, pomimo że w mechanizmie jej powstawania nie biorą udziału katecholaminy, lecz glikokortykosteroidy. Ponadto hipersegmentacja jąder neutrofilów może występować u sznaucerów olbrzymów z niedoborem witaminy B12, kotów z niedoborem kwasu foliowego oraz u koni w przebiegu idiopatycznej hipersegmentacji. Warto również dodać, iż zbyt długie zwlekanie z wykonaniem rozmazu krwi żyłnej pobranej do probówki z EDTA również może skutkować hipersegmentacją jąder neutrofilów (12, 14, 30). Poza hipersegmentacją jąder w mikroskopowym badaniu rozmazu krwi stwierdzić można również zmiany toksyczne w neutrofilach, takie jak: wzrost zasadochłonności cytoplazmy, piankowatość cytoplazmy oraz obecność ciałek Döhlego. Zmiany te wynikają ze zwiększonej zawartości w cytoplazmie rybosomalnego RNA (bazofilia cytoplazmy), obecności lizosomów lub rozpadu organelli cytoplazmatycznych (piankowatość) oraz z obecności skupisk szorstkiej siateczki wewnątrzplazmatycznej (ciałka Döhlego). Zmiany toksyczne w neutrofilach towarzyszą na ogół przesunięciu obrazu w lewo (12, 30). Poza zmianami toksycznymi i hipersegmentacją jąder neutrofilów wśród zmian dotyczących leukocytów wymienić warto występowanie u zwierząt we krwi obwodowej: neutrofilów z hiposegmentacją jąder komórkowych (występują na ogół jądra dwupłatkowe, tzw. anomalia Pelger-Huëta), wakuolizacji limfocytów (związanych z zatruciem u koni i bydła roślinami zawierającym alkaloid swainsoninę), limfocytów atypowych czy limfoblastów (związanych z chorobami limfoproliferacyjnymi; 12, 30). Opisywanie tych zmian wykracza jednak poza tematykę tej pracy. Warto jednak dodać, iż anomalia Pelger-Huëta może być mylona z przesunięciem obrazu w lewo, a przez to powodować błędną interpretację wyniku badania, dlatego też rozmaz krwi powinien być oceniany przez osobę przeszkoloną i doświadczoną w tym zakresie (12).

Oceniając leukogram warto również wspomnieć o zjawisku aglutynacji leukocytów. Uważa się, iż związane jest ono z występowaniem przeciwciał typu zimne aglutyniny. Przeciwciała te reagują z leukocytami dopiero po pobraniu krwi w temperaturze pokojowej lub niższej, natomiast reakcja nie zachodzi *in vivo*. Mimo to należy mieć świadomość, że uzyskanie informacji z laboratorium o aglutynacji leukocytów wskazuje, iż liczba leukocytów określona

przez analizator hematologiczny może być fałszywie zaniżona (30).

Oglądając pod mikroskopem rozmaz krwi można również znaleźć niektóre patogeny przenoszone przez stawonogi. Wewnątrz erytrocytów stwierdzić można obecność pierwotniaków z rodzajów *Babesia* i *Theileria* u wielu gatunków zwierząt, jak również obecność pierwotniaków z rodzaju *Cytauxzoon* u kotów czy też riketsji *Anaplasma marginale* u bydła. Z kolei na powierzchni erytrocytów u psów i kotów znaleźć można mykoplazmy hemotropowe, takie jak *Mycoplasma haemofelis*, *M. haemocanis* czy *M. haemominutum*. Spośród przenoszonych przez stawonogi zarazków zasiedlających płytki krwi wymienić należy riketsje *Anaplasma platys* odpowiedzialne za rozwój anaplazmozy trombocytarnej u psów. Ponadto wewnątrz leukocytów stwierdzić można obecność riketsji zasiedlających neutrofile, takich jak *Ehrlichia ewingii* (powodujących u psów rozwój erlichiozy granulocytarnej) czy *Anaplasma phagocytophilum* (powodujących u psów, kotów, koni oraz ludzi rozwój anaplazmozy granulocytarnej). Z kolei w monocytach znaleźć można riketsje, takie jak *Ehrlichia canis* (czynnik etiologiczny erlichiozy monocytarnej psów) czy *Ehrlichia chaffeensis* (powodująca erlichiozę monocytarną u ludzi i psów). Również wewnątrz neutrofilów wykryć można pierwotniaki *Hepatozoon canis* (powodujące hepatozoonozę u psów i kotów) oraz *H. americanum* (powodujący hepatozoonozę u psów). Ponadto *H. americanum* znaleźć można również wewnątrz monocytów (12, 23, 26, 31, 32). Oglądając rozmaz krwi stwierdzić również można obecność pasożytów w osoczu krwi, takich jak pierwotniaki z rodzaju *Trypansoma* powodujących inwazje u wielu gatunków zwierząt i ludzi oraz obecność larw niektórych nicieni z nadrodziny Filarioidea (mikrofilarii) należących do rodzajów m.in. *Dirofilaria*, *Dipetalonema* czy *Brugia* (27, 33, 34, 35, 36).

