

Morfologia i immunocytochemia chłoniaków złośliwych zidentyfikowanych u bydła i psów

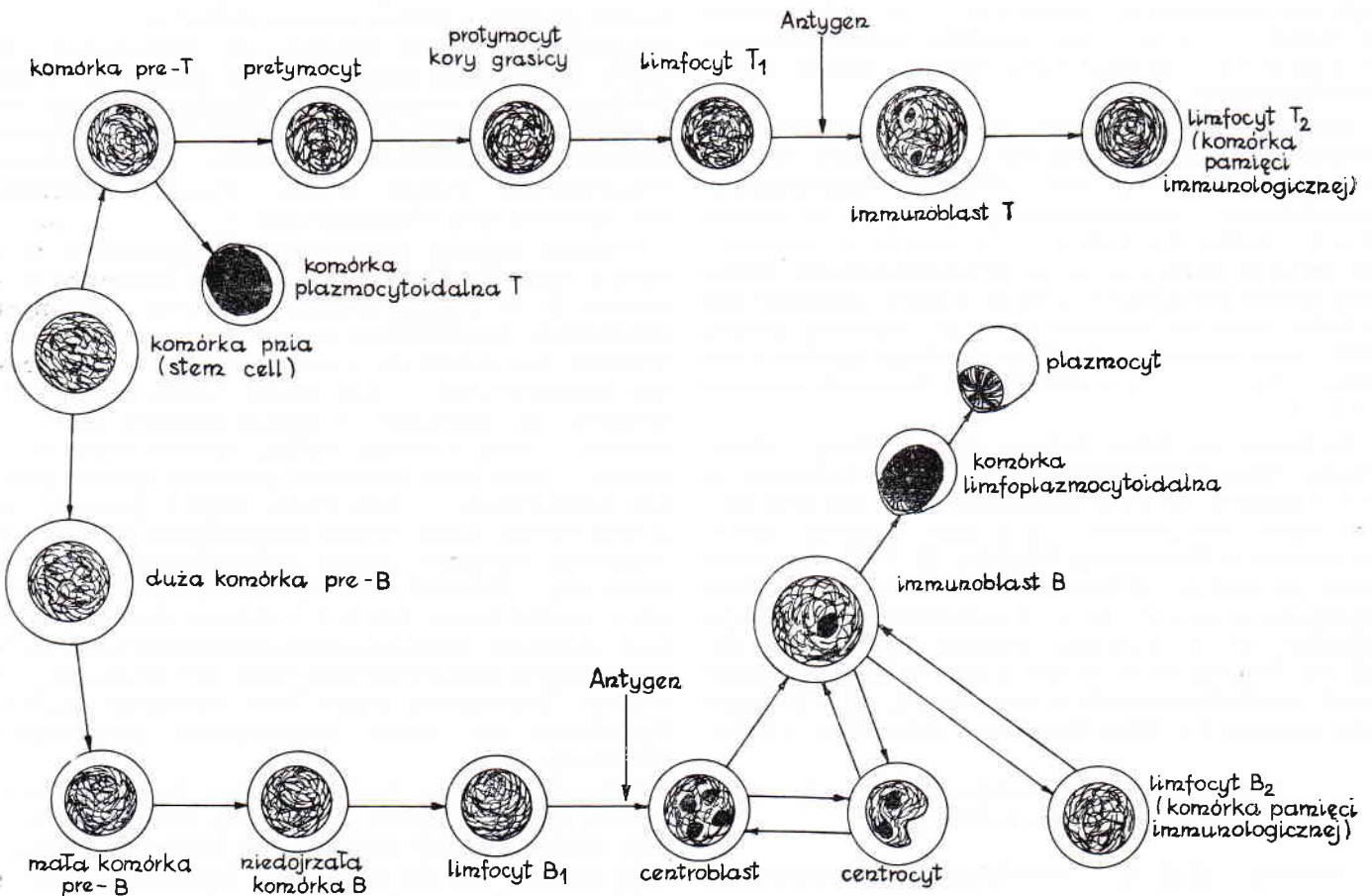
Katedra Anatomii Patologicznej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław
Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Wrocławska 170, 45-836 Opole

Chłoniaki złośliwe (*lymphoma malignum* — LM), zwane także chłoniakomięsakami (*lymphosarcoma* — LS) przedstawiają u ludzi i zwierząt nowotworowy, monoklonalny rozrost komórek układu limfoidalnego. Są one często morfologicznym wykładnikiem białaczki, stąd w patologii weterynaryjnej określenie — chłoniakomięsak lub chłoniak złośliwy — używane jest jako synonim białaczki limfatycznej. W enzoptycznej białaczce bydła (EBB) zmiany proliferacyjne w postaci chłoniakomięsaków (guzowata postać choroby) ujawniają się u mniej niż 5% zwierząt (1), przy czym wywodzą się one, wyłącznie z komórek linii B. Również większość guzów związanych ze sporadyczną białaczką limfatyczną (SBL) wykazuje cechy chłoniaków B-pochodnych. Jedynie nieliczne przypadki białaczki cieląt, w tym postać grasiczą, można zaszeregować do chłoniaków typu T (11). Na obecnym etapie wiedzy kryteria morfologiczne nie pozwalają na jednoznaczne odróżnienie chłoniaków złośliwych związanych z EBB od chłoniaków związanych z SBL.

U psów zdecydowana większość chłoniakomięsaków wykazuje w badaniach cytoenzymatycznych i immuno-

logicznych cechy komórek B. Natomiast typowym przedstawicielem chłoniaków T-pochodnych jest u psów rzadko spotykany ziarniniak grzybiasty (*mycosis fungoides*), wywodzący się z obwodowych limfocytów T (3).

Chłoniaki złośliwe mogą atakować tylko poszczególne narządy lub równocześnie wiele narządów i to w różnych układach. Wiele chłoniaków złośliwych przebiega z białaczkowym obrazem krwi, a częstość zmian we krwi obwodowej zależy w dużym stopniu od typu cytologicznego rozrostu. W piśmiennictwie weterynaryjnym brak jest jednak bliższych danych na temat korelacji między typem chłoniaka a zmianami we krwi. Wiadomo natomiast, że większość chłoniakomięsaków związana z EBB przebiega z przewlekłą limfocytozą (PL). Pozostała część chłoniaków złośliwych u bydła może nie dawać obrazu białaczkowego krwi. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że przewlekła limfocytoza nigdy nie towarzyszy sporadycznej białaczce limfatycznej, ale pojawiają się w jej przebiegu, zwłaszcza przy szybkim wzroście guzków komórki nowotworowe we krwi (11). Spotyka się je częściej u bydła dotkniętego SBP, aniżeli u krów z EBB.



Ryc. 1. Schemat morfogenezy komórek linii B i T ilustrujący podstawy morfologicznej klasyfikacji chłoniaków złośliwych

Tab. 1. Zestawienie chłoniaków złośliwych zidentyfikowanych u bydła i psów

Typ cytologiczny	Skrót	Bvdlc	Psy
Centroblastyczno-centrocytarny	Cb/Cc	+	+
Centroblastyczny (podtyp monomorficzny)	Cb/m	+	+
Centroblastyczny (podtyp polimorficzny)	Cb/p	+	+
Limfoblastyczny	Lb	+	+
Limfoblastyczny (typ „convoluted”)	Lb/c	+	+
Limfoblastyczny niezdefiniowany („undefined”), czyli nieokreślony („undetermined”)	U	+	+
Immunoblastyczny	Ib	+	+
— Immunoblastyczny z plazmocytnym różnicowaniem	Ib/P	+	+
Immunocytny* (immunocytna)	Ic	+	+
— postać limfoplazmocytna	Ic/Lp	+	+
Ziarniniak grzybiasty (<i>Mycosis fungoides</i>)	MF	—	+

Objaśnienie: * — termin „chłoniaki złośliwe immunocytny” (zmodyfikowana klasyfikacja kilońska) został wprowadzony przez Lutza i wsp.: Leukämien und Lymphome, Fortschritte und Hoffnungen. Urban und Schwarzenberg, München—Wien—Baltimore, 1988.

W oparciu o te stwierdzenia można wyróżnić u zwierząt dwie podstawowe grupy chłoniaków złośliwych: — chłoniaki złośliwe leukemiczne (chłoniako-białaczki) — chłoniaki złośliwe aleukemiczne.

Badania cytologiczne, cytoenzymatyczne i immunologiczne dowodzą, że chłoniaki złośliwe u zwierząt, podobnie jak u ludzi, stanowią pod względem cytologicznym bardzo zróżnicowaną grupę nowotworów tkanki limfoidalnej. Wynika to z faktu, iż ich punktem wyjścia mogą być komórki limfocytny, znajdujące się na rozmaitym etapie transformacji (ryc. 1). Morfologiczna różnorodność chłoniaków i ich zróżnicowana złośliwość ma w patologii człowieka istotne znaczenie w rokowaniu i monitorowaniu leczenia chorób limfoproliferacyjnych.

Chłoniaki o małym stopniu złośliwości zbudowane są przede wszystkim z „cytów” (limfocytów), chociaż mogą zawierać pewną ilość „blastów” (limfoblastów, centroblastów, immunoblastów). Chłoniaki o dużym stopniu złośliwości złożone są wyłącznie z „blastów” (2). Istnieją spostrzeżenia, że cytologiczna struktura chłoniakomięsaków u bydła i psów, podobnie jak u ludzi, może się zmieniać wraz ze wzrostem guzów, przy czym proces transformacji przebiega zgodnie z zasadami różnicowania i dojrzewania populacji limfocytów (13).

Nieliczne, jak dotąd, badania nad strukturą i klasyfikacją chłoniaków złośliwych u zwierząt wskazują, że pod względem cytologicznym mogą one przyjmować takie same postacie, jak u ludzi. U bydła i psów, w oparciu o klasyfikację kilońską (3, 4, 5), diagnozowano najczęściej chłoniaki centroblastyczne, centroblastyczno-centrocytarny i immunoblastyczne, tj. wywodzące się z komórek centrum blastycznego (11, 12, 13). Przedstawione w tab. 1 typy chłoniaków złośliwych zidentyfikowanych u zwierząt (11, 12, 13) stanowią zaledwie 1/3 sklasyfikowanych chłoniaków u ludzi.

Charakterystyka chłoniaków złośliwych rozpoznanych u bydła i psów

Chłoniak złośliwy centroblastyczno-centrocytarny (*lymphoma malignum centroblasticum-centrocyticum* — LM Cb/Cc) wywodzi się z centrum blastycznego (follicular center cells — FCC). Jest więc chłoniakiem

typu B. Rozrost złożony jest głównie z centrocytów oraz z mniej licznych centroblastów z nielicznymi figurami podziału, wśród których znajdują się prawidłowe komórki dendrytyczne i histiocytarne. Dominującą komórką w rozroście jest zawsze **centrocyt**.

Centrocyt jest komórką małej lub średniej wielkości, posiada nieregularne, kanciaste lub wydłużone jądro z charakterystycznymi wcięciami (wpukleniami) błony jądrowej (tzw. cleaved cells). Komórki małe mają zagęszczone jądra, w większych — układ chromatynny jest luźniejszy. Jądro zawiera małe jąderka (1—2), zwykle położone centralnie, niekiedy wyłącznie w pobliżu błony jądrowej. Cytoplazma jest słabo giemsofilna. Brak jest wykładników cytochemicznych specyficznych dla centrocytów.

Centroblast jest komórką małej, średniej lub dużej wielkości, posiada okrągłe lub owalne jądro (nie-wpukłone-non cleaved), zawierające kilka (najczęściej 3—4) jąderek, z których jedno lub dwa przylegają do błony jądrowej. Cechą charakterystyczną centroblastu jest silnie zasadochłonna (giemsofilna) cytoplazma.

Nowotworowe centrocyty i centroblasty mają na swej powierzchni Ig i receptory dla C3b i C3d dopełniacza (15). Produkowane przez centrocyty i nie wydalone poza komórkę cytoplazmatyczne immunoglobuliny można niekiedy wykazać techniką PAP (peroksydaza-antyperoksydaza). Zatrzymane w komórkach immunoglobuliny ulegają wypłukaniu w procesie barwienia preparatu i pozostawiają pustą przestrzeń, upodabniając komórki do sygnetu (wariant chłoniaka z tzw. komórek sygnetowatych — signet-cell ring lymphoma).

Chłoniaki centroblastyczno-centrocytarny mogą ewoluować do typu o dużym stopniu złośliwości i to znacznie częściej niż inne chłoniaki (4). Biologicznie LM Cb/Cc jest bardziej agresywny, gdy zawiera w swoim składzie więcej centroblastów. Rzadko przebiega on z białaczkowym obrazem krwi. Najczęstszym umiejscowieniem pozawęzłowym nowotworu jest śledziona. Diagnostycznie ważnym, chociaż nieczęstym objawem jest martwica oraz włóknienie guzów.

Chłoniak złośliwy centroblastyczny (*lymphoma malignum centroblasticum* — LM Cb) jest rozrostem limfocytów B o dużym stopniu złośliwości. Głównym składnikiem komórkowym nowotworu są centroblasty. Niekiedy guz składa się z samych centroblastów (podtyp monomorficzny — LM Cb/m). Innym razem centroblasty są zmieszane z immunoblastami, które są większe i mają bardziej obfitą, zasadochłonną cytoplazmę i jedno duże, centralnie położone jąderko (podtyp polimorficzny — LM Cb/p). Figury podziału są zawsze bardzo liczne. Wśród centroblastów spotyka się makrofagi nadające „obraz gwiazdowego nieba — stary sky”. Chłoniak ten może się wywodzić pierwotnie z centroblastów lub być wynikiem złośliwej ewolucji chłoniaka centroblastyczno-centrocytarnego. Rozrost komórek nowotworowych może być grudkowy lub rozlany. Białaczkowy obraz krwi występuje rzadko. Cytochemia nie wnosi diagnostycznie przydatnych informacji.

Chłoniak złośliwy limfoblastyczny (*lymphoma malignum lymphoblasticum* — LM Lb). Określenie chłoniak limfoblastyczny stosowane w klasyfikacji kilońskiej (termin ten nie figuruje w klasyfikacji Lukesa i Collinsa — 7, 8, 9) odnosi się do chłoniaków o dużym stopniu złośliwości, które mogą przyjmować postać guzów lub równocześnie ostrej białaczki limfoidalnej.

Klasyfikacja kilońska wyróżnia trzy główne typy chłoniaków limfoblastycznych:

- chłoniaki złośliwe limfoblastyczne z komórek B,
- chłoniaki złośliwe limfoblastyczne z komórek T,
- chłoniaki złośliwe limfoblastyczne niezdefiniowane.

Chłoniak limfoblastyczny z komórek B (*lymphoma malignum lymphoblasticum* B — LM Lb-B) jest rozrostem z komórek B, które cechuje obecność dużych ilości SIg, brak tworzenia rozetek z erytrocytami barana i nieobecność antygenu grasiczego HTLA (human thymus leukemia antigen). Zasadochłonne limfoblasty są silnie pylonino- i giemsofilne, a ich cytoplazma wykazuje obecność wakuoli, z których większość ma charakter kropel tłuszczu. Monomorficzne jądra o średniej wielkości mają kształt okrągły i zawierają od 2 do 5 jąder, umiejscowionych zwykle przycentralnie lub obwodowo. Reakcja PAS jest ujemna. Rozrost komórek jest zawsze rozlany, co związane jest z dużą aktywnością mitotyczną nowotworu. Między komórkami nowotworowymi, które leżą ściśle obok siebie (rozrost kohezyjny) obserwuje się dosyć liczne histocyty, dające obraz gwiazdzystego nieba — starry sky. Nie jest on jednak swoisty dla LM Lb-B.

Pod względem histogenetycznym skład komórkowy chłoniaka limfoblastycznego z komórek B odpowiada małym centroblastom z okrągłym niewpuklonym jądrem (small non-cleaved). Morfologia komórek zdaje się wskazywać, że LM Lb-B wywodzi się z centrum blastycznego. Można zatem postawić znak równości między LM Lb-B (klasyfikacja kilońska) a chłoniakiem z małych komórek centrum blastycznego typu small non-cleaved (klasyfikacja Lukesa i Ccollinsa), czemu dają zresztą wyraz Lennert, Collins i Lukes (3) w wspólnym opracowaniu.

Termin „limfoblast” w klasyfikacji kilońskiej jest określeniem mylącym, ponieważ komórki chłoniaków limfoblastycznych nie są prekursorami limfocytów. Pod pojęciem „limfoblast” rozumie się reakcję limfocytów na działanie antygenu, która wyraża się powiększeniem i przygotowaniem komórki do podziału. Limfoblast jest więc komórką funkcjonalnie nową, ale nie w sensie genealogicznym. Argumentem przemawiającym za pozostawieniem tego terminu w użyciu i klasyfikacji chłoniaków jest fakt, że w praktyce hematologicznej komórki ostrej białaczki limfoidalnej (ALL) zwane są limfoblastami, bez zwracania uwagi na jakim etapie komórki te znajdują się w linii rozwojowej układu chłonnego (2).

Chłoniak złośliwy limfoblastyczny z komórek T (*lymphoma malignum lymphoblasticum* T) z jądrem poskręcanym o pofałdowanej powierzchni — typ „convoluted”, wywodzi się głównie z pro- i pretymocytów grasicy. Nowotwór szybko się rozprzestrzenia i nacieka rozlanie strefę T węzłów chłonnych, śledzionę, szpik kostny, skórę i inne narządy (14). W końcowej fazie przyjmuje zwykle postać leukemiczną (ostra białaczka limfoblastyczna — T-ALL). W skład nowotworu wchodzi komórki małe i średniej wielkości o zmiennej średnicy jądra, wykazujące dużą aktywność mitotyczną. Charakterystyczne dla tego chłoniaka komórki typu „convoluted” spotyka się głównie wśród komórek większych z pyłkową chromatyną jądrową. Często obserwuje się obraz starry sky. W identyfikacji chłoniaka limfoblastycznego T-pochodnego, który wykazuje duże podobieństwo do rozlanego chłoniaka centroblastyczno-centrocytarnego (LM Cb/Cc), szczególne znaczenie ma histochemiczne oznaczenie aktywności fosfatazy kwaśnej i badanie markerów powierzchni-

wych. Chłoniaki limfoblastyczne T-komórkowe są pozytywne w teście rozetowym E i negatywne SIg. Wykazują w 90% obecność ogniskowej, ostro odgraniczonej reakcji na kwaśną fosfatazę w okolicy aparatu Golgiego.

Chłoniak złośliwy limfoblastyczny nie zdefiniowany (*lymphoma malignum lymphoblasticum* U, Undefined, LM U) obejmuje wszystkie chłoniaki, których komórki nie mają na swej powierzchni konwencjonalnych markerów ani B, ani T. Chłoniak ten jest morfologicznym wykładnikiem wspólnej ostrej białaczki limfoblastycznej (common ALL), nazywanej białaczką bezmarkerową, czyli z komórek ani-T, ani-B (null lub non-T, non-B ALL). Z badań Voglera i wsp. (cyt. 2) oraz Linka i wsp. (6) wynika, że około 1/5 „common ALL” wywodzi się z limfocytów pre-B, których jądra charakteryzują się cechą „convoluted”, ale bez aktywności fosfatazy kwaśnej. W większości przypadków LM U limfoblasty chłoniaka cechują się okrągłymi lub owalnymi jądrami i nieznaczną zasadochłonnością cytoplazmy. W przypadkach LM U z cechą „convoluted” obserwuje się w jądрах obecność wyraźnych, czasami mnogich (2—3) jąder, czego nie stwierdza się w chłoniakach limfoblastycznych T-pochodnych typu convoluted. Naciek nowotworowy w węzłach chłonnych jest zawsze rozlany i zazwyczaj przekracza torebkę i beleczki.

Chłoniaki złośliwe immunoblastyczne (*lymphoma malignum immunoblasticum* — LM Ib) mogą wywodzić się zarówno z immunoblastów B, jak i T. W rozumieniu czynnościowym immunoblast jest limfocytym pobudzonym do podziału wskutek kontaktu z antygenem, modulującym w komórki plazmatyczne lub limfocyty B₂ (komórki pamięci immunologicznej).

Chłoniaki immunoblastyczne z komórek B mają charakter rozlany i składają się przede wszystkim z immunoblastów. Są to komórki większe od centroblastów z dużym okrągłym jądrem i z dużym, zwykle centralnie umiejscowionym, pojedynczym jądrem. Plazma immunoblastów jest obfita, ma wyraźne granice, jest silnie zasadochłonna — giemsofilna. Barwi się czerwono pyloniną, zmiennie PAS. Figury podziału są liczne, atypia może być wybitna. Wśród nacieków mogą się pojawiać w wyniku modulacji immunoblastów komórki plazmatyczne. Guzy takie określa się mianem „immunoblastoma z plazmatycznym różnicowaniem” (10). W ponad 50% LM-Ib, zwłaszcza z plazmatycznym różnicowaniem, można stwierdzić techniką PAP obecność immunoglobuliny cytoplazmatycznej (CIg). Ponadto komórki chłoniaka wykazują obecność immunoglobuliny powierzchniowej (SIg).

Chłoniaki immunoblastyczne z komórek T zdarzają się rzadziej i naciekają w początkowym okresie strefę przykorową węzłów chłonnych. Utkanie nowotworu składa się z komórek T znajdujących się w rozmaitych stadiach blastycznej transformacji — od prawidłowego limfocyta o zagęszczonych jądrami i skąpej cytoplazmie, poprzez średnie komórki limfoidalne — aż do immunoblastów. We wszystkich komórkach jądra mają kształt nieregularny, powierzchnia ich jest pozaciągana. W preparatach barwionych HE i PAS cytoplazma jest wodojasna o wyraźnych granicach. Po zabarwieniu metodą Giemsky immunoblasty T mają plazmę ciemną. Z krwinkami barana komórki T tworzą rozety E, nie wykazują obecności SIg, ani CIg, natomiast cechują się antygenem HTLA (5, 16). Rozpoznanie chłoniaków immunoblastycznych jest bardzo trudne i wymaga różnicowania z innymi chłoniakami z du-

zych komórek oraz oparcia na badaniach immunologicznych.

Ziarniniak grzybiasty (*Mycosis fungoides*) rozpoznany u psa (13) jest bardzo rzadkim schorzeniem przebiegającym początkowo ze zmianami w skórze; potem w węzłach chłonnych i narządach wewnętrznych. Rozrost dotyczy obwodowych limfocytów T.

Szczególny typ chłoniaków złośliwych przedstawiają chłoniaki immunocytarne (immunocytoma — Ic). Zostaną one przedstawione w kolejnym doniesieniu, opartym na badaniach własnych.

Piśmiennictwo

1. Ferrer J. F., Marshak R. R., Abt D. M., Kenyon S. J.: Ann. Rech. Vet. 9, 851, 1978.
2. Janicki K.: Hematologia kliniczna. PZWL, Warszawa 1991.
3. Lennert K., Collins R. D., Lukes R.: Histopatologia 7, 549, 1983.
4. Lennert K., Stein H., Mohri N., i wsp.: Handbuch der speziellen

pathologischen Anatomie und Histologie. Tom 1/38, Springer Verlag, Berlin 1978.

5. Lennert K.: Malignant Lymphomas other than Hodgkin's Disease, Springer Verlag, Berlin—Heidelberg—New York 1978.
6. Link M. P., Roger M., Dorfman R. F., i wsp.: Blood 61, 5, 838, 1983.
7. Lukes R. J., Collins R. D.: Cancer 34, 1438, 1974.
8. Lukes R. J., Collins R. D.: Brit. J. Cancer. 31 Suppl. II, 1, 1975.
9. Lukes R. J., Collins R. D.: Cancer Treat. Rep. 61, 971, 1977.
10. Mioduszevska O., Porwit-Książek A.: Patologia. pol. 1, 1, 1980.
11. Parodi A. L. (w): Burny A., Mammariex M. (wyd.) Martinus Nijhoff Publishing, Boston 1978.
12. Parodi A. L., Mialot M., Crespeau F., Levy D., Salmon H., Noqués G., Gerard-Marchand R.: Fourth Intern. Symp. Bovine Leukosis (wyd. Straub O. C.), Brussels—Luxemburg 1982, s. 561.
13. Parodi A. L., Dargent F., Crespeau F.: J. Vet. Med. A, 35, 178, 1983.
14. Stewart Sell M. D.: Immunology, Immunopathology and Immunology. Elsevier Sci. Publ. Comp. Inc. 1987.
15. Stein H., Papadimitriou C.S., Bouman H., Lennert K., Fuchs J.: Recent Results Cancer Res. 1, 158, 1978.
16. Waldron A., Leech J., Glück R. i wsp.: Cancer 49, 1604, 1977.

Adres autora: prof. dr hab. Czesław Kaszubkiewicz, ul. C. Norwida 31, 59-375 Wrocław

ALEKSANDRA HARTWIG, GRAŻYNA TOPOLSKA

Zastosowanie Apitolu w różnych okresach sezonu pszczelarskiego

Pracownia Chorób Owadów Użytkowych Katedry Epizootologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Summary

Application of Apitol in various seasons of beekeeping

The aim of the work was to establish the efficacy of Apitol to control *Varroa* diseases used in spring, summer and in autumn as a food additive. Apitol applied once for feeding in spring or autumn effectively lowered the level of *Varroa jacobsoni* invasion and is safe. Apitol added to the mixture honey-water is the best accepted by bees.

Już od ponad 10 lat roztocze *Varroa jacobsoni* nęka nasze pasieki. Aby uniknąć zagłady rodzin konieczne jest coroczne stosowanie leków ograniczających populację pasożyta. Najbardziej rozpowszechnione są leki w formie dymu, jak: Apiwarol AS, Warrosekt, Fumilat, czy Folbex VA. Stosowanie ich wymaga dużego nakładu pracy pszczelarza; aby ją ułatwić — stale poszukuje się leków skutecznych i łatwych w użyciu.

Jednym z nowych leków, który ma być wprowadzony na polski rynek, jest systemowy preparat Apitol, produkowany przez firmę Ciba-Geigy. Ma on postać granulatu, dobrze rozpuszcza się w wodzie. Według instrukcji producenta preparat ten można stosować w formie oprysku lub podkarmiania. Odmianie pszczół, jak i opryskiwanie jest pracochłonne, podkarmianie zaś należy do rutynowych zabiegów hodowlanych.

Celem badań było określenie skuteczności Apitolu stosowanego w formie podkarmiania oraz ustalenie najkorzystniejszego terminu podawania leku.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w trzech pasiekach o zbliżonym stopniu zaatakowania przez roztocze *Varroa jacobsoni*, położonych w okolicach Warszawy — pasiece M — 30-pniowej, W — 39-pniowej i S — 10-pniowej, od października 1990 do sierpnia 1991 r. Apitol Ciba Geigy w ilości 700 mg rozpuszczano w małej ilości wody, następnie dodawano do 1 litra syropu cukrowego lub syty (miód z wodą) w proporcji 1:1. Jednorazową ilość leku uzależniono od liczby obsiadanych plastrów: rodziny obsiadające 2—4 plastry otrzymywały 0,25 l syropu, 5—7 pla-

strów — 0,50 l, 8—10 plastrów — 0,75 l, 11—14 plastrów — 1 l syropu. Po 21 dniach od podania leku stosowano kontrolne odymianie Folbexem VA lub Apiwarolem. Skuteczność preparatu oceniano w procentach, przyjmując za 100% całkowitą liczbę pasożytów osypanych po leczeniu.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań przedstawiono w tab. 1.

W pasiece S Apitol podano w październiku 1990 r. w ostatniej porcji syropu uzupełniającego zapasy zimowe. Temperatura w ciągu dnia wynosiła powyżej 10°C, ale nocą obniżała się do 2—3°C. Ilość czerwia była niewielka. Po 24 godz. od podania leku w pasiece osypały się 3822 roztocza. W poszczególnych rodzinach liczba osypanych pasożytów wynosiła od 90 do 570 szt. Po kontrolnym odymianiu osypało się dalszych 270 szt. Łącznie osypały się 4092 pasożyty. Skuteczność Apitolu w tej pasiece wyniosła 94%. Po podaniu leku pszczoły zachowywały się normalnie, nie zaobserwowano zwiększonej śmiertelności.

W pasiece W Apitol zastosowano zaraz po oblocie pszczół, w marcu 1991 r., gdy w rodzinach było bardzo niewiele czerwia. Temperatura zewnętrzna w ciągu dnia wynosiła 10°C, nocą spadała do 2—3°C. Dziewiętnastu rodzinom lek podano w syropie, a 20 w sycie. Pszczoły szybciej pobrały lek w sycie niż w syropie. Nie zaobserwowano zmian w zachowaniu się pszczół. W grupie rodzin otrzymujących lek w syropie dwie rodziny nie wybrały do 1/3 podanej porcji. Po 24 godzinach od podania leku w grupie otrzymującej Apitol w syropie osypało się 494 roztocze. W poszczególnych rodzinach liczba osypanych pasożytów wynosiła od 8 do 85 szt., średnio 26 szt. na rodzinę. Po kontrolnym odymianiu osypały się jeszcze 304 pasożyty. Łącznie osypało się 798 roztocze. Skuteczność Apitolu w tej grupie wyniosła 62%.

W grupie otrzymującej lek w sycie, po 24 godz. od podania Apitolu, osyp wyniósł 1440 szt. W poszczególnych rodzinach liczba osypanych roztoczy wynosiła od 5—514 szt., średnio 72 szt. na rodzinę. Po kontrolnym odymianiu Folbexem VA osypało się jeszcze 320 rozto-