

## RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION HOORN.

---

### Vergelijkend onderzoek omtrent leukocytingehalte <sup>1)</sup> en katalasecijfers van schep- en centrifugeroom

DOOR

E. HEKMA.

(Ingezonden 21 November 1924.)

---

Voor de proeven werd gebruik gemaakt van room afkomstig van normale gemengde melk van de koeien der Proefzuivelboerderij. De scheproom werd verkregen van de avondmelk, de centrifugeroom van de morgenmelk. Beide werden gewonnen in het boterfabriekje door monsternamen van de totale hoeveelheden. De room werd vóór den aanvang der proefnemingen verhit tot  $\pm 90^{\circ}$  C. en daarna afgekoeld. Voorafgaande hooge verhitting is noodzakelijk voor deze wijze van proefneming, met het oog op een flinke sedimenteering der leukocyten. De room werd vermengd met physiologisch keukenzoutoplossing in verhouding van 1 cc. room op 10. Aan 5 cc. dezer verdunde room werden toegevoegd 5 cc. eener 0,2 % typaanblauwoplossing. Na een half uur bij kamertemperatuur gestaan te hebben, werd het laatstgenoemde mengsel gecentrifugeerd, (Runne centrifuge:  $\pm 2800$  toeren) gedurende 10 minuten in buisjes van TROMMSDORFF. Het daarbij verkregen sediment (A) werd uitgewasschen, op die wijze dat het sediment werd vermengd met 5 cc. eener physiologische keukenzoutoplossing, waarna 5 min. werd gecentrifugeerd.

In het sediment (B) — beantwoordend aan 0,5 cc. room — worden de leukocyten aangetroffen, terwijl de overige in het sediment A aanwezige vaste partikeltjes voor het grootste deel in de vloeistof blijven zweven. Het uitgewasschen leukocyten sediment (B) werd vervolgens vermengd met een veelvoud physiolog. keukenzoutoplossing, wisselend naar de grootte van het sediment (men zie hiervoor tabel I). In laatstgenoemde suspensie werd het aantal leukocyten nauwkeurig geteld met behulp van een telkamer volgens BÜRGER, en wel door het aantal cellen te tellen in 25 der vierkanten van de telkamer, met een oppervlak van

---

1) Het woord leukocyten wordt hier bedoeld als verzamelnaam voor de celvormige elementen der melk.

2083001



$\frac{1}{25}$  m.m<sup>2</sup>. en een inhoud van  $\frac{1}{250}$  m.m<sup>3</sup>. elk. De telling baart geen moeilijkheid, te minder doordat de cellen door typaanblauw zijn gekleurd.

TABEL I.

Betreffende het aantal leukocyten in:

Proefnummer.	Scheproom.	Centrifugeroom.
I.	Sediment B verdund tot 120. Per kwadraat: $\frac{1823}{25} = 73$ leukocyten. Per cc. room: $73 \times 250 \times 120 \times 2 = 4,380,000$ leukocyten.	Sediment B verdund tot 10. Per kwadraat: $\frac{107}{25} = 4$ leukocyten. Per cc. room: $4 \times 250 \times 10 \times 2 = 20,000$ leukocyten.
II.	Sediment B verdund tot 90. Per kwadraat: $\frac{1750}{25} = 70$ leukocyten. Per cc. room: $70 \times 250 \times 90 \times 2 = 3,150,000$ leukocyten.	Sediment B verdund tot 10. Per kwadraat: $\frac{93}{25} = 4$ leukocyten. Per cc. room: $4 \times 250 \times 10 \times 2 = 20,000$ leukocyten.
III.	Sediment B verdund tot 90. Per kwadraat: $\frac{2244}{25} = 90$ leukocyten. Per cc. room: $90 \times 250 \times 90 \times 2 = 4,050,000$ leukocyten.	Sediment B verdund tot 10. Per kwadraat: $\frac{164}{25} = 7$ leukocyten. Per cc. room: $7 \times 250 \times 10 \times 2 = 35,000$ leukocyten.
IV.	Sediment B verdund tot 120. Per kwadraat: $\frac{1253}{25} = 50$ leukocyten. Per cc. room: $50 \times 250 \times 120 \times 2 = 3,000,000$ leukocyten.	Sediment B verdund tot 10. Per kwadraat: $\frac{201}{25} = 8$ leukocyten. Per cc. room: $8 \times 250 \times 10 \times 2 = 40,000$ leukocyten.
V.	Sediment B verdund tot 120. Per kwadraat: $\frac{2440}{25} = 98$ leukocyten. Per cc. room: $98 \times 250 \times 120 \times 2 = 5,880,000$ leukocyten.	Sediment B verdund tot 10. Per kwadraat: $\frac{248}{25} = 10$ leukocyten. Per cc. room: $10 \times 250 \times 10 \times 2 = 50,000$ leukocyten.
VI.	Sediment B verdund tot 160. Per kwadraat: $\frac{1461}{25} = 58$ leukocyten. Per cc. room: $58 \times 250 \times 160 \times 2 = 4,640,000$ leukocyten.	Sediment B verdund tot 10. Per kwadraat: $\frac{131}{25} = 5$ leukocyten. Per cc. room: $5 \times 250 \times 10 \times 2 = 25,000$ leukocyten.
VII.	Sediment B verdund tot 160. Per kwadraat: $\frac{1519}{25} = 61$ leukocyten. Per cc. room: $61 \times 250 \times 160 \times 2 = 4,880,000$ leukocyten.	Sediment B verdund tot 10. Per kwadraat: $\frac{199}{25} = 8$ leukocyten. Per cc. room: $8 \times 250 \times 10 \times 2 = 40,000$ leukocyten.
VIII.	Sediment B verdund tot 120. Per kwadraat: $\frac{1307}{25} = 52$ leukocyten. Per cc. room: $52 \times 250 \times 120 \times 2 = 3,120,000$ leukocyten.	Sediment B verdund tot 10. Per kwadraat: $\frac{164}{25} = 7$ leukocyten. Per cc. room: $7 \times 250 \times 10 \times 2 = 35,000$ leukocyten.

Proefnummer.	Scheproom.	Centrifugeroom.
IX.	Sediment B verdund tot 160. Per quadraat: $\frac{1180}{25} = 47$ leukocyten. Per cc. room: $47 \times 250 \times 160 \times 2 = 3,760,000$ leukocyten.	Sediment B verdund tot 10. Per quadraat: $\frac{265}{25} = 11$ leukocyten. Per cc. room: $11 \times 250 \times 10 \times 2 = 55,000$ leukocyten.
X.	Sediment B verdund tot 160. Per quadraat: $\frac{1251}{25} = 50$ leukocyten. Per cc. room: $50 \times 250 \times 160 \times 2 = 4,000,000$ leukocyten.	Sediment B verdund tot 10. Per quadraat: $\frac{174}{25} = 7$ leukocyten. Per cc. room: $7 \times 250 \times 10 \times 2 = 35,000$ leukocyten.
Gemiddelde van 10 bepalingen.	Per cc. scheproom: 4,086,000 leukocyten.	Per cc. centrifugeroom: 35,500 leukocyten.

Het resultaat van een aantal verrichte tellingen, met de omrekening van het aantal leukocyten per cc. room, vindt men samengesteld in tabel I. Daarbij treedt het opmerkelijk feit aan den dag dat het aantal der in de scheproom aanwezige leukocyten meer dan 100 maal zooveel bedraagt, als het aantal der in centrifugeroom voorkomende. Immers als gemiddelde van 10 proefnemingen werd gevonden: in scheproom ruim 4 milioen leukocyten per cc. (waaruit, zooals terloops zij opgemerkt, tevens volgt dat in de overeenkomstige melk minstens  $\pm 4\,000\,000 \times \frac{36}{302} = \pm 460\,000$  leukocyten per cc. aanwezig moeten zijn); in centrifugeroom daarentegen slechts 35 000 per cc. Dit klopt overigens in zooverre met de in een vorige publicatie <sup>1)</sup> vermelde cijfers betreffende de leukocyten in schep- en centrifugeondermelk, als daarbij juist het omgekeerde werd gevonden. Immers als gemiddelden per gezichtsveld werden destijds bepaald in schepondermelk  $\pm 3$  leukocyten en in centrifuge ondermelk  $\pm 65$  leukocyten. Het gold daarbij wel is waar geen absoluut nauwkeurige bepalingen, daar toen niet van de telkamer werd gebruik gemaakt, maar de verschillen zijn zoo sprekend, dat wel met zekerheid kan worden gezegd, dat bij de spontane oprooming het overgroot aantal leukocyten in de room overgaat, terwijl slechts een betrekkelijk gering aantal in de schepondermelk achter blijft; dat, omgekeerd, bij het centrifugeeren der melk slechts betrekkelijk weinig leukocyten in de room overgaan, terwijl betrekkelijk veel in de centrifuge ondermelk achterblijven. Hierbij dient tevens niet uit het oog te worden verloren, dat een zeer groot aantal der leukocyten in het centrifugeslib wordt aangetroffen.