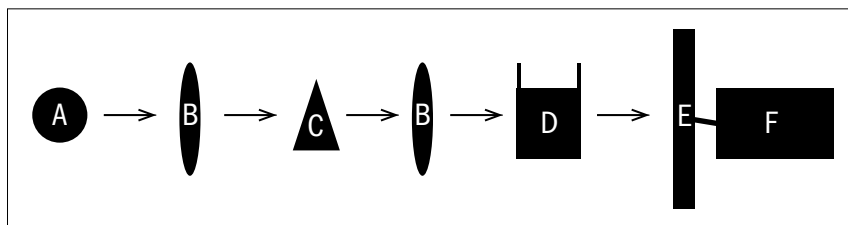
Badania biochemiczne surowicy

Kolejną grupą badań przydatnych w diagnostyce chorób transmisyjnych są badania biochemiczne surowicy. Oznaczenia biochemiczne, z wyjątkiem elektroforezy białek surowicy, przeprowadza się w analizatorze biochemicznym. Do najczęściej wykonywanych i przydatnych w diagnostyce chorób transmisyjnych zwierząt oznaczeń należą:

- oznaczanie stężeń: glukozy, mocznika, kreatyniny, bilirubiny, albumin i białka całkowitego,
- oznaczanie aktywności transaminaz alaninowej i asparaginianowej, fosfatazy zasadowej oraz kinazy kreatynowej,
- oznaczanie procentowego składu poszczególnych frakcji białek surowicy.

W analizatorach biochemicznych oznaczane jest stężenie substancji lub produktu reakcji enzymatycznej. Najczęściej w weterynarii używa się analizatorów fotometrycznych, w których wykorzystywane jest zjawisko absorpcji światła przez badaną substancję. W celu zrozumienia działania analizatorów biochemicznych warto przypomnieć podstawowe informacje z fizyki dotyczące światła. Otóż, światło jest klasyfikowane na podstawie długości fali świetlnej mierzonej w nanometrach. Zależnie od długości fali światło może być widzialne lub nie. Widzialne światło mieści się w granicach 380–750 nm. W zakresie tego spektrum określona długość reprezentuje inną barwę światła, np. światło o długości fali 380–440 nm ma barwę fioletową, natomiast światło o długości fali 500–580 nm ma barwę zieloną. Z kolei każda badana substancja ma znane spektrum pochłaniania światła, np. substancja X pochłania światło o długości 505 nm. W analizatorze biochemicznym światło zostaje przepuszczone przez soczewkę zwiężającą promień światła, które następnie pada na monochromator, którym może być pryzmat. Jego rolą jest zwiężenie spektrum światła do konkretnej długości fali, czyli uzyskanie światła monochromatycznego. Następnie strumień światła pada na kolejną soczewkę, która skupia promień światła na kuwecie zawierającej badaną substancję. Światło po przejściu przez kuwetę pada na fotodetektor, który wytwarza prąd elektryczny przesyłany do urządzenia mierzącego napięcie tego prądu. Uzyskana wartość napięcia prądu przeliczana jest na wartość transmitancji. Transmitancją jest procentowe natężenie światła przepuszczonego przez badaną substancję i wylicza się ją ze wzoru $T = I_2 / I_1$, gdzie I_1 oznacza natężenie światła padającego na substancję w kuwecie, natomiast I_2 jest natężeniem światła opuszczającego kuwetę. Uzyskana wartość transmitancji przeliczana jest z kolei na wartość absorbancji (A) według wzoru $A = 2 - \log_{10}(I_2/I_1)$, będącej miarą pochłaniania światła. Zatem wartość absorbancji jest wprost proporcjonalna do stężenia badanej substancji (3). Zasadę działania analizatora biochemicznego przedstawiono na **rycinie 5**.

