

MAGDALENA MATUSZEWSKA, ZBIGNIEW KOMOROWSKI

Analiza zmian morfopatologicznych u płodów poronionych w przebiegu wirusowego ronienia klaczy

Katedra Patologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Wirusowe ronienie klaczy (*rhinopneumonitis equorum*) jest chorobą wywołaną przez wirus *rhinopneumonitis* typ 1 (EHV 1) z rodziny *Herpesviridae*. Schorzenie występuje u koni, mułów i osłów w każdym wieku, wywołując zapalenie górnych dróg oddechowych, po którym zwierzę na ogół wraca do zdrowia o ile nie nastąpią powikłania. Poważnym problemem w hodowli koni jest fakt, że w przebiegu tej choroby u klaczy ciężarnych dochodzi do poronień. Wirus namnaża się początkowo w komórkach nabłonka wysielającego górne drogi oddechowe, wywołując stan zapalny błony śluzowej. Następnie dochodzi do wiremii, w wyniku której wirus zakaża błonę śluzową ciężarnej macicy, przechodzi przez błonę kosmówkowo-omoczniową, zakaża płód i namnaża się w jego komórkach. W hodowlach koni zakażonych wirusem *rhinopneumonitis equorum* może dochodzić do ronień u 90% klaczy (9).

Jedną z metod diagnozowania wirusowego ronienia klaczy są badania morfopatologiczne, a szczególnie histopatologiczne poronionych płodów. Za podstawę rozpoznania choroby uważa się stwierdzenie obecności wewnątrzjądrowych ciałek wtępowych typu A (Cowdry).

W czasie badań patomorfologicznych poronionych płodów końskich podejrzanych o *rhinopneumonitis equorum* nie zawsze stwierdza się pełne i typowe obrazy zmian morfologicznych, opisywanych w piśmiennictwie (1, 3, 4, 5, 8, 9, 10). Tego rodzaju fakty budziły wątpliwości i tym samym stwarzały trudności diagnostyczne. Sprowadzały się one często do stwierdzenia, że charakterystyczne zmiany dla ronienia wirusowego nie zawsze występowały równolegle we wszystkich narządach. Wśród zmian stwarzających trudności diagnostyczne na uwagę zasługiwały przypadki występowania nietypowych ciałek wtępowych wewnątrzjądrowych, których kształt, wielkość, ułożenie oraz zabarwienie odbiegały od klasycznych wzorców. Niekiedy obserwowano brak lub słabo zaznaczoną marginację chromatyny.

Wymienione odchylenia od typowych obrazów skłoniły nas do podjęcia próby wyjaśnienia wątpliwych pod względem diagnostycznym przypadków *rhinopneumonitis equorum* przez uzupełnienie badań w mikroskopie świetlnym badaniem mikroskopowo-elektronowym.

Materiał i metody

Badanie przeprowadzono na 272 poronionych płodów koni pochodzących z różnych stadnin z terenu całego kraju. W 124 przypadkach wykonano zarówno

badania sekcyjne, jak i histologiczne, w pozostałych — wyłącznie badanie mikroskopowe nadesłanych wycinków narządów wewnętrznych.

Materiał do badań w mikroskopie świetlnym stanowiły wycinki płuc, wątroby, śledziony, grasicy, węzłów chłonnych, które utrwalano w 10% zbuforowanej formalinie. Skrawki parafinowe barwiono metodą przeglądową hematoksyliną i eozyną. Do badań w mikroskopie elektronowym pobierano fragmenty wycinków wybranych narządów z uprzednio przygotowanych bloczków parafinowych (2). Bloczki eponowe krajano nożem szklanym na ultramikrotomie Tesla BS-490 A. Skrawki półciénki barwiono roztworem błękitu toluidyny, a następnie oglądano w mikroskopie świetlnym w celu przeprowadzenia wstępnej oceny zmian oraz wybrania odpowiedniego miejsca. Skrawki ultracienkie, kontrastowane octanem uranylu i cytrynianem ołowiu, oglądano w mikroskopie elektronowym JEM 100 C. Zdjęcia wykonywano na kliszach formatu 6,5 × 9 cm, Agfa, Scientia 23 D 56 AH oraz Foton TN-12.

