

eggs, 3,573 dead embryos from 8 test hatchings. They were carried out between the 5th and 31st week of laying in the period of equal production in both flocks. A correlation was found between overheating of hens (low catavalues), NH_3 concentration averaging 0.009 mg/l above the zoohygienic standard in the henhouse air and the number of hatched chickens and the occurrence of pathological phenomena in naturally selected posthatching remains. In all stages of em-

bryogenesis a significant effect of many negative environmental factors on necrobiosis of germs in the oviduct of the hen was found as well as inclination to abnormal position of embryos in the germinal disc in the first 48 h of incubation. In embryos dead before hatching a decrease in body weight and an increase in the number of pathological features was found. This is an indirect evidence of a lower biological value of chickens in the hatched population.

MAREK HOUSZKA, MICHAŁ MAZURKIEWICZ

Keratoconjunctivitis u kur na tle podwyższonej zawartości amoniaku w powietrzu kurnika

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

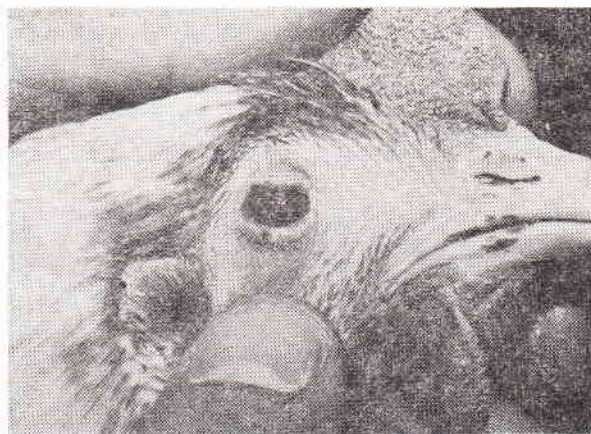
W ostatnich latach coraz częściej diagnozowane są przypadki zmian zapalnych oczu u kur (8, 10, 11). Jednym z istotnych czynników wywołujących zapalenie spojówki i rogówki, zwłaszcza w warunkach przemysłowej technologii chowu drobiu, jest nadmierne stężenie amoniaku w środowisku przebywania ptaków (3, 5, 7, 15, 17). W etiologii tych zmian ważną też rolę mogą odgrywać drobne cząstki pylistej paszy lub ściółki, które dostając się do worka spojówkowego powodują mechaniczne drażnienie tkanek (8). Spotyka się także opisy enzoootycznego zapalenia oczu u drobiu wywołanego przez bliżej niezidentyfikowane czynniki wirusowe (6, 10, 11). Zachorowania obserwowano głównie u brojlerów kurzych i młodych niosek, przy czym zmianami objęta była spojówka i rogówka, a w cięższych przypadkach, zwłaszcza powikłanych wtórną florą bakteryjną, cała gałka oczna.

Jak wynika z przeglądu piśmiennictwa dokonanego przez Gratzla i Köhlera (8) oraz Ljabina i wsp. (11), zmiany zapalne oczu mogą się także rozwijać na tle zakażeń bakteryjnych i grzybiczych. Przede wszystkim należy tu mieć na uwadze zakażenia ptaków przez *Rickettsia conjunctive galli*, *Escherichia coli*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Aspergillus fumigatus*.

Brak w piśmiennictwie krajowym opisu *keratoconjunctivitis* u drobiu skłonił nas do przedstawienia własnych w tym zakresie obserwacji, które zostały poczynione w miesiącu marcu 1978 roku w dwu fermach kur nieśnych woj. zielonogórskiego. Pierwsza z omawianych ferm liczyła 27 tys. kur rasy Sex-Sal-Link i krzyżówki: Leghorn $\times$ New Hampshire (Lg $\times$ NH), natomiast druga ferma — 6 tys. kur rasy Sex-Sal-Link. Ptaki te w wieku 18 tygodni przewieziono z innej fermy. W kilka dni po przetransportowaniu ptaków, najpierw u kur rasy Sex-Sal-Link, a następnie u krzyżówki: Lg $\times$ NH dochodziło do zaburzeń wzrokowych i śle-

poty. Zastosowanie przez okres dwu tygodni leczniczych dawek Polfasolu AD₃E i Polfasolu B-compositum nie przyniosło poprawy w stanie zdrowia ptaków. W miarę upływu czasu liczba przypadków jedno lub obustronnej ślepoty u kur wzrastała, obejmując po 3—4 tygodniach już około 10% pogłowia stada.