Badania biochemiczne surowicy zwierząt przy podejrzeniu choroby transmisyjnej nie tylko pomagają w postawieniu podejrzenia choroby, ale również wskazują na stan niektórych narządów oraz pomagają w określeniu rokowania. Przykładem może być tutaj babeszjoza psów spowodowana przez inwazję *B. rossi*, w przebiegu której wzrost stężenia kwasu mlekowego, jak również hipoglikemia związane były z wyższą śmiertelnością wśród zarażonych zwierząt (37). W badaniach biochemicznych surowicy zwierząt w przebiegu chorób transmisyjnych stwierdzić

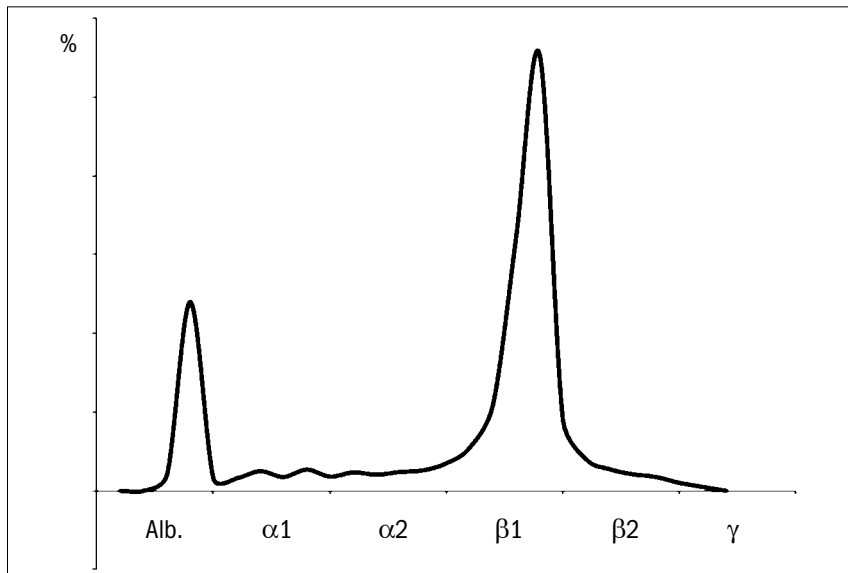


Ryc. 5. Schemat zasady działania analizatora biochemicznego. A – źródło światła, B – soczewka, C – monochromator, D – kuweta zawierająca badaną substancję, E – fotodetektor, F – urządzenie mierzące napięcie prądu elektrycznego

można wzrost stężenia mocznika i kreatyniny, co w przebiegu tych chorób związane jest z uszkodzeniem nerek. Azotemia obserwowana jest m.in. w przebiegu: babeszjozy, theileriozy, cytauksoozoozy, leiszmaniozy, boreliozy czy dirofilariozy sercowo-płucnej (23, 24, 34, 38, 39). Oznaczanie stężenia glukozy jest natomiast przydatne u psów w przebiegu babeszjozy. Stwierdzano bowiem u tych zwierząt przypadki znacznego obniżenia poziomu glukozy we krwi (7, 38, 40). Z kolei u kotów w przebiegu cytauksoozoozy nierzadko stwierdzano hiperglikemię (21). Wzrost aktywności enzymów wątrobowych oraz wzrost stężenia bilirubiny, podobnie jak w przypadku azotemii, obserwuje się w przebiegu wielu chorób transmisyjnych, m.in. w przebiegu babeszjozy, theileriozy, cytauksoozoozy, leiszmaniozy, hepatozoozy, anaplazmozy granulocytarnej czy erlichiozy monocytarnej (21, 23, 24, 38). Oznaczanie kinazy kreatynowej jest przydatne w diagnostyce hepatozoozy u psów. Stwierdzano wzrost aktywności tego enzymu w przebiegu inwazji spowodowanej *Hepatozoon canis*, natomiast, pomimo rozwijającego się zapalenia mięśni, aktywność kinazy kreatynowej pozostawała w normie u psów zarażonych *H. americanum* (26). Ponadto sporadycznie stwierdzano wzrost aktywności tego enzymu u psów w przebiegu trypanosomozy amerykańskiej (choroby Chagasa) spowodowanej inwazją *Trypanosoma cruzi* (35). Z kolei oznaczanie stężenia białka całkowitego i albumin jest przydatne w diagnostyce leiszmaniozy, erlichiozy monocytarnej oraz hepatozoozy spowodowanej inwazją *H. canis*. W przebiegu tych chorób stwierdzano wzrost stężenia białka całkowitego z równoczesną hypoalbuminemią, co wskazuje na hiperglobulinemię (23, 24, 26). W tej sytuacji użyteczne jest określenie procentowego składu poszczególnych frakcji białkowych w surowicy w elektroforetycznym rozdziale białek surowicy.