1) Verslagen landbouwkundige onderzoekingen Rijkslandbouwproefstations. XXX. — 1925.



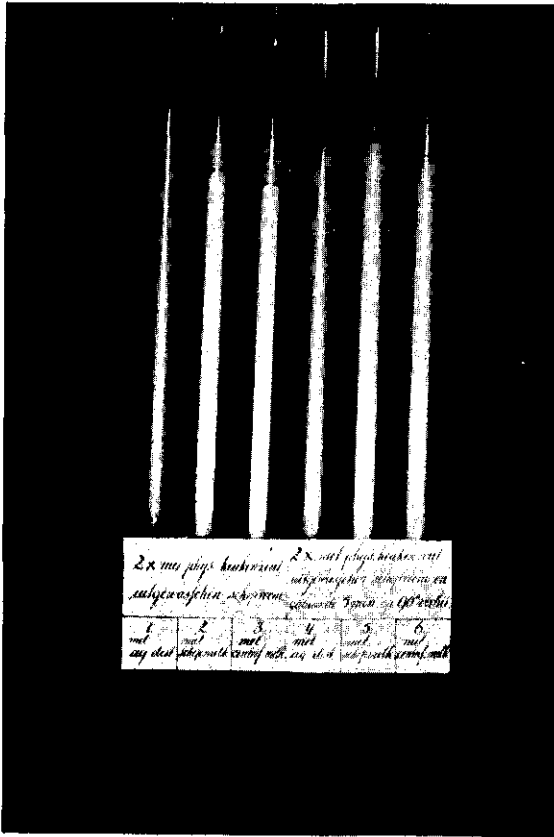


Fig. 11.

De vorenstaande eenigszins verrassende uitkomsten gaven aanleiding tot enkele vragen, o. a. tot de volgende. Met de vermelde gegevens betreffende de omgekeerde betrekking tusschen het leukocytengehalte der scheproom en centrifugeroom eenerzijds en der schepondermelk en centrifuge ondermelk anderzijds, voor oogen, deed zich in de eerste plaats de vraag voor of zich in de centrifuge ondermelk een agglutineerende substantie voor melkvetbolletjes in sterkere mate zou doen gelden dan in schepondermelk. Zulks op grond van de overweging dat naar mijne overtuiging bij de [volgens de onderzoekingen van OTTO RAHN<sup>2)</sup> en VAN DAM en SIRKS<sup>3)</sup>] aan de spontane oprooming ten grondslag liggende melkvetbolletjes complexvorming, een agglutinine (iso — resp. autoagglutinine?) in het spel moet zijn en dat daarbij met de mogelijkheid te rekenen ware dat dit agglutinine door de leukocyten der melk geleverd zou kunnen worden. Terwijl over verdere proefnemingen, dit punt aangaande, in ander verband verslag zal worden gegeven, zij hier reeds terloops vermeld dat in een mengsel van uitgewasschen melkvetbolletjes en centrifuge ondermelk steeds een aanmerkelijk sterkere oprooming werd geconstateerd dan in een overeenkomstig mengsel, waarbij van schepondermelk werd gebruik gemaakt. (Fig. I.)