Wyniki i omówienie

W badanym materiale stwierdzono na podstawie kryteriów anatomopatologicznych występowanie wirusowego ronienia klaczy w 74 przypadkach, co stanowi 27,5% przebadanych płodów.

Badania anatomopatologiczne makroskopowe. Rodzaj i częstotliwość występowania zmian makroskopowych przedstawia tab. 1. Charakter tych zmian był na ogół zgodny z danymi piśmiennictwa. W badaniach własnych jednak najczęściej stwierdzano wybroczyny krwotoczne pod błonami surowiczymi i w błonach śluzowych, podczas gdy Joost (4) na pierwszym miejscu wymienia obrzęk tkanki podskórnej. Wielkość ognisk martwicowych w wątrobie w materiale własnym nie przekraczała 2 mm średnicy. Powiększenie śledziony stwierdzaliśmy tylko sporadycznie.

Tab. 1. Najczęściej występujące zmiany anatomopatologiczne makroskopowe u płodów, u których stwierdzono *rhinopneumonitis equorum* (36 przypadków)

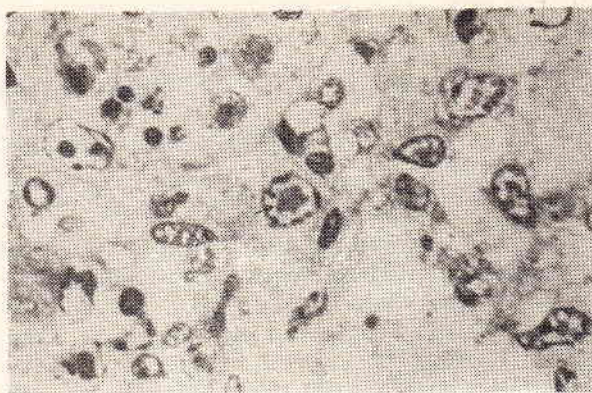
Rodzaj zmian	Częstość występowania zmian	
	liczba przypadków	%
Wybroczyny krwotoczne pod błonami surowiczymi	28	77,8
Płyn surowiczy w jamach ciała	21	58,3
Ogniska martwicowe w wątrobie	16	44,4
Żółtaczka	14	38,9
Przekrwienie narządów mięszo- wych	14	38,9
Obrzęk tkanki podskórnej	10	27,8

Tab. 2. Zmiany mikroskopowe w badanych narządach w przypadkach stwierdzonego *rhinopneumonitis equorum*

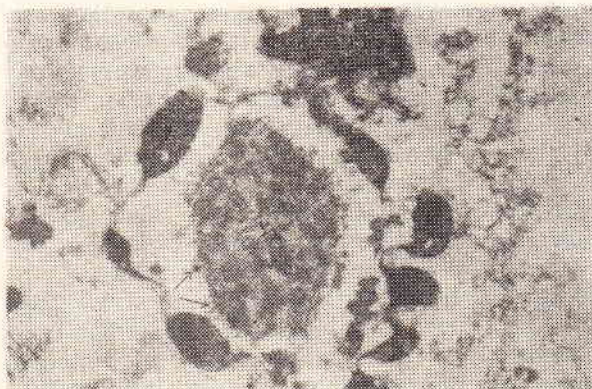
Narząd	Liczba przypadków	Rodzaj zmian	%
Płuca	75	Obecność ciałek wtrętowych oraz zmiany nekrobiotyczne komórek	84,0
		Zmiany zapalne	24,0
Wątroba	68	Obecność ciałek wtrętowych	77,7
		Obecność ognisk martwicowych	61,3
		Nacieki zapalne w tkance śródmiąższowej	20,0
Śledziona	66	Zmiany martwicowe w grudkach miazgi białej	80,3
		Obecność ciałek wtrętowych	22,7

Badania w mikroskopie świetlnym. Badanie histologiczne płuc (tab. 2) w przypadkach dodatnich wykazywało obecność kwasochłonnych ciałek wtrętowych wewnątrzjądrowych w komórkach nabłonka oskrzelików, którym towarzyszyły często zmiany nekrobiotyczne tych komórek. Podobne zmiany, aczkolwiek rzadziej, obserwowano w komórkach nabłonka pęcherzyków płucnych (ryc. 1). Znacznie rzadziej spotykano cechy zapalenia płuc śródmiąższowego lub włóknikowego. W wątrobie (tab. 2) w większości przypadków stwierdzonego *rhinopneumonitis* obserwowano obecność wyraźnych ognisk martwicowych oraz ciałek wtrętowych wewnątrzjądrowych. Nacieki zapalne w tkance śródmiąższowej widoczne były rzadko. W znacznym procencie przypadków dodatnich w śledzionie badanych płodów (tab. 2) występowały zmiany w grudkach chłonnych o charakterze martwicy kariorektycznej. Rzadziej ogniska martwicowe były obecne w miazdze czerwonej, a w uszkodzonych komórkach siateczki znajdowały się ciała wtrętowe wewnątrzjądrowe. Tylko w nielicznych przypadkach ciała wtrętowe wewnątrzjądrowe spotykane były w komórkach śródbłonka naczyń włosowatych badanych narządów.

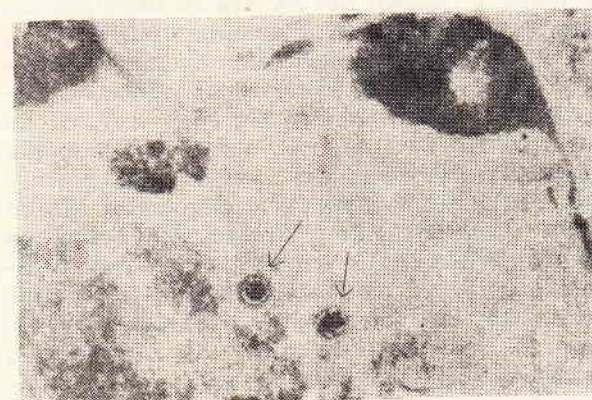
Badania w mikroskopie elektronowym. W jądrach komórkowych zawierających typowe ciała wtrętowe (ryc. 2) stwierdzano wyraźną marginację chromatyny, która przylegała do wewnętrznej blaszki błony jądrowej, przybierając postać mniejszych lub większych grudek, gęstych dla elektronów. Ciało wtrętowe zajmowało centralną część jądra i wykazywało włóknienkowo-ziarnistą strukturę. W obrębie ciała, a zwłaszcza w pobliżu jego krawędzi, stwierdzano na ogół nieliczne wirusy (ryc. 3). Wokół ciała występowała pusta, zwykle nie zawierająca żadnych struktur przestrzeni. W takich przypadkach obserwowano również wi-



Ryc. 1. Płuca. Typowe ciało wtrętowe (strzałka) widziane w mikroskopie świetlnym. Srawek półciemki. Pow. 100×



Ryc. 2. Płuca. Typowe ciało wtrętowe widziane w mikroskopie elektronowym. Marginacja chromatyny-X, ciało wtrętowe — y, pojedyncze wirusy — strzałka. Pow. 10 000×



Ryc. 3. Płuca. Pojedyncze wirusy występujące na obwodzie ciała wtrętowego — strzałka. Pow. 50 000×

rusy występujące poza obrębem jądra. Często stwierdzano przerwania ciągłości błony jądrowej.

Szczególną uwagę w badaniach elektronowo-mikroskopowych zwrócono na zmienione jądra komórkowe, które w obrazach mikroskopu świetlnego zawierały nietypowe ciała wtrętowe lub też zawierały twory nasuwające podej-

zenie ciałek wtrętowych. Przypadki tego typu budziły wiele wątpliwości i tym samym stwarzały trudności diagnostyczne. Wśród tego typu zmian wyłoniono następujące grupy:

— jądra z bardzo wyraźną marginacją chromatyny, których wnętrze wypełnione było zasadochłonną substancją.

— jądra z niezbyt silnie wyrażoną marginacją chromatyny i wnętrzem zawierającym „mgiełkę” słabo barwiącą się.

— jądra bez zaznaczonej marginacji chromatyny, zawierające wspomnianą wyżej „mgiełkę”.

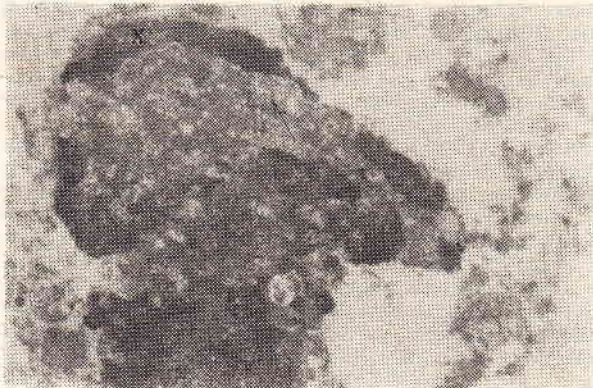
— jądra z niezbyt wyraźnie zaznaczoną marginacją chromatyny, zawierające pojedyncze lub liczne, zasadochłonne wtręty różnej wielkości.

Badania mikroskopowo-elektronowe wykazały, że jądra komórkowe zakwalifikowane do grupy 1 zawierały we wnętrzu ziarnisto-włókienkową masę, charakterystyczną dla typowych ciałek wtrętowych oraz wtopione w nią bardzo liczne wirusy (ryc. 4). W jądrach grupy 2 obserwowano włókienkowate struktury o bardzo luźnym utkaniu, pomiędzy którymi występowały pojedyncze wirusy. Podobnie przedstawiały się jądra zakwalifikowane do grupy 3 z uwzględnieniem braku chromatyny,

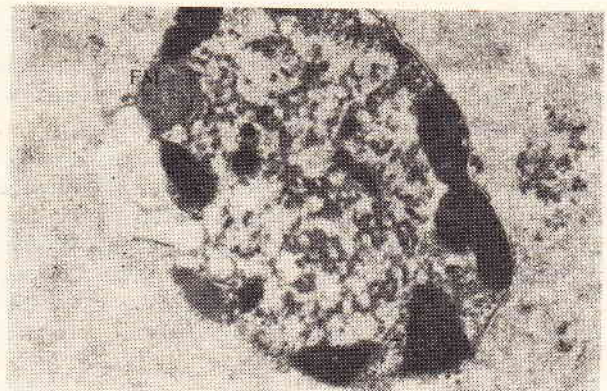
bądź stwierdzeniem jej w postaci jedynie bardzo małych grudek, ułożonych na obwodzie jądra (ryc. 5). W odniesieniu do jąder grupy 4 stwierdzano natomiast różnorodny obraz zmian ultrastrukturalnych. Obserwowano na ogół wtręty rzekome, przedstawiające sobą bądź to grudki chromatyny, bądź to obrzękłe, często rozpadające się jąderka (ryc. 6, 7). Czasami jednak wśród wymienionych struktur stwierdzano równocześnie obecność tworów posiadających budowę charakterystyczną dla typowych ciałek wtrętowych; twory te jednak miały wymiary wielokrotnie mniejsze niż typowe ciała wtrętowe (ryc. 7). W tych przypadkach zawsze widoczna była pewna liczba wirusów.

W zmienionych jądrach komórkowych obserwowano bardzo często twory o charakterze figur mielinowych. Ułożenie ich było bardzo różne; mogły występować zarówno w powiązaniu z błoną jądrową (ryc. 6), jak i wewnątrz jądra (ryc. 5). Występowanie tego zjawiska i powiązanie go ze zmianami nekrobiotycznymi jąder w ogóle, czy też w przebiegu zakażenia wirusowego nie jest w pełni wyjaśnione.

Z obserwacji własnych wynika, że zmiany charakterystyczne dla wirusowego ronienia kłaczy mogą nie występować równolegle we wszystkich narządach wewnętrznych. Narzą-



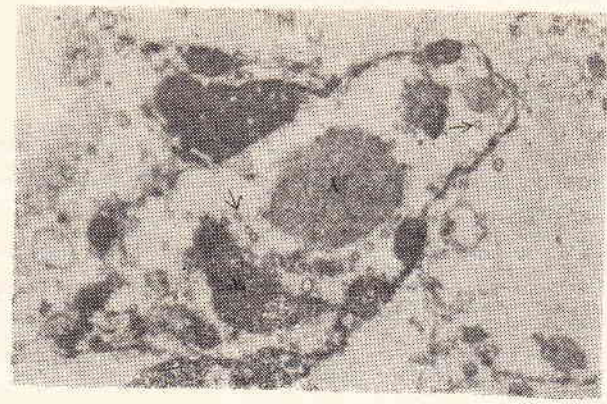
Ryc. 4. Płuca. Liczne wirusy wtopione we włókienkowo-ziarnistą masę wypełniającą jądro. Marginacja chromatyny — X, wirusy-strzałka. Pow. 10 000X



Ryc. 6. Płuca. Figura mielinowa — FM związana z błoną jądrową. Pow. 10 000X



Ryc. 5. Płuca. Figura mielinowa — FM wewnątrz jądra. Pojedyncze wirusy — strzałka. Pow. 13 000X



Ryc. 7. Płuca. Wtręt rzekomy — W będący grudką chromatyny, niewielkie ciało wtrętowe — Y, wirusy — strzałka. Pow. 6600X

dem, w którym najczęściej stwierdza się zmiany patognomiczne są płuca. Różnorodność w obrazie zmian w jądrach komórkowych w przypadkach określanych jako wątpliwe, a uszeregowanych przez nas w wymienione wcześniej cztery grupy, związane jest prawdopodobnie z „wiekiem” ciała wtrętowego. W przypadkach zaliczanych do grup 1 — 3 nie mieliśmy obrazu typowego ciała wtrętowego, opisanego przez Kriega (7) i zgodnego z obserwacjami własnymi. W każdym z tych przypadków wykazywaliśmy jednak wewnątrz jądra komórkowego obecność wirusów, odpowiadających swoją wielkością wirusowi ronienia. Przemawiałoby to za zakażeniem komórki przez wirusy. Bardzo duża liczba wirusów wtopionych w ziarnisto-włókienkową strukturę ściśle wypełniającą wnętrze jądra może świadczyć o wcześniejszej fazie zakażenia komórki i przygotowaniu do wykształcenia ciała typowego. Rozluźniona znacznie substancja tworząca ciało oraz obecność nielicznych tylko wirusów może przemawiać za końcową fazą zakażenia i — być może — poprzedza rozpad jądra komórkowego. Nie wyjaśniona pozostaje sprawa figur mielinowych, czy też mielinopodobnych, spotykanych wewnątrz jądra komórkowego.

Wnioski

1. Diagnostowanie *rhinopneumonitis equorum* powinno być oparte o badanie histologiczne przynajmniej trzech podstawowych narządów: płuc, wątroby, śledziony.
2. Badanie elektronowo-mikroskopowe może rozstrzygnąć wątpliwe z punktu widzenia mikroskopii świetlnej przypadki zmian przy *rhinopneumonitis*, a systematycznie przeprowadzane badanie elektronowo-mikroskopowe uzupełniające, mogłoby stworzyć podstawę do uściślenia kryteriów histomorfologicznych stosowanych w mikroskopie świetlnym.
3. Budząc wątpliwości twory wewnątrzjądrowe (z wyjątkiem wtrętów rzekomych) mogą być uważane za pewne stopy wykształcenia się zmian w przebiegu zakażenia wirusem.

Piśmiennictwo

1. Bagust T. J.: Vet. Bull. 41, 79, 1971.
2. Hagel E.: Pat. pol. 28, 131, 1977.
3. Jelev V.: Izv. Inst. Path. Zhivotnits, Sofia 10, 245, 1964.
4. Joest E.: Handbuch der speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere, t. 6, cz. 2, Verlag Paul Parey, 1967.
5. Jubb K. V. F., Kennedy P. C.: Pathology of domestic animals, t. 1, Academic Press, 1970.
6. Kernen M. J.: Am. vet. med. Ass. 166, 85, 1975.
7. Krieg K.: Arch. exp. Vet. Med. 20, 351, 1966.
8. Petzoldt K., Rosenbruch M., Thein P., Merkt H., Schultze-Spüntrup J.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 95, 81, 1982.
9. Smith H. A., Jones T. C., Hunt R. D.: Veterinary Pathology. Lea & Febiger, 1972.
10. Studdert M. J.: Cornell Vet. 64, 94, 1974.

Adres autora: lek. wet. Magdalena Matuszewska, ul. Lazurowa 12 m. 58, 01-315 Warszawa

Матушевская М., Коморовский З. — Анализ морфопатологических изменений у абортыванных плодов в ходе вирусного аборта кобылы

Исследовали 272 случая абортыванных лошадиных плодов, присланных из конзаводов с территории всей страны, у 124 плодов выполнили секционные и гистологические исследования, а у остальных лишь гистологические. Материал для исследований в световой микроскоп составляли вырезки легких, печени, селезенки, зубной железы и лимфатических узлов, фиксируемые в 10% буферированном формалине, парафиновые срезы красили обзорным методом Н—Е. Из выбранных случаев, из парафиновых блоков брали материал для исследований в электронный микроскоп.

Отметили в 74 случаях на основе наличия инклюзивных внутриядерных телец типа А (Cowdry). Встречались различные морфологические формы инклюзивных телец, вызывающие диагностические затруднения в световом микроскопе. В этих сомнительных случаях в электронный микроскоп обнаруживали присутствие вирусов в ядрах клеток, что свидетельствует об инфекции. Диагностирование вирусного аборта кобылы должно опираться на гистологическое исследование по крайней мере 3 органов: легких, печени, селезенки.

Характерные изменения появляются чаще всего в легких. Инклюзивные внутриядерные тельца с несомненно типичной картиной следует считать определенными этапами формирования изменений в развитии вирусной инфекции.

Matuszewska M., Komorowski Z., — The analysis of morpho-pathological changes in fetuses aborted during the course of viral abortion in mares

The investigations were carried out on 272 equine fetuses sent to the laboratory from the whole country. Histological and morphopathological examinations were performed in 124 fetuses; the rest material was assayed histopathologically only. The samples of the lungs, liver, spleen, thymus, and lymph nodes fixed in a 10% sol. of buffered formalin, and paraffin sections stained with H-E method, were appreciated under light microscopy. The sections from the chosen samples were examined under electron microscope. Rhinopneumonitis equorum was stated in 74 cases on the basis of intranuclear bodies of type A (Cowdry). There were observed different forms of intracellular bodies and then it was necessary to confirm the presence of viruses in the nucleus of cells by electron microscopy. Diagnosing of viral abortion in mares should be based at least on histological examinations of three organs, i.e. the lungs, liver, and spleen. Characteristic lesions most often occur in the lungs. Intranuclear bodies with atypical shapes should be considered as the phases of the development of changes in cells in the course of viral infection.

MARSOLAIS G., MAROIS P.: Typy wirusa zakaźnego zapalenia oskrzeli ptaków izolowane na terenie Quebec. (Types of avian infectious bronchitis strains isolated in Quebec). Can. J. comp. Med. 46, 150—153, 1982 (2).

W okresie 1972—1980 wyizolowano od kur na terenie Quebec 24 szczepy wirusa zapalenia oskrzeli. W oparciu o odczyn seroneutralizacji z użyciem monospicyficznych surowic wyprodukowanych na SPF kurczętach dla 13 różnych szczepów referencyjnych wirusa wykazano, że 10 szczepów było identycznych z typem Connecticut, sześć z typem Holland, jeden z typem SE-17. Siedem szczepów nie reagowało w odczynie seroneutralizacji z żadną z trzynastu surowic dla szczepów wzorcowych.

G.