Elektroforezę białek surowicy przeprowadza się w żelu agarozowym. Szybkość przemieszczania się białek w żelu zależy od ładunku cząsteczki białkowej, jej kształtu i wielkości oraz od napięcia prądu elektrycznego i temperatury. W żelu cząsteczki białka wędrują w kierunku elektrody dodatniej. Najszybciej przemieszczają

się albuminy, w związku z czym przemieszczają się w żelu najdalej, najwolniej zaś γ -globuliny, które w żelu pokonają najmniejszą odległość. Rozdzielone w żelu białka barwione są błękitem kwaśnym, po czym za pomocą skanera podłączonego do komputera i przy użyciu odpowiedniego programu komputerowego przeprowadza się analizę densytometryczną uzyskanego wzoru rozdzielonych białek. Program ten na podstawie intensywności zabarwienia w poszczególnych strefach żelu ocenia gęstość, na podstawie której określa z kolei procentowy skład poszczególnych frakcji białek surowicy. Bez względu na wartości stężeń poszczególnych białek obliczane są przez pomnożenie wartości danej frakcji białkowej w postaci ułamka dziesiętnego przez wartość stężenia białka całkowitego oznaczoną w analizatorze biochemicznym (4, 41). Rozdzielenie białek surowicy w żelu i ich analiza densytometryczna pozwalają nie tylko na określenie stężeń poszczególnych białek surowicy, ale również na podstawie elektroforegramu pozwalają ocenić typ występującej w przebiegu niektórych chorób transmisyjnych gammopatii (42). Badanie to znajduje zastosowanie w diagnostyce erlichiozy monocytarnej psów oraz leiszmaniozy. W przebiegu leiszmaniozy stwierdzana jest gammopatia monoklonalna (wąski szpiczasty pik w strefie γ -globulin elektroforetogramu) bądź biklonalna (dwa wąskie szpiczaste piki). Z kolei w przebiegu erlichiozy monocytarnej najczęściej obserwuje się gammopatię poliklonalną (szeroki łagodny pik w strefie γ -globulin elektroforetogramu) oraz sporadycznie monoklonalną. W przypadku obu chorób pik w strefie γ -globulin jest znacznie wyższy od piku albumin (23, 24). Przykładowy elektroforetogram typowy dla gammopatii monoklonalnej przedstawiono na **rycinie 6**. Warto oczywiście dodać, iż elektroforetyczny rozdział białek surowicy znajduje zastosowanie nie tylko w diagnostyce chorób transmisyjnych. Gammopatie poliklonalne stwierdzane są również w przebiegu wielu chorób z przewlekłą stymulacją antygenową, chorób autoimmunologicznych, chorób wątroby oraz sporadycznie w przypadku chłoniaków czy też białaczek limfocytarnych. Z kolei gammopatie monoklonalne obserwowane są



Ryc. 6. Przykładowy elektroforegram typowy dla gammopatii monoklonalnej obserwowanej w przebiegu leiszmaniozy bądź erlichiozy monocytarnej. Alb. – albuminy, $\alpha 1$ – $\alpha 1$ -globuliny, $\alpha 2$ – $\alpha 2$ -globuliny, $\beta 1$ – $\beta 1$ -globuliny, $\beta 2$ – $\beta 2$ -globuliny, γ – γ -globuliny

w przypadku chłoniaków i białaczek limfocytarnych znacznie częściej; ponadto występują w przebiegu takich chorób, jak szpiczak mnogi czy szpiczak pozaszpikowy (plazmocytoma pozaszpikowa). Charakterystyczne jest również dla gammopatii monoklonalnych występowanie w moczu białek Bence'a-Jonesa będących lekkimi łańcuchami immunoglobulin (42).

Badanie ogólne moczu

W badaniu ogólnym moczu oznaczanych jest wiele parametrów, takich jak: barwa, przejrzystość, ciężar właściwy, pH, białko, bilirubina, kreatynina, urobilinogen, glukoza, ketony, leukocyty, erytrocyty, nabłonki, wałeczki czy kryształki (18). Spośród wymienionych przydatne w diagnostyce chorób transmisyjnych zwierząt są parametry wskazujące na stan nerek, wątroby czy ewentualną hemolizę wewnątrznaczyniową. Przykładem może być tutaj ciemnobrązowe zabarwienie moczu wskazujące na hemoglobinurię, która z kolei związana jest z hemolizą wewnątrznaczyniową rozwijającą się w przebiegu babeszjozy u wielu gatunków zwierząt czy dirofilariozy sercowo-płucnej u psów i kotów (14, 34, 41, 44). Zróżnicowanie, zwłaszcza u koni, hemoglobinurii z mioglobinurią jest stosunkowo proste. Pomimo występującego w obydwu przypadkach ciemnego zabarwienia moczu, w przypadku mioglobinurii nie obserwuje się w badaniu morfologicznym krwi obniżenia hematokrytu (14). Warto również dodać, iż choroby transmisyjne, takie jak babeszjoza czy dirofilarioza sercowo-płucna nie są jedynymi, w przebiegu których dochodzi do rozwoju hemolizy wewnątrznaczyniowej objawiającej się hemoglobinurią. Do rozwoju hemolizy wewnątrznaczyniowej