In de tweede plaats deed zich de vraag voor hoe het zou staan met de katalasecijfers van de schep- en centrifugeroom. Wanneer het juist is dat de leukocyten als hoofdleveranciers voor de katalase der normale melk behooren te worden aangemerkt, dan moest verwacht worden dat het katalasecijfer van de scheproom aanmerkelijk hooger zou zijn dan dat van de centrifugeroom. Ten einde daaromtrent een oordeel te kunnen verkrijgen werd een aantal proeven genomen in wier voege dat de schep- en centrifugeroom met aq. dest. of physiol. keukenzout werden verdund, in den regel 5 maal, terwijl in deze verdunde room katalasebepalingen werden verricht en ten contrôle, bovendien in de overeenkomstige ondermelken. Daarbij werd gebruik gemaakt van het apparaat van HENKEL. Aan 15 cc. der verdunde room, resp. van de ondermelk werden 5 cc. eener 1 %  $H_2O_2$  oplossing (1 dl. perhydrol, dat 30 %  $H_2O_2$  bevat, werd met 29 dl. water verdund) toegevoegd; de proeven vonden plaats bij een temperatuur van 22° C., terwijl de gevormde gashoeveelheden werden afgelezen na 2, 5 en 7 uur. Er werden telkens 4 seriën van drie proeven genomen. In tabel II zijn een aantal desbetreffende proefnemingen weergegeven. In tabel III zijn de gemiddelde uitkomsten overzichtelijk samengesteld, te zamen met het aantal leukocyten, terwijl in tabel IV de eerste per 100 cc. proefvloeistof zijn omgerekend.

2) Forschungen auf dem Gebiete der Milchwirtschaft und des Molkerei-wesens. 7, 309 (1921). 2, 76 (1922).

3) Verslagen landbouwkundige onderzoekingen Rijkslandbouwproefstations. XXVI, 106, 1922.

TABEL II.

*Gemiddeld gevonden katalascijfers*

Proef-nummer.	3 cc. Centrifuge-room.			3 cc. Schep-room.		
	Nà 2 uur.	Nà 5 uur.	Nà 7 uur.	Nà 2 uur.	Nà 5 uur.	Nà 7 uur.
1.	1,0—0,9—0,8	1,5—1,1—1,1	1,5—1,2—1,1	5,3—5,2—5,2	6,0—5,9—6,0	6,0—6,0—6,0
2.	1,1—1,2—1,0	1,3—1,5—1,1	1,3—1,5—1,1	3,0—2,9—2,6	3,3—3,4—3,3	3,4—3,4—3,3
3.	1,1—1,1—1,0	1,4—1,4—1,2	2,6—2,8—2,3	3,2—3,7—3,2	4,0—4,1—4,0	4,0—4,2—4,0
4.	1,0—1,0—1,0	1,4—1,4—1,2	1,4—1,4—1,4	3,2—3,2—3,2	4,0—4,0—4,0	4,0—4,0—4,0
5.	1,0—1,0—1,2	1,2—1,1—1,4	1,2—1,1—1,4	5,1—5,3—5,1	5,1—5,8—5,5	5,7—5,8—5,7
6.	1,1—1,1—1,0	1,2—1,2—1,1	1,3—1,2—1,1	1,9—2,1—2,1	2,8—2,8—2,8	2,9—3,0—3,0
7.	2,2—1,7—1,4	2,7—2,0—1,8	2,7—2,0—1,9	3,5—3,2—3,5	4,1—4,0—4,0	4,2—4,0—4,0
8.	1,2—1,2—1,2	—	1,4—1,5—1,4	3,0—3,0—3,0	—	3,9—3,1—3,9
9.	1,0—1,0—1,0	1,2—1,2—1,2	1,8—1,7—1,7	4,0—4,0—4,1	5,0—5,0—5,1	5,5—5,5—5,5
10.	1,1—1,2—1,1	1,5—1,7—1,4	1,5—1,8—1,4	5,1—5,1—5,0	5,7—5,2—5,8	5,8—5,3—5,8
11.	0,5—0,9—1,0	1,0—1,1—1,2	1,1—1,2—1,3	3,1—3,2—3,1	4,3—4,3—4,1	4,5—4,8—4,2
12.	1,3—1,1—1,1	2,0—1,8—1,7	2,0—1,8—1,8	1,7—1,2—1,9	2,4—2,1—2,7	2,4—2,2—2,7
13.	1,0—1,0—0,9	1,1—1,2—1,0	—	2,8—2,5—2,7	3,0—2,9—3,1	—
14.	1,0—0,9—1,0	1,2—1,1—1,2	—	2,7—3,1—2,4	3,4—3,5—3,1	—
15.	1,0—1,1—1,0	—	—	4,2—4,4—4,6	—	—
Totalen.	16,6—16,4—15,7	18,7—17,8—16,6	19,8—19,2—17,9	51,8—52,1—51,7	53,6—53,0—53,5	52,3—51,3—52,1
Totaal-gemiddelde.	$\frac{16,2}{15} = 1,08$	$\frac{17,7}{13} = 1,35$	$\frac{19,0}{12} = 1,6$	$\frac{51,9}{15} = 3,46$	$\frac{53,4}{13} = 4,10$	$\frac{51,9}{12} = 4,33$