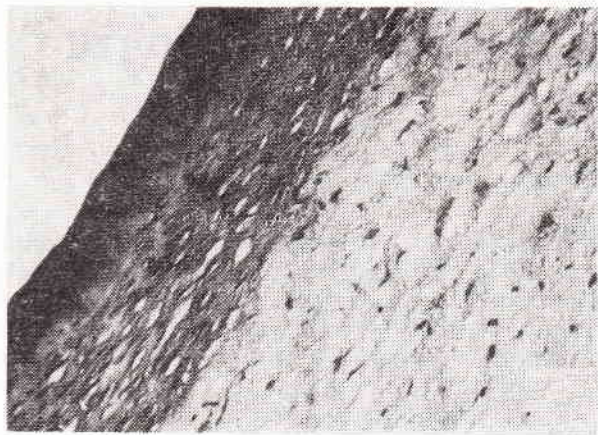
Badaniem klinicznym i sekcijnym ptaków chorych wykazano silny obrzęk powiek jednego lub obydwu oczu oraz surowiczy lub surowiczoro-ropny wysięk z worka spojówkowego (ryc. 1). Błona śluzowa spojówek była przekrwiona i rozpulchniona. Rogówka w różnym stopniu zmętniała, pokryta była delikatnym siatkowatym nalotem oraz miejscami bardzo drobnymi, powierzchniowymi ubytkami. Kury dotknięte procesem chorobowym padały po kilku — kilkunastu dniach na skutek wyniszczenia (niemożności trafienia do pojemników z karmą i wodą).



Ryc. 1. Oko kury w ostrej fazie zmian. Silny obrzęk powiek, surowiczoro-ropny wysięk w worku spojówkowym oraz delikatne, siatkowate zmętnienia rogówki

Badanie histologiczne gałek ocznych wraz z workiem spojówkowym zasadniczo wykazało zmiany obejmujące spojówkę i rogówkę. W stadiach mniej zaawansowanych obserwowano jedynie obrzęk warstwy właściwej rogówki oraz nagromadzenie histiocytów i fibroblastów pod błoną Bowmana (ryc. 2). Często jednak procesom tym towarzyszyła wakuolizacja, a nawet całkowity zanik błony Bowmana. Nabłonek przedni rogówki wykazywał niewielkie zachwianie regularności

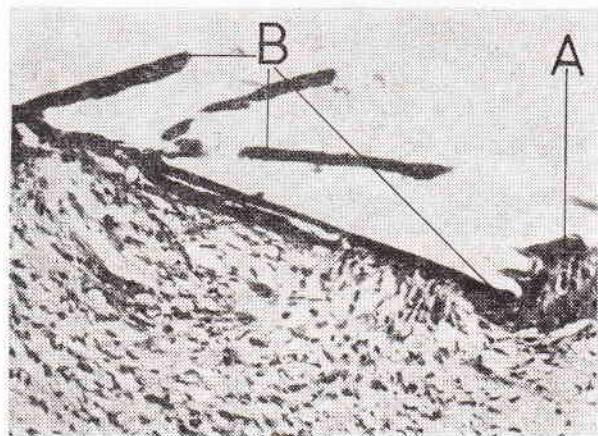
układu komórek oraz zmiany wsteczne z tworzeniem charakterystycznego „halo” wokół jądra. W wielu miejscach nabłonek ten ulegał nekrobiozie i kalcyfikacji (razem z błoną Bowmana) tworząc na powierzchni rogówki różnej wielkości płytki wapniowe (ryc. 3). Płytki te powodowały reakcję hyperplastyczną sąsiadującego z nimi nabłonka, który wrażał pod nie doprowadzając do ich złuszczenia lub też narastał na ich powierzchnię spychając je głęboko w warstwę właściwą rogówki (ryc. 4). Wywoływało to silny śródmiąższowy odczyn zapalny warstwy właściwej z jej obrzękiem i naciekami histiocytozów, limfocytów i eozynofili, jak również proliferacją fibroblastów oraz waskularyzacją tkanki.