przyczynić się mogą m.in.: zatrucie czosnkiem, cebulą, acetaminofenem (paracetamolem) czy jatrogenne przewodnienie płynami hiposmotycznymi. Ponadto hemoliza wewnątrznaczyniowa rozwijać się może u psów z niedoborem fosfofruktokinazy, u koni z niewydolnością wątroby czy też u kociąt z grupą krwi A zaraz po urodzeniu przez kotkę z grupą krwi B (14, 45, 46).

Kolejnym przydatnym parametrem w diagnostyce chorób transmisyjnych jest oznaczanie ciężaru właściwego moczu. Parametr ten oznaczany jest za pomocą refraktometru. Wynik tego badania, jako jedyny parametr, nie wnosi praktycznie żadnej informacji przydatnej w diagnostyce chorób zwierząt, gdyż stopień nawodnienia zwierzęcia ma znaczny wpływ na wartość tego parametru, dlatego też musi być rozpatrywany w kontekście innych wyników badań, danych z wywiadu oraz badania klinicznego. Przykładem może być stwierdzenie u psa występowania niskiego ciężaru właściwego moczu z równoczesnym skąpomoczem, co wskazywać już może na niewydolność nerek, która może rozwijać się w przebiegu m.in. leiszmaniozy, boreliozy czy babeszjozy (14, 21, 24, 39).

Innym ważnym elementem badania moczu jest oznaczanie stężenia białka w moczu. Jakościowe badanie na obecność białka w moczu wykonuje się przy użyciu 20% kwasu sulfosalicylowego. Do próbki zawierającej 10 ml moczu dodaje się 8 kropli kwasu. Pojawiające się zmętnienie wskazuje na obecność białka w moczu, natomiast intensywność tego zmętnienia jest wprost proporcjonalna do stężenia białka (47). W takiej sytuacji laboratorzysta wydadzą wynik w oparciu o subiektywną ocenę laboranta, używając systemu następujących wyników: negatywny, śladowa ilość

oraz od 1 do 4 symboli + (13). Warto wspomnieć, iż badanie to może dawać wyniki fałszywie pozytywne w przypadku równocześnie występującej znacznej hematurii, wysokiego ciężaru właściwego moczu, wysokiego stężenia cefalosporyn oraz innych antybiotyków β -laktamowych, jak również metabolitów sulfonamidów. Z kolei wynik fałszywie negatywny można uzyskać w przypadku moczu zasadowego (47). W przypadku stwierdzenia większych ilości białka w moczu wskazane jest oznaczenie stężenia białka w analizatorze biochemicznym, uzyskując w ten sposób konkretną wartość. Jednakże na wynik stężenia białka wpływa ciężar właściwy białka. W związku z tym przy wyższych stężeniach białka w moczu wskazane jest oznaczenie stężenia kreatyniny w moczu, a następnie określenie stosunku białka do kreatyniny w tych samych jednostkach (14, 18). Laboratoria często podają wyniki w tradycyjnych jednostkach, tj. dla białka w g/l, natomiast dla kreatyniny w mg/dl. Aby obliczyć stosunek białka do kreatyniny, należy przeliczyć wartość jednego z parametrów na wartość podaną w jednostkach drugiego parametru, np. wartość stężenia białka podaną w g/l należy przeliczyć na wartość stężenia białka podaną w mg/dl; mnożnik w tym przypadku wynosi 100. Przykładowo 1 g białka w 1 l moczu równy jest 1000 mg białka w 10 dl moczu. Zatem stężenie białka wynoszące 1 g/l równe będzie stężeniu białka wynoszącemu 100 mg/dl. Po przeliczeniu jednostek można obliczyć stosunek białka do kreatyniny. Przyjmuje się, że wynik tego stosunku powyżej 1,0 wskazuje na uszkodzenie kłębuszków nerkowych, natomiast u psów z amyloidozą kłębuszków nerkowych wartość ta może przekraczać 18 (14, 18). Oznaczenie stężenia białka i kreatyniny w moczu oraz obliczenie stosunku ich stężeń jest przydatne w diagnostyce chorób transmisyjnych zwierząt, w przebiegu których może dojść do rozwoju kłębuszkowego zapalenia nerek, m.in. takich jak: borelioza, leiszmanioza, erlichioza monocytarna czy dirofilarioza sercowo-płucna (39, 48, 49, 50). Ponadto kłębuszkowe zapalenie nerek rozwijać się może sporadycznie w przebiegu trypanosomoz u ludzi i zwierząt (49). Warto również wspomnieć, iż śladowe ilości białka w moczu mogą być wykrywane również u zdrowych psów (14).