TABEL III.

	Aantal leukocyten per cc.	Hoeveelheid proef-materiaal.	Katalasecijfer bij 22° C., uitgedrukt in cc. gas, nà		
			2 uur.	5 uur.	7 uur.
Centrifuge-room . . .	35 500	3 cc.	1,08	1,35	1,6
Scheproom. . . . .	4 086 000	3 cc.	3,46	4,10	4,33
Centrifuge-ondermelk.	—	15 cc.	1,14	1,92	2,2
Schep-ondermelk . . .	—	15 cc.	1,—	1,2	1,5



bij 22° C., uitgedrukt in cc. gas, in:

15 cc. Centrifuge-ondermelk.			15 cc. Schep-ondermelk.		
Nà 2 uur.	Nà 5 uur.	Nà 7 uur.	Nà 2 uur.	Nà 5 uur.	Nà 7 uur.
0,7-- 0,9-- 1,1	1,3-- 1,5-- 2,2	1,8-- 1,8-- 2,5	0,9-- 0,9-- 0,9	1,3-- 1,3-- 1,3	1,5-- 1,5-- 1,5
1,0-- 0,8-- 1,0	1,3-- 1,3-- 1,7	1,5-- 1,4-- 1,8	1,0-- 1,1-- 1,0	1,1-- 1,5-- 1,1	1,2-- 1,5-- 1,1
1,0-- 1,5-- 1,1	2,0-- 2,2-- 2,0	2,2-- 2,8-- 2,3	1,0-- 0,9-- 1,0	1,2-- 1,2-- 1,1	1,3-- 1,4-- 1,3
1,0-- 1,0-- 1,0	2,1-- 1,8-- 2,0	2,1-- 1,9-- 2,0	1,0-- 1,0-- 1,0	1,3-- 1,5-- 1,3	1,3-- 1,5-- 1,3
1,7-- 1,5-- 1,7	1,1-- 2,4-- 2,6	1,3-- 2,6-- 2,8	1,1-- 1,1-- 1,1	1,7-- 1,7-- 1,7	1,7-- 1,8-- 1,8
1,3-- 1,5-- 1,1	2,5-- 2,5-- 2,0	2,7-- 2,9-- 2,1	1,1-- 1,1-- 1,1	1,5-- 1,5-- 1,4	1,6-- 1,7-- 1,5
1,2-- 1,4-- 1,1	2,2-- 2,2-- 2,0	2,5-- 2,8-- 2,3	1,1-- 1,1-- 1,4	1,4-- 1,6-- 2,1	1,7-- 1,8-- 1,2
1,0-- 1,1-- 1,0	—	1,7-- 2,1-- 1,9	0,9-- 0,9-- 1,0	—	1,5-- 1,5-- 1,0
1,0-- 1,0-- 1,0	1,7-- 2,0-- 1,2	2,1-- 2,3-- 1,7	1,0-- 1,0-- 1,0	1,4-- 1,5-- 1,3	1,8-- 1,9-- 1,8
1,0-- 1,0-- 1,2	1,9-- 1,8-- 2,3	2,2-- 2,1-- 2,7	0,9-- 1,1-- 1,0	1,3-- 1,5-- 1,2	1,5-- 1,7-- 1,3
1,2-- 1,1-- 1,0	2,2-- 2,2-- 2,0	2,4-- 2,5-- 2,1	0,8-- 0,5-- 0,5	1,4-- 1,2-- 1,1	1,5-- 1,3-- 1,2
1,1-- 1,0-- 1,0	2,5-- 2,5-- 1,5	2,7-- 2,5-- 1,5	1,0-- 0,9-- 0,9	1,9-- 1,5-- 1,7	2,0-- 1,6-- 1,7
1,0-- 1,2-- 1,3	1,5-- 2,1-- 2,2	—	0,9-- 0,9-- 0,9	1,1-- 1,1-- 1,0	—
0,9-- 0,9-- 1,0	1,2-- 1,3-- 1,3	—	0,9-- 0,9-- 0,8	1,2-- 1,1-- 1,1	—
1,5-- 1,6-- 1,5	—	—	1,0-- 1,2-- 1,0	—	—
16,6--17,5--17,1	23,5--26,8--25,0	25,2--27,7--25,7	14,6--14,6--14,6	17,8--19,2--17,4	18,6--18,9--16,7
$\frac{17,1}{15} = 1,14$	$\frac{25,1}{13} = 1,92$	$\frac{26,2}{12} = 2,2$	$\frac{14,6}{15} = 1,0$	$\frac{18,1}{13} = 1,2$	$\frac{18,1}{12} = 1,5$

TABEL IV.

	Gemiddelde katalasecijfers, omgerekend per 100 cc. proefmateriaal, uitgedrukt in cc. gas, na		
	2 uur.	5 uur.	7 uur.
Centrifugeroom . . .	36	45	53,3
Scheproom . . . . .	115	136,6	144,5
Centrifuge-ondermelk .	7,6	13	14,6
Schep-ondermelk . . .	6,6	8	10

Uit deze tabellen volgt dat de katalasecijfers van de scheproom inderdaad aanzienlijk hooger werden gevonden dan die der centrifugeroom. Er blijkt derhalve een parallellisme te bestaan tusschen het leukocytengehalte van den room en zijn katalasecijfer. Men zou intusschen aan de mogelijkheid kunnen denken dat bacteriënwerking ons hier parten zou kunnen hebben gespeeld, aangezien de scheproom, als zijnde afkomstig van avondmelk, uit den aard der zaak overnacht aan bacteriënontwikkeling was blootgesteld, terwijl de centrifugeroom werd gewonnen van de betreffende versche morgenmelk. Een opzettelijk onderzoek omtrent het bacteriëngehalte zou hier in aanmerking kunnen komen; het is echter niet verricht, daar dit voor het gestelde doel overbodig scheen, omdat tegelijkertijd proefnemingen werden verricht met schep- en centrifugeondermelk. Wanneer in casu aan bacteriënwerking een rol van beteekenis zou moeten worden toegeschreven, dan mocht verwacht worden dat ook de katalasecijfers van schepondermelk hooger zouden worden gevonden dan die van centrifugeondermelk. Dit is echter blijkens tabel II en III niet het geval geweest. Integendeel werd het katalasecijfer van centrifugeondermelk gemiddeld hooger gevonden dan dat van schepondermelk, wat opnieuw pleit voor een parallellisme tusschen leukocytengehalte en katalasecijfer.

#### *Zusammenfassung.*

Es wurde mittelst einer im Texte beschriebenen Methode festgestellt, dass der Leukocytenzahl des Schöpfrahmes eine unverhältnismässig höhere ist, wie der des Zentrifugenrahmes; pro c.c. Schöpfrahm wurden in Mittel gefunden  $\pm 4$  Million, pro c.c. Zentrifugenrahm  $\pm 35$  Tausend Leukocyten (Tabell I). Umgekehrt enthält die Schöpfmagermilch weniger Leukocyten wie die Zentrifugenmagermilch. Es stellte sich weiter heraus dass ein Parallellismus vorhanden ist zwisschen Leukocyten- und Katalasezahl. (Tabellen I, II und III.) Schliesslich wurde darauf hingewiesen dass die aufgefunde Tatsache, dass ein Gemisch von Zentrifugenmagermilch und gewaschenen Milchfettkügelchen ein stärkeres Aufrahmungsvermögen besitzt wie ein Gemisch von Schöpfmagermich und gewaschenen Milchfettkügelchen (Fig. I), vielleicht mit einer eventuell von Leukocyten gelieferten Substanz (Agglutinin) zusammenhängen dürfte.