Ryc. 2. Obrzęk warstwy właściwej rogówki oraz rozplem fibroblastów pod błoną Bowmana. Pow. 240×

Obraz histologiczny spojówki cechował wzrost ilości komórek kubkowych w błonie śluzowej oraz nieliczne ogniska zwyrodnienia i złuszczenia nabłonka. Zgromadzone pod nabłonkiem liczne limfocyty, histocyty oraz eozynofile migrowały poprzez nabłonek na powierzchnię błony śluzowej. Tkanka łączna warstwy właściwej spojówki była silnie obrzęknięta z obecnością nielicznych drobnych wybroczyn. Wokół naczyń krwionośnych obecne były limfo-histiocytarne nacieki komórkowe.

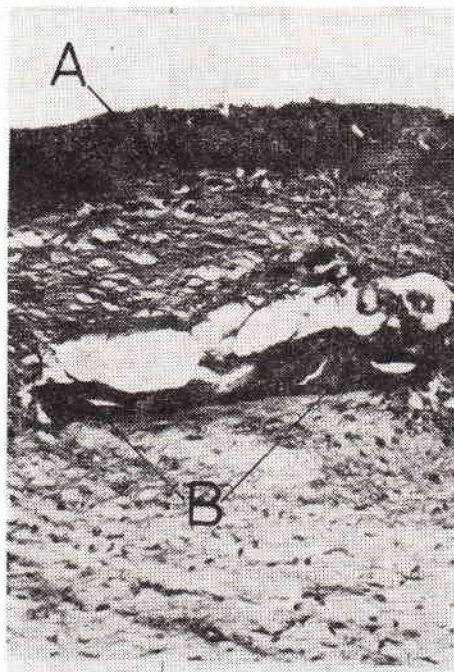
Z omawianych ferm dostarczono 22 chore kury do badań diagnostycznych. Wykonane na 6 ptakach badania sekcyjne, parazytologiczne, bakteriologiczne i mykologiczne dały wynik ujemny. Wykluczono także u tych ptaków (badanie serologiczne) mykoplasmozę.



Ryc. 3. Kalcyfikacja nabłonka przedniego rogówki wraz z błoną Bowmana i wytworzenie charakterystycznych płytek wapniowych na powierzchni. A — nabłonek, B — płytka wapniowa. Pow. 240×

Badaniem bakteriologicznym zmienionych chorobowo oczu nie wykazano obecności jednorodnej flory bakteryjnej. Najczęściej stwierdzano w worku spojówkowym obecność *Staph. epidermidis*, *E. coli* i *Pr. vulgaris*. W jednym tylko przypadku wyizolowano *C. albicans*.

Kury z objawami *keratoconjunctivitis* poddano również badaniom wirusologicznym. Wykonano je na 9-dniowych zarodkach kurzych i 2 tygodniowych kurczętach, używając do zakażeń 10% zawiesiny rozrzużonych w PBS tkanek spojówki i rogówki. Obie próby wypadły w tym badaniu ujemnie.



Ryc. 4. Płytki wapniowe penetrująca głęboko w warstwę właściwą rogówki. A — nabłonek, B — płytka wapniowa. Pow. 240×

Pozostałe 16 chorych kur podzielono losowo na 4 równe liczebnie grupy i poddano obserwacjom terapeutycznym. Pierwsza grupa ptaków otrzymywała *per os* dawki lecznicze witaminy A, grupie II podawano 3× dziennie witaminę A (*Axerophtholum solutio aquosa*) w formie kropli do oczu, grupie III — wprowadzano 3× dziennie do worka spojówkowego 2% *Unguentum Detreomycini* (użycie maści detreomycynowej było podyktowane faktem, że wyizolowane ze zmienionych chorobowo oczu drobnoustroje okazały się wrażliwe w badaniu *in vitro* na ten antybiotyk), natomiast grupa IV służyła jako kontrola.

Opisane zabiegi terepeutyczne wykonywano przez okres 2 tygodni. W tym czasie, jak również przez dalsze 4 tygodnie obserwacji nie wykazano istotnych różnic między grupami co do przebiegu procesu zdrowienia ptaków. Po 4—6 tygodniach badań stwierdzono we wszystkich grupach całkowite wycofanie się zmian chorobowych. Również histologicznie widoczne były jedynie niewielkie ogniska fibroblastów pod prawidłowym nabłonkiem i błoną Bowmana, jako ślad po toczących się tu procesach zapalnych. Ptaki przestały mieć trudności ze znalezieniem karmy, a ich stan kondycyjny ulegał stałej poprawie.

Wykluczenie w powyższych badaniach tła zakaźnego *keratoconjunctivitis*, czy też wskutek niedoboru witaminy A nasunęło podejrzenie wpływu czynników środowiskowych. W trakcie

przeprowadzonej lustracji ferm stwierdzono znaczne podwyższenie w powietrzu kurników zawartości amoniaku (wykonane w godzinach przedpołudniowych, podczas pracy wentylatorów pomiary wykazały zawartość amoniaku w granicach 30—50 ppm). W świetle przeprowadzonego wywiadu powyższych zawartości amoniaku w powietrzu kurnika nie można jednak przyjąć za maksymalne, ponieważ hodowcy wyłączali na noc wentylatory. W tej sytuacji można niewątpliwie wnosić, że nocą podczas wyłączonej wentylacji mechanicznej stężenie amoniaku w powietrzu kurnika bardzo znacznie przekraczało przyjęte dla drobiu normy — 30 ppm.

Szkodliwy wpływ amoniaku na zdrowotność i produkcyjność kur był przedmiotem zainteresowań wielu autorów. Zawarty w powietrzu amoniak tworzy na powierzchni błon śluzowych oczu i górnych dróg oddechowych silnie drażniący, wywołujący odczyn zapalny wodorotlenek amonowy. Do uszkodzeń błon śluzowych dochodzi głównie nocą, kiedy stężenie amoniaku w pomieszczeniu osiąga najwyższą koncentrację (17). Obserwuje się wówczas przekrwienie, a nawet drobne wybroczyny na spojówkach oraz surowiczy, surowiczo-śluzowy, czy też śluzowo-ropny wypływ z worka spojówkowego. Powieki są obrzękłe, a ich krawędzie często zlepięte wysiękiem (7, 15, 17). Rogówka wykazuje rozlane delikatne zmętnienia oraz niekiedy owrzodzenia (5, 7, 15, 17). Chore ptaki wykazują światłowstręt (cecha różniująca niedobór witaminy A), ślepną, nie pobierają karmy i wody, szybko chudną i padają (4, 5, 9, 12, 17).

Amoniak nawet w małych stężeniach wywiera niekorzystny wpływ na produkcyjność kur. Ptaki wykazują gorsze przyrosty wagowe (5, 9, 12, 13), dojrzewanie płciowe jest opóźnione (4) oraz bardzo znacznie zostaje obniżona nieśność (12, 17). Według Charlesa i Pavnego (5) pod wpływem amoniaku dochodzi także u kur do zaburzenia gospodarki fosforowo-wapniowej, wyrażającej się odwapnieniem kości oraz ścięciem skorup jajowych. Wykazano także wpływ tego gazu na gospodarkę białkową, obniżenie poziomu hemoglobiny, jak również spadek aktywności transaminaz w wątrobie i sercu oraz wzrost aktywności transaminazy kwasu pirogroonowego (GPT) w surowicy krwi (1, 17).

Z uszkodzeniem błony śluzowej układu oddechowego oraz obniżeniem ogólnej odporności kur poddanych działaniu amoniaku wiąże się ich wzmocniona podatność na zakażenie wirusem pomoru rzekomego, zakaźnego zapalenia oskrzeli oraz mykoplazmami (4, 9, 12, 16). Nie wykazano natomiast wyraźnego wpływu amoniaku na przebieg zakażenia kurcząt kokcydiozą oraz wirusem choroby Mareka (2, 14).

W omówionym przez nas przypadku chorobowym zarówno objawy kliniczne, jak też przebieg procesu chorobowego wykazują daleko

idącą zbieżność z dotychczasowymi opisami *keratoconjunctivitis* u kur, powstałego wskutek oddziaływania amoniaku. W porównaniu jednak do danych piśmiennictwa (7, 8), nasze obserwacje wykazują pewne różnice w obrazie histologicznym tych zmian. Wyrażały się one głównie powstawaniem ognisk nekrobiozy i zwapnień nabłonka przedniego rogówki i błony Bowmana.

W świetle powyższych obserwacji można dostrzec, jak ogromnie ważne znaczenie posiada w przemysłowym chowie drobiu zapewnienie ptakom odpowiednich warunków mikroklimatu pomieszczeń. Nawet krótkotrwale (okres nocy) wyłączenie wentylacji mechanicznej prowadzi do wzrostu koncentracji szkodliwych domieszek gazowych w powietrzu kurnika, a zwłaszcza bardzo groźnego dla zdrowia ptaków amoniaku. Należy także podkreślić, że nie bez znaczenia dla rozwoju *keratoconjunctivitis* był wpływ czynników stresowych, jakimi mogły być w przypadku badanych ferm zmiana w 18 tygodniu życia warunków utrzymania i żywienia oraz transport ptaków.

Piśmiennictwo

1. Borisova L.: Vet. Med. Nauk. Sof. 12, 96, 1975.
2. Brouer R. N., Koon J.: Avian Dis. 17, 851, 1973.
3. Bullis K. L., Snoeyenbos G. H., Van Roekel H.: Poult. Sci. 29, 386, 1950.
4. Charles D. R., Payne C. G.: Br. Poult. Sci. 7, 177, 1966.
5. Charles D. R., Payne C. G.: Br. Poult. Sci. 7, 189, 1966.
6. Dorn D. R., Etteby M. F., Weber R.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 77, 262, 1964.
7. Goraj D., Sitko M., Kačmar P.: Veterinářství 21, 460, 1971.
8. Gratzl E., Köhler H.: Spezielle Pathologie und Therapie der Geflügelkrankheiten, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1969.
9. Kling H. F., Quarles C. L.: Poult. Sci. 53, 1161, 1974.
10. Kobylina V. A.: Veterinarija, Moskwa 39, 46, 1962.
11. Ljabin B. Ja., Vinogradov O. V., Ljabin L. M.: Veterinarija, Moskwa 42, 35, 1965.
12. Moun S. G., Seltzer W., Gollhaft T. B.: Poult. Sci. 48, 347, 1969.
13. Quarles C. L., Kling H. F.: Poult. Sci. 53, 1592, 1974.
14. Quarles C. L., Ranson J. A., Fagerberg D. J., Migaki T. T.: Poult. Sci. 54, 1807, 1975.
15. Rosocha J., Para L., Goraj O., Sitko M.: Progress in animal hygiene, edit. Kovács F. and Rafai P., Budapest 1975.
16. Sato S., Shoya S., Kobayashi H.: Natn. Inst. Anim. Hlth Q., Tokio 13, 45, 1973.
17. Wachnik Z.: Drob. 21, 16, 1973.

Adres autora: dr Marek Houszka, ul. Bacłarellego 61 m. 6, 51-649 Wrocław.

Хочунка М. Мазуркевич М. — Кератоconjunctivitis кур на фоне повышенного содержания аммиака в воздухе курятника.

Авторы описали случай кератоconjunctivита на двух фермах кур-несушек, возникшего вследствие повышенного содержания аммиака в воздухе курятника. Наряду с типичными для этого заболевания клиническими и секционными симптомами обнаружили характерную картину гистологических изменений роговицы. Они выражались в возникновении очагов некроbioза и обызвествлений переднего эпителия роговицы и оболочки Боумена. Возникшие кальциевые пластинки проникали в слой собственно роговицы, вызывая сильную межточечную воспалительную реакцию. Описанные изменения сопровождалась воспалительным состоянием конъюнктивы.

Houszka M., Mazurkiewicz M. — **Keratoconjunctivitis in hens due to an increased content of ammonia in the air of hen house air.**

The authors have described keratoconjunctivitis occurring in two farms of laying hens, which was caused by increased ammonia content in the hen house air. Besides the clinical and sectional symptoms

typical for this disease, characteristic histological changes of the cornea were found. They were demonstrated by the formation of necrobiotic foci and calcification of the anterior epithelium of the cornea and Bowman's membrane. Calcium lamellae formed were observed to penetrate the cornea itself, evoking a strong interstitial inflammation. The changes described were accompanied by conjunctivitis.

HIPOLIT MACHOY, MARIAN GRUNDBOECK

Bezpośrednie oznaczanie liczby limfocytów przy użyciu mikroskopu z kontrastem fazowym w diagnostyce białaczki bydła

Z Wojewódzkiego Zakładu Weterynarii w Lesznie
Z Pracowni Patologii Komórkowej Instytutu Weterynarii w Puławach

W hematologicznym rozpoznawaniu enzootycznej białaczki bydła pierwszorzędne znaczenie posiada liczba limfocytów w 1 μ l krwi. Na tej wartości oparte zostały liczne klucze białaczkowe jak np. klucz kopenhaski (1), getyndzki (7), europejski (cyt. 2), czechosłowacki (6) itp. Również w Polsce hematologiczna diagnostyka białaczki opiera się na określeniu bezwzględnej liczby limfocytów (9, 10). W związku z tym bardzo ważny jest wybór metody, przy pomocy której oznaczana będzie ta wartość. Najczęściej wyznacza się ją na podstawie ogólnej liczby leukocytów, określonej przy użyciu komory Bürkera i procentu limfocytów obliczonego w rozmazie krwi barwionym metodą Pappenheima. Pracochłonność i czasochłonność tego postępowania zostaje znacznie zmniejszona przy zastąpieniu komory Bürkera elektronicznym licznikiem krwinek. Tym niemniej, mikroskopowa analiza rozmazu stanowi w dalszym ciągu znaczne obciążenie dla personelu laboratoryjnego. Nadto oznaczenie procentu limfocytów w powszechnie przyjęty sposób na podstawie 100 białych krwinek jest źródłem znacznej niedokładności wyników (8). W związku z tym czynione były i nadal są czynione próby bezpośredniego oznaczania bezwzględnej liczby limfocytów. Grundboeck (3, 4) użył do tego celu standardowych kropelek krwi, które były nanoszone na szkiełka mikroskopowe a następnie hemolizowane i barwione. Kupsch i wsp. (5) oznaczali omawianą wartość metodą mikroskopową w komorze do liczenia krwinek, do których wprowadzono zawiesinę leukocytów wybarwionych fioletem goryczki.

Przedstawiona w tej pracy metoda nawiązuje do wyżej wymienionej metody autorów z NRD, wprowadzając jednak w miejsce barwienia komórek mikroskopowy kontrast fazowy.

Oceny tej metody, która w dalszym ciągu pracy będzie nazywana LKF (metoda liczenia w kontraście fazowym), dokonano na podstawie

zestawienia z powszechnie przyjętą metodą klasyczną, opartą na komorze Bürkera, barwionym rozmazie i zwyczajnej optyce mikroskopowej.

Opis metody

Postępowanie. Do badania używa się krwi zabezpieczonej od krzepnięcia zgodnie z obowiązującą instrukcją (10).

Do próbki zawierającej 0,38 ml 1% kwasu octowego lub płynu Türka wprowadza się 0,02 ml krwi uzyskując rozcieńczenie 1:20. Po wymieszaniu zawartości przenosi się zawiesinę do komory Bürkera. Po opadnięciu krwinek na dno komory oblicza się na powierzchni 2 mm² osobno liczbę wszystkich białych ciałek oraz osobno liczbę limfocytów, przy pomocy mikroskopu z dodatnim kontrastem fazowym używając powiększenia 300-krotnego. Procent limfocytów oblicza się według wzoru:

$$\% \text{ limf.} = \frac{\text{limf}}{\text{leuk}} \times 100$$

Morfologia białych krwinek w obrazie kontrastowo-fazowym

Limfocyty:

- komórki małe, z jądrami optycznie jednolitymi, silnie załamującymi światło,
- komórki o podobnych wymiarach co poprzednie, z jądrem optycznie pustym o odcieniu niebieskawym, z silnie załamującymi światło ziarnami, rozmieszczonymi w obwodowej części komórki,
- komórki w porównaniu z poprzednimi większe, jądro mniej załamujące światło, w centralnym punkcie „rozrzedzone”, sprawiające wrażenie pilsni.

Granulocyty: komórki duże z wyraźnie płatowatymi jądrami. Wyróżnia się granulocyty obojętnochłonne (z jądrem segmentowanym, pałczkowatym i metamielocyty) oraz eozynochłonne z widoczną ziarnistością w zarodku.

Monocyty: komórki duże o jądrami słabo zaznaczonych, wykazujących charakterystyczny, płatowaty kształt.

Ocena wiarygodności i wartości metody

Wielkość i powtarzalność wyników przy dokonywaniu szeregu oznaczeń w tej samej próbie. W próbie krwi zawierającej 16 000 białych krwinek w 1 μ l wykonano około 30 oznaczeń liczby limfocytów oraz procentu tych komórek metodą klasyczną oraz metodą LKF. Następnie obliczono dla uzyskanych wartości średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe w próbie, współczynniki zmienności oraz wartości t i F do