Kolejnym parametrem oznaczanym w moczu przydatnym w diagnostyce chorób transmisyjnych jest bilirubina. U zdrowych zwierząt bilirubina nie powinna występować w moczu. Wyjątkiem tutaj są psy, u których mogą pojawić się jej śladowe ilości w przypadku moczu o wysokim ciężarze właściwym (14). Obecność bilirubiny w moczu wskazywać może na uszkodzenie wątroby bądź też rozwój niedokrwistości hemolitycznej (14). Zarówno jedno,

jak i drugie zaburzenie pojawić się może w przebiegu wielu chorób transmisyjnych.

Ostatnim parametrem będącym elementem badania moczu przydatnym w diagnostyce chorób zwierząt przenoszonych przez stawonogi jest mikroskopowe badanie osadu moczu, w którym w przypadku tych chorób przydatne jest badanie na obecność nabłonków i wałeczków. W przypadku nabłonków ich różnicowanie w osadzie moczu jest nieźmiernie trudne. Obecność w osadzie moczu nabłonków ogoniastych, pochodzących z miedniczek nerkowych, bądź nabłonków nerkowych pochodzących z kanalików nerkowych wskazuje na uszkodzenie nerek, do którego dochodzić może, o czym już wcześniej wspomniano, w przebiegu wielu chorób transmisyjnych (14, 51). Z kolei wykrywane w osadzie moczu wałeczki (struktury powstające w kanalikach dalszych nefronu) wskazywać mogą na różne zaburzenia, jednakże ich ilość nie musi korelować z nasileniem zmian klinicznych (14, 51). Przykładowo obecność wałeczków drobnociarnistych, tłuszczowych i nabłonkowych wskazywać może na uszkodzenie kanalików nerkowych, co obserwowane jest w przebiegu babeszjozy psów (14, 51, 52). Z kolei wałeczki hialinowe wskazywać mogą na uszkodzenie kłębuszków nerkowych, które może mieć miejsce w przebiegu boreliozy, leiszmaniozy, erlichiozy monocytarnej czy dirofilariozy sercowo-płucnej (14, 39, 48, 49, 50). Warto jednak dodać, iż wałeczki hialinowe wykrywane mogą być również w osadzie moczu zdrowych zwierząt (14). Wykrywane natomiast w osadzie moczu wałeczki hemoglobinowe wskazują na rozwój hemolizy wewnątrznaczyniowej obserwowanej w przebiegu np. babeszjozy (14).

Podsumowanie

Wykorzystywane w diagnostyce chorób transmisyjnych badania dodatkowe, takie jak badanie morfologiczne krwi, badania biochemiczne surowicy oraz ogólne badanie moczu są badaniami znacznie ułatwiającymi lekarzowi weterynarii zawężenie liczby chorób uwzględnianych w diagnostyce różnicowej. Ponadto niektóre z nich pozwalają na ocenę stopnia uszkodzenia narządów, a co za tym idzie na określenie rokowania.

Zarówno opisane w pierwszej części artykułu badania ukierunkowane na wykrywanie zakażeń bądź inwazji powodowanych przez patogeny przenoszone przez stawonogi, jak i badania dodatkowe opisane w tej części pracy są przydatne w codziennej praktyce lekarza weterynarii. Wyniki jednych badań pozwalają na podjęcie odpowiedniej terapii objawowej, natomiast drugich na ukierunkowane zwalczanie czynnika etiologicznego choroby oraz ewentualne określenie zagrożenia dla zdrowia człowieka.

Piśmiennictwo

- Shaw S., Day M.: Introduction. W: Shaw S.E., Day M.J.: *Arthropod-Borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Manson Publishing, London 2005, 9-10.
- Shaw S.: Other arthropod-borne infections of dogs and cats. W: Shaw S.E., Day M.J.: *Arthropod-Borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Manson Publishing, London 2005, 138-142.
- Zygnier W., Gójska-Zygnier O., Rodo A., Sobków K.: Techniki laboratoryjne wykorzystywane w diagnostyce chorób transmisyjnych u zwierząt. Część I. Rozpoznanie zakażeń i inwazji. *Życie Wet.* 2011, **86**, 19-27.
- Lassen E.D., Weiser G.: Laboratory technology for veterinary medicine. W: Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., DeNicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A., Weiser G.: *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Blackwell Publishing, Ames 2006, 3-37.
- Pedersen N.C.: A review of immunologic diseases of the dog. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1999, **69**, 251-342.
- Solano-Gallego L., Trotta M., Carli E., Carcy B., Caldin M., Furlanello T.: *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* clinicopathological findings and DNA detection by means of PCR-RFLP in blood from Italian dogs suspected of tick-borne disease. *Vet. Parasitol.* 2008, **157**, 211-221.
- Furlanello T., Florio F., Caldin M., Lubas G., Solano-Gallego L.: Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of northeastern Italy. *Vet. Parasitol.* 2005, **134**, 77-85.
- Carli E., Tascia S., Trotta M., Furlanello T., Caldin M., Solano-Gallego L.: Detection of erythrocyte binding IgM and IgG by flow cytometry in sick dogs with *Babesia canis canis* or *Babesia canis vogeli* infection. *Vet. Parasitol.* 2009, **162**, 51-57.
- Thrall M.A.: Erythrocyte morphology. W: Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., DeNicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A., Weiser G.: *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Blackwell Publishing, Ames 2006, 69-82.
- Weiser G., Thrall M.A.: Introduction to leukocytes and the leukogram. W: Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., DeNicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A., Weiser G.: *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Blackwell Publishing, Ames 2006, 125-130.
- Topper M.J., Welles E.G.: Hemostasis. W: Latimer K.S., Mahaffey E.A., Prasse K.W.: *Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 4th ed. Ames 2003, 99-135.
- Reagan W.J., Irizarry-Rovira A.R., DeNicola D.B.: *Veterinary Hematology: Atlas of Common Domestic and Non-Domestic Species*. 2nd ed. Wiley-Blackwell, Ames 2008.
- Yerulam I., Koren O.: Severe infestation of a she-ass with the cat flea *Ctenocephalides felis felis* (Bouche, 1835). *Vet Parasitol.* 2003, **115**, 365-367.
- Stockham S.L., Scott M.A.: *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd ed. Blackwell Publishing, Ames 2008.
- Thrall M.A.: Classification of and diagnostic approach to anemia. W: Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., DeNicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A., Weiser G.: *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Blackwell Publishing, Ames 2006, 83-88.
- Zygnier W., Gójska O., Rapačka G., Jaros D., Wędrychowicz H.: Hematological changes during the course of canine babesiosis caused by large *Babesia* in domestic dogs in Warsaw (Poland). *Vet. Parasitol.* 2007, **145**, 146-151.
- Mylonakis M.E., Day M.J., Siarkou V., Vernau W., Koutinas A.F.: Absence of myelofibrosis in dogs with myelo-suppression induced by *Ehrlichia canis* infection. *J. Comp. Pathol.* 2010, **142**, 328-331.
- Winnicka A.: *Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2004.
- Mackin A.: Immune-mediated haemolytic anaemia. W: Day M., Mackin A., Littlewood J.: *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. BSAVA, Gloucester 2000, 67-77.
- Holloway S.A.: Disseminated intravascular coagulation. W: Day M., Mackin A., Littlewood J.: *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. BSAVA, Gloucester 2000, 253-260.
- Irwin P.: Babesiosis and cytauxzoonosis. W: Shaw S.E., Day M.J.: *Arthropod-Borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Manson Publishing, London 2005, 63-77.
- Barger A.M.: The complete blood cell count: a powerful diagnostic tool. *Vet. Clin. Small Anim.* 2003, **33**, 1207-1222.
- Harrus S., Waner T., Bjoersdorf A., Shaw S.: Ehrlichiosis and anaplasmosis. W: *Arthropod-Borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Manson Publishing, London 2005, 120-133.
- Baneth G., Day M., Roura X., Shaw S.: Leishmaniosis. W: *Arthropod-Borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Manson Publishing, London 2005, 89-99.
- Matuszkiewicz M., Winnicka A.: Trombocytopenia tła immunologicznego u psów. *Życie Wet.* 2006, **81**, 450-454.
- Baneth G., Vincent-Johnson N.: *Hepatozoonosis*. W: *Arthropod-Borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Manson Publishing, London 2005, 78-88.
- Greene C.E., Matete G.: African trypanosomiasis. W: Greene C.E.: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Saunders Elsevier, St. Louis, 2006, 681-685.
- Schoeman T.: *Clinical and clinico-pathological changes in feline babesiosis*. M. Med. Vet. Thesis, University of Pretoria, 2001.
- Ayoob A.L., Prittie J., Hackner S.G.: Feline babesiosis. *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)* 2010, **20**, 90-97.
- Weiser G.: Interpretation of leukocyte responses in disease. W: Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., DeNicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A., Weiser G.: *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Blackwell Publishing, Ames 2006, 135-148.
- Macintire D.K., Vincent-Johnson N.A., Craig T.M.: *Hepatozoon americanum* infection. W: Greene C.E.: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Saunders Elsevier, St. Louis, 2006, 705-711.
- Rubini A.S., Dos Santos Paduan K., Perez R.R., Ribolla P.E.M., O'Dwyer L.H.: Molecular characterization of feline *Hepatozoon* species from Brazil. *Vet. Parasitol.* 2006, **137**, 168-171.
- Taylor M.A., Coop R.L., Wall R.L.: *Veterinary Parasitology*. 3rd ed. Blackwell Publishing, Oxford 2007.
- Ferasin L., Knight D.: Filarial infections. W: *Arthropod-Borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Manson Publishing, London 2005, 51-61.
- Barr S.C.: American trypanosomiasis. W: Greene C.E.: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Saunders Elsevier, St. Louis 2006, 676-681.
- Snowden K.E., Hammerberg B.: The lymphatic pathology of chronic *Brugia pahangi* infection in the dog. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1989, **83**, 670-678.
- Nel M., Lobetti R.G., Keller N., Thompson P.N.: Prognostic value of blood lactate, blood glucose, and hematocrit in canine babesiosis. *J. Vet. Intern. Med.* 2004, **18**, 471-476.
- Zygnier W., Rapačka G., Gójska-Zygnier O., Długosz E., Wędrychowicz H.: Biochemical abnormalities observed in serum of dogs infected with large *Babesia* in Warsaw (Poland). *Pol. J. Vet. Sci.* 2007, **10**, 245-253.
- Hovius K.E.: Borreliosis. W: Shaw S.E., Day M.J.: *Arthropod-Borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Manson Publishing, London 2005, 100-109.
- Keller N., Jacobson L.S., Nel M., de Clerq M., Thompson P.N., Schoeman J.P.: Prevalence and risk factors of hypoglycemia in virulent canine babesiosis. *J. Vet. Intern. Med.* 2004, **18**, 265-270.
- Fayos M., Couto C.G., Iazbik M.C., Wellman M.L.: Serum protein electrophoresis in retired racing Greyhounds. *Vet. Clin. Pathol.* 2005, **34**, 397-400.
- Lassen E.D.: Laboratory evaluation of plasma and serum proteins. W: Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., DeNicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A., Weiser G.: *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Blackwell Publishing, Ames 2006, 401-415.
- Homer M.J., Aguilar-Delfin I., Telford III S.R., Krause P.J., Persing D.H.: Babesiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000, **13**, 451-469.
- Zobba R., Ardu M., Nicolini S., Chessa B., Manna L., Cocco R., Pargaglia M.L.P.: Clinical and laboratory findings in equine piroplasmiasis. *J. Equine Vet. Sci.* 2008, **28**, 301-308.
- Brockus C.W., Andreasen C.B.: Erythrocytes. W: Latimer K.S., Mahaffey E.A., Prasse K.W.: *Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 4th ed. Ames 2003, 3-45.
- Max A.: *Koty – poloznictwo i rozród*. Galaktyka, Łódź 2010.
- Kashif W., Siddiqi N., Dincer A.P., Dincer H.E., Hirsch S.: Proteinuria: How to evaluate an important finding. *Cleve. Clin. J. Med.* 2003, **70**, 535-547.
- Abramowsky C.R., Powers K.G., Aikawa M., Swinehart G.: *Dirofilaria immitis*. 5. Immunopathology of filarial nephropathy in dogs. *Am. J. Pathol.* 1981, **104**, 1-12.
- Van Velthuisen M.-L.F., Florquin S.: Glomerulopathy associated with parasitic infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000, **13**, 55-66.
- Neer T.M., Harrus S.: Canine monocytoprotozoic ehrlichiosis and neorickettsiosis (*E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ruminantium*, *N. sennetsu*, and *N. risticii* infections). W: Greene C.E.: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Saunders Elsevier, St. Louis, 2006, 203-216.
- Gregory C.R.: Urinary system. W: Latimer K.S., Mahaffey E.A., Prasse K.W.: *Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 4th ed. Ames 2003, 231-259.
- Mathe A., Dobos-Kovacs M., Voros K.: Histological and ultrastructural studies of renal lesions in *Babesia canis* infected dogs treated with imidocarb. *Acta Vet. Hung.* 2007, **55**, 511-523.

Dr Wojciech Zygnier, Zakład Parazytologii i Inwazjologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa