

'N ONDERSOEK NA DIE PATOGENESE EN PATOLOGIE VAN DIE HEMOSTATIESE
VERSTEURINGS BY AKUTE AFRIKAANSE VARKPES

DEUR

JOHANN ADRIAN NESER

voorgelê ter vervulling van 'n deel
van die vereistes vir die graad

MAGISTER IN VETERINÊRE MEDISYNE (PATOLOGIE)
(M MED VET (PATH))

in die

DEPARTEMENT PATOLOGIE
FAKULTEIT VEEARTSENYKUNDE
UNIVERSITEIT VAN PRETORIA
PRETORIA

OKTOBER 1987

INHOUD

	BLADSY
SAMEVATTING	(i)
RESUMÉ	(ii)
DANKBETUIGINGS	(iii)
LYS VAN AFKORTINGS	(iv)
HOOFSTUK 1 : Algemene inleiding en literatuuroorsig ...	1
HOOFSTUK 2 : Morfologiese veranderinge en virus besmetting van trombosiete in varke besmet met virulente heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolate en 'n virulente nie-heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolaat	23
HOOFSTUK 3 : Funksionele veranderinge van trombosiete in varke besmet met virulente heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolate en 'n virulente nie-heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolaat.....	35
HOOFSTUK 4 : Bloedstollingsversteurings by varke besmet met virulente heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolate en 'n virulente nie-heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolaat	46
HOOFSTUK 5 : Bloedings en vaskulêre veranderinge by varke besmet met virulente heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolate en 'n virulente nie-heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolaat	57

HOOFSUK 6 : Besmetting van beenmurgmegakariosiete in varke met virulente heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolate en 'n virulente nie-heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolaat	100
HOOFSUK 7 : Virologiese ondersoek op bloed, beenmurg en orgaan monsters versamel tydens naddoedse ondersoek van varke besmet met virulente heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus en 'n virulente nie-heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolaat	103
HOOFSUK 8 : Algemene bespreking en gevolgtrekkings ...	106
BRONNELYS	119

(i)

**'N ONDERSOEK NA DIE PATOGENESE EN PATOLOGIE VAN DIE HEMOSTATIESE
VERSTEURINGS BY AKUTE AFRIKAANSE VARKPES**

deur

Johann Adrian Nesor

PROMOTOR : Professor R C Tustin

DEPARTEMENT : Patologie, Fakulteit Veeartsenykunde
Universiteit van Pretoria
Pretoria

MEDE-PROMOTOR: Professor K Stevens

DEPARTEMENT : Hematologie, Fakulteit Geneeskunde
Universiteit van Pretoria
Pretoria

GRAAD WAARVOOR VERHANDELING INGEDIEN IS: M Med Vet (Path)

SAMEVATTING

Die patogenese en patologie van die hemostatiese versteuringe is deur middel van hematologiese, histochemiese, lig- en transmissie-elektronmikroskopiese metodes in 2 groepe varke besmet of met virulente heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolate of 'n virulente nieheemadsorberende virus isolaat bestudeer. 'n Poging is ook aangewend om die hemostatiese versteurings, bloedings en vaskulêre-veranderinge by die 2 groepe te probeer vergelyk en moontlike verskille te probeer bepaal.

'n Beraamde trombositopenie en trombosietdisfunksie is gedurende die laaste 2-3 dae voor dood by beide groepe varke waargeneem. Alhoewel trombositopenie en trombosietdisfunksie by 'n groter getal varke besmet met die heemadsorberende virus isolate voorgekom het as by die varke gespuit met die nie-heemadsorberende isolaat, het hierdie veranderinge ook meer dikwels voorgekom by die varke besmet met die nie-heemadsorberende isolaat wat binne 9 dae (gemiddelde oorlewingsperiode van groep) dood is. Die graad van trombositopenie en trombosietdisfunksie is dus blykbaar eerder deur die verloop en strafheid van die siekte as die heemadsorberende eienskap van die bepaalde virus isolaat bepaal. 'n Besmetting van 'n klein persentasie van die trombosiete met die virus kon in hierdie studie waargeneem word. Die besmetting van slegs 'n klein persentasie van megakariosiete in die beenmurg kon elektronmikroskopies waargeneem word. Hieruit is afgelei dat die vermeende trombositopenie by hierdie varke meer waarskynlik die gevolg van periferele trombosietvernietiging as defektiewe trombositopoeïese was.

Betekenisvolle verlengings van die geaktiveerde gedeeltelike tromboplastientyd, trombientyd, verhoogde fibrien- en fibrinogeendegradasieproduktvlakke sowel as geringe stygings van die protrombientyd het by die varke besmet met die heemadsorberende virus isolate voorgekom. By varke wat die nie-heemadsorberende virus ontvang het, was slegs die trombientyd en fibrinogeendegradasieprodukt vlakke verhoog. Die verlenging van die stollingstye is vertolk as merkbare tekorte van die plasma-stollingsfaktore, die teenwoordigheid van fibrien- en fibrinogeendegradasieprodukte of 'n kombinasie hiervan. Verminderde stolselsametrekking en variërende grade van oplossing en disintegrasie van stolsels na inkubasie by 37°C is beskou as verdere aanduidings van gedissemineerde intravaskulêre stolling of 'n hiperfibrinolitiese toestand. Wydverspreide nekrose (en sitolise) van makrofages is in die limfoïede weefsel waargeneem en aanvaar as die moontlike oorsaak van plasminogeenaktiveerder vrystelling deur makrofages met gevolglike hiperfibrinolise.

Hialiene, globulêre en granulêre trombi en intravaskulêre neerslae, wat swak tot sterk positief vir fibrien gekleur het en ooreengestem het met 'n toestand van gedissemineerde-intravaskulêre-stolling, was by alle varke sigbaar.

Fibrinoïede veranderinge van bloedvate kon in verskeie organe maar hoofsaaklik in die limfknope, milt, vel en niere waargeneem word. Endoteelselbesmetting met die virus kon nie aangetoon word nie. Repliserende Afrikaanse varkpes viruspartikels kon wel in die sitoplasma van makrofages wat intiem geassosieer was met kapillêre endoteelselle gedemonstreer word. Die fibrinoïede veranderinge ontstaan vermoedelik onder die invloed van chemiese mediators wat vrygestel word deur besmette makrofages en bloedplaatjies of teenwoordig is in plasma eerder as deur 'n direkte besmetting van endoteelselle deur die virus.

In beide groepe was bloedings mees uitgesproke in die limfoïede weefsels en was hoofsaaklik gelokaliseer om sinusoïdale, kapillêre en klein venulêre bloedvate waar die wande nekrotiese veranderinge vertoon het. Hierdie waarneming is vertolk as 'n aanduiding dat die disintegrasie van kleiner bloedvate 'n belangriker oorsaak van bloeding by die akute siekte as trombositopenie en onstabiele fibrinstolselvorming verteenwoordig.

Hierdie studie verteenwoordig ook die eerste beskrywing van die bloedings en vaskulêre patologiese veranderinge by varke besmet met 'n virulente nie-heemadsorberende Afrikaanse varkpes virus isolaat.

(ii)

AN INVESTIGATION INTO THE PATHOGENESIS AND PATHOLOGY OF THE
HAEMOSTATIC DEFECTS IN ACUTE AFRICAN SWINE FEVER

by

Johann Adrian Nesor

PROMOTOR : Professor R C Tustin

DEPARTMENT : Pathology, Faculty of Veterinary Science
· University of Pretoria
Pretoria

CO-PROMOTOR : Professor K Stevens

DEPARTMENT : Haematology, Faculty of Medicine
University of Pretoria
Pretoria

DEGREE FOR WHICH THESIS IS SUBMITTED: M Med Vet (Path)

RÉSUMÉ

The pathogenesis and pathology of the haemostatic defects in 2 groups of pigs infected either with haemadsorbing isolates or a non-haemadsorbing isolate of virulent African swine fever virus were studied by haematological, histochemical and light and transmission electron microscopic methods. A comparison was also made of the differences in the haemostatic defects, haemorrhages and vascular changes in the 2 groups of pigs. An estimated thrombocytopenia and thrombocyte dysfunction were observed during the

last 2-3 days of life in pigs from both groups. Although these were present in a greater number of pigs infected with the haemadsorbing virus isolates they, also occurred more frequently in those infected with the non-haemadsorbing virus which lived for less than 9 days (mean survival period for group). The estimated degree of these changes was therefore apparently determined more by the acuteness, duration and severity of the disease than by the haemadsorbing property of the virus, or lack of it. A small percentage of thrombocytes were found to be infected with the virus. Only a small percentage of megakaryocytes were found to be infected; this suggests a peripheral destruction of thrombocytes rather than an impaired thrombocytopoiesis.

A significant increase of the activated partial thromboplastin time, thrombin time, and fibrin and fibrinogen degradation product levels as well as a slight prolongation of the prothrombin time occurred in the pigs infected with the haemadsorbing virus isolates. In pigs which received the non-haemadsorbing virus only the thrombin time and fibrinogen-degradation-product levels were increased. The causes of these changes were considered to be due to coagulation factor deficiencies, disseminated intravascular coagulation and/or fibrinolysis. This supposition was supported by the reduced clot retraction and clot dissolution and lysis which occurred after blood was incubated at 37°C. Widespread necrosis of macrophages was observed in lymphoid tissue and it is postulated that this is responsible for plasminogen activator liberation by macrophages with consequent fibrinolysis.

Hyaline, globular and granular thrombi and intravascular deposits which stained positively for fibrin were convincing indications of intravascular coagulation in all pigs.

Fibrinoid changes of blood vessel walls were observed in most organs, especially lymph nodes, spleen, skin and kidneys. Infection of endothelial cells with virus could not be demonstrated. Replicating intracytoplasmic African swine fever virus particles, how-

ever, were present in macrophages associated with endothelial cells in the lungs and renal glomeruli. The fibrinoid changes are possibly the result of the action of chemical mediators derived from activated macrophages, blood platelets and plasma rather than the direct effect of the virus on endothelial cells themselves.

In both groups of pigs haemorrhages were more pronounced in lymphoid tissues and were mainly around small vessels whose walls appeared necrotic. This indicates that vascular injury is a more important cause of haemorrhage in the acute disease than is thrombocytopenia and defective fibrin clot formation.

This study represents the first description of the haemorrhagic and vascular pathological changes induced in pigs by a virulent non-haemadsorbing African swine fever virus isolate.

DANKBETUIGINGS

Ek wil graag met diep dankbaarheid die hulp van my Skepper en Hemelse Vader, die Here Jesus Christus erken, waarsonder hierdie werk nooit moontlik sou wees nie.

Die hulp van die volgende persone en instansies word met opregte dank en waardering erken in die voorbereiding van hierdie verhandeling:

My vrou, kinders en ouers vir die volgehoue ondersteuning en opoffering gedurende hierdie tydperk van harde studie.

Die Direkteur en Bestuur van die Navorsingsinstituut vir Veeartsenykunde (NIV), Onderstepoort vir die toekenning van fondse en proefdiere asook die toestemming om die resultate van hierdie navorsingsprojek aan te bied as 'n verhandeling.

Die Afdeling Veeartsenydiens vir die toestemming om besmette bloed tussen verskillende laboratoria te vervoer.

Prof R.C. Tustin as promotor, vir sy behulpsaamheid, vriendelikheid en verdraagsaamheid met die voorbereiding en redigering van die verhandeling.

Prof K. Stevens as medepromotor en die laboratoriumpersoneel van die Departement hematologie, Instituut vir Patologie by die H.F. Verwoerd Hospitaal vir die ondersoek van bloedmonsters, waardevolle tegniese advies en die voorbereiding van hierdie verhandeling.

Drs G.R. Thomson en M.D. Gainaru van die NIV vir hul onmisbare advies in die beplanning en uitvoering van hierdie projek asook hul hulp in die virologiese ondersoeke.

Dr J.A.W. Coetzer van die Patologie Seksie, NIV vir sy gewaardeerde hulp met die redigering en taalversorging van die manuskrip.

Mev M. Viljoen van die NIV vir haar netjiese, korrekte en vinnige tikwerk asook haar vriendelikheid, verdraagsaamheid en goeie sin vir humor wat sy deurentyd geopenbaar het.

Mnre T. Coetzee en C. Kotzé van die NIV vir hul tegniese hulp en onvermoeide ywer in die versameling en vervoer van bloedmonsters tussen laboratoria. Ek is ook baie dank verskuldig aan mnr W. Pienaar en die tegniese personeel van die histopatologie laboratorium by die NIV vir die goeie gehalte van snitte en spesiale kleuring wat deurgaans aan my voorsien is.

Mnr T. Phillips, mej M. Botha en mej S. Fondse van die Elektronmikroskopie seksie (NIV) verdien ook spesiale vermelding vir die hulp met die voorbereiding en ondersoek van die monsters asook vir die fotografiese ondersteuning wat hulle aan my gegee het.

Ek is baie dank verskuldig aan mnr E. Sidse vir die uitstekende versorging en hantering van die eksperimentele varke in die isolasie eenheid van die NIV.

Dr H. Van Ark van die Afdeling Datametriesse Dienste van die Departement van Landbou word ook opreg bedank vir sy hulp met die statistiese verwerking van die data.

Mnr J. Paulsen en die personeel van die Fotografie seksie (NIV) verdien ook die hoogste lof vir die goeie gehalte van dienslewering.

My kollegas in die Patologie Seksie (NIV) en die Departement Patologie van die Fakulteit Veeartsenykunde te Onderstepoort asook vanuit die Afdeling Veeartsenydiens word hartlik bedank vir hul waardevolle bystand en voorsiening van inligting en ondersoekmateriaal gedurende hierdie studie.

LYS VAN AFKORTINGS

ADP	adenosiendifosfaat
ATP	adenosientrifosfaat
AVP	Afrikaanse varkpes
BLK	bloedleukosietkultuurselle
<u>c.</u>	naastenby/ongeveer (L. <u>circa</u>)
CV	"Control" AVP virus isolaat
DNS	deoksiribonukleïensuur
DR	Dominikaanse Republiek AVP virus isolaat
DIF	direkte fluoresserende teenliggaamtegniek
DIS	gedissemineerde intravaskulêre stolling
ELISA	ensiemgebonde immunoadsorberende metode
EPT	elektroniese plaatjietellings
EVP	Europese varkpes
FDP	fibrien/fibrinogeen degradasie produkte
f1	femtoliter (10 ⁻¹⁵)
GGTT	geaktiveerde gedeeltelike tromboplastientyd
GPV	gemiddelde plaatjie volume
IEOP	immuno-elektro-osmoforese
IIF	indirekte fluoresserende teenliggaamtegniek
IIPS	indirekte immunoperoksidase plaket-kleurings- metodes
HD	heemadsorberend
HMK	hoë molekulêre-massa kininogeen
L-148	"Lillie-148" AVP virus isolaat
LLC-MK ₂	"American type culture collection"
MWI	Malawi AVP virus isolaat
NHD	nie-heemadsorberend
PGE ₂	prostaglandien E ₂
PGI ₂	prostaglandien I ₂
PRP	plaatjie-ryke plasma
PT	protrombientyd
RNS	ribonukleïensuur
TAP	trombosiet-arme plasma

TEM	transmissie elektronmikroskoop
TRP	trombosiet-ryke plasma
TT	trombientyd
$T_{\frac{1}{2}}$	biologiese halfleeftyd
TXA ₂	tromboksaan A ₂
VIGS	verworwe immuun-gebrek sindroom
W	weiering van Coulter teller om trombosiete te tel

HOOFSTUK 1

ALGEMENE INLEIDING EN LITERATUUROORSIG

Definisie: Afrikaanse-varkpes (AVP) is 'n dodelike akute tot chroniese hoogs aansteeklike virussiekte van gedomestikeerde varke (Montgomery, 1921; De Kock, Robinson & Keppel, 1940) en die Europese wilde beer (Sus scrofa ferus) (Ravaioli, Palliola & Ioppolo, 1967). Vlakvarke (Phaecochoerus aethiopicus) bosvarke (Potamochoerus spp), en die reuse bosvark (Hylochoerus mynertzhagenii - slegs 1 aangetekende geval) word onder natuurlike omstandighede met die AVP virus besmet, maar blyk bestand te wees teen die dodelike en chroniese vorme van die siekte (Montgomery, 1921; DeTray, 1963; Heuschele & Coggins, 1965; Thomson, 1985). Dit moet egter beklemtoon word dat relatief min bekend is oor die vatbaarheid van laasgenoemde 2 spesies in vergelyking met die vlakvark omdat bosvarke hoofsaaklik nagdiere en digte-bosbewoners is (Heuschele & Coggins, 1965; Thomson, 1985).

Geskiedenis en verspreiding: Dit is bewys dat die AVP virus inheems voorkom in die vlakvark bevolkings van die Noord-, Oos- en Wes-Transvaal in die Republiek van Suid-Afrika (RSA) (Steyn, 1928; De Kock et al., 1940; Thomson, 1985). Die vroegste geskiedenis van die siekte onder gedomestikeerde varke in die RSA is egter nie so maklik bepaalbaar nie. Grootskaalse uitbreke van vark mortaliteite aan die begin van die eeu was mees waarskynlik die gevolg van Europese varkpes (EVP) wat blykbaar gelyktydig in die Kaapkolonie en Transvaal teenwoordig was (Robertson, 1905; Theiler, 1905; De Kock et al., 1940). Omdat akkurate virologiese tegnieke nie beskikbaar was nie, kon daar slegs staat gemaak word op sekere epidemiologiese en patologiese gegewens in die vroeë verslae. Dit word vermoed dat EVP die Kaapkolonie reeds in die vorige eeu vanuit Engeland of elders binne gekom het (Robertson, 1905). Theiler beskryf so vroeg as 1905 die teenwoordigheid van 'n siekte onder varke in die Transvaal met kenmerkende "bouton" ulserasies in die maagdermkanaal wat ooreengestem het met die wat in EVP voorkom.

Volgens Theiler (1905) kon die siekte terug gespoor word na 'n verbintenis met EVP uitbreke in die Kaapkolonie. Dié diagnose van EVP is nooit viologies of serologies bevestig nie en is slegs op grond van epidemiologiese en patologiese bevindings gemaak (Theiler, 1905). Maurer, Griesemer & Jones (1958) het jare na die aanvanklike uitbreke bevestig dat die "bouton" ulsera in die kolon daarop dui dat die diere meer waarskynlik aan EVP moes gevrek het.

Vanaf 1918 tot 1925 is geen verdere uitbreke van varkpes aangemeld nie. 'n Dodelike siekte wat groot mortaliteite onder gedomestikeerde varke tot gevolg gehad het, het egter gedurende 1926 voorgekom in verskillende distrikte van die Noord-Transvaal waar vlakvarke teenwoordig was. Volgens Steyn (1928) het die siekte ooreengestem met die siekte wat in Oos-Afrika deur Montgomery (1921) beskryf is as Oos-Afrikaanse varkpes.

Sedert 1933 het uitbreke van 'n soortgelyke virulente siekte onder varke aan die Witwatersrand in die Transvaal voorgekom in die afwesigheid van wildevarke soorte. By nadoodse ondersoek is verspreide bloedings en ulsera in die kolon waargeneem (De Kock et al., 1940). Gedurende dieselfde jaar het 'n soortgelyke siekte weer sy verskyning op Tulbach in die Westelike Provinsie gemaak en dit is vermoed dat dit veroorsaak is deur die invoer van besmette varke uit Johannesburg. Hiervandaan het die siekte weer eens spoedig wyd uitgekring tot 'n groot gedeelte van die Westelike Provinsie. Groot verliese is gely weens die drastiese uitslagbeleid wat gevolg moes word om die besmetting onder beheer te bring. Nagenoeg 11 000 varke was betrokke by die uitbreke waarvan meer as 8 000 dood is aan die siekte en ongeveer 1 900 uitgeslag is. Die siekte is blykbaar in 1939 onder beheer gebring aangesien geen verdere uitbreke sedertdien in die Kaapprovinsie vermeld is nie (De Kock et al., 1940; Pini & Hurter 1975).

In 1951 het die siekte weer sy verskyning in die Transvaal gemaak waar etlike uitbreke in die Noord-Transvaal en by Pretoria voorgekom het. Terselfdertyd het uitbreke weer aan die Witwatersrand verskyn wat teruggespoor kon word na 'n besending varke wat vanaf Suidwes-Afrika gekom het (Pini & Hurter, 1975). Die siekte

het sedertdien beperk gebly tot die noord-wes, noord en noord-oos Transvaal waar sporadiese kleiner uitbreke elke 1 tot 3 jaar aangemeld word. In die RSA blyk daar sedert 1951 'n baie noue verband te bestaan tussen uitbreke van AVP en die teenwoordigheid van vlakvarke wat natuurlike gashere van die tampans (Ornithodorus moubata/porcinus kompleks sensu Walton) is (Pini & Hurter, 1975; Thomson, 1985). 'n Opvallende uitsondering op hierdie reël is die afwesigheid van AVP in die gebied om die Hluhluwe-Umfolozi Wildtuin in Zululand asook die afwesigheid van die AVP virus en tampan gashere ondanks die wye verspreiding van vlakvarke in die area (Pini & Hurter, 1975; Thomson, 1985).

'n Uitbreek waar bosvarke Potamochoerus spp. moontlik 'n rol gespeel het en nagenoeg 20 varke dood is, het gedurende Julie 1985 naby Tzaneen in die noord-oos Transvaal voorgekom ("Lys I siekteverslag" - Staatsveearts, Privaatsak X9379, Pietersburg 0700 - Augustus 1985). Die mees onlangse uitbreke van AVP in Suidwes-Afrika/Namibië het in Januarie 1986 voorgekom in die distrikte van Omaruru, Gobabis en Grootfontein waar vlakvarke teenwoordig was. Tydens die uitbreek in Omaruru distrik moes nagenoeg 1 200 varke teen staatsvergoeding uitgeslag word in 'n poging om die siekte mee te bekamp ("Lys A siekteverslag" - Direktoraat van Landbou, Bosbou en Natuurbewaring, Privaatsak X12022, Ausspanplatz 9115 Suidwes-Afrika/Namibië - Februarie 1986).

Afrikaanse varkpes was aanvanklik inheems tot sekere Afrika state suid van die Sahara woestyn (Pini et al., 1975), maar het vir die eerste keer buite die kontinent van Afrika in Portugal en Spanje verskyn in 1957 asook in Frankryk in 1964 en Italië in 1967. Die uitbreek in Italië het gelei tot die verpligte uitslagting van meer as 'n 100 000 varke met 'n beraamde verlies van \$5 000 000. Afrikaanse varkpes was vir die eerste keer in 1971 in die Westelike halfrondte in Kuba gediagnoseer en is eers onder beheer gebring nadat meer as 400 000 varke dood of uitgeslag is. In 1978 het die siekte in Brasilië en die Dominikaanse Republiek uitgebreek en in 1979 in Haiti. Drastiese en duur uitroeingsmaatreëls is in Haiti ingestel en 384 000 varke moes binne 1 jaar uitgeslag word (Hess, 1984).

Aan die begin van 1985 het AVP in België uitgebreek deur die ontwettige invoer van gekontamineerde varkvleis uit Spanje. Aanvanklik het slegs 1 vark kliniese tekens getoon, maar teen die tyd dat die diagnose finaal bevestig is as AVP, het dit reeds na etlike ander plase in die omgewing versprei. Na die bevestiging van die diagnose moes 21 000 varke geslag word en streng beheer maatreëls ingestel word (Wilkinson, 1986). In Maart en April 1986 is 2 uitbreke van AVP in Nederland bevestig waar groot getalle varke geslag moes word en drastiese uitvoerbeheermaatreëls weereens ingestel moes word. Vermoedelik was die voer van gekontamineerde afvalkos die bron van die besmetting met AVP virus (Anon, 1986).

Uit bostaande gegewens kan duidelik afgelei word hoe sterk die verspreidingspotensiaal van hierdie siekte is na vreemde kontinente buite sy natuurlike eko-sisteem. Ongeveer 98,8% van die wêreld se varkpopulasie word buite Afrika gevind, en vir die rede word meeste van die navorsing tans op hierdie siekte in lande buite Afrika bedryf. Ondersoeke is hoofsaaklik gerig op voorkoming van die invoer van besmette diereprodukte asook die ontwikkeling van doeltreffende entstowwe (Thomson, 1985).

Vektore en gashere: Die vrylewende gashere van die virus is sekere tampansoorte van Afrika (O. moubata/porcinus kompleks sensu Walton (Plowright, Parker & Peirce 1969a; Plowright, Parker & Peirce, 1969b; Thomson, 1985) asook Ornithodoros erraticus in Spanje (Sanchez-Botija 1963.) en Ornithodoros coriaceus in die VSA (Grocock, Hess & Gladney, 1980). Verder dien die wildevarksoorte van Afrika, naamlik die vlakvark (Phacochoerus aethiopicus), die bosvark (Potamochoerus porcus) asook die reuse bosvark (Hylochoerus meinertzhageni) ook as reservoïr gashere van die virus (Montgomery 1921; Heuschele & Coggins, 1965; Thomson, 1985). Die vlakvark speel waarskynlik die belangrikste rol in die huidige epioölogie van die siekte in Afrika, alhoewel die rol van bosvarke nog nie goed bekend is nie weens die feit dat hulle nagdiere is en digbebosde gebiede verkies (Thomson, 1985). Reuse bosvarke kom slegs in beperkte gebiede voor in Afrika waar AVP 'n bedreiging is (Heuschele & Coggins, 1965). In die RSA kon nog nie bevestiging verkry word dat gedomestikeerde varke onder veld omstandighede na

chroniese draers ontwikkel het nie, aangesien serologiese opnames in die endemiese gebiede waar loslopende mak varke voorkom, beperk in omvang was (Dr G.R. Thomson, NIV, Onderstepoort 0110 - Persoonlike mededeling, 1986). Volgens die resultate van breedvoerige serologiese studies in Malawi is die aandeel van chronies besmette gedomestikeerde varke in die epidemiologie van AVP egter hoogs waarskynlik (Haresnape, 1984). Gedurende 1983 het 'n groot uitbreek van AVP in Italië voorgekom wat teruggespoor kon word na 'n chronies besmette wildevarke (spesie nie nader omskryf nie - Edwards, 1983).

Oordraging van die virus in tampons vind transovariaal sowel as horisontaal tydens kopulasie by tampons plaas. Die virus kan vir lang periodes in die tampan voortbestaan sonder enige nadele vir die vektor. Aangesien virus titers baie hoë vlakke in die tampan kan bereik, is dit 'n baie effektiewe virus oordraer na die vlakvark en gedomestikeerde varke (Plowright et al., 1969a; Plowright et al., 1969b; Plowright, Perry & Peirce, 1970; Plowright, Perry, Peirce & Parker, 1970; Thomson, 1985).

Horisontale en vertikale oordraging tussen vlakvarke, sowel as vanaf vlakvarke na gedomestikeerde varke vind baie selde plaas sonder die tussenkoms van die tampan vektor (DeTray, 1963; Plowright et al., 1969a; Thomson, 1985). Daar is wel eksperimenteel aangetoon dat die weefsels van jong ongespeende vlakvarke, waar viremiëse vlakke die hoogste gestyg het, besmetlik vir mak varke was (Thomson, Gainaru & Van Dellen 1980) maar dit is onwaarskynlik dat sulke jong vlakvarke maklik deur jagters bereik sal word.

In teenstelling met die weefsels van volwasse vlakvarke wat met die virus besmet is, is afvalprodukte van akute besmette gedomestikeerde varke hoogs aansteeklik. Die uitbreek wat gedurende 1983 in Italië voorgekom het waartydens 'n beraamde 12 000 varke uiteindelik vernietig moes word, het egter sy oorsprong gehad by 'n jagter wat 'n wildevarke (spesie nie nader omskryf nie) geskiet het en die afval aan sy varke gevoer het (Edwards 1983).

Enkele dae nadat gedomestikeerde varke besmet word met die virus, kan dit direk en indirek deur besmette speeksel, uriene en faeces oorgedra word (Greig & Plowright 1970).

Virus: Afrikaanse varkpes word veroorsaak deur 'n groot dubbel-draad DNS virus van ongeveer 200 nm deursnit. Die virus is morfologies verwant aan die Iridovirusse maar biochemies nader aan die Pokkevirusse (Carrascosa, Carazo, Carrascosa, Garcia, Santisteban & Vinuela, 1984). Die AVP virus is 'n besonder geharde virus en is bestand teen 'n wye reeks pH toestande. Dit kan egter na 20 minute deur 'n temperatuur van 60°C, asook lipied oplossende ontsmetmiddels skadeloos gestel word (Coggins 1966; Plowright & Parker 1967; Stone & Hess, 1973). Die virus kan vir 15 weke lank oorleef in verrotte bloed by kamer temperatuur (Montgomery, 1921) en vir 3 maande in ontruimde besmette varkhokke (Sanchez-Botija, 1961, vermeld deur Hess, 1984).

Die volwasse virus word bedek deur 'n lipied omhulsel afkomstig vanaf die gasheerselmembraan tydens die proses van knopvorming (Breese & De Boer, 1966). Replikasie vind in die sitoplasma van die gasheersel plaas, maar die gasheerselkern is nodig vir virus DNS sintese wat in vormende partiekels ingebou word (Ortin & Vinuela, 1977; Tabares & Sanchez-Botija, 1979). Daar bestaan ook aanduidings dat virus DNS intrasitoplasmies gesintetiseer kan word (Vigario, Relvas & Ferraz *et al.*, 1967; Pan, Shimizu & Hess, 1980). Die belangrikste sitopatologiese veranderinge in vark leukosiet- en varknierselkulture is kariorekse, sitoplasmiese vakuolisasie en die vorming van intrasitoplasmiese insluitingsliggaampies wat positief vir DNS kleur met die Feulgen en "Orange G" kleurtegnieke. Die kariorekse wat spoedig in hierdie kultuurselle ontwikkel is moeilik om te verklaar in die afwesigheid van virus-DNS sintese in die kern. 'n Moontlike verklaring is die versteuring van die boodskapper RNS toevoer na die selkern as gevolg van die intrasitoplasmiese replikasie van die virus wat verder kan lei tot degenerasie van die nukleolus en latere disintegrasie van die hele selkern (Moulton & Coggins, 1968a). Die bestaan van 'n RNS polimerase ensiem is ook by die virus gedemonstreer met die vermoë om RNS komplimentêr aan virus DNS te sintetiseer (Kuznar, Salazar & Vinuela, 1980). Die virus kan die beste gekweek word na 'n aanpassingsperiode in kulture van vark beenmurgselle (Malmquist & Hay, 1960), monosiete en makrofages (Wardley & Wilkinson, 1977b), nier- (Moulton & Coggins, 1968a) en endoteelsellyne (Wilkinson & Wardley, 1978).

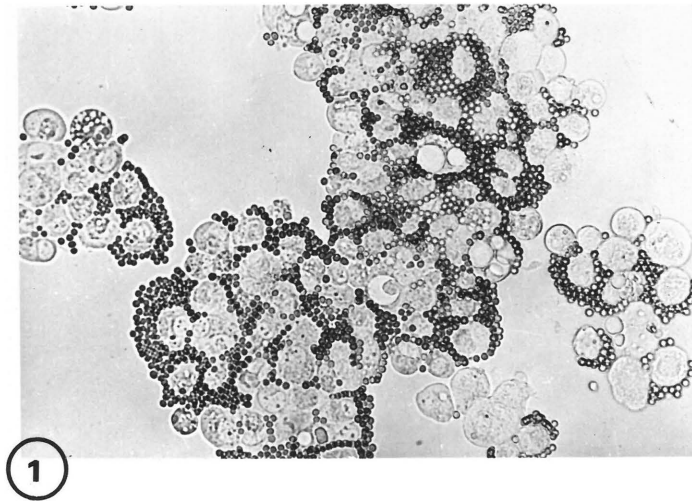


FIG. 1 LLC-MK₂ selkultuur besmet met heemadsorberende (HD) iso-
laat 2055 AVP virus. Let op heemadsorpsie van vark eri-
trosiete: X 200

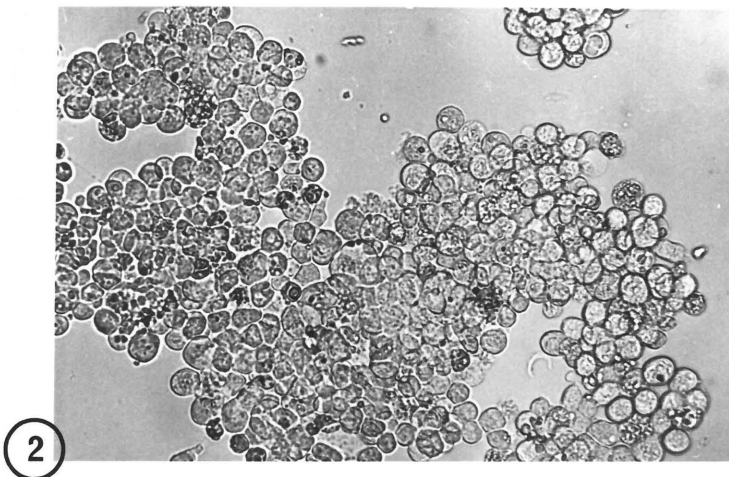


FIG. 2 LLC-MK₂ selkultuur besmet met nie-heemadsorberende (NHD)
isolaat Lillie-148 AVP virus. Geen adsorpsie van eritro-
siete sigbaar nie: X 150

Met erkenning aan dr A. Pini (1977) DVSc Tesis Universi-
teit van Pretoria

Sekere AVP virus isolate beskik oor die vermoë om besmette leukosiet en beenmurgselle te verander sodat rooibloedselle op hul oppervlakte adsorbeer om sogenaamde "rosette" (Fig. 1) of heemadsorbsie (HD) in selkulture te vorm (Malmquist & Hay, 1960). Hierdie isolate staan bekend as HD-positiewe AVP virusse (HD), terwyl isolate waar hierdie eienskap ontbreek, bekend staan as nie-heemadsorberende (NHD) virusse (Fig. 2). Beide HD en NHD subpopulasies mag in dieselfde AVP virus isolaat voorkom, maar dit is te betwyfel of NHD isolate weer die HD eienskap kan ontwikkel na herhaaldelike passasies (Coggins 1968; Pini, 1977). Daar is egter onlangs aangetoon dat atipiese HD isolate as 'n derde groep wel kan voorkom (Pan & Hess, 1985). Nie-heemadsorberende AVP virus isolate is reeds so vroeg as 1963 in Spanje (Sanchez Botija, 1963b, vermeld deur Pini, 1977; Sanchez-Botija & Ordas, 1970, vermeld deur Pini, 1977) en in 1974 in Portugal (Vigario, Terrinha & Moura-Nunes, 1974) geïsoleer. Die eerste 2 NHD-AVP isolate is in die RSA ontdek gedurende die tydperk 1973 - 1975 tydens 'n reeks van 21 uitbreke van AVP in die endemiese gebied van Noord-Transvaal na 'n afwesigheid van bykans 10 jaar (Pini, 1977). Die eerste NHD-AVP virus isolaat (Lillie-148) is uit 'n gedomestikeerde vark met sub-akute AVP geïsoleer op die plaas Lillie-148 waar die virus vermoedelik uit 'n vlakvark oorgedra is (Pini, 1977). Die tweede NHD isolaat (24823) is in die Pietersburg omgewing geïsoleer. Alhoewel geen kliniese of patologiese gegewens beskikbaar was nie het die resultate van laboratoriumondersoeke daarop gedui dat die siekte moontlik 'n chroniese verloop kon gehad het (Pini, 1977). Alhoewel NHD isolate virulent mag wees (Pini 1977; Thomson, Gainaru & Van Dellen 1979) blyk dit eerder die uitsondering as die reël te wees aangesien meeste NHD isolate uit subakute of chroniese AVP gevalle geïsoleer is (Vigario et al., 1974; Ondersekkommissie van die Europese Gemeenskap - Anon 1976 vermeld deur Thomson et al., 1979). Alhoewel Pini (1977) voorgestel het dat die HD-eienskap deur 'n moontlike mutasie verlore kon gaan tydens passasies in weefselkultuur blyk dit onwaarskynlik te wees. Heemadsorberende (HD), NHD- en moontlik ook atipiese HD-AVP virus klone kom as selfstandige en geneties stabiele tipes voor (Pan & Hess, 1985). Dit is verder bewys dat AVP virus isolate uit heterogene virus populasies van verskillende klone met variërende biologiese eienskappe kan bestaan. Die virulensie van 'n isolaat word bepaal deur die virulensie van die pre-

dominerende klone en nie soseer deur die dosis van die virus wat toegedien word nie (Pan et al., 1985). Die antigeniese eienskappe blyk ook nie noodwendig aan die virulensie en HD-eienskappe gekoppel te wees nie (Thomson, Gainaru & Van Dellen, 1979; Pan & Hess, 1985). Indien hierdie vermoede korrek is, sal die soeke na avirulente klone met die geskikte antigeniese eienskappe die rigting van navorsing vir 'n veilige lewende-virus entstof teen AVP bepaal (Pan & Hess, 1985).

Alhoewel verskillende AVP virus isolate duidelik van mekaar verskil ten opsigte van kruis immuniteit, heemadsorpsie-inhibisie en genoomrestriksie ensiem eienskappe, kom selfstandig verskillende serologiese tipes nie voor nie. Blykbaar kom sekere antigene soos byvoorbeeld die VP 73 polipeptied gemeenskaplik by alle AVP virus isolate voor (Hess 1984).

Weerstand en immuniteit: Varke wat besmettings met virulente AVP virus isolate oorleef, mag weerstand ontwikkel teen homoloë isolate maar vrek na dagings met heteroloë isolate (Greig, 1980; Ruiz Gonzalvo, Carnero & Bruyel, 1983). Thomson et al., (1979) het egter aangetoon dat varke besmet met die avirulente Zaire (NHD)-AVP isolaat bestand was teen die dodelike gevolge van besmettings met die heteroloë virulente CV(HD)- en Lillie-148(NHD)-AVP virus isolate maar nogtans letsels van chroniese AVP opgedoen het. Daar bestaan dus blykbaar antigeniese verskille tussen heteroloë AVP virus isolate. Humorale teenliggame speel 'n belangrike indirekte rol in die immuniteit teen AVP wat in vitro demonstreerbaar is as teenliggaam bemiddelde-sellulêre-sitotoksiteit en kompliment-afhanklike lise (Norley & Wardley, 1982; Norley & Wardley, 1983; Anderson, 1986). Alhoewel hoë titers komplement bindende en presipiterende teenliggame gevorm word by AVP, bestaan daar nog nie oortuigende bewyse dat neutraliserende teenliggame gevorm word nie (De Boer, Pan & Hess, 1972; Bielefeldt, Ohmann & Babiuk, 1986). Dit kon wel aangetoon word dat serum van varke wat herstel het van besmettings met virulente homoloë en heteroloë AVP virus isolate besmettings van leukosietkulture ("Buffy coat selle") (BC) teen virus replikasie daarin kon inhibeer (Ruiz Gonzalvo, Carnero, Caballero & Martinez, 1986a; Ruiz Gonzalvo et al., 1986b). Die vermoë om neutraliserende teenliggame te produseer blyk eerder die gevolg van die virus-antigeniese eienskappe te wees as 'n defektiewe immuun-reaksie van die gasheer. Die vermoë van varke wat

van virulente en avirulente AVP virus infeksies herstel het om neutraliserende teenliggame teen bek-en-klou-siekte virus te vorm was geensins aangetas nie (De Boer, 1967; Vinuela, 1985). Bykomend tot die humorale-immuunmeganismes by AVP, is sitotoksiese limfosiete met 'n virus-spesifieke aksie 'n baie belangrike beskermingsmeganisme teen die siekte. Verhoogde prostaglandien E₂ (PGE₂) vlakke is ook in akute AVP gedemonstreer wat moontlik 'n inhiberende uitwerking op limfosiet aktiwiteit mag hê. Die makrofaagselle is blykbaar 'n bron van die verhoogde PGE₂ en mag dus sodoende 'n belangrike rol speel in die regulering van die immuunreaksie teen AVP (Anderson, 1986). Aanduidings bestaan egter dat AVP virus isolate antigeniese variasie ondergaan (Vinuela, 1985; Garcia-Barreno, Sanz, Nogal, Vinuela & Enjuanes, 1986). Die identifikasie van die kritieke antigeniese determinante in die virus partikel bly steeds die belangrikste probleem by die suksesvolle immunisering van varke met virus komponente of antigene van besmette selle (Vinuela, 1985). Dit moet in gedagte gehou word dat die hoë DNS inhoud van die AVP virus partikel weens sy relatiewe grootte (deursnit \approx 200 nm) dit instaat stel om te kan 'kodeer' vir 'n betreklike groot hoeveelheid verskillende kapsel proteïenes met 'n komplekse samestelling (Carrascosa et al., 1984; Dr G.R. Thomson, Navorsings Instituut vir Veeartsenykunde, 0110 Onderstepoort, RSA - persoonlike mededeling).

Chronies besmette varke mag AVP virus vir so lank as 30 dae na besmetting deur kontak oordra (Wilkinson, Wardley & Williams, 1983). Die AVP virus mag saam met sirkulerende teenliggame in die bloed voorkom (DeTray, 1957; De Boer et al., 1972) of in die mangels en faringeale limfknope om sodoende 'n voortdurende ("Persistent") besmetting te veroorsaak wat die immuun stelsel vir korter of langer periodes kan omseil (Greig, 1980). Virus kon egter slegs tot 6 maande na besmetting uit organe van herstelde varke geïsoleer word (Wilkinson et al., 1983).

Die sellulêre immuun reaksie word blykbaar nie by AVP geïnhipeer nie aangesien varke wel 'n vertraagde hipersensitiwiteitsreaksie kon vertoon wat deur die leukosietmigrasie-inhibisie-toets gedemonstreer kon word. Limfositopenie van B- en T limfosiete is egter ook by AVP aangetoon wat teenstrydig met bogenoemde bevindings blyk te wees. Dit is ook aangetoon dat geattenuëerde AVP

virus isolate beide T- en B limfosietreaksies by varke kon inhibeer, terwyl virulente isolate geen sulke effekte kon uitoefen nie, maar eerder geringe stimulasies van die reaksies kon veroorsaak (Vinuela, 1985).

Geattenueerde AVP virus isolate blyk dikwels onstabiel te wees en mag lei tot akute, subakute of chroniese besmettings (Pan & Hess, 1985).

Om bogenoemde redes blyk dit dat 'n suksesvolle entstof nie in die afsienbare toekoms teen AVP ontwikkel sal kan word nie.

Die grootste persentasie AVP virus in die bloed van akute besmette varke kom binne en op die oppervlakte van eritrosiete voor (Plowright, Parker & Staple, 1968; Wardley & Wilkinson, 1977a; Rodrigues, Andrade, Da Silva & Baptista, 1983). Afgesien van virus wat vry in die plasma voorkom (Plowright et al., 1968), repliseer AVP virus ook in monosiete (Wardley & Wilkinson 1977b) en in 'n klein persentasie van polimorfe leukosiete (Casal, Enjuanes & Vinuela, 1984). Daar is egter teenstrydige bevindinge met betrekking tot die moontlike replikasie van AVP virus in limfosiete (Wardley, Wilkinson & Hamilton, 1977; Wardley & Wilkinson, 1980; Sanchez-Vizcaino, Slauson, Ruiz-Gonzalvo & Valero, 1981; Casal et al. 1984).

Hematologiese bevindings, immunologiese respons en patogenese van die bloedings neigings: Hematologiese veranderinge by akute AVP is deur verskeie outeurs beskryf. Die veranderinge sluit in anemie en leukopenie met fragmentasie en kariorekse van limfosiete en monosiete (De Kock et al. 1940) asook 'n limfopenie en toename van onvolwasse neutrofiele (DeTray & Scott, 1957) en eosinofiele (Wardley & Wilkinson, 1977a).

Hematologiese veranderinge by akute en subakute AVP word breedvoerig deur Edwards (1983) beskryf. Limfopenie, neutropenie met linksverskuiwing en 'n ligte monositopenie was gereelde veranderinge en het gepaardgegaan met die aanvang van die koorsreaksie 3 dae na besmetting. 'n Regeneratiewe anemie is na 13 dae waargeneem asook eritrofagositose en hemosiderose wat op die moontlikheid van 'n immuun-bemiddelde anemie gedui het. Bloed-

plaatjie tellings het dramaties gedaal 6-7 dae na besmetting en op die 7de tot 8ste dag is tellings van minder as $1 \times 10^9/l$ aangeteken. By varke wat die siekte oorleef het het tellings gewoonlik 10-12 dae na besmetting teruggekeer na normale waardes. Varke wat deur vorige besmettings of met geïnaktiveerde AVP virus antigeen gesensitiseer is, het 1-3 dae vroeër as nie-gesensitiseerde varke trombositopenie ontwikkel. Teenliggame teen AVP virus antigeen kon eers 7 dae na besmetting met die minder virulente DR 79 iso-laai gedemonstreer word. Totale hemolitiese komplementvlakke het egter eers na 15 dae betekenisvolle dalings getoon. Laer mortaliteite en virus titers in vooraf gesensitiseerde besmette varke is toegeskryf aan die teenwoordigheid van homoloë komplement bindende teenliggame. Die byvoeging van oplosbare AVP virus antigeen by plaatjieryke plasma van nie-viremiëse herstellende varke, kon in vitro plaatjie aggregasie induseer. Die relatiewe konsentrasies van antigeen en teenliggame het krities geblyk te wees. AVP virus antigeen, teenliggame en komplement kon egter nie deur middel van immunofluorissensie op die oppervlakte van bloedplaatjies van besmette varke aangetoon word nie. Op grond van hierdie waarnemings, het Edwards (1983) gepostuleer dat trombositose by AVP met immuunkomplekse van die geskikte antigeenteenliggaam verhouding via hul FC reseptore reageer, aggregasie ondergaan en sodoende uit die sirkulasie verwyder word.

By varke wat ingespuut is met 'n minder virulente AVP iso-laai (DR 79 iso-laai) was slegs 'n klein persentasie van die megakariosiete in die beenmurg besmet soos aangetoon deur immunofluoresensie. Hiperplasie van die megakariosiete het egter 13 dae na besmetting sigbaar geword. Isotoop merking van bloedplaatjies het normale trombositopoiëse aangedui. Trombositopenie was dus in die gevalle nie die gevolg van gebrekkige plaatjie vrystelling deur beenmurg megakariosiete nie (Edwards, 1983).

Vroeë verlenging van plasma stollingstye het die aanvang van die koorsreaksie en viremie na 3 dae vergesel (Edwards 1983; Anderson, Williams, Fisher-Hoch & Wilkinson, 1987). Die tydsverband van stollingsveranderinge het dus nie ooreengestem met plaatjietelling dalings wat later in die verloop van die siekte voorkom nie. Hierdie veranderinge word dus waarskynlik deur verskillende meganismes teweeggebring. Die geaktiveerde gedeeltelike trombo-

plastientyd (GGT) en die trombienstollingstyd (TT) het by akute besmette varke na 2-4 dae begin styg (Edwards, 1983; Anderson et al., 1987). Eersgenoemde het na 10 dae weer na voor-besmettingswaardes teruggekeer by die varke wat met die DR 79 isolaat besmet is. Die protrombientyd (PT) het egter slegs by varke besmet met meer virulente AVP virus isolate gestyg (Edwards, 1983; Anderson et al., 1987).

Die plasma fibrinogeen vlakke in AVP besmette diere het vanaf 6-11 dae na besmetting gedaal na ongeveer 60% van die voorbesmettingswaardes. Die verklaring hiervoor (Edwards, 1983) was die stimulasie van die makrofaagsisteem deur AVP virus met die gevolglike vrystelling van plasminogeen aktiveerder wat plasmienvorming en fibrinolise tot gevolg het. Die plasma fibrinogeen degradasie produk vlakke (FDP) het begin styg 4-8 dae na besmetting en het na 5 dae hoë vlakke bereik in varke wat besmet is met die meer virulente Tengani 67 isolaat. Die hoë waardes is deur Edwards (1983) toegeskryf aan die onvermoë van die beskadigde makrofaagsisteem om hierdie produkte uit die sirkulasie te suiwer.

Die plasma faktor VIII antigeen (VIIIIR:Ag) vlakke by akute en subakute AVP is ook gemeet met die doel om die funksionele integriteit van die endoteelselle van bloedvate te bepaal, aangesien endoteel die hoof bron daarvan is (Edwards, 1983). Beide die virulente en minder virulente isolate het faktor VIIIIR:Ag plasma vlak stygings teweeggebring wat moeilik verklaarbaar was in die lig van die feit dat daar nie nekrose of lise van endoteelselle was nie (Edwards 1983). Hierdie bevindings staan in teenstelling met die waarnemings van andere dat AVP virus in kulture van vark endoteelselle gekweek kon word (Wilkinson & Wardley, 1978) en deur positiewe immunofluorissensie in endoteelselle geïdentifiseer kon word (Colgrove, Haelterman & Coggins, 1969). Die onvermoë van ingespuite Evans blou kleurstof om die intima van bloedvate te verkleur by akute en subakute gevalle, het egter die moontlikheid van algemene endoteelselskade in die siekte laat vervaag (Edwards 1983).

Bloeding by akute en subakute AVP mag die gevolg wees van vaskulêre beskadiging deur replikasie van virus in endoteelselle (Colgrove et al., 1969; Wilkinson et al., 1978) trombositopenie

(Edwards 1983; Edwards, Dodds & Slauson, 1985b) defektiewe fibrienstolselforming (Edwards, 1983; Edwards, Dodds & Slauson, 1984) of 'n kombinasie van bogenoemde defekte. Trombositopenie en defektiewe fibrienstolselforming blyk egter die belangrikste rol te speel in die bloedingsneigings in AVP (Edwards, 1983; Edwards et al., 1984; Edwards et al., 1985b).

Die oorsaak van dood in akute AVP is nie presies bekend nie. Alhoewel die virus hoofsaaklik in selle van die retikuloëndoteel (RE) stelsel maar ook in ander weefsel selle repliseer en lei tot sitolise, is daar sterk aanduidings dat die indirekte effekte van virus vermenigvuldiging op die immuunstelsel en bloedplaatjies meer belangrik is in die verloop van die siekte (Wardley, Andrade, Black, De Castro Portugal, Enjuanes, Hess, Mebus, Ordas, Rutili, Sanchez-Vizcaino, Wilkinson, Moura Nunes & Thomson 1983). Verhoogde prostaglandien E₂ (PGE₂) vlakke is in plasma van varke met akute AVP aangetoon as gevolg van vermeende makrofaag stimulasie deur die AVP virus (Anderson, 1986; Anderson et al., 1987). Dit word vermoed dat PGE₂ wat 'n kragtige vasodilator en bemiddelaar van trombosiet-aggregasie is, lei tot skok, trombosiet-aggregasie, trombositopenie, bloeding en dood by akute AVP. Moontlik word die produksie van prostasiklien I₂ (PGI₂) wat in normale bloedvat-endoteel vervaardig word en trombosiet-aggregasie teenwerk in akute AVP verminder weens die uitwerking van die virus op bloedvat-endoteel selle (Anderson, 1986; Anderson et al., 1987). Daar is ook aangetoon dat in AVP gevalle die bloedplaatjies aggregasie ondergaan en vaso-aktiewe amienes vrystel as gevolg van degranulasie van basofiele en gevolglik plaatjie aktiveringsfaktor vrystel. Degranulasie van basofiele word op sy beurt weer veroorsaak deur die binding van AVP virus met spesifieke anti-AVP immunoglobulien (IgG) wat gevorm word en aan basofiele bind. Hierdie reaksie is verwant aan 'n Tipe I hipersensitiwiteitsreaksie, en die vrygestelde vaso-aktiewe amienverbinding lei tot verhoogde bloedvatdeurlaatbaarheid wat onder andere kan lei tot immuun-kompleks neerlegging in bloedvatwande (Slauson & Sanchez-Vizcaino, 1981).

Makro- en mikroskopiese Patologie: Die makroskopiese en mikroskopiese patologiese veranderinge by AVP is reeds in diepte beskryf, met wydverspreide bloedings in limfoïede en ander weefsels as 'n prominente kenmerk van die akute en subakute siekte (De Kock et

al., 1940; Moulton & Coggins, 1968b; Edwards, 1983). Verder is daar vergelykende beskrywings van die letsels in AVP en EVP (Maurer et al., 1958).

In akute gevalle word varke dikwels sonder voorafgaande sieketekens dood gevind met minimale verlies van kondisie en vroeë verskyning van rigor mortis en outolise. By subakute en chroniese gevalle, is ontwatering, verlies van kondisie en uiteindelijke vermaering, kenmerkend. In akute AVP vertoon die vel dikwels 'n blou-pers sianotiese verkleuring met petegiale bloedings soms verspreid oor die keel, bors, buik, liesgedeeltes en ledemate. Veelvuldige fokale bloedings van 10-20 mm deursnit in die vel asook uitgebreide subkutane bloedings oor die buik en liesgedeeltes is deur De Kock et al. (1940) beskryf in natuurlike gevalle. Verder is veelvuldige bloedings ook in die epi- en endokardium, longe, niere en serosa van die derms waargeneem (De Kock et al. 1940). Volgens die werkers was daar uitgebreide erge bloeding en swelling van veral die viserale maar ook die parietale limfknope. Die hepatische, gastriese, mesenteriese en renale limfknope was telkens die strafste aangetas. Terwyl die viserale limfknope dikwels diffus hemoragies was, was die bloedings in die parietale limfknope meerendeels tot die periferele gedeeltes beperk. Hierdie veranderinge is ook bevestig deur studies in Kenia en sentraal Afrika (Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Een geval waar ruptuur van hemoragiese gastrohepatiese limfknope met dodelike intra-abdominale bloedings voorgekom het, is ook beskryf (De Kock et al., 1940). Hematome, galblaasbloedings, nierbloedings en hemoperitoneum is ook in eksperimentele gevalle van die siekte in die VSA beskryf (McVicar, Mebus, Becker, Belden & Gibbs, 1981; Edwards, 1983).

Swelling en donkerrooi tot swart verkleuring van die milt as gevolg van erge kongestie en moontlik ook bloedings is by meeste gevalle van AVP in genoemde studies waargeneem. Klein infarkte in die milt kon slegs by ongeveer 6% van gevalle van akute AVP gesien word terwyl dit meer dikwels (ongeveer 45% van gevalle) by EVP voorgekom het (Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b).

In die maagwand is daar kongestie en ligte fokale tot strawwe diffuse bloedings en nekrose in die mukosa en submukosa wat dik-

wels tot ulkus-vorming en vrybloeding in die maag lei (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). In die dundermwand is veranderinge deurgaans van 'n ligter aard, en beperk tot petegia en egimose, asook 'n edeem van die wand en serosa. Bloedings en ulkus-vorming is meer prominent in die sekum en kolon (ongeveer 50%) maar die tipiese "bouton" ulserasies soos by EVP is nie 'n kenmerk van AVP nie (Maurer et al., 1958).

Longedeem wat varieer van lig tot uitgesproke, kom in ongeveer 25% van AVP gevalle voor (Maurer et al., 1958). Die edeem word soms gekenmerk deur prominente verwydering van die interlobulêre septae met 'n fibrineuse eksudaat wat stol by blootstelling aan die atmosfeer (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b).

By chroniese gevalle word 'n uitgesproke fibrineuse epi- en perikarditis asook 'n pleuritis gesien. 'n Uitgebreide fibrineuse pneumonie gekenmerk deur konsolidasie van fokale areas tot totale lobbe kom dikwels voor. 'n Chroniese artritis word ook dikwels in hierdie gevalle gesien (De Kock et al., 1940; Moulton & Coggins, 1968b).

Die lewer is gewoonlik geswolle, kongestief met verspreide bloedings onder die kapsel. Op snitvlak is die parengiem dikwels bloedryk, en ligte areas van degenerasie en donker foci van bloedings kom verspreid voor. Die lobulasie van die lewer bly deurgaans duidelik onderskeibaar (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b).

Die galblaaswand is dikwels kongestief en edemateus terwyl petegiale en egimotiese bloedinge minder algemeen voorkom (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Edwards (1983) beskryf een geval waar die galblaas met bloed gevul was.

Bloedinge wat wissel van ligte subkapsulêre en kortikale petegiae tot aaneenvloeiende egimose kom voor in die niere by ongeveer 60% van akute AVP gevalle (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b; McVicar et al., 1981) terwyl diffuse bloedings in die renale pelvis by ongeveer 5% van akute

gevalle beskryf is. (Maurer et al., 1958). Dit is soms moeilik om makroskopies te onderskei tussen diffuse bloeding en kongestie in die nier.

In die brein kan kongestie van die meningeale bloedvate en petegiae in die wit-en grysstof dikwels makroskopies onderskei word (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b).

Mikroskopiese patologie: Mikroskopiese veranderinge van akute, subakute en chroniese AVP is breedvoerig deur verskeie werkers gerapporteer in Afrika (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Soortgelyke beskrywings van eksperimentele studies in die VSA waar varke met isolate afkomstig uit die Dominikaanse Republiek besmet is, is ook beskikbaar (Edwards, 1983). Noukeurige dokumentasie van al die histopatologiese veranderinge van die siekte val buite die perke van hierdie oorsig. Derhalwe sal slegs gekonsentreer word op die hemostatiese en verwante veranderinge wat beskryf is.

In die vel waar sianose, kongestie en vermeende strawwe bloedings makroskopies sigbaar was, is daar mikroskopies hoofsaaklik kongestie, bloeding, mononukleêre leukositose en verdagte fibrien en bloedplaatjietrombus vorming in kapillêre vate, venules en arterioles waarneembaar. Die vermeende trombi het in voorkoms gewissel van digte homogene amorfe lig eosinofiliese massas tot meer fibrillêre, sellulêre perjoodsuur-Schiff-reaksie (PAS) en Weigert-fibrien positiewe massas wat waarskynlik aan die endoteel vasgeheg is. Fibroblaste is nooit in trombi beskryf nie. Kapillêre bloedvatwande het dikwels 'n verdikte edemateuse voorkoms met verlies van definisie en kleur affiniteit veral waar trombi teenwoordig is. Hierdie beeld is dikwels meer opvallend in arteriolêre wande. Waar PAS kleuring aangewend is, kon gesien word dat 'n amorfe PAS positiewe materiaal eers onder die endoteel begin aansamel het, maar ook later tussen die spier en elastiese vesellae van die tunica media in groter arterioles versprei (Maurer et al., 1958). "Endovaskulêre hialinisasie" en trombose in kleiner bloedvate en gepaarde intradermale bloeding in strawwe gevalle van AVP word deur De Kock et al. (1940) beskryf. Moulton & Coggins (1968b) maak melding van soortgelyke vaskulêre veranderinge, asook

subepidermale en peri- en intravaskulêre "mononukleêre leukosiet" aansameling. Hierdie leukosiete het dikwels kariorekse vertoon. Dieselfde sel infiltrasie asook kongestie, edeem, bloeding en trombose het voorgekom in die ooglede, oogslymvliese, sklera, korneale limbus en retina.

'n Spektrum van letsels wat wissel van nekrose en bloeding in die akute siekte tot proliferatiewe veranderinge in chroniese gevalle kom voor in die limfknope. Gedurende die vroeë stadia van die akute en subakute siekte word slegs kongestie en minimale bloedvatwand veranderinge in die limfknope waargeneem (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b; Edwards, 1983). Kariorekse en piknose van enkele en later groot groepe limfosiete is volgens De Kock et al. (1940) en Maurer et al. (1958) ook veranderinge wat intree. Moulton & Coggins, 1968b) het egter nekrose van limfosiete betwyfel, maar nekrose van ander "mononukleêre selle" beskryf. Hierteenoor rapporteer Edwards (1983) uitputting van limfoïede follikels en proliferasie van groot limfoblastes in die parakortikale areas in die limfknope. Limfknoop-, milt- en bloedsmere van akute gevalle het volgens De Kock et al. (1940) baie kenmerkende limfosiet veranderinge vertoon. Kariorekse van limfosietkerne asook chromatien uitvloeiing in die vorm van druppels geheg aan die selkerne of buite die selle as vry gekondenseerde chromatien fragmente was prominente veranderinge op limfknoop- en bloedsmere. Bykomstig tot hierdie kern fragmente beskryf die werkers ook talryke ligblou globulêre kernlose sitoplasmiese fragmente van 1-12 μ deursnit. Hierdie fragmente was mees waarskynlik afkomstig van limfositiese sitoplasma uitstulplings of afgestote endoteelselle wat hul kerne verloor het (De Kock et al., 1940). Afgesien van nekrose van limfosiete (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958) en "mononukleêre sel" (Moulton & Coggins, 1968b), is daar ook nekrose van die retikulêre selle in die limfosiet stroma deur Maurer et al., (1958) en Moulton & Coggins, (1968b) waargeneem. Nekrose van die retikulêre stroma weefsel tree gewoonlik later in en neem 'n asellulêre eosinofiliese fibrillêre voorkoms aan wat dikwels die follikels verplaas. Nekrose van die retikulêre stroma is meer waarskynlik die gevolg van versteurde bloedvoorsiening as gevolg van nekrose van bloedvatwande en trombose, terwyl limfosiet en mononukleêre sel nekrose vermoedelik direk deur die virus veroorsaak word (Maurer et al.,

1958; Moulton & Coggins, 1968b). Gedurende gevorderde limfknoop skade, vind 'n toename van plasmasselle, eosinofiele en makrofages plaas, terwyl neutrofiële skaars bly (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Kapillêre endoteelselle in die retikulêre weefsel stroma ondergaan vroeg reeds swelling en verloor later hul definisie en ondergaan hialiene veranderinge gekenmerk deur onduidelike hialiene massas (De Kock et al., 1940) wat PAS-positief kleur (Maurer et al., 1958). Edwards (1983) kon egter slegs nekrose van histiosiete in die sinusse asook swelling en hiperplasie van die endoteelselle in die post kapillêre venules waarneem maar nooit enige nekrose van bloedvatwande nie. In meer gevorderde gevalle word eers klein fokale bloedings in die perifere subkapsulêre retikulêre weefsel tussen die limfoïede follikel en subkapsulêre limfsinusse waargeneem wat later uitbrei en versamel word van edeem. Geen verband kon egter gedemonstreer word tussen die graad van bloedings en die morfologiese veranderinge in bloedvatwande nie. Beide letsels kon gesamentlik of afsonderlik in limfknope aangetref word.

Soortgelyke maar meer kenmerkende letsels word ook by die milt in akute gevalle aangetref. Kongestie en bloedings is meestal prominente veranderinge (De Kock et al., 1940; Moulton & Coggins, 1968b) gekenmerk deur verwydering van die sinusoïede en gedeeltelike verdringing van die limfoïede follikels deur groot bloedings. Kongestie en bloeding was egter volgens Maurer et al., (1958) en Edwards (1983) veel skaarser in gevalle deur hulle ondersoek. Infarkte is ook in 'n klein persentasie van gevalle in die rooi pap beskryf (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Prominente kariorekse en disintegrasie van die limfosiete veral om die sentrale arteries dra by tot die atrofie en verkleining van die limfoïede follikels in die milt (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958). Verder is daar ook aansamelings van groot getalle "mononukleêre selle" en limfosiete in die kiemsentra van die follikels wat kariorekse en nekrose ondergaan (Moulton & Coggins, 1968b). Edwards (1983) het nekrose van makrofages aan die rand van die limfoïede follikels en uitputting van limfosiete in die sentrale gedeeltes daarvan waargeneem. In feitlik elke geval deur De Kock et al. (1940) beskryf was daar aantasting van die Schweigger-Seidel (SS) skedes in die milt, gekenmerk deur 'n uitgesproke piknose van die kerne en kariorekse,

nekrose van die retikuloëndoteelselle en trombose in die SS skedes. Aanvanklik neem die skedes 'n homogene eosinofiliese hialiene voorkoms aan maar verdwyn dan later totaal. Soortgelyke veranderinge gekenmerk deur nekrose en die neerlegging van PAS positiewe homogene eosinofiliese materiaal in die SS skedes en perifollikulêre arteries, is ook deur Maurer et al. (1958) en Moulton & Coggins (1968b) beskryf. Ooreenstemmende maar minder uitgesproke letsels wat nekrose, mineralisasie en reusesel infiltrasie van die rooi pap tussen die follikels insluit is deur Edwards (1983) gedokumenteer by minder akute gevalle van die siekte.

Veranderinge in die lewer word hoofsaaklik gekenmerk deur kongestie van die sinusoïede, portale "mononukleêre sel" infiltrasie en nekrose van hepatosiete (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b; Edwards, 1983). Nekrose van hepatosiete is hoofsaaklik beperk tot enkele selle of gedissemineerde klein foci versprei deur die parengiem. Groot getalle Kupfferselle is dikwels nekroties en toon kariorekse. Volgens Edwards (1983) was daar hiperplasie van Kupfferselle by subakute gevalle wat vir 11-15 dae bly leef het.

Die galblaaswand is dikwels edemateus en kongestief met peptegiale tot egimotiese bloedings in die mukosa en serosa (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Trombose en infarksie van die galblaaswand is by een geval waargeneem (Maurer et al., 1958).

In die pankreas is strawwe bloedings en multifokale nekrose gepaard met verseping en trombose beskryf in 'n klein persentasie van gevalle (De Kock et al., 1940).

Veranderinge wat gereeld by AVP in die maag voorkom is kongestie, multifokale bloedings, trombose en infarksie met gevolglike ulserasie veral in die fundus gedeelte. Die arteriële en kapillêre wande toon hialinisasie waar daar trombose is (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b).

Kongestie, bloedings en kariorekse van mononukleêre leukosiete in die mukosa en submukosa van die dunderm en veral in die omgewing van die ileosekale klep kom algemeen voor in AVP. In se-

kere gevalle is daar ook nekrose en ulsera in die gedeeltes van die dermkanaal (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton et al., 1968b). Soortgelyke letsels kom ook in die sekum en kolon voor, maar is as 'n reël meer uitgesproke as in die dunderm. Nekrose van limfoïede weefsel in die Peyerse vlekke kom dikwels voor in akute AVP. Groter ulsera, verwant aan die "bouton" ulsera wat 'n kenmerk is van EVP, is slegs teenwoordig by 'n klein persentasie van varke met akute AVP waar die siekteverloop langer was (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b).

Kongestie is meer algemeen as bloeding in die niere van akute AVP. In gevalle waar bloeding straf is, kan hialinisasie van die subkortikale en interlobulêre arteries met afsluiting van die lumen en gevolglike kortikale infarksie gesien word (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Maurer et al. (1958) het PAS positiewe materiaal asook trombose in hierdie bloedvate aangetoon. Daar was ook hialinisasie met aansameling van PAS positiewe materiaal in die glomeruli by 'n enkele akute geval, terwyl hiperplasie en hipertrofie van die glomerulêre endoteelselle by twee akute gevalle voorgekom het. Kongestie en bloeding asook proteïen materiaal aansameling in die glomeruli is dikwels teenwoordig (Moulton & Coggins, 1968b). Volgens verskillende werkers is kariorekse en nekrose van die glomerulêre endoteelselle verbasend skaars in akute gevalle van AVP (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Strawwe hialien-druppel degenerasie van die nierbuisepiteelselle met homogene proteïenmateriaal aansameling in die nierbuis en Bowman se kapsels is soms teenwoordig (Maurer et al., 1958). Fokale interstisiële mononukleêre leukosiet infiltrasies wat dikwels kariorekse vertoon, is ook beskryf (Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b).

Die letsels in die meninges en brein by akute AVP sluit in kongestie en perivaskulêre bloedings asook hialinisasie van bloedvatwande (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Dieselfde PAS positiewe materiaal wat in die niere voorkom, is ook in die wande en soms in die lumen van hierdie gehialiniseerde bloedvate gedemonstreer (Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Ander bloedvat letsels sluit in peri-

vaskulêre mononukleêre leukosiet infiltrasies en vaskulitis in die meninges en brein. Neuron degenerasie gekenmerk deur chromatolise asook demiëlinisasie en gliose in sekere foci is ook deur Maurer et al. (1958) en Moulton & Coggins, (1968b) beskryf.

Die eosinofiel en mononukleêre leukosiet infiltrasies en die hialiene nekrose van bloedvatwande is deur Moulton & Coggins, (1968b) vertolk as moontlike aanduidings van 'n immuunpatologiese meganisme by hierdie siekte.

Fluoreserende teenliggaam ondersoek en in vitro studies op selkulture het aangedui dat dit die monosiete, makrofage en retikulêre selle is wat besmet word en kariorekse ondergaan, en dat die limfosiete slegs uitsonderlik aangetas word in akute AVP (Bou-langer, Bannister, Greig & Ruckerbauer vermeld deur Moulton & Coggins, 1968b). Kariorekse vind nie deur direkte virus beskadiging van die selkern plaas nie aangesien die virus slegs intrasitoplasmies repliseer. Vermoedelik word die toevoer van boodskapper RNA vanuit die sitoplasma na die kern deur virus replikasie versteur wat lei tot kariorekse (Moulton & Coggins, 1968a).

Diagnose: Diagnose van AVP deur middel van die makroskopiese veranderinge by die akute siekte is gladnie betroubaar nie, en derhalwe is laboratorium ondersoek noodsaaklik. Die belangrikste siekte om van AVP te onderskei is EYP, wat in meeste gevalle gekenmerk word deur die teenwoordigheid van groot "bouton" ulserasies van die sekum en kolon. Kariorekse van limfosiete en limfosiet infiltrasies in die portale bane in die lewer is 'n kenmerkende verandering by AVP in teenstelling met EYP waar dit afwesig is (Maurer et al., 1958). 'n Positiewe diagnose van AVP vereis of die identifikasie van die virus of spesifieke teenliggame. Snelle en akkurate diagnostiese metodes is 'n voorvereiste vir die suksesvolle bekamping van AVP aangesien beheermaatreëls op uitslagting berus en inenting nie 'n rol speel nie. In akute gevalle bied die direkte immunofluoressensie tegniek die beste resultate en 'n spesifieke diagnose kan binne 1 uur verkry word op bevrore weefselsnitte. Die metode is egter nie suksesvol by minder akute gevalle nie aangesien die antigeen deur die gasheerteenliggaamreaksie gebind word. Die heemadsorpsie tegniek is tans die mees algemene metode in gebruik, en bied spesifieke resultate binne 12

ure indien vark leukosiet of beenmurgkulture onmiddellik beskikbaar is. In twyfelagtige gevalle kan EVP immuun varke besmet word wat as die mees spesifieke tegniek beskou word. Dit is egter stadig en duur en word slegs as laaste hulpmiddel toegepas. Spesifieke AVP teenliggame kan deur 'n verskeidenheid van tegnieke geïdentifiseer word, waarvan die indirekte immunofluoressensie (IIF), die immuno-elektro-osmoforese ("IEOP") die ensiemgebonde immunoabsorberende ("ELISA") en die indirekte immunoperoksidase plaket-kleurings metodes ("IIPS") die beste resultate lewer.

Omdat geen enkele toets die siekte onder alle omstandighede kan bevestig nie, behoort monsters aan die laboratorium genoegsaam te wees met betrekking tot orgaan massa en verskeidenheid. Milt, lewer, limfknope en serum moet in geskikte houers aan die laboratorium voorsien word (Hess, 1984). Vir histopatologiese ondersoek word 'n wye verskeidenheid van orgaanmonsters, maar veral limfknope, milt, long en lewer in genoegsame gebufferde 10% formalien fikseermiddel verlang.

ADDENDUM - AVP en verworwe-immuungebreksindroom ("VIGS") by mense:

Positiewe heemadsorpsie (HD) en direkte immunofluoressensie (DIF) toetse vir AVP virus infeksie in menslike "VIGS" pasiënte in die VSA wat geen vorige kontak gehad het met AVP besmette varke nie, het 'n mate van opspraak verwek. Daar is gepoog om 'n saak daarvoor uit te maak dat menslike VIGS of 'n menslike T-sel leukemievirus-III (HTLV-III) geassosieerde virus 'n variante vorm van AVP mag wees wat mense aantast. Patologiese ooreenkomste tussen menslike VIGS en chroniese AVP soos hiperplastiese limfknope, hiper-gammaglobulienemie, trombositopenie en limfosiet onderdrukking het verdere getuienis vir hierdie vermoede verskaf (Beldekas, Teas, Jane & Herbert, 1986). Die immunologiese spesifisiteit van die HD en DIF tegnieke is egter nie genoegsaam om sulke verrykende gevolgtrekkings te bevestig nie. Die HTLV-III virus is egter 'n Retro (RNA) virus terwyl die AVP virus 'n DNA virus is. Die een kan dus nooit 'n variante vorm van die ander wees nie en dit is dus te betwyfel of hierdie saak te ernstig opgeneem moet word (Dr G.R. Thomson, Navorsingsinstituut vir Veeartsenykunde, Onderstepoort, persoonlike mededeling, 1986).

HOOFSTUK 2

MORFOLOGIESE VERANDERINGE EN VIRUS INFEKSIE VAN TROMBOSIETE IN
VARKE BESMET MET VIRULENTE HEEMADSORBERENDE AFRIKAANSE VARKPES
VIRUS ISOLATE EN 'N VIRULENTE NIE-HEEMADSORBERENDE AFRIKAANSE
VARKPES VIRUS ISOLAAT

INLEIDING

Hemostatiese versteurings kan in 3 groepe geklassifiseer word, naamlik versteurings as gevolg van abnormaliteite van die bloedplaatjies, abnormaliteite van plasmastollingsfaktore en defekte van bloedvate of kombinasies hiervan (Williams, 1983b).

Volgens Edwards (1983) kom trombositopenie by akute AVP terminaal voor by varke wat besmet is met 'n virus isolaat wat dood binne 8 dae veroorsaak het. Hy het verder bevind dat trombositopenie 6-7 dae na besmetting voorkom, maar dat bloedplaatjie tellings weer na normale vlakke terugkeer binne 10-12 dae na besmetting in varke wat gespuit is met 'n minder virulente isolaat waarvan die meerderheid herstel het. Op grond van sy onvermoë om virus antigeen in bloedplaatjies van besmette varke te vind asook die vermoë van oplosbare virus antigeen om aggregasie van bloedplaatjies van herstelde varke te veroorsaak, het Edwards (1983) gepostuleer dat trombositopenie by AVP immuun-bemiddeld mag wees. Die binding van AVP virus, spesifieke teenliggame en kompliment in 'n kritieke verhouding aan Fc-reseptore op die bloedplaatjiesmembraan om immuun-komplekse te vorm is voorgestel as 'n meganisme van plaatjie-membraan beskadiging, trombosit-aggregasie, fagositose en verwydering uit die sirkulasie (Edwards, 1983; Edwards et al., 1985b). Geen bewyse vir abnormale trombositopeniese in akute AVP kon gevind word nie (Edwards, 1983). Trombositopenie by AVP is ook deur Anderson (1986) en Anderson, et al. (1987) beskryf en toegeskryf aan moontlike verhoogde trombosit-aggregasie en verbruik as gevolg van 'n wanbalans in die prostaglandien E₂ (PGE₂), prostaglandien I₂ (PGI₂) en tromboksaan A₂ (TXA₂) of aragidoon-suurmetaboliet vlakke in plasma. Die primêre oorsaak van trombosit-aggregasie by hierdie siekte kon egter nie met sekerheid bepaal word nie (Anderson et al., 1987).

TABEL 1 Die isolaat, HD eienskap, passasie vlak en inokulum titer van die AVP virus wat ingespuut is

Heemadsortêrend (HD)				Nie-heemadsorberend (NHD)			
Vark No.	Virus isolaat	Passasie vlak	Inokulum titer*	Vark No.	Virus isolaat	Passasie vlak	Inokulum titer*
1	CV	BLK 5	6,1	14	L-148	BLK 7	7,9
2	CV	"	"	15	L-148	"	"
3	CV	"	"	16	L-148	"	"
4	CV	"	"	17	L-148	BLK 6	6,3
5	951	BLK 2	6,3	18	L-148	BLK 7	7,9
6	951	"	"	19	L-148	"	"
7	MW1	"	5,9	20	L-148	BLK 6	6,3
8	MW1	"	"	21	L-148	BLK 9	4,9
9	DR	"	6,7	22	L-148	"	"
10	DR	"	"	23	L-148	BLK 14	7,7
11	CV	LLC-MK ₂	5,9	24	L-148	"	"
		BLK 6					
12	CV	"	"	25	L-148	"	"
13	CV	"	"				

* = log₁₀ Weefselkultuurdoosis ("TCD") 50 of HD₅₀/ml

BLK = bloed leukosietkulture

LLC-MK₂ = "American type culture collection", Rockville, Maryland, USA

CV = "Control" virus isolaat

MWI = Malawi virus isolaat

DR = Dominikaanse Republiek virus isolaat

L-148 = Lillie-148 virus isolaat

Verskeie navorsers het bevind dat beide HD- en NHD-AVP virus isolate virulent of relatief avirulent mag wees, maar dit is nie bekend of hierdie eienskappe die patogenese van die siekte bepaal nie (Coggins, Moulton & Colgrove, 1968; Pini, 1977; Thomson et al., 1979; Pan & Hess, 1985).

In hierdie studie word die infeksie en replikasie van AVP virus in bloedplaatjies van eksperimenteel besmette varke deur middel van die transmissie elektronmikroskoop aangetoon. Sitopatologiese veranderinge in aangetaste bloedplaatjies word ook beskryf. Die doel van hierdie studie was om moontlike verskille in die patogenese en patologie van die siektes veroorsaak deur virulente HD en NHD AVP virus isolate te bepaal.

MATERIAAL EN METODEDES

Vyf-en-twintig wit kruis-ras varke 4-6 maande oud is afsonderlik in hokke in 'n isolasie eenheid gehuisves om kruisbesmetting te voorkom, en van 'n kommersiële rantsoen en water voorsien.

Virusse: Vier verskillende virulente HD-AVP virus isolate, naamlik die "Control" (CV), 951, Malawi (MWI) en Dominikaanse Republiek (DR), en 'n virulente NHD-AVP virus isolaat, Lillie-148 (L-148) is gebruik. Die CV en L-148 isolate is voorheen beskryf deur Pini (1977) en Thomson et al. (1979), terwyl die 951 en MWI isolate verkry is van uitbreke van akute AVP in Malawi. Die DR isolaat is as 'n skenking verkry¹.

Dertien varke is besmet met die HD-AVP virus isolate en 12 met die L-148 virus deur binnespiers inspuiting (Tabel 1). Die passasie vlakke en titers van die virusse word ook in hierdie tabel aangetoon.

Monster versameling: Bloed monsters vir bloedplaatjie tellings en transmissie elektronmikroskopiese ondersoek is daaglik of elke 2de dag vanaf 2-6 dae voor besmetting tot by dood versamel waar

1 Dr. P. Wilkinson, "Animal Virus Research Institute," Pirbright, Britanje



FIG. 3 Die semi-oop metode van narkose toediening (Hall & Clarke, 1983) is aangewend om die varke mee te verdoof



FIG. 4 Bloed is versamel uit die vena cava anterior

enigsins moontlik (Tabelle 2a & b). Bloed versamelings is uitgevoer vanuit die anterior vena cava volgens die prosedure beskryf deur Schulze (1981) onder ligte narkose met azaparon² en trichlooretileen³ (Fig. 3&4) toegedien volgens die semi-oop metode (Hall & Clarke, 1983). Hierdie narkose het spoedige en doeltreffende bloedmonster versameling verseker met minimale ongerief sonder enige ongevallen. Die anterior venae cava en omliggende weefsels het die herhaaldelike bloed versamelings goed weerstaan, selfs in die NHD-AVP virus besmette groep waar die oorlewingsperiode langer was (Tabel 2b).

Bloedplaatjie tellings en ligmikroskopiese ondersoeke: Vyf milliliters bloed is versamel in etileen-diamien-tetra-asynsuur (EDTA)⁴ teenstolmiddel om die bloedplaatjie tellings deur middel van die elektroniese Coulter Teller (Model S plus)⁵ te bepaal. Tweedens is smere berei van die bloedmonsters bewaar in EDTA, gefikseer in metanol en gekleur met 10% Giemsa⁶ oplossing vir 45 minute. Twee bloedsmere, of soms 1 in sekere gevalle, en 50 velde per smeer is onder die ligmikroskoop (olieleens vergroting: x 1000) ondersoek om die morfologiese veranderinge van die plaatjies en hul grootte te bepaal deur hul deursnit met die van omliggende rooibloedselle te vergelyk. Die laagste normale waarde vir bloedplaatjie-tellings by varke is geneem as $200 \times 10^9/l$ (Christoph & Meyer, 1965; Bowie, Owen, Zollman, Thompson & Fass, 1973).

Elektronmikroskopiese ondersoeke: Sewe varke besmet met HD isolate (nos. 1, 2, 9-13) en 7 besmet met NHD-AVP isolaat (nos. 17, 20-25) is bestudeer (Tabelle 2a & b).

-
- 2 "Stressnil", Ethnor (Edms) Bpk, Halfway House 1685, RSA
 - 3 "Trileen, Imperial Chemical Industries Limited England" Posbus 11270, Johannesburg 2000, RSA
 - 4 Vacutainer, "Radem Laboratories", Posbus 391606, Bramley 2018, RSA
 - 5 "Coulter Electronics Inc", Hialeah Florida, VSA
 - 6 "Giemsa-Lösung", Merck Chemicals", Darmstadt

TABEL 2a: Opeenvolgende gemiddelde bloedplaatjie volume en tellings soos bepaal deur 2 metodes voor en na besmetting met 4 verskillende HD-AVP virus isolate

Vark No.	Virus ingespuits	Bloed plaatjie volume en telling	Dae voor en na virus inspuiting										Oorlewingsdae
			-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	
1	CV	GPV	-	-	-	-	-	-	-	W	-		4
		EPT	-	-	-	-	-	-	-	W	-	+	
2	CV	GPV	-	-	-	1 3	-	-	14	W		4	
		EPT	-	-	-	243	-	-	249	W	+		
3	CV	GPV	8,6	-	-	8,9	-	-	7,7	W	-	5	
		EPT	499	-	-	563	-	-	838	W	-		+
4	CV	GPV	-	-	-	-	-	-	9,4	W		5	
		EPT	-	-	-	-	-	-	245	W	W		+
5	951	GPV	-	-	-	8,6	-	-	9,1	W		4	
		EPT	-	-	-	439	-	-	514	W	+		
6	951	GPV	8,5	-	-	8,4	-	-	8,7	W		4	
		EPT	409	-	-	404	-	-	196	W	+		
7	MW1	GPV	8,5	-	-	8,3	-	-	7,9	W		4	
		EPT	269	-	-	262	-	-	325	W	+		
8	MW1	GPV	9,2	-	-	9,1	-	-	8,6	10,1	W	5	
		EPT	307	-	-	312	-	-	253	319	W		+
9	DR	GPV	8,0	-	-	8,0	-	-	9,1	10,4	-	5	
		EPT	500	-	-	513	-	-	337	505	-		+
10	DR	GPV	-	-	-	8,9	-	-	8,8	10,1	W	5	
		EPT	-	-	-	331	-	-	289	658	W		+
11	CV	GPV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
		EPT	-	-	-	-	-	-	-	-	-		+
12	CV	GPV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
		EPT	-	-	-	-	-	-	-	-	-		+
13	CV	GPV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
		EPT	-	-	-	-	-	-	-	-	-		+
TOTAAL 13													Gemiddeld ± SA 4,6 ± 0,5

GPV = gemiddelde plaatjie volume x fl soos bepaal met die elektroniese Coulter Teller
 EPT = elektroniese plaatjie telling x10⁹/l soos bepaal met die elektroniese Coulter Teller
 W = weiering om plaatjies te tel deur die Coulter Teller
 + = dier dood
 SA = standaard afwyking
 - = nie gedoen nie

TABEL 2b: Opeenvolgende gemiddelde bloedplaatjie volume en tellings soos bepaal deur 2 metodes voor en na besmetting met die Lillie-NHD-AVP virus isolaat

Vark No.	Bloedplaatjie volume en telling	Dae voor en na virus inspuiting															Oorlewingsdae								
		-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7		8	9	10	11	12	13	14	15
14	GPV EPT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,1	-	-	-	-	7,9	-	8,1	-	7,4	-	8,3	-	-	15
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	286	-	-	-	-	275	-	348	-	320	-	431	-	-	
15	GPV EPT	-	-	8,7	-	7,7	-	7,7	-	7,4	-	7,8	-	-	8,3	-	8,5	-	8,2	-					12
		-	-	331	-	485	-	376	-	376	-	346	-	-	396	-	334	-	319	-			+		
16	GPV EPT	-	-	7,7	-	7,0	-	7,0	-	7,8	-	8,3	-	-											6
		-	-	401	-	441	-	419	-	336	-	308	-	-			+								
17	GPV EPT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,7	-	-									8
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	376	-	-	278	-	-	+								
18	GPV EPT	8,9	-	8,6	-	-	8,4	-	8,7	-	8,0	-	-	8,3	-	8,7	-	8,6	-	-	9,4	-	9,8	-	14
		360	-	345	-	-	261	-	334	-	449	-	-	354	-	397	-	371	-	-	441	-	426	+	
19	GPV EPT	8,0	-	8,0	-	-	7,8	-	8,4	-	7,7	-	-	8,7	-	-	-	8,2	-	-					11
		458	-	373	-	-	308	-	401	-	411	-	-	339	-	-	-	287	-	-	+				
20	GPV EPT	-	-	-	-	-	-	9,5	-	9,4	-	-	-	-	-	-									7
		-	-	-	-	-	297	-	287	-	290	-	-	220	-	W	+								
21	GPV EPT	-	-	-	-	-	7,5	-	7,0	-	-	-	7,5	-	-	9,1	8,6	8,3	-	-					10
		-	-	-	-	-	600	-	713	-	-	-	375	-	-	165	160	165	-	-	+				
22	GPV EPT	-	-	-	-	-	7,9	-	7,8	-	-	-	8,0	-	-	9,1	8,3	9,4	-	-					10
		-	-	-	-	-	570	-	664	-	-	-	481	-	-	373	298	-	-	-	+				
23	GPV EPT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+							8
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+						
24	GPV EPT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+						8
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+					
25	GPV EPT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+						8
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+					
TOTAAL	12	Gemiddelde oorlewingsperiode ± SA															9,8±2,81								

Alle konvensies soos vir vorige tabel

'n Modifikasie van die metode van Zwierzina, Schmalzl, Kunz, Dworzak, Linker & Geissler (1983) is aangewend om die onmiddellike fiksasie en minimale aktivering van plaatjies voor prosessering te verseker. Drie milliliters bloed is direk uit die vena cava anterior in 'n 10 ml spuit met 7 ml 2,5% glutaraldehyd oplossing daarin, opgetrek deur middel van 'n 19G naald. 'n Plaatjieryke plasma supernatant (PRP) is vervolgens berei deur sentrifugasie teen 200 g vir 10 minute. Die PRP is verder gesentrifugeer vir 10 minute teen 1500 g om plaatjieryke sedimente te vorm. Hierdie plaatjie sedimente is vervolgens herfikseer in 'n 1% osmium tetroksied⁷ en kakodilaat⁷ buffer, gedehidreer in wissellende etanol konsentrasies, gesuiwer in 1,2 propileenoksied⁸ en ingebed in Polaron 812⁷. Ultradun weefselsnitte van c. 900°A is gekleur met uraniel asetaat en loodsitraat en ondersoek met 'n JEOL EM-1200 EX transmissie-elektronmikroskoop (TEM) (sien Hoofstuk 5).

Virologiese ondersoeke: Die viremie is bepaal in terminale bloedmonsters versamel van 3 varke besmet met 'n HD isolaat en in 3 besmet met 'n NHD isolaat (Tabel 3). Die konsentrasie van AVP virus is verder bepaal in selektiewe organe en limfknope van die orige varke (Tabelle 12, Hoofstuk 7). Monsters is getitreer in bloed leukosietkulture (BLK) soos voorheen beskryf deur Thomson et al. (1979).

RESULTATE

Verloop van besmetting:

Terwyl al die varke besmet met die HD-AVP virus isolate dood is binne 4-6 dae (gemiddeld $4,6 \pm 0,5$) (Tabel 2a), het die varke wat blootgestel is aan die L-148 (NHD) virus vir 6-15 dae oorleef (gemiddeld $9,8 \pm 2,8$) (Tabel 2b).

Bloedplaatjie tellings:

Opeenvolgende plaatjie tellings en gemiddelde plaatjie volume bepalinge met die elektroniese metode is aangeteken in Tabelle 2a & b, behalwe in gevalle waar terminale monsters ongeskik vir on-

7 "Polaron Equipment Ltd.," 21 Greenhill Crescent Watford, Hertfordshire, Britanje

8 "BDH Chemicals Ltd.," Poole, Britanje

dersoek was of onverkrygbaar was as gevolg van onvoorspelbare vrektes. Die elektroniese plaatjie-telmetode het van baie min waarde in hierdie ondersoek geblyk te wees aangesien die elektroniese Coulter Teller geweier het om plaatjies te tel in die terminal siektefase, veral in die groep besmet met die HD-AVP virusse waar die siekteverloop meer akuut was (Tabel 2a). Die elektroniese metode is derhalwe gestaak in die laaste 3 diere van elke groep. Elektroniese plaatjie tellings het na besmetting oor 'n wye gebied gevarieer, maar het in die meeste varke nie gedaal gedurende die verloop van die siekte nie (Tabelle 2a & b). Die bloedplaatjie telling het slegs in 1/9 (11%) varke besmet met die HD- isolate en die NHD-isolaat (Tabelle 2a & b) onder $200 \times 10^9/l$ gedaal waar elektroniese tellings moontlik was gedurende die laaste 3 dae van die siekte.

Elektroniese gemiddelde bloedplaatjie volume: Alhoewel daar opmerklieke variasie in die voorbesmettingswaardes was, was daar 'n geringe maar voortdurende toename van c. 0,1-3,0 fl (1-20%) in 6/8 (75%) varke besmet met die HD-AVP isolate (Tabel 2a) en in 3/8 (38%) besmet met die NHD-AVP isolaat (Tabel 2b).

Ligmikroskopiese ondersoek: Degenerasie en verdagte fragmentasie van trombositete sowel as fragmentasie van mononukleêre leukosiete was waarneembaar in bloedsmere gemaak van beide groepe op die laaste 2 oorlewingsdae. Hierdie veranderinge was meer uitgesproke in varke van beide groepe met oorlewingsperiodes van 9 dae (gemiddelde oorlewingsperiode van varke besmet met die NHD-AVP virus isolaat) en minder. Verspreide sitoplasmiese en kern fragmente, mees waarskynlik van leukosiete was soms moeilik om van degeneratiewe bloedplaatjies te onderskei (Fig. 5). 'n Geskatte 1-10% identifiseerbare bloedplaatjies het variërende grade van degenerasie vertoon wat gekenmerk is deur sitoplasmiese swellings en vakuolisasie asook fragmentasie en verlies van granules (Fig. 5). 'n Opvallende populasie van c. 4% bloedplaatjies groter as rooibloedselle kon ook waargeneem word by beide groepe (Fig. 6). Hierdie plaatjies is as onvolwasse plaatjies beskou op grond van hul nie-gevakuoleerde hipogranulêre sitoplasma (Paulus & Aster, 1983). 'n Merkbare aantal onvolwasse neutrofiele was ook teenwoordig in meeste terminale gevalle.

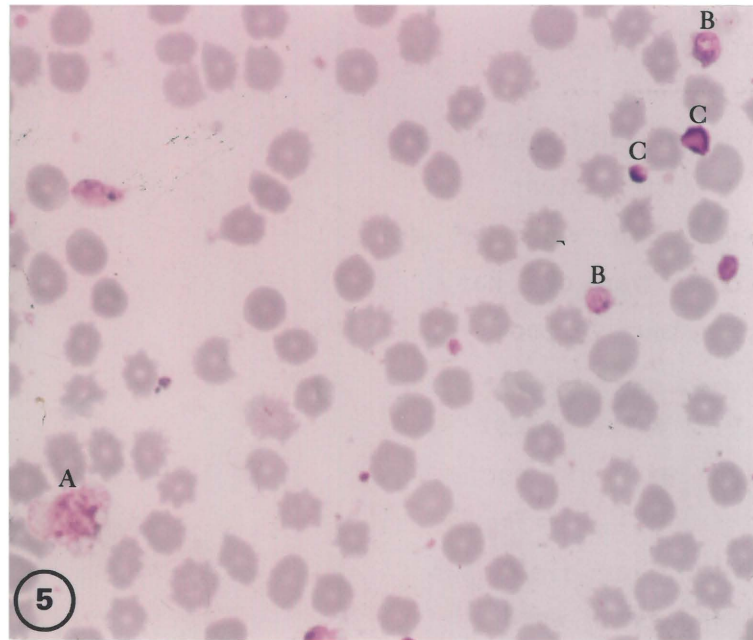


FIG. 5 Vergrote gevakuoleerde hipogranulêre degeneratiewe bloedplaatjie (A), gevakuoleerde degeneratiewe bloedplaatjie (B) en verdagte leukosiet kern fragment (C), 1-2 dae voor die dood van die vark. 10% Giemsa : Oorspronklike grootte 1000X

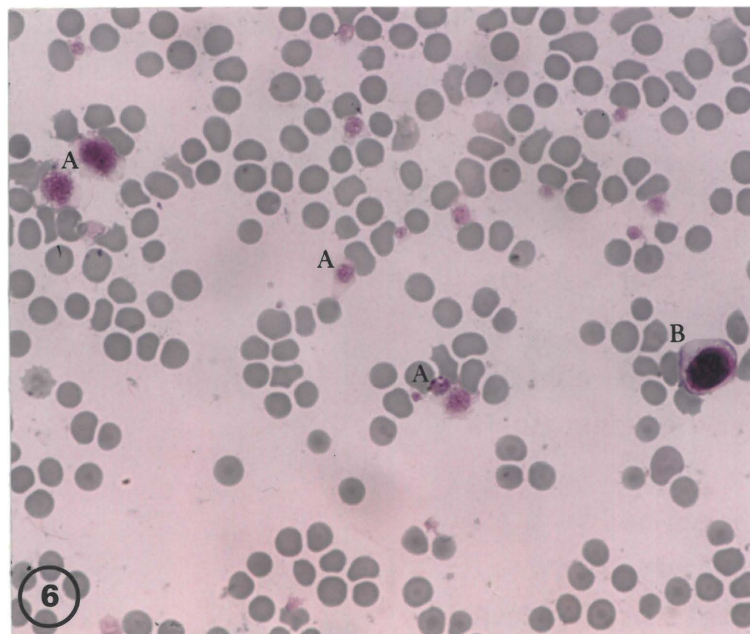


FIG. 6 Vergrote hipogranulêre (onvolwasse) bloedplaatjies 1-2 dae voor dood van vark (A) en mononukliêre leukosiet (B). 10% Giemsa: Oorspronklike grootte 400X

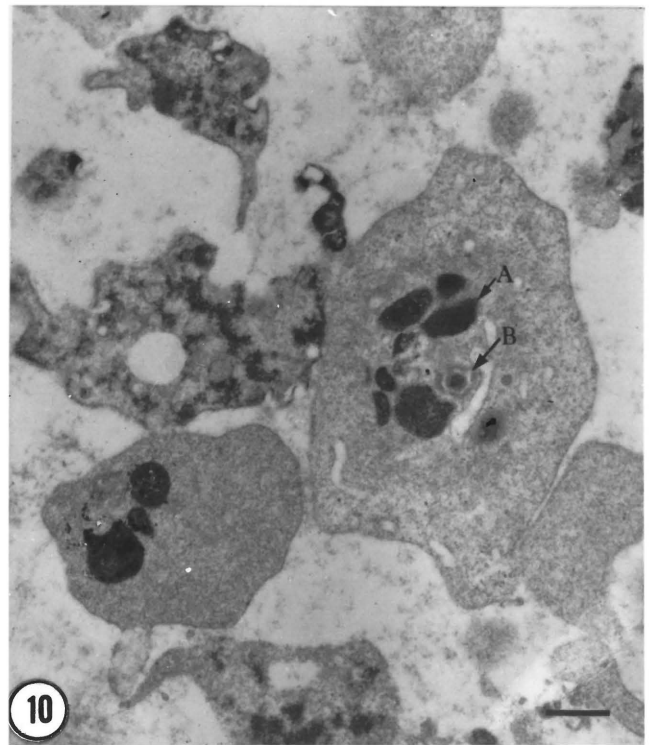
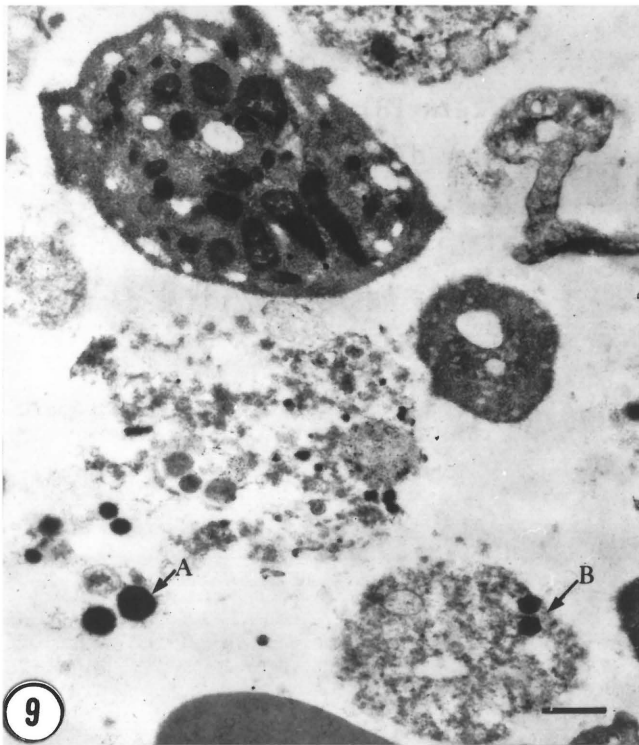
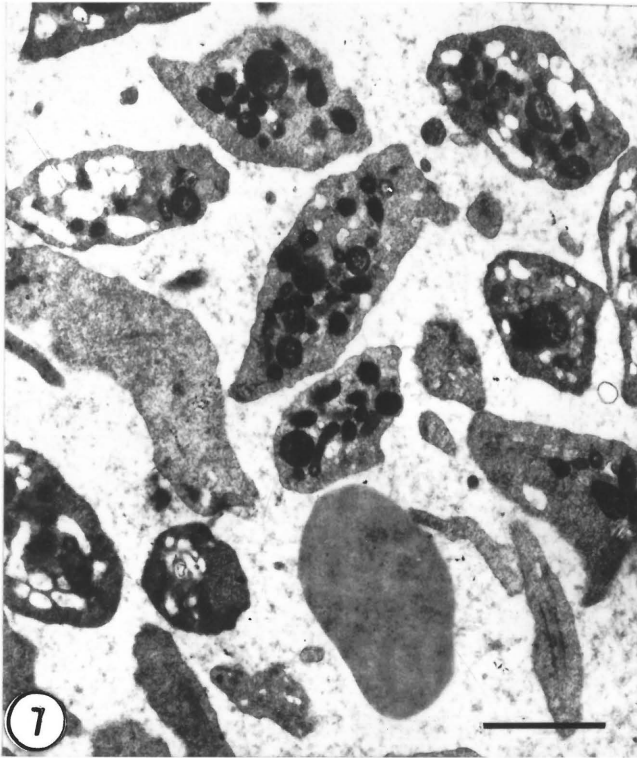
Elektronmikroskopiese ondersoek: Bloedplaatjies in PRP fraksies van 7 varke besmet met HD-AVP isolate (Tabel 2a) en 7 besmet met NHD-AVP isolaat (Tabel 2b) het geen ooglopende morfologiese afwykings getoon tot 2-3 dae voor dood nie (Fig. 7 & 8). Op hierdie stadium van die besmetting het plaatjies groter en meer onreëlmatig in vorm vertoon. Ongeveer 5-10% het fragmentasie (Fig. 9) of degeneratiewe veranderinge bestaande uit sitoplasmiese swelling, dilatase van die kanalikulêre stelsel en verlies van organel-fynstruktuur vertoon.

In 2 varke besmet met die NHD-AVP isolaat (nos. 21 & 22) (Tabel 2b) waar die oorlewingsperiode langer as 9 dae was, was daar nie 'n opvallende toename in die plaatjie skade op die dag voor dood merkbaar nie. Bloedplaatjies kon egter nie op die dag van dood ondersoek word nie. In die orige 5 varke (Tabel 2b) en in die varke besmet met die HD-AVP isolate (Tabel 2a) waar die oorlewingsperiode korter as 9 dae was, was daar egter 'n merkbare toename van beskadigde bloedplaatjies (c. 50-75%) op die dag van dood. 'n Presiese evaluasie met die elektronmikroskoop was egter moeilik.

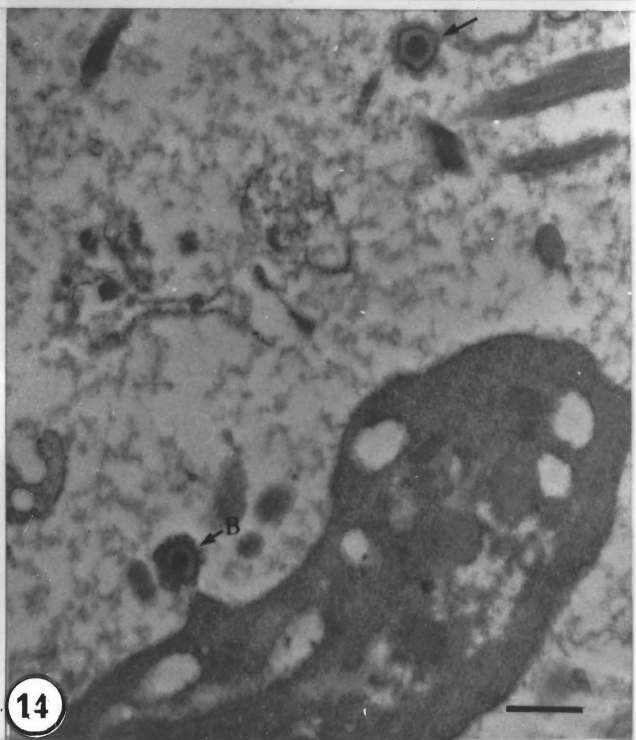
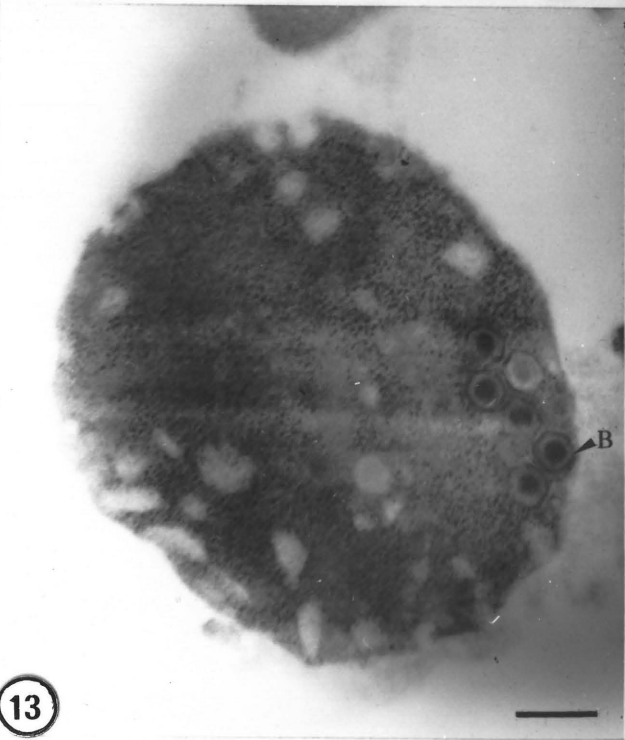
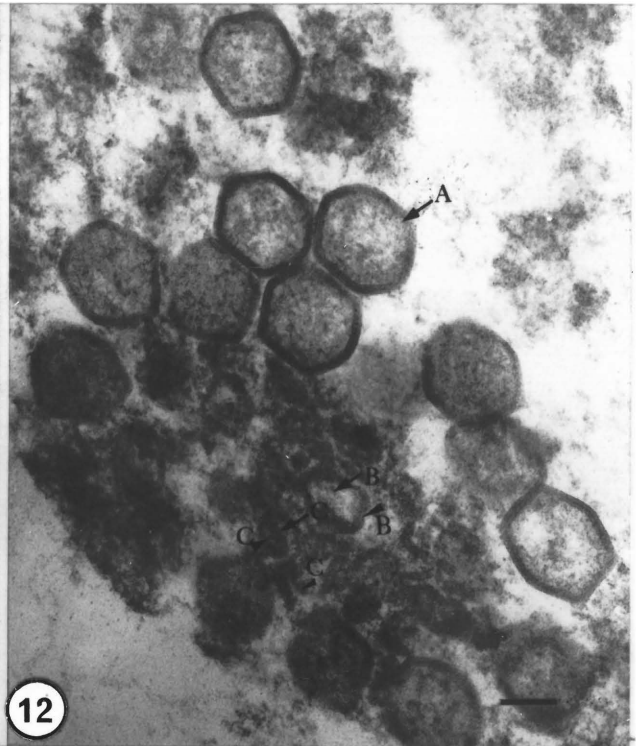
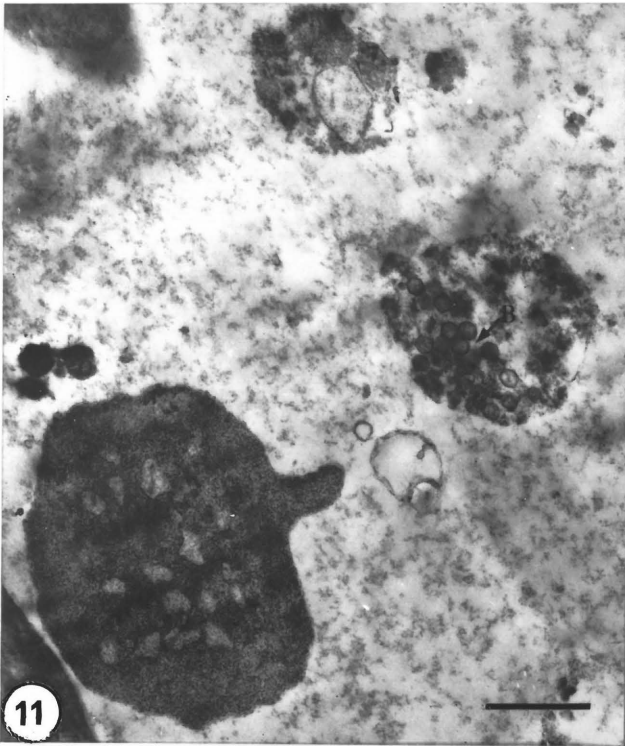
Tipiese on-omhulde heksagonale of poligonale AVP virus partikels van c. 200 nm in deursnit sowel as talle geboë tot byna sirkulêre oop en toe dubbelgelaagde membraneuse strukture van c. 10 nm breed was ook teenwoordig (Fig. 9-13) in c. 0,1-1% beskadigde bloedplaatjies of fragmente daarvan in 5/7 varke (nos. 1, 2, 9, 10 & 13) besmet met die HD-AVP isolate en in 4/7 (nos. 17, 20, 23 & 25) besmet met die NHD-AVP isolaat. Enkele volwasse omhulde virus partikels kon ook ekstrasellulêr waargeneem word (Fig. 14). Beide ekstra- en intrasellulêre heksagonale partikels het 'n elektron digte "kern" vertoon, terwyl dit of afwesig of swak gedefinieerd voorgekom het in die minder hoekige onvolwasse virus partikels wat in kenmerkende formasie gerangskik was (Fig. 11 & 12). Jong virus partikels wat vermoedelik uitbotting aan die plaatjie selmembraan ondergaan (Fig. 13) of ondergaan het (Fig. 14) is ook waargeneem.

Virus titrasies: Die titers van AVP virus in EDTA gepreserveerde bloed monsters versamel op die dag van dood word aangetoon in Tabel 3, terwyl die konsentrasie virus in geselekteerde weefselmonsters by die orige varke in Tabel 12 aangetoon word.

- FIG 7&8 Ultrastruktuur van 'n normale bloedplaatjie (kontrole): Let op elektron-digte granules, kanalikulêre sisteem en periferele mikro-buisies (pyltjies) X 11,000 (Staaf = 1000 nm) en X36,000 (Staaf = 200 nm) respektiewelik
- FIG 9 Elektron-digte granules van gefragmenteerde bloedplaatjie (A) en AVP virus partikels (B) in degeneratiewe bloedplaatjie 1-2 dae voor die dood van die vark : X17000 (Staaf = 500 nm)
- FIG 10 Elektron-digte granules (A) en onvolwasse AVP virus partikel (B) in verdagte bloedplaatjie 1-2 dae voor die dood van die vark : X17000 (Staaf = 500 nm)



- FIG 11&12 Verdagte bloedplaatjie van monster versamel 1-2 dae voor dood. Let op onvolwasse repliserende poligonale AVP virus partikels (A) in kenmerkende formasie gerangskik en sirkulêre (B) tot geboë (C) membaneuse virus strukture : X1500 (Staaf = 1000 nm) en : X70,000 (Staaf = 100 nm) respektiewelik
- FIG 13 Bloedplaatjie van monster versamel 1-2 dae voor dood. Let op onvolwasse repliserende AVP virus partikels en verdagte vroeg-uitbottende partikel vanaf plaatjie selmembraan (B) : X30,000 (Staaf = 550 nm)
- FIG 14 Bloedplaatjie van monster versamel 1-2 dae voor dood. Let op AVP virus partikel wat vermoedelik afgebot het van die plaatjie membraan : X20,000 (Staaf = 500 nm)



TABEL 3 Virus titers in EDTA gepreserveerde bloedmonsters van 6 varke versamel op die dag van dood

Heemadsorberende (HD)			Nie-heemadsorberend (NHD)		
Vark No.	Virus isolaat	Virus titer*	Vark No.	Virus isolaat	Virus titer*
11	CV	7,4	23	L 148	-7,8
12	CV	7,8	24	L 148	-8,0
13	CV	7,8	25	L 148	-8,2

* = \log_{10} HD₅₀/ml bloed

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

BESPREKING

Die oorlewingsperiode van varke besmet met die HD-AVP isolate (4-5 dae) was korter as die wat besmet is met die L-148 (NHD) AVP isolaat (6-15 dae). Die verskille in oorlewingsperiodes was statisties betekenisvol waar dit vergelyk is met die t-toets ($P=0,000015$) volgens die verstelde Welch-aspin-t-waarde (Cressie & Whitford, 1986). Op grond van die lengte van die oorlewingsperiode was al die isolate wat in hierdie studie gebruik is virulent (Pan & Hess, 1984). Die DR isolaat (HD) was egter meer virulent in ons eksperimente as voorheen vermeld (Edwards, 1983). Die rede hiervoor is nie duidelik nie, maar mag verklaar word deur die postulasie dat AVP virus isolate saamgestel mag wees uit gemengde klone van heterogeen virulensie (Pan & Hess, 1985).

Die 'weiering' van die elektroniese Coulter Teller om gemiddelde plaatjie tellings en volumes in die terminale stadia van veral die varke besmet met die HD-AVP virus isolate te registreer, plaas die geskiktheid van hierdie instrument as hulpmiddel by die studie van akute AVP onder verdenking. Die elektroniese telling en volume bepaling van bloedplaatjies mag 'n vals toename vertoon as gevolg van die leukosiet- en bloedplaatjiefragmente wat in die smere waargeneem is en ook voorheen deur De Kock *et al.* (1940) be-

skryf is. Hierdie verskynsel beklemtoon egter die waarskuwing van Paulus & Aster (1983) dat elektroniese plaatjie tellings kunsmatig verhoog mag word deur leukosiet-fragmente en as roetine maatreël mikroskopies met bloedsmere gekontroleer moet word. Die degenerasie en fragmentasie van bloedplaatjies soos terminaal waargeneem is met die lig- en elektronmikroskoop in varke van beide groepe mag dus eerder 'n aanduiding van trombositopenie wees soos beskryf is deur Edwards (1983), Edwards et al. (1985b) en Anderson et al. (1987). Verdagte trombositopenie op grond van die graad van trombositetbeskadiging soos met die lig- en elektronmikroskoop gesien, is ook meer dikwels waargeneem in die groep besmet met die HD-AVP isolate as in die varke besmet met die NHD-AVP isolaat. Verder was die graad van trombositetbeskadiging en vermeende trombositopenie ook meer uitgesproke in die varke besmet met die NHD-AVP isolaat wat binne die eerste 9 dae dood is as in die wat langer oorleef het. Die graad van trombositetbeskadiging en vermeende trombositopenie word dus moontlik ook deur die verloop van die siekte of virulensie van die isolate bepaal. Hierdie aspekte behoort egter verder ondersoek te word deur meer akkurate metodes van trombositet telling. Die teenwoordigheid van die bloedsselfragmente wat beskryf is bly egter 'n kompliserende faktor by die bepaling van bloedplaatjie tellings volgens konvensionele metodes in die akute vorm van hierdie siekte. Bloedplaatjies mag uiters moeilik wees om mikroskopies te onderskei van ander bloedsselfragmente deur die hemositometer-metode beskryf deur Schalm et al. (1975a). Die vermoede van 'n trombositopenie en trombositetbeskadiging in hierdie varke is, ook versterk deur die resultate van die bloedplaatjie-funksietoetse, naamlik verlengde bloeityd, verminderde bloedstolselsametrekking en vertraagde bloedplaatjie-aggregasie soos beskryf in Hoofstuk 3. Edwards (1983), Edwards et al. (1985b) en Anderson et al. (1987) het nie die metodes bekend gemaak waarvolgens hulle die trombositet tellings in akute en subakute AVP bepaal het nie.

Die teenwoordigheid van gefragmenteerde, gedegenererde en groot onvolwasse bloedplaatjies is 'n aanduiding van pereferele bloedplaatjie vernietiging in die varke eerder as gebrekkige trombositopoiëse (Paulus & Aster, 1983). Hierdie afleiding stem ooreen met die gevolgtrekking van Edwards (1983). Alhoewel die AVP virus deur middel van die elektronmikroskoop in 'n klein per-

sentasie van megakariosiete in die beenmurg waargeneem kon word (Hoofstuk 6, Fig. 56-59) sowel as deur middel van immunofluoresensie (Edwards, 1983), dui die toename in aantal onvolwasse plaatjies en neutrofiele eerder op versnelde hematopoiëse as op gebrekkige trombositopoiëse.

Die direkte fikseringsmetode van bloedplaatjies voor differensiële sentrifugasie (Zwierzina et al., 1983) is bewys as 'n baie waardevolle metode vir die studie van intakte en beskadigde bloedplaatjies. Die prosessering van terminale bloedplaatjie monsters deur sentrifugering voor fiksering was egter 'n minder suksesvolle metode. Geen betekenisvolle verbetering van plaatjie monster kwaliteit kon egter verkry word deur 'n dikker naald te gebruik soos aanbeveel deur Zwierzina et al. (1983) nie.

Beskadigde en gefragmenteerde bloedplaatjies is geïdentifiseer op grond van hul relatiewe grootte, die afwesigheid van 'n kern, die teenwoordigheid van alfa granules en die teenwoordigheid van 'n kanalikulêre stelsel. Periferele konsentriese mikrotubules wat kenmerkend is van bloedplaatjie ultrastruktuur (Bloom & Fawcett, 1975a), kon egter nie gedemonstreer word in meeste gefragmenteerde en beskadigde bloedplaatjies nie. Indien die graad van bloedplaatjie beskadiging egter in aanmerking geneem word, kan die vernietiging van hierdie strukture te wagte wees. Sitoplasmiese leukosiet fragmente was soms moeilik om van beskadigde bloedplaatjies te onderskei waar hul kernmateriaal afwesig was. 'n Onderskeid kon slegs gewaag word op grond van die afwesigheid van alfa granules en 'n kanalikulêre stelsel.

Slegs ongeveer 1% van die beskadigde bloedplaatjies en hul fragmente wat terminaal met die elektronmikroskoop ondersoek is, het volwasse heksagonale en onvolwasse poligonale virus partikels van c. 200 nm in deursnit in reelmatige formasie gerangskik vertoon. Die graad van bloedplaatjie besmetting mag egter betekenisvol hoër wees indien in aanmerking geneem word dat slegs 'n enkele snitvlak sigbaar is onder die transmissie elektronmikroskoop. Hierdie virus strukture het morfologies ooreengestem met die beskrywing van volwasse en onvolwasse AVP virus partikels in weefselkultuurselle (Moura Nunes, Vigario & Terrinha, 1975; Els & Pini, 1977; Carrascosa et al., 1984).

Sover vasgestel kon word is hierdie die eerste beskrywing van die teenwoordigheid en replikasie van AVP virus in bloedplaatjies (Neser, Phillips, Thomson, Gainaru & Coetzee, 1986). Hierdie waarneming verskil dus van die resultate van Edwards (1983). Dit was egter nie moontlik om te bepaal hoeveel virus werklik deur bloedplaatjies geproduseer word nie. Die redes hiervoor is dat dit baie moeilik is om bloedplaatjie-fraksies suiwer te berei asook die relatiewe hoë besmetting van ander bloedsel komponente, veral eritrosiete wat bloedplaatjie fraksies dikwels kontamineer. Hierby is die beskikbare titrasie tegnieke relatief onakkuraat aangesien onaangepaste AVP virus isolate nie geneig is tot plaketvorming in konvensionele selkulture nie (Dr G.R. Thomson, Navorsingsinstituut vir Veeartsenykunde, Onderstepoort 0110 - persoonlike mededeling).

Daaglikse AVP virus titrasies van bloedmonsters kon nie in hierdie studie bepaal word nie. Die virus titers van bloedmonsters wat tydens die dood van die varke bepaal is was egter hoog in beide groepe en vergelykbaar met maksimale vlakke wat 72-96 uur na besmetting bereik is in ander studies (Plowright et al., 1968; Wardley & Wilkinson, 1977a; Edwards, 1983).

Die grootste persentasie virus in die bloed van varke wat akute besmet is met AVP kom in en op die oppervlakte van die eritrosiete voor (Plowright et al., 1968; Wardley & Wilkinson, 1977a; Rodrigues et al., 1983). Afgesien van die virus-fraksie wat vry in die plasma voorkom (Plowright et al., 1968) repliseer AVP virus in die monosiete (Wardley & Wilkinson, 1977b) en in 'n klein persentasie van die polimorfe leukosiete (Casal et al., 1984). Die bevindinge met betrekking tot die replikasie van die virus in limfosiete is egter nog teenstrydig (Wardley et al., 1977; Wardley & Wilkinson, 1980; Sanchez-Vizcaino et al., 1981; Casal et al., 1984). Die enigste bloedsel waarin die virus nog nie beskryf is nie, is dus die bloedplaatjie.

Indien die teenwoordigheid van die repliserende AVP virus partikels in die bloedplaatjies en die strawwe sitolitiese eienskap daarvan in aanmerking geneem word, kan die bloedplaatjie vernietiging moontlik aan direkte virus beskadiging toegeskryf word.

Die feit dat viruspartikels egter slegs in 'n minderheid van die beskadigde plaatjies gesien kon word is egter teenstrydig met hierdie moontlikheid. Die relatief lae besmettingspeil van bloedplaatjies mag egter verklaarbaar wees indien aanvaar word dat die groeisyklus van die virus in plaatjies moontlik vertraag mag wees. Indien die feit in aanmerking geneem word dat bloedplaatjies nie kerne bevat nie, kan hierdie moontlikheid wel oorweeg word. Vorige navorsers het reeds aangetoon dat die selkern nodig is vir die replikasie van die AVP virus in Vero selkulture (Ortin & Vinuela, 1977). In vitro studies is egter nodig om hierdie vraag verder op te klaar.

Die immunologiese vernietiging van bloedplaatjies is deur Edwards (1983) en Edwards et al. (1985b) gepostuleer. Drie aspekte moet egter oorweeg word by 'n kritiese evaluering van hierdie hipotese. Eerstens moet die relatiewe lae sensitiwiteit van die direkte immunofluoresserende-teenliggaamtegniek vir moontlike AVP virus-antigeen in bloedplaatjies in gedagte gehou word. Tweedens kon die eerste aanduidings van AVP virus teenliggame in serum eers 7 dae na besmetting met die indirekte fluoresserende-teenliggaamtegniek bespeur word (Edwards, 1983; Edwards et al., 1985b). Ons resultate toon egter dat bloedplaatjie beskadiging strawwer was en meer dikwels voorgekom het in die varke wat met die HD-AVP virus isolaat besmet is en binne 5 dae dood is, as in die varke wat met die NHD-AVP virus isolaat besmet is en vir langer (6-15 dae) oorleef het. Derdens blyk die doeltreffende fagositose en verwydering van trombosiet-aggregate onwaarskynlik te wees op 'n stadium van die siekte wanneer die monosiet-makrofaagselle maksimaal besmetting en beskadiging ondergaan (Edwards, 1983). In die lig hiervan blyk immunologiese beskadiging van bloedplaatjies minder waarskynlik as direkte virus beskadiging te wees, alhoewel dit moontlik 'n rol kon gespeel het in die varke wat vir langer oorleef het.

Verhoogde trombosiet aggregasie en verbruik as gevolg van verlaagde prostaglandien I₂ (PGI₂), verhoogde prostaglandien E₂ (PGE₂) en tromboksaan A₂ (TXA₂) vlakke in plasma is gepostuleer as belangrike oorsake van trombositopenie by AVP. Verlaagde PGI₂ vlakke is toegeskryf aan die moontlike besmetting en beskadiging

van endoteelselle deur die AVP virus terwyl verhoogde PGE₂ vlakke te wyte was aan die besmetting en stimulasie van die monosiete en makrofages deur die virus (Anderson, 1986; Anderson et al., 1987). Alhoewel die AVP virus in endoteelselkulture gekweek kon word (Wilkinson & Wardley, 1978), sal endoteelselbesmetting in vivo nog bevestig moet word. Ons kon egter ten spyte van deeglike elektronmikroskopiese ondersoeke nie die AVP virus in bloedvat-endoteelselle demonstreer nie (Hoofstuk 5). Alhoewel 'n wanbalans tussen die PGI₂, PGE₂ en TXA₂ vlakke in plasma trombosiet-aggregasie en trombositopenie mag bevorder, bly die primêre faktor wat die trombositopenie inisieer nog onbekend aangesien trombositopenie reeds vroeg tydens die siekte waarneembaar was voordat endoteelselbesmetting verwag kon word (Anderson et al., 1987). Bloedplaatjies kan ook in vivo en in vitro deur sekere vorme van kollageen gestimuleer word wat as 'n "vreemde oppervlakte" kan funksioneer (Holmsen & Karparkin, 1983). Die moontlikheid dat die direkte beskadiging van trombosiete deur die AVP-virus soos in hierdie studie aangetoon is ook hierdie proses van aggregasie in vivo kan inisieer moet ook oorweeg word. Hierdie aspek moet egter verder in vitro en in vivo ondersoek word.

HOOFSTUK 3

FUNKSIONELE VERANDERINGE VAN TROMBOSIETE IN VARKE BESMET MET VIRULENTE HEEMADSORBERENDE AFRIKAANSE VARKPES VIRUS ISOLATE EN 'N VIRULENTE NIE-HEEMADSORBERENDE AFRIKAANSE VARKPES VIRUS ISOLAAT

INLEIDING

Die trombosiete vervul essensiële funksies tydens die proses van hemostase deur die vorming van hemostatiese bloedplaatjiepluisies wat dien om bloeding mee te beëindig. Hierdie funksies verteenwoordig komplekse reaksies met sub-endoteliale kollageen, trombien, adenosindifosfaat (ADP) en metaboliese produkte van aragidoonsuur. Tydens stimulasie trek die trombosiete wat onder normale omstandighede as plat skyf-vormige strukture sirkuleer saam, skei hul inhoud af, ontwikkel pseudopodia, klomp saam en heg vas aan endoteelselle. Sametrekking word moontlik gemaak deur sub-membraneuse aktien-miosien filamente waardeur die trombosit dus as 'n 'gemodifiseerde spiersel' gereken kan word. 'n Periferele bondel mikrotubules help om die skyf-vormige voorkoms van die bloedplaatjie mee te behou en bevorder ook sekresie na afloop van die plaatjie stimulasie. Die sekresie van die interne granule inhoud volg gewoonlik op sametrekking van die plaatjie en sluit in ADP, adenosientrifosfaat (ATP) katesjolamienes, serotonien, trombosit-faktor IV en fibrinogeen. Die vrystelling van hierdie produkte is energie-afhanklik en volg nie op opbreking van die organelle nie. Trombosit-faktor IV blyk 'n baie sterk aktiveerder vir bloedplaatjie aggregasie en bloedstolling te wees. Fibrinogeen bind aan spesifieke reseptore op die pseudopodia van trombosiete en bevorder sodoende sametrekking van die bloedstolsel waardeur ander bloedselle ook in die stolsel vasgevang en ingesluit word (Karpatkin & Holmsen, 1983; Zucker, 1983).



FIG. 15 Bepaling van die bloeityd deur "Duke" se oorsny-
metode

Verlengde bloeityd, verminderde trombosiet aggragasie en verminderde bloedstolsel sametrekking is betroubare aanduidings van trombositopenie en bloedplaatjie wanfunksie (Hougie, 1983; Weiss, 1983; Pitney & Brozovic, 1984).

Hierdie ondersoek was 'n poging om die funksionele effekte van die verdagte verlaagde trombosiettellings en die morfologiese veranderinge van die trombosiete in varke besmet met die HD isolate en die NHD-AVP virus isolate soos in Hoofstuk 1 beskryf is te bepaal. 'n Poging is ook aangewend om moontlike verskille in die graad van trombosiet-wanfunksie te bepaal in die varke besmet met die virulente HD-AVP virus isolate en die virulente NHD-AVP virus isolaat.

MATERIAAL EN METODEDES

Bloeityd bepalings: Die bloeityd is bepaal in 5 varke besmet met die Control (CV) HD-AVP virus isolaat (nos. 1, 2, 11-13) (Tabel 4a) en in 5 besmet met die Lillie-148 NHD-AVP virus isolaat (nos. 17, 20, 23-25) (Tabel 4b) deur middel van 'n modifikasie van Duke se metode (Schalm *et al.*, 1975b). Kortliks, is die varke op hul sy onder ligte verduwing neergelê soos reeds beskryf (Hoofstuk 2, Fig. 3) om hul ore stil te hou. Die hare aan die anterior apikale rand van die oor is weggeknip en die ore is so skoon moontlik gevryf met skoon droë handdoekpapier. Klein wigvormige insnydings van c. 5 mm diep en 20 mm uitmekaar is daaglik of elke tweede dag gemaak aan die anterior apikale rande van die ore (Fig. 15) vanaf 2-3 dae voor besmetting tot by dood (Tabelle 4a & 4b). Bloeddruppels is met 30-60 sekondes intervalle opgetel aan die rand van 'n sirkulêre filtreerpapier. Die bloeityd is gemeet in minute vanaf die eerste bloeddruppel wat geabsorbeer is aan die papiervel tot dat die bloeding gestaak het.

Bloedstolselsametrekking: Bloedstolselsametrekking is bepaal in al 13 varke wat ingespuut is met die HD-AVP virus isolate (Tabel 5a) en in slegs 10 varke (nos. 15, 16, 18-25) (Tabel 5b) besmet met die NHD-AVP isolaat. 'n Modifikasie van die metodes beskryf

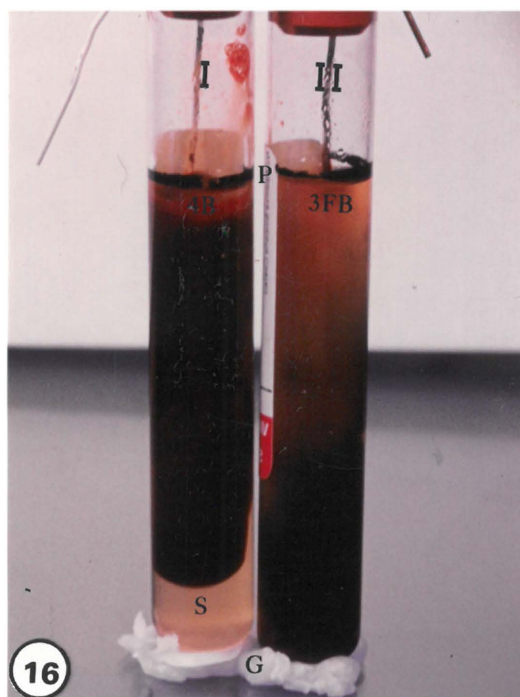
FIG. 16 Tipiese vark bloedstolsel sametrekking voor besmetting (I) met sterk saamgetrekte homogene donker rooi bloedstolsel (4B) en helder serum (S) uitpersing; onvolledig saamgetrekte bloedstolsel na besmetting (II) met swak saamgetrekte grys-rooi fibrineuse bloedstolsel (3FB) en geen helder serum uitpersing nie; Glasbuis gemerk by 10 ml volume merk met 'n swart pen (P) en regop gefikseer met 'n fikseringsmateriaal (G).

deur Schalm et al. (1975c) en Hougie (1983) is toegepas. Kortliks is 10 ml veneuse bloed versamel in skoon steriele buise vry van teenstolmiddels (Vacutainer)⁴ uit die anterior vena cava soos voorheen beskryf (Hoofstuk 2, Fig. 4). 'n Lyn is met 'n swart pen getrek om die 10 ml merk op die buis mee aan te dui (Fig. 16). 'n Draad skuifspeld is oopgebuig en die punte is in teenoorgestelde rigtings omgebui. Onmiddellik nadat die glasbuis met bloed gevul is tot by die 10 ml merk, is die draad in die buis geplaas met die boonste haak oor die boonste rand van die buis terwyl die onderste haak naby die bodem van die buis na die lumen gerig is. Die bloed is toegelaat om vir c. 5 minute in die buis te stol waarna die stoltsel losgemaak is van die buiswande. Buis is vir c. 5-7 ure lank teen 37°C in 'n broeikas verwarm terwyl die stolselsametreking en serum uitpersing naastenby elke uur ondersoek is. Die veranderinge in die relatiewe hoeveelhede donker-rooi en grys-wit fibrineuse elemente van die bloedstolsels is subjektief visueel bepaal volgens die volgende semikwantitatiewe skaal:

DONKER-ROOI BLOED ELEMENTE: 100 % = 4B; 75% = 3B; 50 % = 2B;
25 % = B

WIT-GRYS FIBRINEUSE BLOED ELEMENTE: 100 % = 4F; 75 % = 3F;
50 % = 2F; 25 % = F

BEPALING VAN DIE STOLSELSAMETREKING



Hierna is die bloedstolsels versigtig aan die draadhakies uitgelig waar moontlik en veranderinge in kleur, samestelling en integriteit is bestudeer. Die serum is toegelaat om te staan totdat die boonste serum volume visueel onderskei kan word van die onderste sedimentfraksie. Waar moontlik, is serum volumes gemeet deur dit versigtig oor te plaas met 'n pipet na 'n gekalibreerde 10 ml glas maatsilinder, sedimentfraksie volumes kon nie in alle gevalle akkuraat gemeet word nie weens die gelatineuse aard daarvan en kon daarom nie kwantitatief oorweeg word by die berekening van stolselsametrekking nie.

Trombosiet-aggregasie studies: Trombosiet aggregasie is op sekere dae voor- en na-besmetting bestudeer in 10 varke (nos. 1-10) besmet met die HD-AVP virus isolate (Tabel 6a) en in 6 varke (nos. 17-22) (Tabel 6b) besmet met die NHD-AVP isolaat. Bloedmonsters is versamel vanuit die vena cava anterior soos reeds beskryf (Hoofstuk 1, Fig. 4) en is bewaar in 'n 3,8% natrium-sitraat oplossing (9 dele bloed per deel teenstolmiddel).

Aggregasie studies is uitgevoer in 'n 'Payton dual channel aggregometer'⁹ met behulp van 'n modifikasie van Blakely se metode (Payton Associates Limited)⁹. Adenosiendifosfaat, verdunde ADP (1:10) en kollageen aggregasie reagentse (Cluster, 1980)¹⁰ is gebruik. Die sitraat-bewaarde bloedmonsters is gesentrifugeer teen 200Xg vir 10 minute om trombosiet-ryke plasma (TRP) mee te berei wat afgetrek is met 'n pipet en by kamertemperatuur bewaar is. Die oorblywende sitraat bewaarde bloed is nog verder gesentrifugeer teen 750Xg vir 30 minute om trombosiet-arme bloedplasma monster (TAP) mee te berei. Die TRP suspensies is vervolgens deur middel van die TAP trombosiet suspensies verdun en gestandardiseer na trombosiettellings van tussen $200-500 \times 10^9/l$ waar enigsins moontlik volgens Blakely se metode ('Payton Associates Limited')⁹. Trombosiet aggregasie is oor 5 minute lank gemeet vir elke monster by 37°C en 'n roerspoed van ongeveer 900 revolusies per minuut, terwyl die grafiekpapier teen 'n rolspoed van 50 mm/min. gestel is.

⁹ 'Payton Associates Ltd. 85-9 Nantucket Blvd., Scarborough, Ontario, Canada'

¹⁰ American Dade, Division of American Hospital Supply Corporation, Miami, FL USA 33152

Die definisie van aggregasie parameters

(i) Maksimale aggregasie (M) is gemeet op die grafiek kurwe in millimeters (Fig. 17a) as die grootste absolute vertikale uitwyking van die aggregasie kurwe as gevolg van maksimale lig deurstraling (Weiss, 1983; Pitney et al., 1984).

(ii) Die maksimale tempo van aggregasie (S) is ook gemeet vir al 3 aggregasie reagentse. Hierdie parameter is bepaal deur berekening van die helling van 'n raaklyn getrek teen die aanvanklike snelle golf van die aggregasie kurwe (Fig. 17a) (Weiss, 1983; Pitney & Brozovic, 1984).

(iii) Die traagheidsfase (eie vertaling van Engelse term 'lag time') (L) is gemeet in die geval van die aggregasie met kollageen, as die afstand in mm vanaf die byvoeging van die reagens tot die eerste vertikale uitwyking van die aggregasie kurwe (Fig. 17a) (Skokoza, Zucker, Jurushalmy & Grant, 1967; Cluster, 1980;¹⁰ Pitney & Brozovic, 1984).

Statistiese analise

Die voor- en na-besmettingsbloeytye is vergelyk en die betekenisvolheid van die verskille is vergelyk d.m.v. die χ^2 toets (5% getabuleerde waardes by 1 vryheidsgraad).

RESULTATE

Bloeytyd

Opeenvolgende bloeytye vir varke van beide groepe word aangetoon in Tabelle 4a en 4b, behalwe waar bepaalings nie moontlik was vanweë onverwagte sterftes nie. Die bloeytye was merkbaar verleng op die dag van dood in 4 uit 5 varke (nos. 2, 11, 12 & 13) en in 1 vark (no. 1) op die dag voor dood (Tabel 4a) besmet met die HD isolaat. In teenstelling hiermee was die bloeytyd slegs merkbaar verleng op die dag van dood in 1 uit 5 varke (no. 24) besmet met die NHD isolaat. Die bloeytyd was ook verleng in 1 vark (no. 25) (Tabel 4b) op die dag van besmetting. Daar was dus 'n terminale verlenging van die bloeytyd in 'n merkbaar groter getal getoetste varke besmet met die CV(HD)-AVP isolaat (Tabel 4a) as in die getoetste varke besmet met die NHD-AVP isolaat (Tabel 4b).

FIG 17a - d Trombosiet aggregasie kurwes soos vertoon met die verskillende aggregasie reagentse voor en na besmetting met die virulente HD- en NHID-AVP - us isolate

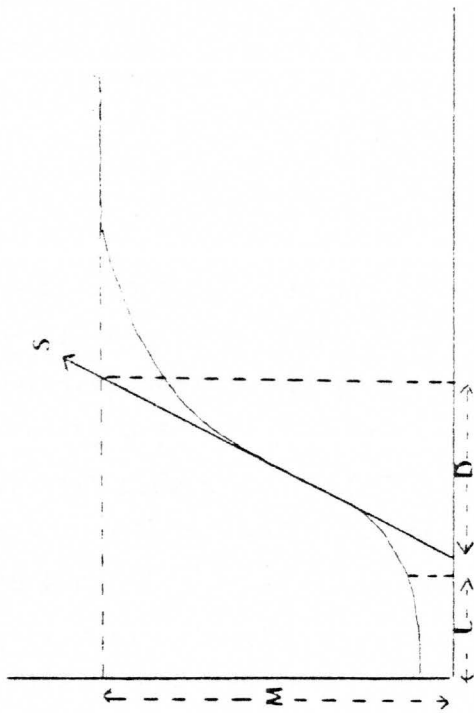


FIG. 17a

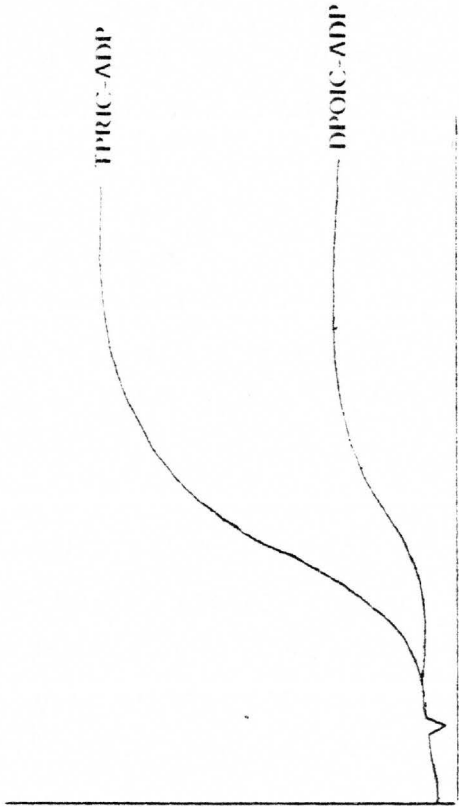


FIG. 17b

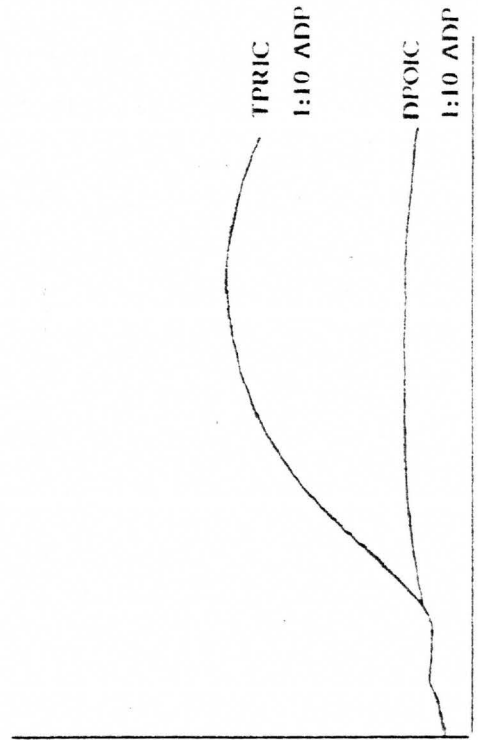


FIG. 17c

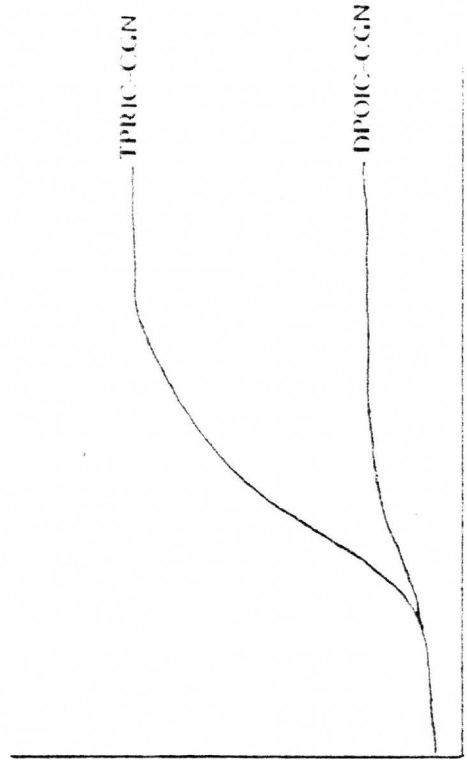


FIG. 17d

FIG. 17(a) Maksimale trombosiet aggregasie (M) gemeet in millimeters (mm); maksimale tempo van aggregasie (S) bereken as die aanvangshelling (S) van die raaklyn aan die aggregasie kurwe; horisontale afstand in mm (D) vanaf die raaklyn-absis kruispunt tot die vertikale-lyn-absis kruispunt wat gebruik word om D mee te bereken en die horisontale afstand in mm (L) (= traagheidsfase in sekondes) vanaf die byvoeging van die kollageen aggregasie reagens tot die eerste vertikale uitwyking op die grafiek papier

FIG. 17(b) Tipiese voor-besmettings vark trombosiet aggregasie kurwe met gekonsentreerde ADP (TPRIC-ADP) en 'n verswakte na-besmettings vark aggregasie kurwe met gekonsentreerde ADP (DPOIC-ADP) verkry deur die gebruik van cluster¹⁰ trombosiet aggregasie reagense

FIG. 17(c) Tipiese voor-besmettings vark trombosiet aggregasie kurwe met verdunde 1:10 ADP (TPRIC) en 'n verswakte na-besmettings vark trombosiet aggregasie kurwe met 1:10 verdunde ADP (DPOIC) verkry deur die gebruik van cluster¹⁰ trombosiet aggregasie reagense

FIG. 17(d) Tipiese voor-besmettings vark trombosiet aggregasie kurwe met kollageen (TPRIC-CGN) en 'n verswakte na-besmettings vark trombosiet aggregasie kurwe met kollageen (DPOIC-CGN) verkry deur die gebruik van cluster¹⁰ trombosiet aggregasie reagense

TABEL 4(a) Bloeityd gemeet in minute voor-en na-besmetting met die Control HD -AVP virus isolaat

Vark No.	Dae voor en na virus inspuiting Bloeityd (minute)									Oorlewing dae
	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	
1	-	-	-	4	-	-	20	-	‡	4
2	-	-	-	5	-	-	4	25	‡	4
11	6	-	-	-	5	-	-	12	17	5
12	5	-	-	-	5	-	-	5	30	5
13	10	-	-	-	5	-	-	7	30	5

‡ = dood

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 4(b) Bloeityd gemeet in minute voor en na besmetting met die Lillie-148 NHD -AVP virus isolaat

Vark No.	Dae voor en na virus inspuiting Bloeityd (minute)												Oorlewing dae
	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
17	10	-	-	-	-	5	-	-	3	-	-	‡	8
20	10	-	10	-	6	-	-	7	-	5	‡		7
23	-	-	7	-	5	-	5	-	-	6	35	‡	8
24			7	-	5	-	5	-	-	10	15	‡	8
25			20	-	6	-	5	-	-	4	5	‡	8

Alle konvensies soos vir vorige tabelle

Bloedstolselsametrekking

Opvolgende bloedstolselsametrekkings waardes vir varke van beide groepe word aangetoon in Tabelle 5a en 5b waar dit bepaal is op die laaste 2-3 dae voor dood. Die draad hakies wat binne in die bloedstolsels vasgevang is het blykbaar nie die stolselsametrekking gerem nie aangesien stolsels gereeld saamgetrek het na ten minste 50% van die oorspronklike bloedvolume in die onbesmette varke (Tabelle 5a & 5b). Die volume serum uitgepers het merkbaar verminder gedurende die laaste 2 dae van lewe in al 9 varke (nos. 2, 5-8, 10-13) besmet met die HD-AVP virus isolate (Tabel 5a) en in 4 (nos. 20, 23-25) uit die 5 varke (nos. 18, 20, 23-25) besmet met die NHD-AVP virus isolaat waar bepalings op die laaste dag van lewe moontlik was (Tabel 5b). Die mees opvallende veranderinge in die samestelling, kleur en integriteit van die bloedstolsels is gekenmerk deur 'n skeiding van die homogene rooi bloedstolsel massas in los onsamehangende wit-grys fibrineuse en donker-rooi bloed elemente (Fig. 14), aangedui deur die simbole B en F (Tabelle 5a & 5b). Hierdie veranderinge was mees opsigtelik in 6 uit 13 varke (nos. 3, 4, 5, 7, 9 & 12) besmet met die HD-AVP virus isolate (Tabel 5a), maar in slegs 3 uit 10 varke (nos. 22, 24 & 25) besmet met die NHD-AVP isolaat (Tabel 5b).

Trombosiet aggregasie: By die onbesmette varke het die trombosiete sterk aggregasie reaksies vertoon, vergelykbaar met die van normale varke beskryf deur Bowie *et al.* (1973) met die reagense wat ook in hierdie studie gebruik is (Cluster, 1980)¹⁰. Aggregasie met gekonsentreerde ADP het 'n sterk monofasiese kurwe, 'n effens laer omkeerbare kurwe met verdunde ADP (1:10) en 'n tipiese traagheidsfase met kollageen vertoon (Fig. 17a - 17d) (Cluster, 1980;¹⁰ Weiss, 1983; Zucker, 1983).

Na besmetting was daar egter 'n afname in die aggregasie reaksies gedurende die laaste 2 dae van lewe wat veral merkbaar was op die dag van dood waar bepaalbaar in 8 uit 10 varke (nos. 2-6, 8-10) besmet met die HD-AVP isolate (Tabel 6a). In teenstelling hiermee, het 'n duidelike afname in die aggregasie reaksies slegs

TABEL 5(a) Opeenvolgende bloedstolsel waardes (gemeet as volumes serum uitgepers en voorkoms van die saamgetrekte bloedstolsels voor en na besmetting met 4 verskillende HD-AVP virus isolate

Vark No.	Virus ingespuut	Bloed stolsel same-trek-king	Dae voor en na virus inspuiting									Oorlewing (dae)		
			-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5			
1	CV	V				6			4	-		+	4	
		A				4B			4B	-				
2	CV	V				-			4	2		+	4	
		A				4B			4B	4B				
3	CV	V	6,5			6,0			4,0	-		+	5	
		A	4B			4B			3BF	-				
4	CV	V	6,5			6,4			5,2	2,0		-	5	
		A	4B			4B			4B	B3F		-		
5	951	V	6,0			6,8			6,2	0		+	4	
		A	4B			4B			4B	B3F				
6	951	V				7,0			5,0	0		+	4	
		A				4B			4B	4B				
7	MWI	V	6,0			6,2			5,0	0		+	4	
		A	4B			4B			4B	B3F				
8	MWI	V	6,5			6,2			6,0	0	1,0		5	
		A	4B			4B			4B	4B	4B			
9	DR	V	5,5			6,2			4,0	4,5		-	5	
		A	4B			4B			2B2F	4B		-		
10	DR	V	6,6			5,5			6,6	4,8	0		5	
		A	4B			4B			4B	B3F	B3F			
11	CV	V	5,0				4,6			0	0		5	
		A	4B				4B			4B	4B			
12	CV	V	5,0				3,3			1,0	0		5	
		A	4B				4B			4B	2B2F			
13	CV	V	4,6				4,0			0	0		5	
		A	4B				4B			4B	B3F			
Totaal	13												Gemiddeld ± SD	4,6 ± 0,5

V = Volume serum gemeet in milliliters
 Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle
 1 = 25%, 2 = 50%, 3 = 75% en 4 = 100%

A = Subjektiewe evaluasie van die aard en voorkoms van die saamgetrekte stolsel
 B = Bloedfraksie
 F = Fibrin fraksie

TABEL 5(b) Opeenvolgende bloedstolsel sametrekingswaardes (gemeet as volumes serum uitgepers en voorkoms van die saamgetrekte bloedstolsel voor en na besmetting met die HHD -AVP virus isolaat

Vark No.	Bloedstolsel same-trekking	Dae voor en na virus inspuiting																								Oorlewing (dae)
		-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
15	V A								6,0 4B	-	-	-	-	-	-	5 4B	-	2,5 4B	-	3,8 4B	-	f				12
16	V A								5,0 4B	-	7,0 4B	-	6,0 3BF	-	-	f										6
18	V A	5,0 4B	-	7,0 4B	-	-	6,0 4B	-	6,0 4B	-	6,5 4B	-	-	6,0 4B	-	6,2 4B	-	6,0 4B	-	-	-	5,5 4B	-	5,0	f	14
19	V A	6,0 4B	-	8,0 4B	-	-	6,5 4B	-	6,4 4B	-	6,0 4B	-	-	4,7 4B	-	5,0 4B	-	4,0 4B	-	-	-	f				11
20	V A						6,0 4B	-	5,0 4B	-	5,5 4B	-	-	4,0 4B	-	2,0 4B	f									7
21	V A						6,1 4B	-	6,2 4B	-	-	-	5,5 4B	-	-	-	5,0 3BF	5,0 3BF	-	f						10
22	V A						6,4 4B	-	6,5 4B	-	-	-	2,0 2B2F	-	-	6,0 4B	6,0 3BF	5,0 2B2F	-	f						10
23	V A								5,5 4B	-	5,6 4B	-	6,0 4B	-	-	0 4B	0 4B	f								8
24	V A								5,5 4B	-	4,5 4B	-	5,0 4B	-	-	0 B3F	0 B3F	f								8
25	V A								5,5 4B	-	4,5 4B	-	5,8 4B	-	-	0 B3F	0 B3F	f								8
Totaal 13																										Gemiddeld \pm SD 9,4 \pm 2,46

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 6(a) Aggregasie reaksie van trombosiëte (traagheidsfase, aanvangshelling en maksimale hoogte van kurwe) op ADP, verdunde ADP en kollageen, soos gemeet voor en na besmetting met 4 verskillende HD-AVP virus isolate

Vark No. en virus inge- sput	Aggre- gasie reagens	Dae voor en na virus insputing										Oorle- wing (dae)											
		-3		-2		-1		0		1			2		3		4		5		6		
		L	S	M	L	S	M	L	S	M	L		S	M	L	S	M	L	S	M	L	S	M
1	ADP																						
CV	ADP1:10																						4
	CGN																						
2	ADP																						
CV	ADP1:10																						4
	CGN																						
3	ADP																						
CV	ADP1:10																						5
	CGN																						
4	ADP																						
CV	ADP1:10																						5
	CGN																						
5	ADP																						
951	ADP1:10																						4
	CGN																						
6	ADP																						
951	ADP1:10																						4
	CGN																						
7	ADP																						
MWI	ADP1:10																						4
	CGN																						
8	ADP																						
MWI	ADP1:10																						5
	CGN																						
9	ADP																						
DR	ADP1:10																						5
	CGN																						
10	ADP																						
DR	ADP1:10																						5
	CGN																						

ADP = Adenosien difosfaat

ADP 1:10 = Verdunde ADP

CGN = Kollageen

S = Aanvangshelling van aggregasie kurwe

L = Traagheidsfase of latente periode (millimeters)

M = Maksimale aggregasie (millimeters)

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 6(b) Aggregasie reaksie van trombsiete (latente periode, aanvangshelling en maksimale hoogte van kurwe) op ADP, verdunde ADP en kollagen, soos gemeet voor en na besmetting met die NHD-APV virus isolaat (L1111e-1A8)

Vark No.	Aggre-gasie reagens	Dae voor en na virus inspuiting																								Oor-telling (dae)
		-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
		L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H	L S H		
17	ADP ADP 1:10 CGN																								8	
18	ADP ADP 1:10 CGN																								14	
19	ADP ADP 1:10 CGN																								11	
20	ADP ADP 1:10 CGN																								7	
21	ADP ADP 1:10 CGN																								10	
22	ADP ADP 1:10 CGN																								10	

Alle konvensies soos vir vorige tabelle

merkbaar geword in 1 (no. 20) uit 4 varke (nos. 18, 20-22) besmet met die NHD-AVP isolaat waar dit bepaal is op die laaste 2 dae van lewe (Tabel 6b).

Die maksimale graad van trombosiet aggregasie, aangedui deur die graad van vertikale uitwyking op die kurwe (Weiss, 1983; Pitney & Brozovic, 1984), het 'n merkbare afname met al 3 aggregasie reagensse in alle aangetaste monsters vertoon (Fig. 17b - 17d). Alhoewel die tempo van aggregasie soos aangetoon deur die helling van die aanvanklike kurwe, gevarieer het, was dit merkbaar vermindert met al 3 aggregasie reagensse in die meerderheid van aangetaste monsters besmet met die HD-AVP isolate (Fig. 17b - 17d; Tabelle 6a & 6b). Die traagheidsfase, kenmerkend vir die aggregasie reaksie met kollageen (Weiss, 1983; Zucker, 1983; Pitney *et al.*, 1984), was verleng en dikwels onmeetbaar as gevolg van die plat helling van die aggregasie kurwe in die meerderheid van aangetaste monsters besmet met die HD-AVP isolate (Fig. 17b - 17d; Tabelle 6a & 6b).

Namate die siekte sy verloop geneem het, het dit progressief moeiliker en in sekere gevalle onmoontlik geword om die vereiste minimum trombosiet telling van $200 \times 10^9/L$ (Payton Associates Ltd)⁹ in die terminale monsters te verkry vanweë die progressiewe verlaging van die trombosiet tellings. Hierdie probleem was veral merkbaar by die varke besmet met die HD-AVP isolate. 'n Definitiewe aggregasie reaksie, alhoewel dit swak was, kon egter in meeste beskikbare terminale monsters tot by dood gemeet word.

BESPREKING

Die bloeityd kon slegs in 'n beperkte aantal varke besmet met die HD- en NHD-AVP virus isolate bepaal word. Hierdie tye was merkbaar langer (15-35 minute) as die syfers beskryf vir normale Yorkshire-Hampshire varke (1,25-4,0 minute) (Bowie et al., 1973). Die metode wat die werkers gebruik het deur die ore te sny en dan in fisiologiese soutoplossing te dompel tot hemostase plaasvind, het egter merkbaar verskil van Duke se oorsny metode (Schalm et al., 1975b; Hougie, 1983) wat in hierdie studie gebruik is. Vergeleke met die voorafgaande bloeitye was hierdie syfers betekenisvol (X^2 5 %, 1 vryheidsgraad) verleng gedurende die laaste 2 dae van lewe in 5 varke besmet met die HD-AVP isolate en in 'n enkele vark besmet met die NHD-AVP isolaat. Die aanvang van die verlengde bloeitye het ook ooreengestem met die terminale verskyning van die trombositopenie (Edwards, 1983; Edwards et al., 1985b) en morfologiese trombositet veranderinge (Neser et al., 1986; Neser & Kotzé, 1987) in akute AVP. Die enkele verlengde bloeityd op die dag van besmetting in een vark besmet met die NHD-AVP isolaat is moeilik om te verklaar. Hardhandige hantering en vashou van die vark aan die ore kon moontlik 'n rol gespeel het. Varke moet nie aan die ore vasgehou word nie en die ore moet staties gehou word wanneer bloeityd bepaal word. Die resultate wat deur Duke se oorsny metode verkry is moet dus met versigtigheid vertolk word. Die bloeityd het egter geblyk meer dikwels verleng te wees in die varke besmet met die CV (HD)-AVP virus as by die varke besmet met die NHD-AVP isolaat. Netso was die graad van trombositetbeskadiging by die varke besmet met die HD-AVP virus isolate soos gesien met die lig- en elektronmikroskoop meer opvallend verlaag as by die varke besmet met die NHD-AVP virus isolaat wat vir langer as 9 dae geleef het. Verlengde bloeityd maar normale trombositet aggre gasie met ADP is beskryf in varke met 'n erfbare plasma koagulasie faktor VIII tekort (Bowie et al., 1973). Plasma faktor VIII (F VIII R-VW) word benodig by die vashegting van trombositete aan die bloedvatwande in die vorming van 'n normale hemostatiese trombo sietpluisie (Hovig & Stormorken, 1974; Weiss, 1974; Zucker, 1983). Plasma faktor VIII R-VW vlakke, ristosetien geïnduseerde trombositet aggre gasie, trombositet retensie in glaskraalkolomme en

trombosiet vashegting aan subendoteel kon nie in hierdie studie uitgevoer word om 'n moontlike faktor VIIIR-VW tekort (Salzman, 1963; Tschopn, Weiss & Baumgartner, 1974; Sakariassen, Bolhuis & Sixma, 1979; Zucker, 1983) mee te bepaal nie. Aangesien die bloeityd egter meestal eers na besmetting toegeneem het (behalwe by 1 geleentheid) is die moontlikheid van hierdie erfbare toestand nie as oorsaak van die verlengde bloeitye by die varke oorweeg nie.

Stolselsametrekking is nie 'n suiwer kwantitatiewe toets nie, en moet vertolk word as normaal, twyfelaftig of defektief op grond van 'n normale sametrekingswaarde van c. 50% by die mens. Nietemin, kan baie waardevolle inligting verkry word deur die ondersoek van die bloedstolsel se voorkoms (Hougie, 1983). Die draad hakies waarom die bloedstolsels gevorm het was uiters behulpsaam by die uitlig en skeiding van die bloedstolsels van die uitgepersde serum met minimale versteuring van die stolsels. Te oordeel aan die volumes van serum uitgepers ($\geq 50\%$ behalwe in 1 monster) en die sterk stolselvorming, was stolselsametrekking nie voor besmetting aange-tas nie (Hougie, 1983; Zucker, 1983). Merkbaar versteurde stolselsametrekking het skielik en terminaal tydens die siekte inge-tree. Meer bepalings met korter tussenposes gedurende die laaste 2-3 dae sal dus nodig wees om die stolselsametrekking meer noukeu-rig te kan volg. Dit moet egter onthou word dat die Vena cava anterior slegs 'n beperkte aantal naaldsteke kan verduur, veral in varke met trombositopenie en versteurde plaatjiefunksie. Verminderde stolselsametrekking het meer dikwels voorgekom in die varke besmet met HD-AVP virus isolate as in die varke wat die NHD-AVP isolaat ontvang het. Verder het dit ook geblyk dat stolselsame-trekking meer dikwels aangetas was by die varke wat na 9 dae of minder dood is as by die wat langer oorleef het. Die funksie van trombosiete in 'n bloedstolsel wat in vitro gevorm is, stem tot 'n sekere mate ooreen met hul funksie in 'n fisiologiese trombosiet-pluisie. Die sametrekking van die pseudopodia van trombosiete deur aktienmiosien filamente gee mees waarskynlik aanleiding tot stolselsametrekking deur middel van fibriendrade wat aan die pseu-dopodia vasheg. Verminderde stolselsametrekking mag dus of trom-bositopenie of versteurde trombosietfunksie by die vorming van hemostatiese trombosietpluisies aandui (De Clerck, Borgers, De

Gaetano & Vermylen, 1975; Zucker, 1983). Gedeeltelike disintegrasie of totale vervloeiing van bloedstolsels word aanvaar as sterk aanduidings vir intravaskulêre stolling of oormatige fibrinolise (Hougie, 1983). Sien ook Hoofstuk 4.

Verhoogde fibrinogeen en fibrien degradasieprodukvlakke (FDP) sowel as verlengde trombienstollingstye (TT) kon in plasma monsters van die varke besmet met die HD- en NHD-AVP isolate gemeet word (Hoofstuk 4, Tabelle 7a&b). Gedeeltelike disintegrasie en/of oplossing van bloedstolsels soos in hierdie studie waargeneem (Fig. 14 & 16) is ook as sterk aanduidings vir die teenwoordigheid van gedissemineerde intravaskulêre stolling (DIS) en/of 'n hiperfibrinolitiese toestand geïnterpreteer (Hougie, 1983) met oormatige FDP vorming in plasma. Hierdie FDP'e meng in met plaatjie vashegting, aggregasie en vrystellingsreaksies en lei tot versteurde bloedstolling deur hul kompetatiewe inhibisie van die stollings aksie van trombien op fibrinogeen (Slauson & Cooper, 1982b; Francis & Marder, 1983).

Die verminderde trombosiet aggregasie het terminaal en skielik voorgekom by die varke wat besmet is met beide die virulente HD- en NHD-AVP virus isolate. Dit het egter meer dikwels plaasgevind in die varke wat besmet is met die HD-AVP isolate as by die besmet met die NHD-AVP isolaat soos ook die geval was met die verminderde bloedstolselsametrekking. Verdere bepalinge met korter tussenposes gedurende die verloop van die siekte sal egter nodig wees om meer betroubaarheid aan die bevindinge te kan gee. Die verminderde trombosiet aggregasie by hierdie varke mag die gevolg wees van verminderde plaatjies in die toets weens die vermeende trombositopenie wat reeds beskryf is (Hoofstuk 2).

Die verlengde bloeityd, verminderde stolselsametrekking en vertraagde plaatjie aggregasie by die meerderheid varke besmet met die HD-AVP virus isolate mag moontlik dui op 'n effek van die heemadsorpsie-faktor (HD) op die funksionele versteurings van die trombosiete. Die verminderde stolselsametrekking was egter meer uitgesproke by die varke besmet met die NHD-AVP virus wat binne 9

dae gevrek het (gemiddelde oorlewingsperiode van groep = 9,4 dae) as in die wat vir langer oorleef het. Hieruit blyk dit asof stolselsametrekking eerder bepaal word deur die verloop van die siekte en die virulensie van die isolaat as deur die HD-eienskap van die virus. Ongelukkig kon bloeityd, stolselsametrekking en plaatjie aggregasie slegs by 'n beperkte getal varke besmet met die NHD-AVP isolaat bepaal word op die laaste dag van lewe weens die onvoorspelbare vrektes by die groep. Vaste gevolgtrekkings ten opsigte van die in vivo effekte van die HD-eienskap van die virus of virulensie van die isolaat op die versteurde trombosietfunksie kon dus nie by die varke besmet met die NHD-AVP virus gemaak word nie.

Verder is merkbare elektronmikroskopiese veranderinge wat sitoplasmiese vakuolisasie, fragmentasie en verlies van elektron-digte granules insluit waargeneem in trombosiete van besmette varke (Hoofstuk 2, Fig. 7-14). Verlaagde trombosiet aggregasie, verminderde stolselsametrekking en verlengde bloeityd is ook beskryf by kongenitale trombosietmembraan en elektron-digte granule defekte (Weiss, 1983). Dit kan dus ook verwag word dat kwalitatiewe trombosiet veranderinge sal bydra tot die funksionele afwykings wat hier beskryf is. Dit is dus onwaarskynlik dat trombositopenie alleenlik aanleiding kon gegee het tot die verlengde bloeityd, verminderde stolselsametrekking, verlaagde trombosiet aggregasie en die bloedings waargeneem in sekere diere (Hoofstuk 5). Lie (1968) het byvoorbeeld aangetoon dat bloedings by varkies met iso-immuun trombositopenie eers voorgekom het wanneer trombosiettellings onder $40 \times 10^9/l$ gedaal het.

HOOFSTUK 4

BLOEDSTOLLINGSVERSTEURINGS BY VARKE BESMET MET VIRULENTE HEEMADSORBERENDE AFRIKAANSE VARKPES VIRUS ISOLATE EN 'N VIRULENTE NIE-HEEMADSORBERENDE AFRIKAANSE VARKPES VIRUS ISOLAAT

INLEIDING

Bloedstollingsversteurings by AVP is aangetoon deur 'n verlengde GGTT, 'n verlengde PT en 'n verlengde trombientyd TT sowel as 'n verlaagde plasma fibrinogeen (F) en verhoogde FDP vlak by varke besmet met 'n virulente AVP virus isolaat wat dood binne 7 dae kan veroorsaak. By 6 varke besmet met 'n minder virulente isolaat waarvan almal behalwe 1 herstel het, was die resultate soortgelyk, behalwe vir die PT wat konstant gebly het en die FDP vlakke wat effens gestyg het by die varke wat die besmetting oorleef het. Die GGTT en TT het binne 10 - 15 dae na normale vlakke teruggekeer by die diere wat herstel het, terwyl die FDP vlak hoog was by die vark wat dood is (Edwards, 1983; Edwards *et al.*, 1984). Die inhibisie van die stollingsmeganisme by AVP is vermoedelik te wyte aan vroeë fibrinolise of fibrinogenolise as gevolg van plasminogeen aktiveerder vrygestel deur geaktiveerde makrofages besmet met die AVP virus. Vertraagde plasma suiwing van plasmien en FDP'e deur die besmette makrofages en die moontlike rol van anti-trombien III is as bydraende faktore by die inhibisie van die stollingsmeganisme oorweeg (Edwards, 1983; Edwards *et al.*, 1984).

Die doel van hierdie ondersoek was om die bloedstollingsversteurings by varke besmet met virulente HD-isolate en 'n virulente NHD-isolaat (Lillie-148) van die AVP virus te bestudeer en om die moontlike rol van die heemadsorpsie faktor in die patogene van hierdie veranderinge te probeer bepaal.

MATERIAAL EN METODEDES

Varke: Vyf-en-twintig wit kruisras varke is aangehou en besmet met 4 verskillende virulente HD-AVP virus isolate en 'n virulente NHD-AVP virus isolaat (Lillie-148) soos reeds in Hoofstuk 2 beskryf is.

Bloedstollingstyd: 'n Modifikasie van die Lee-White metode (Schalm et al., 1975b) is aangewend om die bloedstollingstyd in varke besmet met die HD- en NHD-AVP virus isolate op vaste tydsintervalle voor en na besmetting te bepaal (Tabelle 7a&b). Ongeveer 4 ml veneuse bloed is versamel in 3 steriele 10 ml glasbuisies sonder teenstolmiddel (Vacutainer)⁴ uit die vena cava anterior met behulp van 'n 50 ml plastiese spuit soos reeds beskryf (Fig. 4). Die buisies is regop in 'n waterbad geplaas by 37°C. Die 1ste buisie is elke 30 sekondes sywaarts gekantel totdat stolling gesien kon word. Daarna is die 2de en 3de buisies soortgelyk gehanteer. Die tydsverloop tussen die vulling van die 1ste buisie met bloed tot die stolling in die 3de, is beskou as die buisstollingstyd in minute.

Bloedstolsel ondersoek: Bloedstolsels wat gevorm het gedurende die stolselsametrekkingstoets (Hoofstuk 3, Tabelle 5a&b) waar die volumes helder serum uitgepers gemeet is, is ook na c. 7 uur inkubasie by 37°C ondersoek. Stolsel integriteit en die relatiewe hoeveelhede rooi en grys-geel fibrineuse elemente is visueel ondersoek en subjektief geklassifiseer volgens die semi-kwantitatiewe skaal beskryf in tabelle 5a&b. Verder is bloedstolsels wat gevorm het tydens die bloedstollingstyd (Tabelle 7a&b) ook visueel ondersoek vir aard en kleursamestelling.

Plasma fibrinogeen en fibrien degradasie produk (FDP) vlak bepaling: Die semi-kwantitatiewe kommersiële lateks agglutinasietoets¹¹ vir die bepaling van die D en E fragmente van fibrinogeen is aangewend in hierdie studie by varke besmet met die HD- en NHD-AVP virus isolate (Tabelle 7a&b). Toets serum verdunnings van 1:5, 1:20 en 1:40 is gemaak om FDP konsentrasies van 10, 40 en 80 µg/ml respektiewelik te gee waar positief. Waardes van hoër as 10 word as positief beskou. Hierdie toets word as roetine toets op

menslike plasma toegepas, maar is ook aangewend in hierdie studie op vark plasma nadat suksesvolle toetse uitgevoer is op bekende positiewe en negatiewe AVP kontrole plasma monsters.

Geaktiveerde gedeeltelike tromboplastientyd (GGTT) bepaling: 'n Kommersiële beesbreinfosfolipied reagens ("Thrombofax")¹² is aangewend om die GGTT te bepaal in varke besmet met beide die HD- en NHD-AVP virus isolate voor- en na-besmetting (Tabelle 8a&b). Bloedmonsters is versamel soos reeds beskryf in plastiese buisies met 3,5% natrium-sitraat teenstolmiddel teen 'n verhouding van 9:1 dele bloed tot teenstolmiddel. Die eindpunte van stolling is noukeurig visueel bepaal met behulp van 'n stophorlosie.

Protrombientyd (PT) bepaling: "Simplastin"¹³ konyn brein- en longweefsel reagens is gebruik om die een-stadium protrombientyd mee te bepaal in varke besmet met beide die HD- en NHD-AVP virus isolate (Tabelle 8a&b).

Trombientyd (TT) bepaling: "Fibrindex"¹⁴ menslike trombien (50 eenhede/ml) reagens is gebruik en verdun tot 20 eenhede/ml om die trombientyd voor- en na-besmetting te bepaal in varke besmet met die HD- en NHD-AVP virus isolate (Tabelle 8a&b).

Statistiese ontledings: Die voor- en na-besmettingswaardes van die GGTT, PT en TT is ook vergelyk en die verskille getoets vir betekenisvolheid deur middel van die χ^2 toets (5% getabuleerde waardes, 1 vryheidsgraad).

11 Welcome Reagents Limited, Posbus 653, Kempton Park 1620, RSA

12 Ortho Diagnostic Systems Inc., New Road, Halfway House 1685, RSA

13 Anchor Rand, Posbus 83006, South Hills 2136, RSA

14 General Diagnostics, Afd. van Chamberlains, Posbus 125, Johannesburg 2000, RSA

RESULTATE

Bloedstollingstyd: By 12 uit 13 varke (nos. 2 - 13) besmet met die HD-AVP isolate was opvolgende bloedstollingstye betekenisvol verleng (Tabel 7a) gedurende die laaste 2 dae voor dood in vergelyking met die gemiddelde voor-besmettingswaarde ($5,19 \pm 2,11$ minute) van die groep. In teenstelling hiermee was die bloedstollingstye by die varke besmet met die NHD-AVP virus isolaat slegs betekenisvol verleng in 5 varke (nos. 21 - 25) uit 9 diere waar bepaling gedurende die laaste 2 dae van lewe moontlik was (Tabel 7b).

Bloedstolsel ondersoek: Opvolgende veranderinge in bloedstolsel voorkoms, samestelling en integriteit is reeds beskryf tydens die bepaling van bloedstolselsametrekking (Hoofstuk 3, Tabela 5a & b, Fig. 16). Aanvanklik het bloedstolsels saamgetrek tot homogene donker-rooi elastiese massas wat stewig om die draadhakies vasgeheg het nadat die stolsels opgelig is het slegs c. 1 ml donker-rooi sediment op die bodem van die buisies agter gebly. Soos die siekte verder verloop het, het bloedstolselsametrekking progressief verswak, die volume serum uitpersing verminder en groter volumes donker-rooi sediment in die buise agtergelaat. Gedurende die laaste 2 dae voor dood het stolselsametrekking redelik skielik tot 'n einde gekom en stolsels het dikwels hul uniforme voorkoms verloor met 'n sigbare skeiding van donker-rooi en grys-wit fibrineuse elemente (Fig. 16 & 18). Waar die draadhakies opgelig is, het stolsels dikwels hul gelatineuse integriteit verloor, kon nie meer vasgeheg nie en het in verskeie gevalle opgelos of gedisintegreer om groter volumes sediment te vorm. Hierdie veranderinge was mees opvallend in 6 varke (nos. 3 - 5, 7, 9, 12) uit die 13 diere besmet met die HD-AVP virus isolate (Tabel 5a) maar het ook voorgekom in slegs 3 van die varke (nos. 22, 24, 25) besmet met die NHD-AVP virus isolaat (Tabel 5b).

Soortgelyke veranderinge was opvallend in die terminale bloedmonsters tydens die bepaling van die bloedstollingstyd waar stollingstye merkbaar verleng was (Tabelle 7a & b). Hierdie veranderinge het ook gepaard gegaan met wissellende grade van skeiding in boonste wit-grys fibrineuse lae, dikwels duidelik afgegrens van onderste donker-rooi bloedfraksies, terwyl bloedstolling



FIG 18 Bloedstolsel vertoon "rooibloedsel-uitval", verlies van sametrekking en gelatineuse integriteit gedurende die laaste 2 dae van lewe na besmetting met 'n virulente HD-AVP virus isolaat (951).

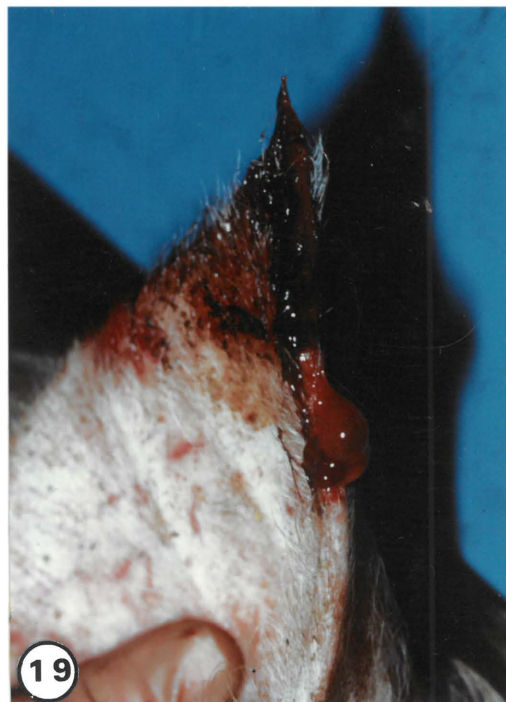


FIG 19 Pap rooibloedsel-arme plasmastolsel op die insnyding van die oorrand op die dag van dood by 'n vark besmet met 'n virulente HD-AVP virus isolaat (CV).

TABEL 7(a) Opgvolgende bloedstollingstyd, plasma fibrinogeen en fibrinogeen degradasieproduk vlakke in varke besmet met 4 verskillende HD-AVP isolate

Vark No.	Virus ingespuut	Stollings parameters	Dae voor en na virus inspuiting									Oorlewings-tyd (dae)
			3	2	1	0	1	2	3	4	5	
1	CV	C				2			9	-		4
		FDP				-			40	-	+	
2	CV	C				3			3	15		4
		FDP				-			80	40	+	
3	CV	C	6			6			8	27		5
		FDP	-			-			10	40	+	
4	CV	C	4			4			9	30	-	5
		FDP	-			-			<10	80	20	
5	951	C	3			4			10	30		4
		FDP	-			-			<10	<10	+	
6	951	C	4			3			9	30		4
		FDP	-			-			<10	<10	+	
7	MWI	C	5			4			7	15		4
		FDP	-			-			<10	40	+	
8	MWI	C	6			6			20	30	30	5
		FDP	-			-			<10	<10	<10	
9	DR	C	6			6			12	14	-	5
		FDP	-			-			<10	10	-	
10	DR	C	6			8			13	16	30	5
		FDP	-			-			-	10	80	
11	CV	C	12					5		15	-	5
		FDP	-			-		10		20	20	
12	CV	C	10					5		5	15	5
		FDP	-			-		10		<10	20	
13	CV	C	7					5		5	30	5
		FDP	-			-		10		<10	20	
Totaal 13												Gemiddeld ± SA 4,6 ± 0,5

CV = Kontrole HD-AVP virus isolaat
 MWI = Malawi HD-AVP virus isolaat
 C = Heel bloedstollingstyd (minute)

951 = HD-AVP virus isolaat
 DR = Dominikaanse Republiek HD-AVP virus isolaat

FDP = Plasma fibrinogeen degradasie produk vlakke (ug/ml)
 Gemiddelde voor-besmettingsbloedstollingstyd (C) = 5,19 ± 2,11 minute)

TABEL 7b) Opvolgende heelbloedstollingstyd, plasma fibrien- en fribrinogeen-degradasie produk vlakke voor- en na-besmetting met die Lillie-148 NIID-AVP virus isolaat

Vark No.	Stollings-parameter	Dae voor en na virus inspuiting																							Oorlewings tyd (dae)	
		-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
14	C			7		-			5							1		2		5			3	15		
	FDP			<10		<10			<10							<10		<10		<10			-			
15	C			5		6			5		3		3			3		2		6			+	+	+	12
	FDP			-		-			<10		<10		<10			<10		10		20						
16	C			4		5			4		5		3													6
	FDP			<10		<10			<10		<10		<10													
17	C											7														8
	FDP											-				8		-		-		+	+	+	+	
18	C	3					4		3		4					3		7			3		7			14
	FDP	-					-		-		-					<10		<10			<10		<10		+	
19	C	3					5		2		5			7		7		9								11
	FDP	-					-		-		-			<10		<10		10				+	+	+	+	
20	C						10		10		9			7		10										7
	FDP						-		-		-			80		40		+	+	+	+	+	+	+	+	
21	C						6		6				7			7	10	15								10
	FDP						-		-		-					<10	<10	<10			+	+	+	+	+	
22	C												8			8	14	30								10
	FDP															<10	<10	<10			+	+	+	+	+	
23	C								6		7		7			17	30									8
	FDP								-		-		3,2			3,08	3,03		+	+	+	+	+	+	+	
24	C								7		6		5			24	30									8
	FDP								-		-		3,36			3,09	3,14		+	+	+	+	+	+	+	
25	C								3		7					25	30									8
	FDP								-		-					0,7	2,4		+	+	+	+	+	+	+	
Totaal 12																										Gemiddeld ± SD = 9,8±2,81

Gemiddelde voorbesmettingsbloedstollingstyd (C) = 5,19 ± 2,11 minute
Alle ander konvensiens soos vir vorige tabelle

TABEL 8(a) Opvolgende gedeeltelike tromboplastien-, protrombien- en trombientyd voor- en na-besmetting met 4 verskillende HD-AVP virus isolate

Vark No.	Virus ingespuut	Stollings parameters	Dae voor en na virus inspuiting									Oorlewings-tyd (dae)	
			3	2	1	0	1	2	3	4	5		
1	CV	GGTT PT TT						60 14 51	- - -			+	4
2	CV	GGTT PT TT						35 10 107	76 17 120			+	4
3	CV	GGTT PT TT	14 12 20			16 12 18		46 13 21	89 16 108			+	5
4	CV	GGTT PT TT	15 12 24			17 10 17		30 13 120	84 16 97			+	5
5	951	GGTT PT TT	21 11 23			18 11 19		48 15 120	121 16 95			+	4
6	951	GGTT PT TT	20 13 18			16 11 38		26 12 64	66 15 49			+	4
7	MWI	GGTT PT TT	22 12 19			22 12 17		48 15 120	76 20 120			+	5
8	MWI	GGTT PT TT	19 12 17			19 12 15		31 13 120	41 15 120	120 17 120			5
9	DR	GGTT PT TT	18 12 15			18 11 18		20 11 17	33 13 29			- - -	5
10	DR	GGTT PT TT	19 11 16			18 11 16		22 12 19	37 14 31	120 20 47			5
Totaal											Gemiddeld		
10											± SD		
											4,6 ± 0,52		

GGTT = Geaktiveerde gedeeltelike tromboplastientyd
 (Gemiddelde voor-besmettings GGT = 18,25 ± 2,32 sekondes)
 (Gemiddelde voor-besmettings PT = 11,56 ± 0,73 sekondes)
 (Gemiddelde voor-besmettings TT = 19,38 ± 5,57 sekondes)

PT = Protrombientyd

TT = Trombientyd

TABEL 8b Opvolgende gedeeltelik-geaktiveerde tromboplastien-, protrombien- en trombientyd (gemeet in sekondes) voor- en na-besmetting met die Lillie-148 (NHD)-AVP virus isolaat

Vark No.	Stollings-parameter	Dae voor en na virus inspuiting																							Oorlewings tyd (dae)
		-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
14	GGTT PT TT					20			19							22				20			19	-	15
						12			10						13				10			12	-		
						17			25						33				26			120	-		
15	GGTT PT TT			19		19			20		27		27			25		24		29	-				12
				11		12			10		16		12		12		12		11	-	+	+	+		
				15		19			21		18		16		120		59		120	-					
16	GGTT PT TT			19					18		19		20	-	-										6
				14					11		11		11	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+		
				31					-		20		43	-	-										
17	GGTT PT TT											27			25	-	-								8
											11			10	-	-	+	+	+	+	+	+	+		
											29			120	-	-									
18	GGTT PT TT	20		19			20		20		17			21		25		24			22		22		14
		11		11			10		11		11			11		10		10		11		11	+		
		23		26			25		16		19			42		32		120		77		120			
19	GGTT PT TT	22		18			22		19		19			26		25		30	-	-					11
		12		11			12		12		10			10		11		10	-	-	+	+	+	+	
		17		21			25		16		23			33		30		120	-	-					
20	GGTT PT TT						24		32		22			32		74									7
							10		12		11			11		19	+	+	+	+	+	+	+	+	
							-		-		-			20		28									
21	GGTT PT TT						17		20		24		20			20	-	22	-						10
							11		11		12		12		13	-	13	-	+	+	+	+	+	+	
							20		14		12		21		55	-	40	-							
22	GGTT PT TT						19		18		22		20			27	-	33	-						10
							11		11		12		11		13	-	14	-	+	+	+	+	+	+	
							21		16		22		28		87	-	34	-							
Totaal 9																									Gemiddeld ± SD = 9,8±2,81

Alle konvensies soos vir vorige tabelle

Protrombientyd (PT): By die varke besmet met die HD-AVP virus isolate was die gemiddelde en standaardafwykings vir die voor-besmettingswaardes $11,56 \pm 0,73$ sek (Tabel 8a) en $11,24 \pm 0,94$ sek in die groep besmet met die NHD-AVP virus isolaat (Tabel 8b).

Daar was geringe PT toenames by 8 varke (nos. 2 - 8, 10) uit 10 besmet met die HD-AVP isolate waar vergelyk met die gemiddelde voor-besmettingswaardes (Tabel 8a) maar slegs by 1 vark (no. 20) uit 9 diere wat die NHD-AVP virus isolaat ontvang het, waar die PT gedurende die laaste 2 - 3 dae van lewe bepaal kon word (Tabel 8b).

Trombientyd (TT): Die gemiddelde en standaard afwykings van die voor-besmettings TT waardes verkry in die studie was $19,38 \pm 5,56$ sek (Tabel 8a) en $20,44 \pm 4,66$ sek (tabel 8b) by die varke besmet met die HD- en NHD-AVP virus isolate respektiewelik.

Opvolgende TT waardes was betekenisvol verleng na besmetting waar bepaalbaar gedurende die laaste 2 - 3 dae voor dood in al 10 varke wat die HD-AVP isolate (Tabel 8a) ontvang het en in 8 varke (nos. 14 - 19, 21, 22) gedurende die laaste 6 dae voor dood uit 9 besmet met die NHD-AVP virus isolaat (Tabel 8b) waar dit vergelyk is met die gemiddelde voor-besmettingswaardes van die groep.

Plasmastolling in reaksie op die bygevoegde trombientoets oplossing (20 eenhede/ml) was vertraag sonder duidelike eindpunte by 5 varke (nos. 2, 4, 14, 16, 17) besmet met die HD-AVP isolate en by 4 varke (nos. 15, 17, 18, 19) besmet met die NHD-AVP virus isolaat, terwyl stolsels dun en byna oplosbaar was. Visuele bepalinge van die TT het derhalwe by etlike diere al hoe moeiliker geword namate die siekte verder verloop het.

BESPREKING

Die byna eenparige verlengde terminale bloed- en plasmastollingstoetstye by die varke besmet met die HD-AVP virus isolate mag 'n moontlike invloed van die heemadsorpsie eienskap (HD) en virulensie op die stollingsversteurings by akute AVP aandui. Stollingstoetstye by varke besmet met die NHD-AVP isolaat was egter ook verleng by sekere varke wat vir korter of langer as 9 dae

(gemiddelde oorlewingsperiode vir groep) oorleef het. Stollingsveranderinge kon ongelukkig slegs by 'n minderheid van varke besmet met die NHD-AVP virus isolaat tot op die dag van dood bepaal word weens die minder voorspelbaarheid van vrektes by hierdie groep. Duidelike gevolgtrekkings oor die moontlike rol van die HD eienskap en virulensie van die virus in die patogenese van die bloedstollingsversteurings kon dus nie op hierdie resultate gemaak word weens die uiteenlopendheid daarvan nie. Verdere ondersoeke sal dus uitgevoer moet word om hierdie vraag bo alle twyfel op te klaar.

Alhoewel die heelbloedstollingstyd relatief onsensitief is in vergelyking met die GGTT, kan waardevolle inligting verkry word uit die periodieke ondersoek van die bloedstolsels. Die tydsverloop van bloedstolling in 'n glasbuis is 'n maatstaf van die aktiwiteit van die intrinsieke stollingsstelsel. Verlenging van die stoltyd dui op merkbare stollingsfaktor tekorte, die teenwoordigheid van teenstollingsagente soos byvoorbeeld FDP'e of 'n kombinasie hiervan (Hougie, 1983).

Verminderde bloedstolselsametrekking, grys-wit tot rooi stoltselverkleuring, pap en breekbare bloedstolsels en variërende grade van oplossing en disintegrasie van stolsels na c. 7 ure van inkubasie by 37°C (Hoofstuk 3), is beskou as sterk aanduidings vir trombositopenie, trombosietdisfunksie, en/of oordrewe fibrinolise (Hougie, 1983). Die onvermoë van etlike terminale bloedmonsters om te stol en die skeiding van boonste wit-grys fibrineuse en onderste donker-rooi bloedfraksies na ½ - 1 uur in die stollingstydtoets is ook geïnterpreteer as verdere bewyse vir DIS, merkbare stollingsfaktor tekorte en/of oordrewe fibrinolise en die teenwoordigheid van teenstollingsagente soos FDP'e (Hougie, 1983).

Die gemiddelde voor-besmettingswaardes van die GGTT verkry by die varke besmet met die HD- en die NHD-AVP virus isolate in die studie was effens laer as die waarde van $23,2 \pm 3$ sek voorheen beskryf by normale Yorkshire varke (Bowie *et al.*, 1973). GGTT waardes is egter nie absoluut nie, maar relatief, en hang af van die bepaalde reagense wat in die toetse gebruik word. Die verlengde GGTT by 90% van varke besmet met die HD-AVP isolate, dui op 'n moontlike tekort van 1 of meer van die volgende stollingsfak-

tore: XII, XI, X, IX, VIII, V, protrombien en fibrinogeen asook op die moontlike teenwoordigheid van FDP'e wat die stollingsproses mag inhibeer (Hougie, 1983).

Die gemiddelde voor-besmettings PT by die varke besmet met die HD- en NHD-AVP virus isolate was in ooreenstemming met die gemiddelde PT van 13 sek (Blecher & Gunstone, 1969) maar laer as die gemiddeld van $19,3 \pm 1$ sek (Bowie et al., 1973) voorheen beskryf by normale varke. Die geringe verlenging van die PT in die varke besmet met die HD-AVP isolate en die afwesigheid van PT stygings in die NHD-AVP virus besmette varke dui moontlik op slegs matige tekorte van die stollingsfaktore X, VII, V, protrombien en fibrinogeen. 'n Verlengde PT word by mense beskryf waar die plasma fibrinogeen vlakke laer as 100 mg/100 ml (c. 15% van normaal) daal. Stygings van plasma FDP vlakke mag egter ook 'n verlenging van die PT teweegbring (Hougie, 1983).

Die gemiddelde voor-besmettings TT waardes by die varke besmet met die HD- en NHD-AVP virus isolate was effens hoër as die waardes van 13 sekondes (Blecher et al., 1969) en $17,2 \pm 2,5$ (Bowie et al., 1973) voorheen beskryf by normale varke. Dit is verder interessant om daarop te let dat TT waardes onder stikstof dioksied en halotaan narkose onveranderd gebly het (Blecher et al., 1969). Die merkbare terminale verlenging van die TT by feitlik alle diere gespuit met die HD-AVP isolate en die meerderheid van varke besmet met die NHD-AVP isolaat dui verder op drastiese verlaagde plasma fibrinogeen vlakke (≤ 100 mg/ml), kwalitatiewe fibrinogeen versteurings met defektiewe fibrienstolselvorming en/of die teenwoordigheid van inhiberende agente soos FDP'e (Hougie, 1983).

Plasma fibrinogeen vlakke kon ongelukkig nie suksesvol bepaal word met die fisies-chemiese metodes wat in hierdie studie aangewend is nie. Dit moet ongelukkig erken word as 'n swak punt want dit sou duideliker kon aantoon of die defektiewe bloedstolsels en die verlengde plasmastollingstye te wyte was aan die uitputting van fibrinogeen en die ander stollingsfaktore. Edwards (1983) en Edwards et al. (1984) het egter aangetoon dat slegs matige fibrinogeenvlak dalings (25 - 50% van voor-besmettingswaardes) maar

sterk FDP vlak stygings voorgekom het by varke besmet met 'n virulente AVP virus isolaat wat dood binne 7 dae kon veroorsaak. Verder kon min bloedplaatjie en fibrientrombi by ligmikroskopiese ondersoek waargeneem word (Edwards, 1983; Edwards et al., 1984). Alhoewel slegs matige dalings in plasma fibrinogeenvlakke plaasgevind het, was daar ook opsigtelike kwalitatiewe versteurings in die fibrienstolsels van besmette varke gekenmerk deur 'n verlies van soliede integriteit en 'n dowwe draderige uitgerafelde voorkoms (Edwards, 1983; Edwards et al., 1984). Die ontstaan van die disfunksionele fibrinogeen was waarskynlik te wyte aan die vertraagde suiwing van fibrinolitiese produkte (FDP'e) deur die AVP-virusbesmette monosiet-makrofaagsisteem en die vorming van komplekse met fibrinogeen wat ook tot die relatief hoë plasma fibrinogeenvlakke kon bygedra het (Edwards, 1983; Edwards et al., 1984).

Die lateks-agglutinasietoets wat as 'n roetine bepaling vir FDP'e op menslike plasma gebruik word is as 'n geskikte metode vir bepalings op vark plasma aanvaar na suksesvolle toetse op bekende AVP negatiewe en positiewe kontrole monsters. Hierdie toets is in ons studies aangewend weens die eenvoud en hoë sensitiwiteit van die immunologiese FDP bepalingsmetodes (Francis & Marder, 1983). Terminale FDP vlakke was matig verhoog by die meerderheid varke besmet met die HD-AVP isolate en by sekere varke besmet met die NHD-AVP isolaat waar bepalings gedurende die laaste 2 - 3 dae voor dood moontlik was. Hierdie waardes van 10 - 80 $\mu\text{g/ml}$ het ooreengestem met FDP vlakke by akute en minder akute vorme van DIS en fibrinolise by mense (Hougie, 1983). Fibrien- en fibrinogeende-gradasiëprodukte (FDP) inhibeer stolling deur die vorming van hoë molekulêre-massa-komplekse met fibrinogeen en versteur sodoende die polimerisasie van fibrienmonomeer wat ook aanleiding tot die verlengde TT waardes kon gegee het (Francis & Marder, 1983). Die progressiewe veranderinge van stollingstye het egter by die meeste varke nie verband gehou met die stygings in FDP vlakke nie. Dit is dus redelike om te aanvaar dat die verlengde stollingstye nie alleen toegeskryf kan word aan die inhiberende uitwerking van FDP'e nie, maar ook aan die uitputting van fibrinogeen en die ander stollingsfaktore (Hougie, 1983).

Degradasie produkte van fibrinogeen en fibrien ontstaan uit ensiematiese splitsing deur plasmien wat geaktiveer word deur plasminogeen aktiveerders afgeskei deur geaktiveerde makrofages, vaskulêre endoteel en verskeie ander weefsels (Unkeless, Gordon & Reich, 1974; Francis & Marder, 1983). Plasminogeen-aktiveerder sekresie en fibrinolise mag bevorder word deur die aktivering van makrofages deur AVP virus besmetting. Vertraagde fagositose en suiwing van FDP'e en plasmien as gevolg van die progressiewe besmetting van makrofages deur die AVP virus mag tot verdere inhibisie van bloedstolling lei (Unkeless et al., 1974; Edwards, 1983; Edwards et al., 1984).

Intravaskulêre stolling en trombose mag via die intrinsieke pad geïnisieer word deur die aktivering van Hageman faktor XII deur oppervlakte kontak met blootgestelde kollageen. Stolling mag verder versnel word via die ekstrinsieke stollingspad deur die aktivering van faktor VII deur weefselfaktor wat lei tot trombien- en fibrienvorming met trombosiet-aggregasie. Weefselfaktor mag vrygestel word deur die intima van bloedvate tydens endoteelskade (Kirk, 1962; Zeldis, Nemerson, Pitlick & Lentz, 1972; Williams, 1983). Aktivering van die intrinsieke en ekstrinsieke stollingspaaie in akute AVP deur indirekte beskadiging van bloedvate deur die virus is dus moontlik (Hoofstuk 5). Die oppervlakte-aktivering van faktor XII is die eerste stap in 'n komplekse reeks reaksies wat bloedstolling, kienienvorming en fibrinolise behels (Slauson et al., 1982e; Williams, 1983a). Intravaskulêre stolling en trombose stimuleer naasliggende endoteel maar nie endoteelselle van verder afgeleë patente kapillêre-vate om plasminogeen-aktiveerder af te skei nie. Plasminogeen-aktiveerder het 'n hoë affiniteit vir fibrien-gebonde plasmien en aktiveer, versnel en lokaliseer sodoende die fibrinolitiese proses (Francis & Marder, 1983). Die geaktiveerde faktor XII mag plasminogeen proaktiveerder, direk aktiveer of kallikrein via pre-kallikrein vorm om bradikinin vanuit hoë molekulêre-massa-kininogeen (HMK) vry te stel. Die gevormde plasmien mag verder reageer met die HMK om meer bradikinin vry te stel en sodoende die reaksie te versterk (Williams, 1983). Bradikinin in die rot (Smith, Gilbert & Owen, 1985) en histamien by die vark (Nakajima, 1983) is besondere sterk

stimulante van weefsel plasminogeen aktiveerder vrystelling, ten spyte van die relatiewe swak fibrinolitiese vermoë gerapporteer by vark plasma (Clifton & Downie, 1950; Blecher & Gunstone, 1969). Die prosessering van HMK as gevolg van die aktivering van Hageman faktor XII mag daarom 'n belangrike meganisme verteenwoordig in die inisiëring van fibrinolise (Smith et al., 1985). Opsommend kan dus gesê word dat die moontlike rol van makrofaagbesmetting en bloedvatwandskade in die patogenese van fibrinolise en bloedstollingsversteurings by akute AVP verder ondersoek moet word. Spesifieke metodes vir die bepaling van plasminogeen aktiveerdervlakke in plasma sal ontwikkel en aangewend moet word. Die moontlike rol van antitrombien III in die bloedstollingsversteurings by akute AVP sal ook verdere aandag moet geniet (Edwards, 1983; Edwards et al., 1984).

HOOFSTUK 5

BLOEDINGS EN VASKULÊRE VERANDERINGE BY VARKE BESMET MET VIRULENTE
HEEMADSORBERENDE AFRIKAANSE VARKPES VIRUS ISOLATE EN 'N VIRULENTE
NIE-HEEMADSORBERENDE AFRIKAANSE VARKPES VIRUS ISOLAAT

INLEIDING

Wydverspreide bloedings in die vel, limfknope en inwendige organe is dikwels 'n prominente kenmerk van akute en subakute vorme van AVP (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b; McVicar et al., 1981; Edwards, 1983). Die rol van bloedvatwandskade as oorsaak van bloeding by AVP is nog nie duidelik nie maar trombositopenie, trombosit-disfunksie en defektiewe fibrienstolselforming blyk 'n belangrike rol te speel (Edwards, 1983; Edwards et al., 1984; Anderson, 1986; Nesor et al., 1986; Anderson et al., 1987; Nesor & Kotzé, 1987). Endoteelselnekrose, trombose en hialinisasie van kleiner bloedvate gepaard met bloedings in die vel, limfoïede weefsel en inwendige organe kom algemeen voor. Veranderinge in bloedvate word meestal gekenmerk deur 'n verlies van die sellulêre argitektuur van die wande en vorming van homogene dowwe eosinofiliese strukture sonder duidelike buitelyne (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Arterioles, venules en kapillêre vate is dikwels geheel of gedeeltelik afgesluit deur granulêre, fibrineuse of homogene eosinofiliese trombi met variërende hoeveelhede leukosiete en vermoedelik bloedplaatjies daarin wat perjoodsuur-Schiff (PAS)- en fibrien-positief kleur met die PAS- en Weigert-fibrien kleurmetodes. Hierdie veranderinge is veral teenwoordig waar die wande van die arterioles geswolle en edemateus vertoon en PAS-positiewe fibrinoïede materiaal bevat. Endoteelselle van gehialiniseerde bloedvate in limfknope is dikwels degeneratief en soms nekroties. Die bloedvatwandskade gaan selde gepaard met

bloedings in die limfknope, alhoewel bloedings, infarkte en trombose dikwels geassosieer word met vaskulêre letsels in die milt (Maurer et al., 1958). Volgens Edwards (1983) kon geen nekrose mikroskopies waargeneem word in bloedvate van die limfknope, milt, lewer of nier ten spyte van uitgebreide bloedings in die subkutis, limfknope, hart, perikardiale sak en spysverteringskanaal van varke besmet met 'n matig-virulente AVP-virus isolaat uit die Dominikaanse Republiek (DR'79) nie. Op grond van die resultate verkry deur die intravaskulêre inspuiting van Evans-Blou kleurstof en die bepaling van plasma-faktor VIII antigeen (VIII R:Ag) het Edwards (1983) afgelei dat die AVP-virus nie algemene endoteelsel beskadiging veroorsaak nie. Fibrinoïede materiaal kon waargeneem word in bloedvate in nekrotiese foki in die milt, maar bloedplaatjie- en fibrientrombi het selde voorgekom in die varke wat eksperimenteel besmet is met die AVP-virus (Edwards, 1983). Afrikaanse varkpes-virus-antigeen kon deur middel van 'n direkte-fluoreserende teenliggaam tegniek in die wande van bloedvate by eksperimenteel besmette varke aangetoon word (Colgrove et al., 1969) terwyl virus replikasie in vitro sigbaar was in vark-endoteelselkulture (Wilkinson & Wardley, 1978).

Fibrinoïede veranderinge van bloedvate word gekenmerk deur degenerasie en nekrose van gladdespier en kollageen asook die neerlegging van fibrien en ander plasmaproteïene in die wande van bloedvate. Fibrinoïede veranderinge verteenwoordig 'n vorm van hialiene degenerasie en nekrose van bloedvatwande maar moet onderskei word van toestande soos amyloïedneerlegging en kollageenveranderinge by kollageensiektes en littekenletsels van bloedvatwande (Jubb, Kennedy & Palmer, 1985d; Pearse, 1985b). In die vroeë stadia van vorming is fibrien moeilik om histochemies in weefsels te demonstreer. Ouer fibrien (c. 12 uur) kleur donker-blou met die fosfowolframsuur hematoksilien (PTAH) reaksie van Mallory wat as die belangrikste kleurmetode vir die demonstrasie van fibrien beskou kan word (Pearse, 1985b). Skeletspier en growwe elastiese vesels kleur egter ook blou, terwyl kollageen retikulêre vesels en bloedplaatjies rooibruin kleur (Pearse, 1985b). Fibrien kleur donker-rooi met die 'Martius-Scarlet-Blue' (MSB) metode van Lendrum (1962) soos vermeld deur Pearse (1985b). Die verkorte MSB-kleurmetode van Pussey & Edwards is meer tyd besparend as die metode van Lendrum (Pearse, 1985b). Fibrien kleur gewoonlik pienk

tot rooi-pers (soms sterk positief) met die PAS- kleurreaksie mees waarskynlik as gevolg van die koolhidraat inhoud daarvan (Pearse, 1985b). Die Gram-Weigert metode van Mallory kan ook gebruik word om fibrien histochemies te demonstreer, alhoewel die reaksie minder spesifiek is en kollageenvesels ook sal kleur. Ouer fibrien kleur egter swak met die Gram-Weigert metode waar die PTAH- en MSB-metodes nog positiewe resultate gee. Na verloop van tyd verloor ouer fibrien egter sy kleurvermoë met die PTAH- en MSB-metodes en kan dan slegs deur middel van die Massons 44/41 tegniek van kollageen onderskei word (Pearse, 1985bb. Belangrike variasies in die kleurintensiteit van fibrien kan in verskillende bloedvate by dieselfde individue waargeneem word, afhangend van die samestelling van die plasmaproteïen wat die bloedvatwand infiltrer (Pearse, 1985b). Waar moontlik moet die PTAH-, MSB- en Picro-Mallory-kleurmetodes saam met immunositochemiese tegnieke gebruik word om fibrinoïede veranderinge in bloedvatwande te bestudeer. Bogenoemde kleurmetodes mag soms vals positiewe kleurreaksies vir fibrien gee terwyl immunositochemiese metodes die teenwoordigheid van immunoglobulien en slegs spore van fibrien mag aantoon (McIver, 1972; Pearse, 1985b). Fibrien kan elektronmikroskopies herken word aan sy elektron-digtheid, kenmerkende dwarsgestrepte voorkoms en periodisiteit van 20 - 30 nm (Hawn & Porter, 1947; Ghadially, 1982). Die tipiese periodisiteit van neergelegde fibrien kan egter nie ten alle tye waargeneem word nie, maar is afhanklik van die snitvlak, die tempo van vorming en die pH waarin dit gevorm word. Stadig vormende stolsels in die teenwoordigheid van klein hoeveelhede trombien vertoon onduidelike dwarsstrepings en periodisiteit (Hawn & Porter, 1947; Hall, 1949; Ghadially, 1982). Mikrotrombi word hoofsaaklik aangetref as fibrillêre fibrien of hialiene trombi (Skjorten, 1968; Jubb et al., 1985e), homogene amorfe produkte van intravaskulêre fibrinolise of globulêre trombi (Bleyl & Rossner, 1976; Jubb et al., 1985e) of as neerslae van bloedplaatjies (Jubb et al., 1985e) en gefragmenteerde bloedselle bekend as granulêre trombi.

Die doel van hierdie studie is om die bloedings en patologiese veranderinge in die bloedvate asook die moontlike rol van die heemadsorpsiefaktor in die patogenese van hierdie veranderinge by varke besmet met die virulente HD en 'n virulente NHD-AVP virus isolaat te bestudeer.

MATERIAAL EN METODEDES

Varke:

Volledige nadoodse ondersoek is so spoedig moontlik na afloop van die siekte op elkeen van die 25 varke wat in die vorige eksperimente gebruik is uitgevoer en spesiale aandag is aan die bloedings, kongestiewe en edemateuse veranderinge gegee.

Die aard van die bloedings is beskryf as petegiae, egimose of ekstensiewe bloedings volgens die bekende definisies van hierdie letsels (Slauson et al., 1982a; Thomson, 1984).

Subjektiewe bepaling van die graad van bloedings (Tabelle 9a & b) is uitgedruk as die produk van die intensiteit of strafheid en die oppervlakte grootte of uitgestrektheid daarvan volgens die onderstaande skaal.

<u>Uitgestrektheid</u>	<u>Numeriese waarde toegeken</u>
Diffuus deur orgaan/weefsel	<u>3</u>
Groot gelokaliseerde area(s)	<u>2</u>
Fokale of klein gelokaliseerde area(s)	<u>1</u>

<u>Intensiteit of strafheid</u>	<u>Waarde toegeken</u>
Straf	+++
Matig	++
Lig	+

'n Diffuse en strawwe letsel word byvoorbeeld volgens hierdie skaal beskryf as 3 (+++) soos in Tabelle 9a & b. In die limfknope en mangels wat organe met 'n relatief klein oppervlakte is, is die intensiteit en die oppervlakte wat die verandering beslaan gesamentlik beskryf in 'n afsonderlike tabel (11a & b) saam met die mikroskopiese veranderinge volgens die skaal +++ = straf, ++ = matig en + = lig.

Histopatologiese ondersoeke:

Organe vir histopatologiese ondersoeke (Tabelle 10a & b; 11a & b) is versamel in 10% gebufferde formalien (varke nos 3-10, 14-16, 18, 19, 21-25) sowel as in 'n mengsel van gelyke dele 4% gebufferde formalien en 1% glutaraldehyd (varke nos. 1, 2, 11-13, 17, 20, 26-28) volgens Yanoff (1973). Limfknope is individueel geïdentifiseer tydens fiksering en prosessering. Weefsels is volgens 'n roetine metode geprosesseer, 4-6 μm dik gesny en gekleur met hematoksilien en eosien (HE) asook met die PAS reaksie en die PTAH kleurstof soos aangedui deur Pearse (1985b). Geselekteerde snitte is gekleur met 'n modifikasie van Lendrum, Fraser, Slidders & Henderson (1962) se MSB kleurmetode vir fibrien (Pearse, 1985b) deur 'Martius Yellow' met 'Orange G' en Crystal Scarlet met suur fuchsin, te vervang volgens Pussey & Edwards (1978) vermeld deur Pearse (1985a). Sekere snitte, onder andere limfknope en nier is gekleur met Masson se trichroomkleurmetode vir kollageen asook die 'Congo Red' metode vir amyloïed in bloedvatwande (Pearse, 1985c). Enkele niersnitte is gekleur met Pickworth se metode vir hemoglobien (Pearse, 1985d). Verder is geselekteerde snitte vir die ondersoek van bakterieë gekleur met 'n modifikasie van die Brown-Hopps-Gram-kleurmetode (Luna, 1968).

Spesiale aandag is gegee aan die kongestiewe, edemateuse, bloedings en vaskulêre veranderinge (Tabelle 10a & b). Trombi is mikroskopies geklassifiseer as hialiene, globulêre of granulêre van aard. Hialiene trombi bestaan hoofsaaklik uit fibrien met 'n fibrillêre voorkoms; terwyl globulêre trombi homogeen vertoon en die produkte van fibrinolise verteenwoordig (Skjorten, 1968; Bleyl & Rossner, 1976; Jubb et al., 1985e). Granulêre trombi is in hierdie studie beskou as bloedplaatjie (Jubb et al., 1985e) en ander bloedsselfragment neerslae in die lumen van bloedvate. Patologiese veranderinge in bloedvatwande is ook geklassifiseer as fibrinoïede nekrose en/of vaskulitis soos aangetoon in Tabelle 10a & b; 11a & b. Fibrinoïede veranderinge is hier beskou as 'n vorm van hialiene degenerasie van bloedvatwande gekenmerk deur degenerasie en nekrose van gladdepier- en kollageenvesels asook die neerlegging van fibrien en ander plasmaproteïene in die wande van aangetaste bloedvate. Die letsels moet onderskei word van ander

forme van hialiene veranderinge van bloedvatwande soos byvoorbeeld amyloïed neerlegging en fibroplasia by littekenletsels van die intima (Jubb et al., 1985d) en die kollageensiektes (Pearse, 1985b).

Vaskulitis is hier beskou as 'n vorm van inflammasie gekenmerk deur die infiltrasie van mononukleêre- en enkele polimorfenukleêre leukosiete in die adventitia en wande van bloedvate.

Twee tot 5 snitte van elke orgaan is ondersoek afhange van die oppervlakte grootte van die letsel en die orgaan.

Die graad van die mikroskopiese letsels is ook subjektief mikroskopies ge-evalueer en beskryf volgens die skaal: +++ = straf; ++ = matig en + = lig (Tabelle 10a & b, 11a & b).

Elektronmikroskopiese ondersoek:

Limfknoop, long, lewer en nier monsters van c. 1 mm³ van 3 varke (nos. 23-25) is spoedig na dood versamel in 'n 2% glutaraldehydoplossing en verder gefikseer in 'n 1% osmium-tetroksied en kakodilaatbuffer (pH 7,4), gedehidreer in gegradeerde etanol konsentrasies, gesuiwer in 1,2 propileenoksied en ingebed in Epon 812.

Limfknoop, long, lewer en nier, monsters van 3 varke (nos. 1, 2 & 20) wat aanvanklik in die formaldehyd-glutaraldehyd mengsel gefikseer is soos reeds beskryf is, is verder gefikseer in 1% tetroksied osmium en kakodilaat-buffer, en geprosesseer en ingebed soos die glutaraldehyd gefikseerde monsters.

Ultradun weefselsnitte van (c. 90 nm) is gekleur met uranielasetaat en loodsitraat en ondersoek met 'n JEOL EM1200EX transmissie-elektronmikroskoop (TEM) (sien Hoofstuk 2).

RESULTATE

Makroskopiese kongestiewe, edemateuse en bloedingsveranderinge

Oogsglymvliese en sklera: Behalwe vir 2 varke (nos 2 & 13) besmet

met die HD-AVP virus isolate waar daar ligte tot matige petegiae en egimose was, (Fig. 22) kon daar by die ander varke wat gespuit is met die HD- en NHD-AVP virus isolate (Tabelle 9a & b) slegs matige kongestiewe veranderinge van die oogslymvliese waargeneem word. Die oë was dikwels gesonke in die oogkaste as gevolg van 'n matige dehidrasie.

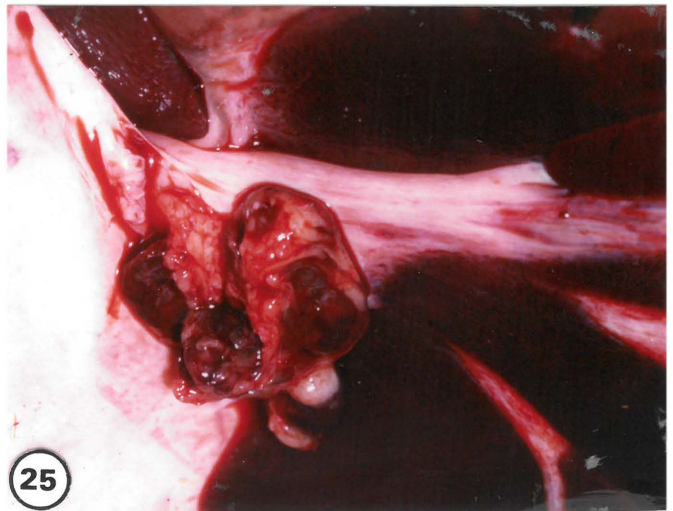
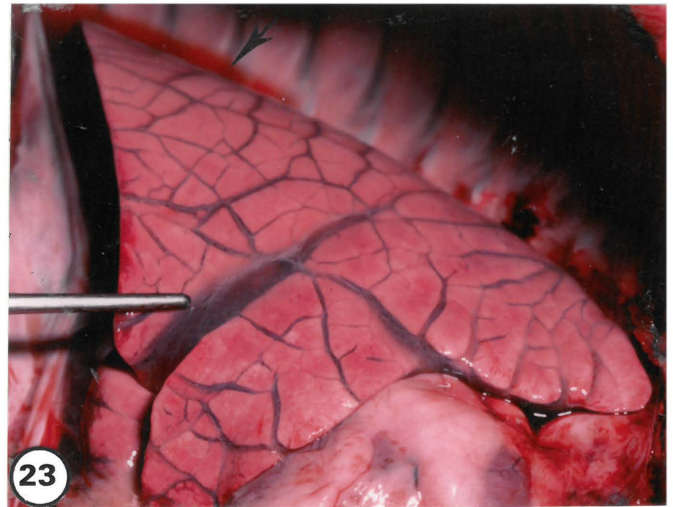
Tandvleis-oppervlakte: 'n Baie ligte kongestie tot effense bleek voorkoms sonder duidelike bloedings van enige aard het die tandvleis epiteelbedekking by alle diere gekenmerk.

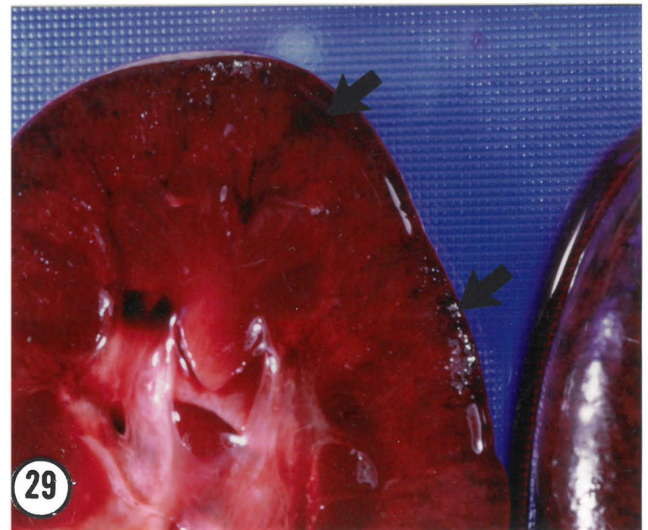
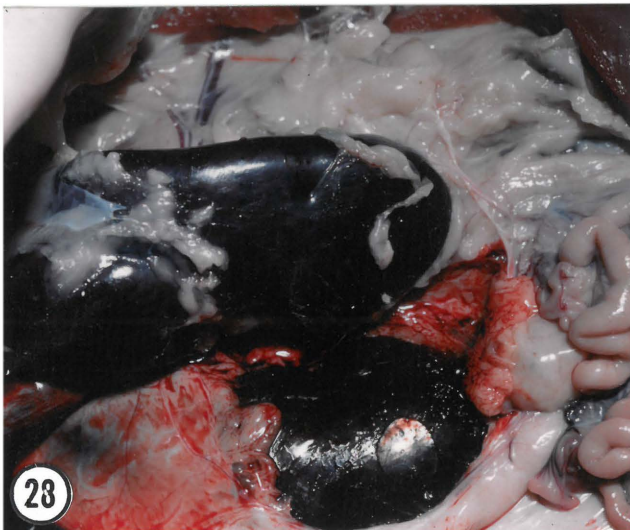
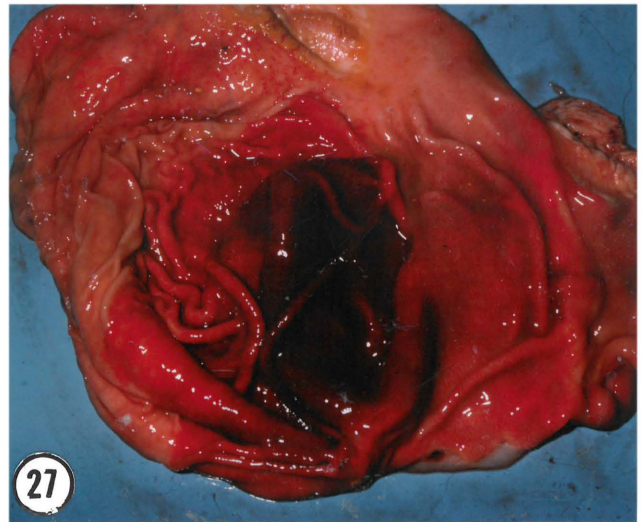
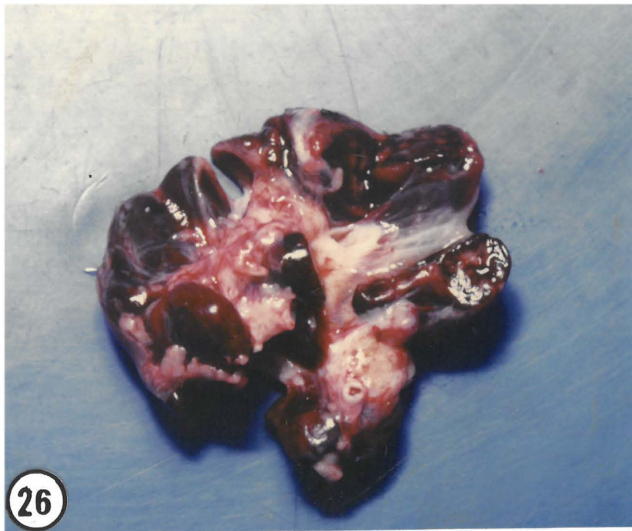
Vel en aanhangsels: Wisselende grade van kongestie en bloeding was veral merkbaar in die wit vel van hierdie varke. Kongestiewe veranderinge was dikwels moeilik om makroskopies van ligtegraad bloedings te onderskei (Fig. 20 & 21). Matige tot strawwe kongestie gekenmerk deur 'n diffuse donker-pienk tot pers-rooi sianotiese velkleur was by 6 varke (nos 2, 5, 7, 8, 10 & 12) gespuit met die HD-AVP virus isolate en by 3 (nos 14, 19 & 20) besmet met die NHD-AVP virus isolaat teenwoordig. Kongestie was meestal diffus in die vel van die ore, keel, nek, rug, flanke, en soms oor die bors, bladsholtes, buik, lieste en ledemate. Teen die agtergrond van die diffuse kongestiewe veranderinge kon by 3 varke (nos 7, 8 & 10) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 1 vark (no 20) besmet met die NHD-AVP virus isolaat matige tot strawwe petegiale en egimotiese bloedings waargeneem word. Bloedings was hoofsaaklik versprei in die vel van die neuspunt, oorrande en ventrale aspekte van die keel, bors, oksel, buik, lieste en distale gedeeltes van die ledemate. 'n Baie interessante waarneming was dat die diffuse kongestie van die vel gewoonlik 6-12 uur voor dood verskyn het en binne ongeveer 1/2 - 1 uur na dood weer gedeeltelik verdwyn het waar nekropsie ondersoek vertraag was. In sekere gevalle was die areas van kongestie ook duidelik begrens veral oor die distale kaudale aspekte van die boud (Fig. 20). Die bloedings, hoofsaaklik in die vel van die ventrale aspekte van die bors en buik het vertoon as digverspreide areas van purpura ongeveer 1 - 30 mm in deursnit (Fig. 20).

Subkutis: 'n Ligte geel verkleuring van die subkutane weefsels, mees waarskynlik ikterus, was sigbaar by meeste varke. Behalwe

BYSKRIFTE TOT FIGURE 20 - 25

- FIG. 20 Diffuse, matige tot strawwe kongestie, groot gelokaliseerde areas van matige tot strawwe petegiae en klein fokale matige tot strawwe egimotiese bloedings oor die pens, hak en boudgebiede van die vel
- FIG. 21 Diffuse matige tot strawwe kongestie en verspreide petegiale bloedings oor die wangbene en onder die keel asook strawwe groot gelokaliseerde tot wydverspreide areas van egimotiese- en petegiale bloedings oor die okselêre, sternale en abdominale areas van die vel
- FIG. 22 Diffuse matige tot strawwe kongestie en wydverspreide petegiale bloedings in die oogslymvlies asook 'n fokale area van egimose in die sklera (pyl)
- FIG. 23 Hidrotoraks (pylpunt) asook strawwe, inter- en intralobulêre edeem van die long
- FIG. 24 Strawwe splenomegalie, met verlenging en afstomping van die rande asook donkerrooi-swart verkleuring as gevolg van kongestie en bloeding in die parengiem
- FIG. 25 Matige tot strawwe kongestie en bloeding van medulla en korteks van die gastro-hepatiese limfknoop





BYSKRIFTE TOT FIGURE 26 - 29

FIG. 26 Matige tot strawwe kongestie en bloeding van medulla en korteks by mesenteriese limfknope

FIG. 27 Groot gelokaliseerde areas van strawwe kongestie en matige bloedings in die maagwand

FIG. 28 Strawwe diffuse kongestie en wydverspreide ekstensiewe bloeding oor die oppervlakte van beide niere

FIG. 29 Matige tot strawwe diffuse kongestie en wydverspreide papigiale tot egimotiese bloedings in die nierkorteks (pyle)

vir 2 varke (nos 1 & 5) besmet met die HD-AVP virus isolate en 2 besmet met die NHD-AVP virus isolaat (nos 14 & 18) waar daar uitgebreide hematoma's van ongeveer 100 x 150 mm in die klavikulêre fossa teenwoordig was waar die varke gebloeï is, was daar geen oortuigende bloedings in die subkutis teenwoordig nie (Tabelle 9a & b).

Skeletspiere: Slegs edeem en fokale areas van nekrose sonder duidelike bloedings was in die boudspiere van 2 varke (nos 14 & 15) besmet met die NHD-AVP virus isolaat sigbaar waar die berustingsmiddel ingespuut is.

Limfknope: Edeem, kongestie en bloedings in verskillende grade het die patologiese veranderinge in die limfknope oorheers by beide die varke besmet met die HD-AVP en NHD-AVP virus isolate (Tabelle 11a & b). By albei groepe was die gastrohepatiese limfknope die strafste en mees dikwels aangetas met die mesenteriese, renale, mandibulêre en pariëtale limfknope min of meer in dalende volgorde van voorkoms en intensiteit, ligter en minder dikwels aangetas. Die brongiale limfknope is nie in alle gevalle ondersoek nie, maar by sommige varke was letsels wel teenwoordig. Dit was ook nie moontlik om te bepaal of die kongestie, edeem of bloedings by die varke besmet met die HD- of by die groep wat die NHD-AVP isolaat ontvang het die strafste ontwikkel was nie, aangesien hierdie veranderinge dikwels in verskillende kombinasies by individuele diere van elke groep voorgekom het. Bloedings het dikwels gevarieer van petegiae onder die kapsel of in die korteks en medulla tot strawwe, diffuse, homogene donker-rooi verkleurings van die hele snitvlak (Fig. 25 & 26). By enkele limfknope kon 'n donker-rooi ring van bloeding onder die kapsel gesien word wat mikroskopies as bloedings in die subkapsulêre sinusse bevestig kon word.

Pleura en torakale holte: 'n Matige tot strawwe hidrotoraks, gekenmerk deur die teenwoordigheid van 'n strooigeel helder-kleurige swak stolbare transudaat was sigbaar by 2 varke (nos 6 & 13) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 6 varke (nos 14 - 16, 23 - 25) besmet met die NHD-AVP virus isolaat (Fig. 23).

Tragea en longe: Daar was 'n matige tot strawwe edeem van die longe gekenmerk deur variërende hoeveelhede digte skuim en/of transudaat en geel fibrineuse eksudaat in die tragea, brongi, longparengiem, interlobulêre septae en onder die pleura (Fig. 23) by 8 varke (nos 4 - 6, 9 - 13) besmet met die HD-AVP virus isolate, en by 9 (nos 14 - 16, 19 - 24) besmet met die NHD-AVP virus isolaat. Ligte gelokaliseerde egimotiese en petegiale bloedings was slegs by 2 varke (nos 12 & 13) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 2 (nos 23 & 24) besmet met die NHD-AVP virus isolaat in die longe waarneembaar (Tabelle 9a & b).

Perikardiale sak: 'n Matige tot strawwe fibrineuse perikarditis was by 2 varke (nos 14 & 15) besmet met die NHD-AVP isolaat sigbaar sowel as 'n epikarditis by no 14 wat ook die NHD-AVP isolaat ontvang het. Daar was 'n ligte tot matige hidroperikardium by 1 vark (no 13) besmet met 'n HD-AVP virus en by 1 vark (no 16) ingespuut met die NHD-AVP isolaat (Tabelle 9a & b).

Hart: Behalwe vir 'n ligte tot matige kongestie en petegiale bloedings in die epi-, mio- en endokardium by meeste varke was fokale egimotiese bloedings in die pappillêre spier en epikardium by 1 vark (no 11) besmet met die HD-AVP virus isolaat sigbaar. Verder was geen oortuigende bloedings in die hartspier waarneembaar nie (Tabelle 9a & b).

Peritoneum en abdominale holte: Daar was slegs by 2 varke (nos 15 & 24) besmet met die NHD-AVP virus isolaat, 'n ligte tot matige askitis.

Milt: By al die varke was daar matige tot strawwe kongestie en verdagte bloedings gekenmerk deur 'n geswolle, verlengde milt met effense ronde rande (Fig. 24). Die oppervlakte was donkerblou tot blou-pers met 'n gespanne kapsel. Die donker-rooi inhoud het meestal as 'n papperig bloederige materiaal onder die kapsel uitgebult. Op snitvlak was die witpap nie duidelik sigbaar nie en was oorheers deur die rooipap.

Lewer: 'n Ligte tot matige swelling en kongestie van die lewer was by meeste van die varke besmet met beide die HD- en NHD-AVP virus isolate aanwesig.

Galblaas: 'n Matige tot strawwe edeem van die galblaas was by 2 varke (nos 12 & 13) besmet met die HD-AVP virus isolaat sigbaar asook by 2 (nos 24 & 25) besmet met die NHD-AVP virus isolaat. Daar was ook matige egimotiese bloedings in die galblaaswand by 1 vark (no 12) besmet met die HD-AVP virus isolaat en by 1 vark (no 25) besmet met die NHD isolaat (Tabelle 9a & b).

Maag: By enkele van die varke besmet met die HD-AVP virus isolate waar die oorlewingsperiode kort was, was 'n redelike hoeveelheid vars maaginhoud teenwoordig, wat aangedui het dat die varke tot kort voor hul dood nog moes geëet het. Ligte tot strawwe fokale areas van nekrose, ulserasies en bloedings omring deur wyer areas van strawwe kongestie was aanwesig op die maagslymvlies by 3 varke (nos 7, 8 & 12) besmet met die HD-AVP isolate en by 2 varke (nos 16 & 19) besmet met die NHD-AVP isolaat.

Dermkanaal: Daar was 'n matige kongestie van die dunderm en dikderm slymvlies by 5 varke (nos 2, 4, 6, 7 & 8) gespuit met die HD-AVP isolate en by 1 vark (no 16) besmet met die NHD-AVP isolaat. Verspreide lig tot matige egimotiese bloedings was teenwoordig op die dun- en dikderm slymvlies by 4 varke (nos 2, 4, 5 - 6) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 1 vark (no 19) wat die NHD isolaat ontvang het.

Niere: Wissellende grade van bloeding en kongestie het die makroskopiese veranderinge gekenmerk. Matige tot strawwe swelling, kongestie, wydverspreide petegiale tot uitgebreide bloedings en verdagte infarksie met donkerrooi-swart verkleurings van die nierkorteks (Fig. 28 & 29) was sigbaar by 5 varke (nos 7 - 10, 12) besmet met die HD-AVP isolaat sowel as by 3 varke (nos 16, 19 & 20) gespuit met die NHD-AVP virus isolaat (Tabelle 9a & b). Matige petegiale bloedings sonder duidelike kongestie en verdagte kortikale infarksie was by 6 varke (nos 2 - 6, 11) besmet met die HD-isolate en by 1 vark (no 15) besmet met die NHD-AVP virus isolaat respektiewelik sigbaar. Bloedings in die niere was dus strawwer by varke besmet met die HD-AVP virus isolate.

Uriene-blaas en geslagstelsel: Geen opsigtelike kongestiewe en bloedingsveranderinge kon in hierdie organe waargeneem word nie.

Makrohistologiese nadoordse ondersoek van varke besmet met 4 virulente ID-AIP virus isolate

Virale Veranderinge in spuit	Oog- slym- vlies teel	Tand- vleis epi- teel	Vel	Sub- kutis spie- re holte	Pleura en tho- longe sat	Tragea en kar- onale sat	Peri- kar- onale sat	Hart diale	Milt en ab- domen	Lewer	Gal- blaas	Mag darm	Dun- darm	Dik- darm	Miere blaas	Ureter blaas	Oorlu- wings- dae
1	CV	Kongestie 3(+)			3(+)				3(+)								4
		Peteglae 3(+)															
		Egimose 3(+)															
		Ekstensiewe bloedings		(+++)													
2	CV	Kongestie 3(+)			3(+)				3(+++)				2(+)	3(+)			4
		Peteglae															
		Egimose															
		Ekstensiewe bloedings															
3	CV	Kongestie 3(+)							3(+)				2(+)	2(+)			5
		Peteglae															
		Egimose															
		Ekstensiewe bloedings															
4	CV	Kongestie 3(+)							3(+)				2(++)	2(+)			5
		Peteglae															
		Egimose															
		Ekstensiewe bloedings															
5	951	Kongestie 3(+)							3(+)				2(+)	2(+)			4
		Peteglae															
		Egimose															
		Ekstensiewe bloedings															
Edem word hier beskou as die aansameling van vloeistof in interstisiële weefselruimtes en liggaamsholtes - Slawson et al. (1982)																	

Peteglae is klein fokale bloedings tot 2 mm in deursnee
 Egimose is fokale bloedings tot 30 mm in deursnee
 Ekstensiewe bloedings is areas van bloeding groter as 30 mm

Slawson et al. (1982; Thomson (1984)

TAFEL 9(a) Subjektiewe hepings van die edemateuse; kongestiewe- en bloedingsveranderinge waargeneem tydens die makroskopiese nadoodse ondersoek van varke besmet met 4 virulente ID-APP virus isolate

Varke no.	Virus ingespuil	Makroskopiese veranderinge	Oog-slymvlies	Tandvleis epi-teel	Vel	Sub-kutis	Skelet en sple-re holte	Pleura en tho-rakale holte	Tragea en longe	Peri-kardiale sak	Peri-tonceum en ab-domen	Milt	Lewer	Gal-blaas	Maag	Dun-deurm	Dik-deurm	Hiere	Uteriene blaas	Brein	Doerlewings-dae
6	951	Edem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)					3(++)	3(+++)			2(++)				2(+++)	2(+++)		2(++)		4
7	HMI	Edem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)		2(++)					2(+)		3(+++)	2(+++)	2(+++)		2(++)	2(++)	2(++)	2(++)	3(++)	4
8	HMI	Edem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)		2(++)			3(+)		++		3(+)	2(+++)	2(+++)	2(+++)	2(++)	2(++)	2(+++)	2(+++)	3(++)	5
9		Edem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)					3(+++)			2(++)					2(++)		2(+++)	2(+++)	2(+)	5

Edem word hier beskou as die aansameling van vloeistof in interstisiële weefselruimtes en liggaamsholtes

(Slauson et al. 1982)

Peteglae is klein fokale bloedings tot 2 mm in deursnee

Egimose is fokale bloedings tot 70 mm in deursnee

Ekstensiewe bloedings is areas van bloeding groter as 30 mm

(Slauson et al. (1982; Thomson (1984)

makroscopiese nadoosde ondersoek van varte besmet met VIRULENTE HU-APP VIRUS ISOLATE

Virus inge- spuit	Virus veranderinge	Dag- vlies epi- leel	Vel	Sub- kutis let	Ste- let spie- re	Plou- ra on longe	Tragee en diale sak	Peri- kar- diale sak	Hart	Peri- toneum en ab- domen	Milt	Lewer	Gal- blaas	Maag	Dun- derm	Dik- derm	Miere	Uriene blaas	Brein	Oorie- wings- dae
10	DR		2(+++) 2(+)				3(+++)			3(+++)	3(+)				2(+) 2(+)	2(+++)				5
		Edem																		
		Kongestie	3(+)																	
		Peteglae		2(+++)							3(+)									
		Egimose		2(+)																
		Ekstensiewe bloedings								3(+++)										
11	CV					2(+)	3(+++)								(++)		2(+++)		3(+++)	5
		Edem																		
		Kongestie	3(+)																	
		Peteglae							(+++)											
		Egimose																		
		Ekstensiewe bloedings								3(+++)										
12	CV						3(+++)													
		Edem																		
		Kongestie	3(+)	2(++)																
		Peteglae																		
		Egimose																		
		Ekstensiewe bloedings																		
13	CV						2(++)	3(++)	3(+)						2(+)	2(+)			3(+++)	6
		Edem																		
		Kongestie	3(+++)																	
		Peteglae	3(+)																	
		Egimose																		
		Ekstensiewe bloedings																		

 Totaal
 13

 Gemiddelde SA
 4,6 ± 0,6

 Edem word hier beskou as die aansameling van vloeistof in interstisiële weefselruimtes en liggaamsholtes
 Slauson et al. (1962)

Peteglae is klein fokale bloedings tot 2 mm in deursnee

Egimose is fokale bloedings tot 30 mm in deursnee

Ekstensiewe bloedings is areas van bloeding groter as 30 mm

 Slauson et al. (1962; Thomson (1964)

TABEL 9(b) Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese, edemateuse, kongestiewe- en bloedingsveranderinge by die nadoordse ondersoek van varke hesmet met die Lillie (NHD)-AVP virus isolate

Vark no.	Makroskopiese veranderinge	Oog-slymvlies	Tandvleis epi-teel	Vel	Subkutis	Skelet en spiere	Pleura en thorakale holte	Tragea en longe	Perikardiale sak	Hart	Peritoneum en abdomen	Milt	Leëwer	Galblaas	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Uriene blaas	Brein	Oorlewings-tyd (dae)
14	Edeem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)		2(++)		++	2(++)	3(+++)				3(++)				2(+)	2(+)	2(+)		3(++)	15
15	Edeem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)				++	2(++)	3(+++)			3(+)	3(++)				2(+)	2(++)	2(++)		3(+)	12
16	Edeem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)		(++)		2(++)	2(++)	3(+++)	3(++)			3(++)	3(+)		2(++)	2(++)	2(++)	2(++)			6
18	Edeem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)										3(++)		3(++)		2(+)	2(+)				14

TABEL 9(b) Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese, edematiese, kongestiewe- en bloedingsveranderinge by die nadoodse ondersoek van varke besmet met die Little (M10)-AVP virus isolaat

Vark n.	Makroskopiese veranderinge	Ong-slym-vlies	Tand-vleis epl-teel	Vel	Sub-kutis	Ske-let-spie-re	Pleura en tho-rakale holte	Tragea en longe	Peri-kar-diale sak	Hart	Peri-toneum en ab-domen	Milt	Lower	Gal-blaas	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Blere	Bliese	Blase	Brein	Doer-wing-tyd (dae)
19	Edem Kongestie Petegiae Eglose Eksentiewe bloedings	3(+)	3(+++)					3(++)				3(+++)			2(+)	2(+)	3(+)				3(+++)	11
20	Edem Kongestie Petegiae Eglose Eksentiewe bloedings	3(+)	3(+++)				(++)	3(++)				3(+++)		3(+++)	2(++)	2(++)					3(+++) 3(+++)	7
21	Edem Kongestie Petegiae Eglose Eksentiewe bloedings	3(+)						3(++)				3(+++)				2(+)	2(+)					10
22	Edem Kongestie Petegiae Eglose Eksentiewe bloedings	3(+)						3(++)				3(++)				2(+)	2(+)					10

TABEL 9(b) Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese, edemateuse, kongestiewe- en bloedingsveranderinge by die nadoodse ondersoek van varke besmet met die Lillie (NIM)-AVP virus isolate

Varke no.	Makroskopiese veranderinge	Oog-slymvlies	Tandvleis epitheel	Vel	Subkutis	Skelet en spiere	Pleura en thorakale holte	Trachea en longe	Perikardiale sak	Peritoneum en abdomen	Milt	Lewer	Galblaas	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Hiere blaas	Brain	Oorlewings-tyd (dae)
23	Edem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)				2(++)	3(+++)	(+++)		3(++)	3(+)									8
24	Edem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)				2(++)	2(+++)	(++)		2(++)	3(+)		3(++)							8
25	Edem Kongestie Peteglae Egimose Ekstensiewe bloedings	3(+)				2(++)				3(++)	3(++)		3(+++)							8
Totaal //																				Gemiddeld ± SA 9,8 ± 2,81

Brein: Daar was slegs ligte tot matige kongestie en petegiale bloedings van die meninges en brein by enkele varke.

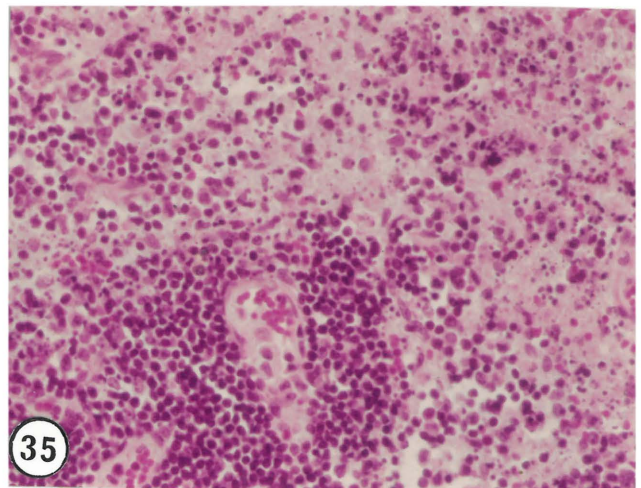
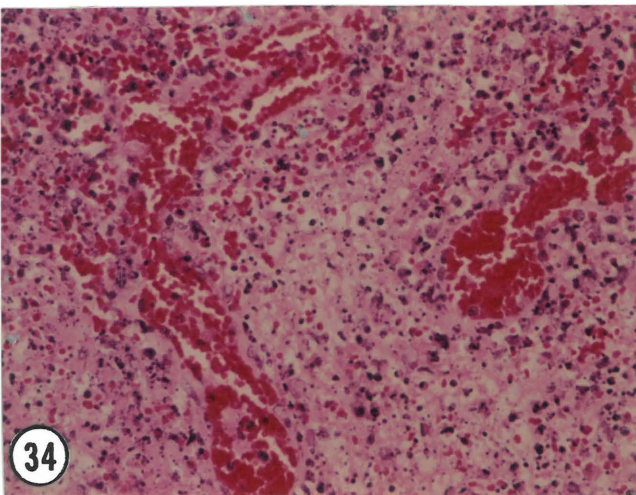
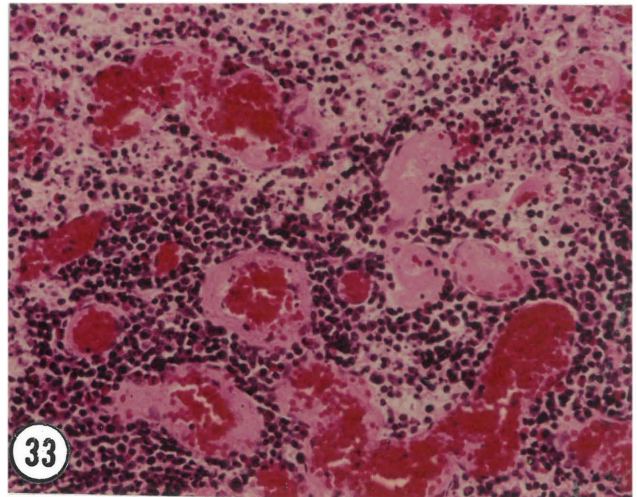
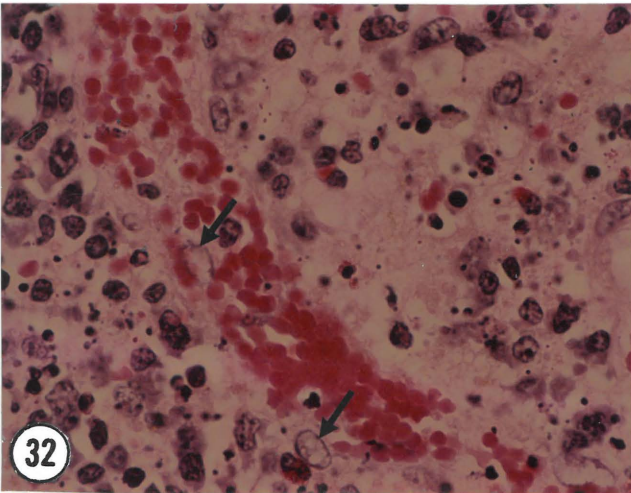
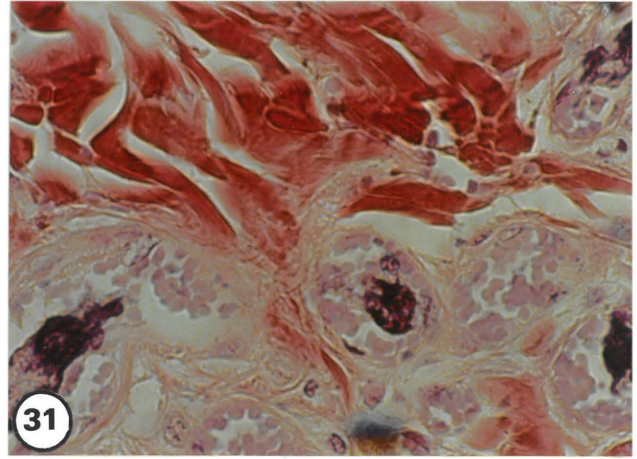
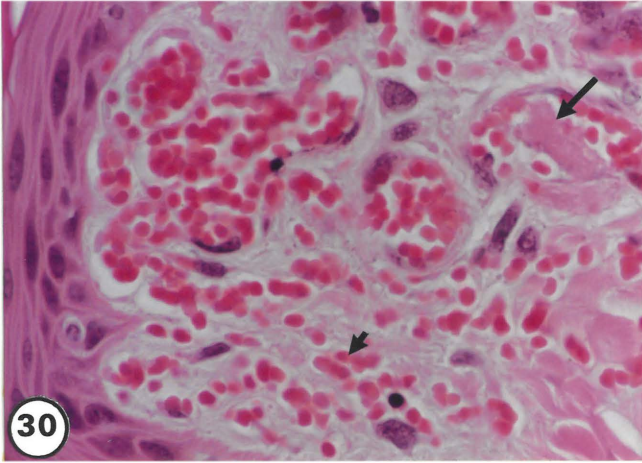
Mikroskopiese kongestiewe, bloedings, edemateuse en vaskulêre veranderinge

Vel: 'n Ligte tot matige perivaskulêre en subepidermale edeem was waarneembaar (Fig. 30) by 7 varke (nos 2, 3, 5 - 8 & 10) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 6 (nos 14, 17, 19 - 22) besmet met die NHD-AVP virus (Tabelle 10a & b). 'n Matige tot strawwe kongestie van die dermis was merkbaar by 7 varke (nos 1, 2, 5 - 8, 10 & 12) besmet met die HD-AVP isolate maar het voorgekom by slegs 5 varke (nos 16, 19 - 22) besmet met die NHD-AVP isolaat. Ligte tot matige bloedings was sigbaar in die boonste lae van die dermis (Fig. 30) by 6 varke (nos 1, 4, 6 - 8 & 10) besmet met die HD-AVP isolate en by 4 (nos 15, 16, 20 & 21) besmet met die NHD-AVP virus isolaat. Klein tot matige hoeveelhede leukosiet-arme eosinifiliese fibrillêre hialiene fibrien en homogene globulêre fibrineuse trombie wat blou-pers (positief) met die PTAH-kleurstof en donker-rooi-pienk met die gemodifiseerde MSB-kleurstof gekleur het was teenwoordig in die kapillêre, venules en arterioles van die boonste dermis by sekere varke (Fig. 30 & 31). Hierdie veranderinge was opvallend by 4 diere (nos 7, 8, 10 & 12) wat die HD-AVP isolate ontvang het en by 7 (nos 14 - 16, 19, 20 - 22) besmet met die NHD-AVP virus. Verder was daar 'n ligte tot matige endoteelsel nekrose en fibrinoïede veranderinge in die wande van hoofsaaklik die subepidermale en enkele groter dermale bloedvate by 9 varke (nos 2, 4 - 8, 10, 12 & 13) besmet met die HD-AVP isolate en by 7 (nos 14 - 16, 19 - 22) ingespuit met die NHD-AVP virus isolaat. Die endoteelselle het kariopiknose of swelling van die kerne en chromatien marginasie (vesikulêre kerne) vertoon. Fibrinoïede veranderinge was dikwels gekenmerk deur 'n gedeeltelike verlies in definisie van bloedvat buitelyne en die aansameling van 'n ligte eosinofiliese materiaal met 'n edeem en fibrienagtige voorkoms in die wande. Kleuring van bloedvatwande met die PTAH-kleurstof en die PAS-reaksie vir fibrien was egter meestal negatief tot swak positief (Tabelle 10a & b)..

Limfknope: Klein fokale tot uitgebreide bloedings kon in die retikulêre netwerk en sinusse van die limfknope waargeneem word. Bloedings het blykbaar meestal ontstaan deur nekrose van die wande van die kapillêre- en post-kapillêre venules in die retikulêre weefsel (Fig. 34) eerder as deur ekstravasasies uit die groter venules en arterioles. Matige tot strawwe fibrinoïede degenerasie en nekrose van intakte arterioles en venules kon in meeste foki van bloedings waargeneem word as swelling en homogene eosinofiliese verkleuring van die wande sonder dat disintegrasie en bloed ekstravasasies plaasgevind het (Fig. 33). Degenerasie en nekrose van endoteelselle was ook meestal in kapillêre vate, kleiner venules en arterioles sigbaar as strawwe swelling en vesikulasie van die kerne, loslating vanaf die basaalmembraan (Fig. 32) of kariorekse en piknose. Ten spyte van die strawwe vaskulêre letsels, kon relatief min aanduidings van DIS deur fibrienvorming in die lumen en bloedvatwande waargeneem word soos aangetoon in Tabela 11a & b. Slegs by 1 vark (no 12) besmet met 'n HD-AVP virus isolaat en by 2 (nos. 19 & 20) besmet met die NHD-AVP isolaat kon matige tot strawwe PTAH- en PAS-positiewe fibrien neerlegging in die lumen en wande van degeneratiewe bloedvate waargeneem word (Tabelle 11a & b). Behalwe vir enkele vesels in die adventitia van bloedvatwande wat Masson's trichroom-positief vir kollageen gekleur het, kon geen positiewe reaksies vir kollageen of amyloïed met die Masson's trichroom- of 'Congo Red' kleurstowwe in bloedvatwande gedemonstreer word waar dit aangewend is nie. Wisselende grade van fokale tot ekstensiewe retikuloëndoteel- en mononukleêre-sel nekrose en ligte fibrienneerlegging kon in die sinusse, korteks en medulla van aangetaste limfknope waargeneem word. Nekrose is gekenmerk deur strawwe kariorekse en piknose in die kerne van limfoïede selle asook areas van verlies van definisie en homogene eosinofiliese verkleuring by retikulêre selle in die sinusstroma (Fig. 35). Limfosiete was dikwels skaars in die kiemsentra, behalwe vir enkele onvolwasse limfoblaste, makrofage, retikulêre selle en digverspreide nekrotiese kernfragmente. 'n Baie ligte vaskulitis kon slegs in die limfknope van enkele varke waargeneem word (Tabelle 11a & b). 'n Purulente limfadenitis was in die parotislimfknoop by 1 vark (no 14) teenwoordig. Kolonies van gram-positiewe kokkus bakterieë, morfologies verwant aan Staphy-

BYSKRIFTE TOT FIGURE 30 - 35

- FIG. 30 Kongestie en ligte tot matige edeem in boonste lae van dermis herkenbaar aan lig eosinofiliese uitmekaargedrewe bindweefselruimtes om bloedvate, asook ligte bloedings (kort pyl) en lig-eosinofiliese hialiene tot globulêre fibrineuse trombus (lang pyl) : HE x 3000
- FIG. 31 Gedeeltelik PTAH-positiewe donkerblou-pers tot pienk hialiene en globulêre fibrineuse trombi in boonste dermis : HE x 3000
- FIG. 32 Limfknoop met geswolle endoteelsekerne (pyle) in wand van vene met fibrinoïede veranderinge. Let ook op kario-rekse van leukosiete: HE x 2000
- FIG. 33 Limfknoop met verdikte wande van arterioles en venules met fibrinoïede veranderinge : HE x 2000
- FIG. 34 Bloedings in limfknoop as gevolg van degenerasie, nekrose en disintegrasie van kapillêre en venulêre bloedvatwande : HE x 2000
- FIG. 35 Strawwe diffuuse kario-rekse en piknose van mononukleêre leukosiete in limfknoop : HE x 2000



lococcus spp. kon in die limfknope van 2 varke (nos 11 & 12) besmet met die HD-AVP virusse waargeneem word.

Hart en perikardium: Wissellende grade van peri- en epikarditis was by enkele varke sigbaar. 'n Strawwe fibrineuse epi- en perikarditis gekenmerk deur fibrien eksudasie, mononukleêre-leukosiet infiltrasie en kariorekse asook 'n ligte vaskulitis en nekrose van hartspiervesels in die subepikardiale lae van die miokardium was opvallende veranderinge by 2 varke (nos 14 & 15) besmet met die NHD-AVP virus isolaat (Tabelle 10a & b). Die vaskulitis was gekenmerk deur nekrose van enkele endoteelselle en mononukleêre leukosiet infiltrasie in die wande van kleiner bloedvate. By vark no. 22, ook besmet met die NHD-AVP isolaat, was daar 'n soortgelyke vaskulitis en endoteelselnekrose aanwesig. Bykomstig was hier ook merkbare trombose en fokale areas van nekrose van spiervesels om die aangetaste bloedvate in die apeksgedeelte van die linker ventrikel. Nekrotiese foki was gekenmerk deur koagulatiewe sarkoplasma, piknotiese kerne, en verlies van individuele hartspiervesels, en was vermoedelik isgemies van oorsprong. Trombi was hoofsaaklik hialienagtig en matig tot sterk PTAH- en PAS-positief vir fibrien en het relatief min leukosiete bevat. Sekondêre bakteriese besmetting met Gram-positiewe kokkus-agtige bakterieë morfologies versoenbaar met Staphylococcus spp. organismes was by vark no. 22 tussen die hartspiervesels waarneembaar. 'n Fokale area van bloeding om 'n klein nekrotiese bloedvatwand wat vermoedelik aanleiding daartoe kon gegee het, is by 1 vark (no 10) besmet met die HD-AVP virus isolaat waargeneem (Fig. 36). Bloedings by mees-te varke was egter beperk tot klein fokale areas in die miokardium of onder die epi- en endokardium.

Longe: Daar was 'n matige tot strawwe interstisiële en alveolêre long edeem by 11 varke (nos 1 - 6, 9 - 13) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 11 (nos 14 - 17, 19 - 25) besmet met die NHD-AVP virus isolaat gekenmerk deur merkbare dilatasie van die interlobulêre septae en alveoli. Die edemateuse transudaat was blykbaar van 'n baie lae fibrien-inhoud met baie min oortuigende PAS- en PTAH-positiewe hialiene membrane teenwoordig.

Matige bloedings was by 2 varke (nos 11 & 12) besmet met die HD-AVP isolate en by 1 vark (no 17) besmet met die NHD-AVP virus isolaat waarneembaar.

Matige hoeveelhede globulêre trombi, gekenmerk deur 'n homogene matig PTAH- en PAS-positiewe materiaal sonder 'n fibrillêre voorkoms was by 3 varke (nos 3, 7 & 9) besmet met die HD-AVP isolate in c 25% van klein bloedvate sigbaar. Matige en merkbare hoeveelhede hialiene fibrien trombi (PTAH- en PAS-positief) in c 50% van klein bloedvate was by 2 varke (nos 14 & 21) besmet met die NHD-AVP virus teenwoordig. Matige hoeveelhede granulêre trombi (Fig. 37), ryk aan leukosiete en bloedselfragmente maar swak PAS- en PTAH-positief was by 9 varke (nos 3 - 7, 10 - 13) besmet met die HD-AVP isolate en by 10 (nos 14 - 17, 19 - 21, 23 - 25) gespuit met die NHD-AVP virus waarneembaar. Matige fibri-noïede veranderinge in die wande en ligte endoteelselnekrose van die meeste van die septale bloedvate was by 4 varke (nos 4, 5, 11 & 12) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 6 (nos 14, 17, 19, 23 - 25) besmet met die NHD-AVP virus sigbaar. By 2 varke (nos 4 & 5) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 1 (no 22) besmet met die NHD-AVP virus was 'n matige segmentale tot algehele vaskulitis waar die wande geheel en al aangetas was sigbaar. Hierdie veranderinge was hoofsaaklik gekenmerk deur mononukleêre leukosiet-, asook enkele neutrofiel en eosinofiel infiltrasies asook nekrose van die meeste van die septale bloedvatwande. 'n Ligte interstisiële pneumonie met strawwe kariorekse van baie van die mononukleêre leukosiete was ook merkbaar by hierdie varke.

Milt: Mikroskopiese veranderinge in die milt was meestal oorheers deur uitgebreide kongestie van die rooi pap met gevolglike merkbare verwydering van die sinusoïedes en verdringing van die wit pap tot minder en kleiner limfoïede follikels (Fig. 38). Matige bloedings wat dikwels moeilik was om te onderskei van kongestie en soms herkenbaar was aan opdamings van rooibloedselle en nekrose van sinusoïedwande in die rooi pap en limfoïede follikels was sigbaar by 5 varke (nos 4, 5, 8, 11 & 12) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 1 (no 23) besmet met die NHD-AVP isolaat (Tabel 9b). Multifokale infarksie gekenmerk deur trombose, uitgebreide areas van rooipap kongestie, hemoliese en nekrose was by 1 vark (no 12) teenwoordig. Verdagte nekrose van endoteel- en retikulê-

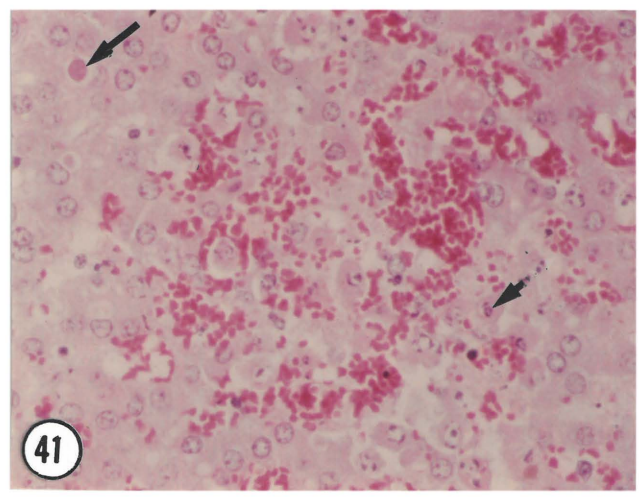
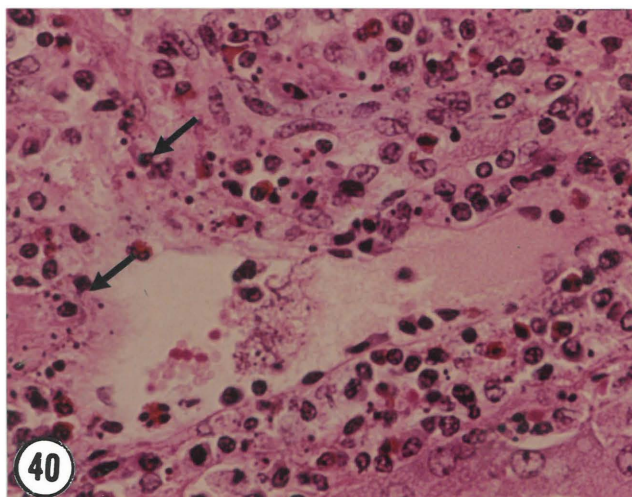
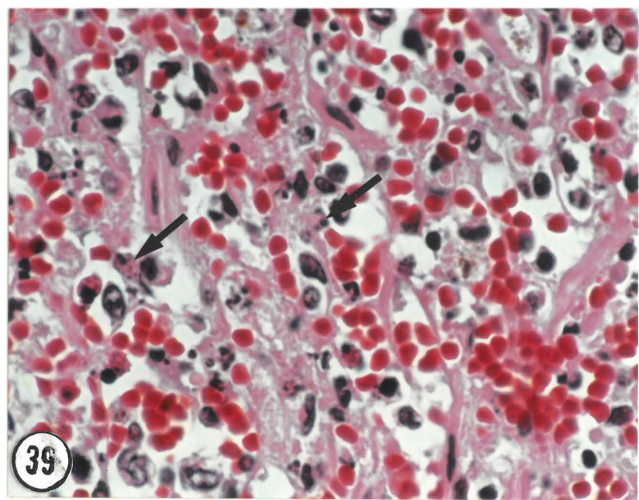
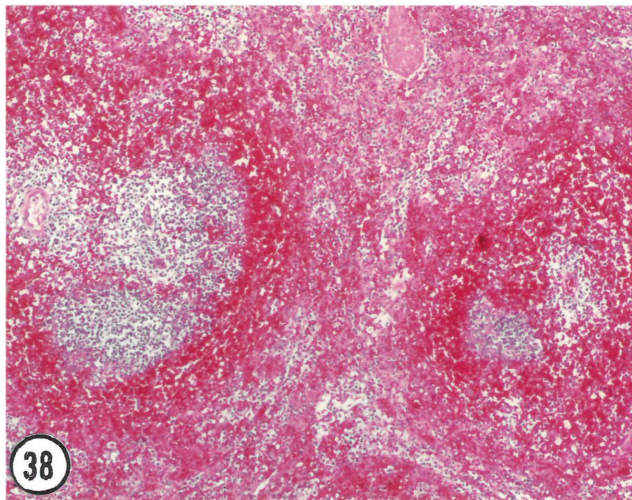
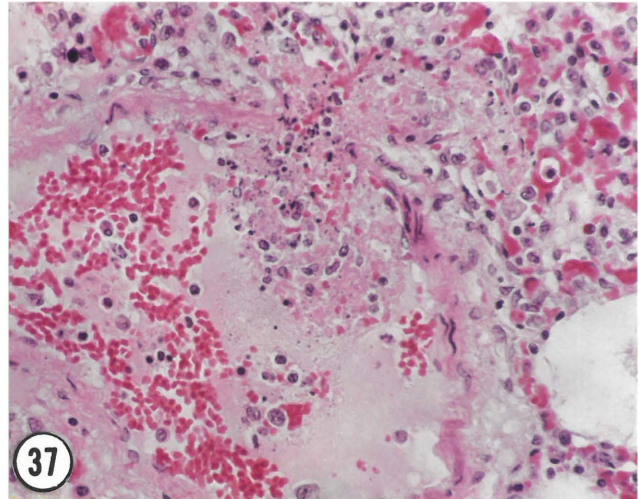
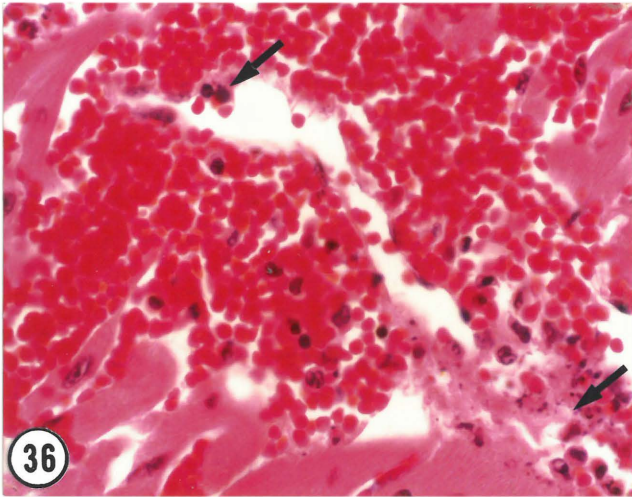
re selle (Fig. 39) in die sinusoidale wand van die rooipap was by alle varke teenwoordig. Dit was egter moeilik om nekrotiese sel-tipes met die ligmikroskoop te identifiseer. Benewens die nekrotiese selle in die sinusoidale wand was daar ook groot getalle verdagte mononukleêre leukosiete in die sinusoides met kariorekse, chromatien marginasie en piknose van die kerne. Dikwels kon uitgebreide foki van nekrose besaai met kernfragmente ingebed in fyn fibrillêre tot homogene eosinofiliese nekrotiese PAS- en PTAH-positiewe fibrineuse massas in die rooipap gesien word wat die sinusoides verplaas het. Hierdie was veral by vark no 12 opmerklik (Tabelle 10a & b).

Opvallende veranderinge, hoofsaaklik gekenmerk deur nekrose met kariorekse en piknose van c 25 - 75% mononukleêre leukosiete was sigbaar in die peri-arteriële limfoïede follikels van die wit pap. Nekrotiese selle was meestal monosiete en retikulêre selle met kernfragmente ingebed in 'n lig-eosinofiliese fyn fibrilêre tot homogene ligte PAS- en PTAH-positiewe fibrineuse massa. 'n Oormatige rooibloedseel indringing in die follikels was 'n verdere aanduiding van bloeding (Fig. 38) in die milt (Bloom & Fawcett, 1975b). Daar was egter 'n variasie in die graad van nekrose van limfoïede follikels by die varke besmet met die NHD-AVP virus isolaat waar die oorlewingsstye meer wisselvallig was. By 2 varke (nos 21 & 22) besmet met die isolaat was daar totale limfoïede follikel nekrose en kariorekse sigbaar as digverspreide kern fragmente ingebed in lig eosinofiliese fibrilêre materiaal wat die rooipap oral oorbrug het om verbindings tussen die limfoïede follikels te vorm. Die sentrale arteries in die limfoïede follikels het slegs by 1 vark (no 12) besmet met 'n HD-AVP virus isolaat en by 2 varke (nos 14 & 15) besmet met die NHD-AVP virus (Tabelle 10a & b) 'n matige fibrinoïede nekrose en trombose (matig tot sterk PTAH- en PAS-positief) vertoon.

Die SS skedes op die omtrek van die limfoïede follikels was totaal onsigbaar by 3 varke (nos 2, 12 & 13) besmet met die HD-AVP virus isolate en merkbaar verminder in getal en grootte by die oorblywende varke besmet met die HD- en NHD-AVP virus isolate (Fig. 38). Die oorblywende SS-skedes was sigbaar as lig eosinofiliese homogene tot gelamelleerde strukture met enkele PTAH- en

BYSKRIFTE TOT FIGURE 36 - 41

- FIG. 36 Fibrinoïede nekrose en disintegrasië van venulêre wand met bloeding in die hartspeer (pyle) : HE x 3000
- FIG. 37 Segmentale area van vaskulêre nekrose met 'n granulêre trombus in vene van die long : HE x 2000
- FIG. 38 Kongestie en bloeding van die milt gekenmerk deur verdringing en infiltrasie van limfoïede follikels met rooibloedselle. Let op die skaarste van duidelik sigbare SS skedes om limfoïede follikels : HE x 300
- FIG. 39 Nekrose met kariorekse van retikuloëndoteelselle (pyle) in die sinusoïedes van die milt : HE x 3000
- FIG. 40 Vaskulitis van interlobulêre vene in die lewer met infiltrasie van mononukleêre leukosiete en eosinofiele in die wand asook segmentale nekrose en endoteelselverlies (pyle) : HE x 3000
- FIG. 41 Fokale area van heptosellulêre nekrose en bloeding met eosinofiliese afsnoering van heptosellulêre sitoplasma of apoptiese liggaampies (lang pyl) en kariorekse van nekrotiese heptosiete (kort pyl) : HE x 2000



PAS-positiewe fibrien vesels en kariorekse van die kerne om die kapillêre vate. Geen oortuigende trombose, behalwe vir ligte PTAH- en PAS-positiewe fibrienneerlegging kon in die bloedvate van SS-skedes waargeneem word nie. By 1 vark (no 22) besmet met die NHD-AVP virus isolaat was die SS-skedes prominent sigbaar as gelamelleerde strukture met prolifererende makrofage daarin. 'n Ligte tot matige fibrinoïede nekrose was teenwoordig by ongeveer 50% van die arterioles in die rooipap by beide die varke besmet met die HD- en NHD-AVP virus isolate.

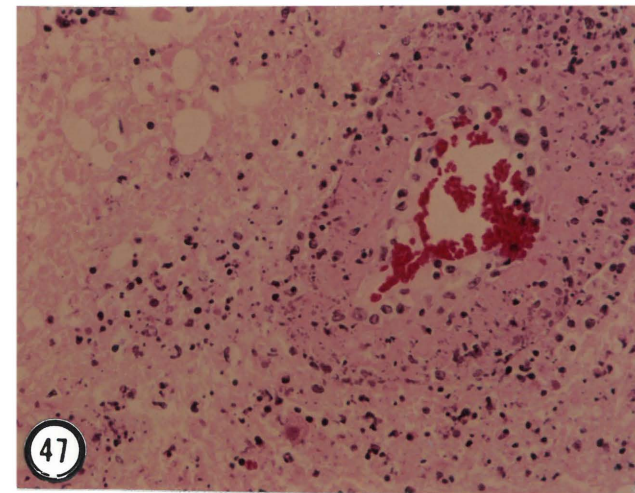
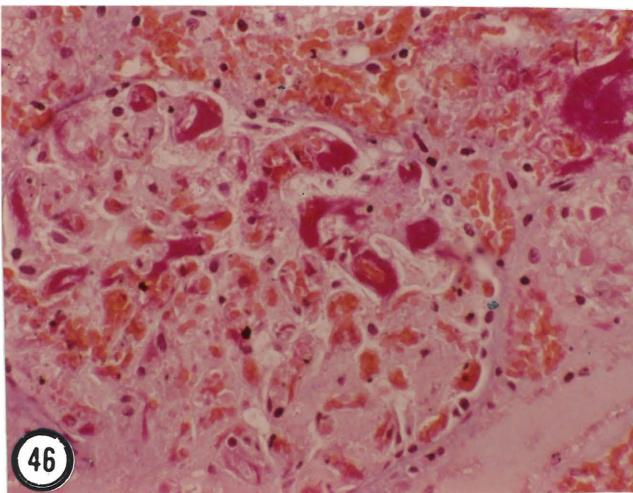
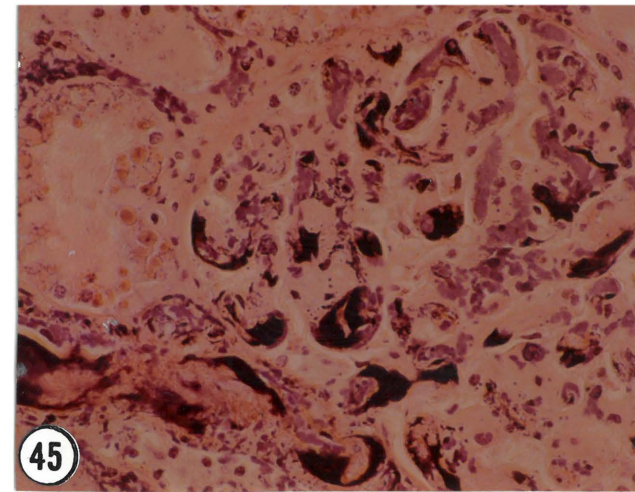
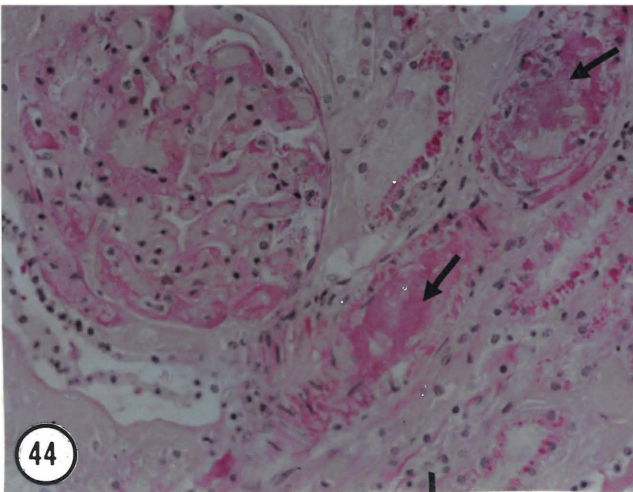
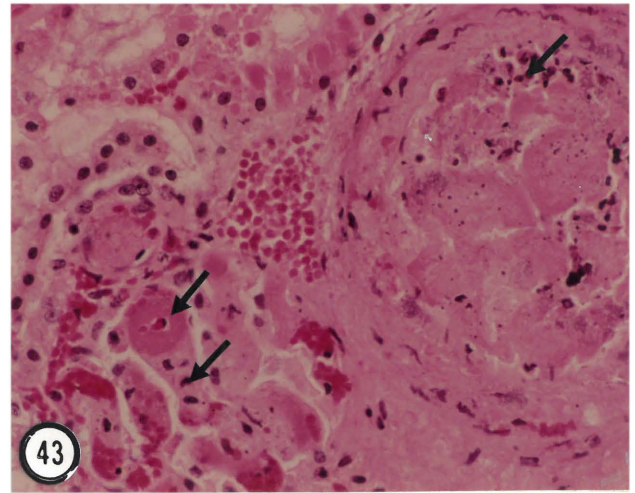
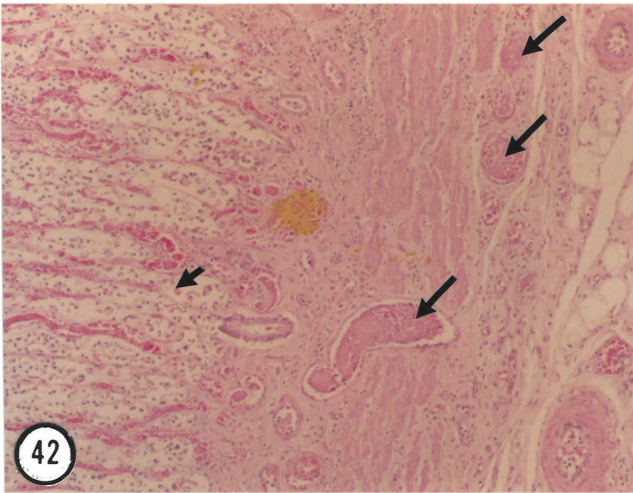
'n Ligte tot matige vaskulitis, gekenmerk deur nekrose en infiltrasie van mononukleêre leukosiete hoofsaaklik vanuit die adventitia in die wand van venes en arteries in die rooipap en trabeculae was sigbaar by 11 varke (nos 2 - 7, 9, 10, 12 & 13) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 10 (nos 14 - 19, 21 - 23 & 25) gespuit met die NHD-AVP isolaat. Infiltrasie het hoofsaaklik vanaf die adventitia in die tunica media, intima en lumen plaasgevind. Nekrose van enkele endoteelselle was ook sigbaar in die intima, maar trombose was skaars in hierdie bloedvate.

Lewer: Behalwe vir 1 vark (no 3) kon lewermonsters van alle varke histopatologies ondersoek word. 'n Ligte tot matige kongestie en edeem gekenmerk deur 'n dilatasie van die limfkanale in die interlobulêre septae en spasies van Disse kon by enkele varke besmet met beide die HD-virus isolate en die NHD-AVP virus isolaat waargeneem word (Tabelle 10a & b). Slegs ligte bloedings was in klein multifokale nekrotiese foki by 1 vark (no 12) ingespuit met 'n HD-AVP isolaat en by 2 varke (nos 23 & 24) besmet met die NHD-AVP virus waarneembaar (Fig. 41). Matige tot strawwe infiltrasies van hoofsaaklik verdagte mononukleêre leukosiete waarvan talle kariorekse vertoon het, was prominent in die portale bane en interlobulêre septae by meeste varke (Fig. 40). Wissellende hoeveelhede eosinofiele en neutrofiële was ook sigbaar. Leukosietinfiltrasie in die portale bane het dikwels tot in die wande van die interlobulêre bloed en limfvate ingedring maar kolangitis was nooit opvallend nie. 'n Ligte tot matige fibrinoïede nekrose en vaskulitis was teenwoordig in die venes en enkele arteries en limfvate van die portale bane by 5 varke (nos 2, 5 - 7 & 12) besmet met die HD-AVP isolate en by 8 varke (nos 15 - 17, 19, 20, 23 - 25) besmet

met die NHD-AVP virus isolaat. Bindweefsel en spierwesels in die adventitia en tunica media was uitmekaargedryf deur 'n lig eosinofiliese fyn fibrillêre tot homogene materiaal of gehialiniseer tot dowwe homogene eosinofiliese strukture sonder duidelike buitelyste. Spierweselkerne in die tunica media was dikwels bleek en opgeswel of soms gefragmenteerd of piknoties. Talle endoteelselle het opvallende kernswelling, chromatien verlies en soms kariorekse vertoon, terwyl die kontinuiteit van die intima in baie bloedvate erg verbreek was (Fig. 40). Infiltrasies van mononukleêre leukosiete, vermoedelik monosiete en limfosiete asook eosinofiele in die portale bloed- en limfvatwande was soms baie straf en het gepaard gegaan met kariorekse, piknose en nekrose van bloedvatwande (Fig. 40). Alhoewel infiltrasies mees prominent in die adventitia en tunica media was, kon strawwe binnedringing en nekrose van die intima by etlike bloedvate gesien word sodat nekrotiese endoteel en leukosiete soms moeilik onderskeibaar was. Ten spyte van die prominente vaskulêre letsels was daar verbasend min bloedings om die beskadigde bloedvate. Trombose was ewe skaars en trombi was hoofsaaklik beperk tot fibrien-arme granulêre neerslae van leukosiete en bloedselfragmente wat meestal los van bloedvatwandletsels in die lumen gelê het. Die fibrinoïede materiaal in die bloedvatwande het dikwels negatief tot swak positief vir fibrien gekleur met die PTAH kleurmetode en swak tot matig positief met die PAS-reaksie (Tabelle 10a & b). Die granulêre en globulêre trombi in die lumen van bloedvate het meestal swak positief en matig positief met die PTAH- en PAS-metodes respektiewelik gekleur wat verdere bewys van hul lae fibrien-inhoud gelewer het (Pearse, 1985a). Matige hoeveelhede PTAH- en PAS-positiewe fibrien neerslae is slegs in die sinusoïede van 2 varke (nos 11 & 12) besmet met die CV-HD-AVP virus isolaat waargeneem. Wissellende grade van hepatosellulêre degenerasie en nekrose van enkel of klein groepies selle was by meeste varke teenwoordig. Die degenerasie was meestal hidropies van aard en die nekrotiese selle het hoofsaaklik kern vesikulasie en chromatien marginasie vertoon. Sentrilobulêre, multifokale en periportale nekrose was by 2 varke (nos. 4 & 12) besmet met die CV-HD-AVP isolaat en by 3 varke (nos 17, 23 & 24) besmet met die NHD-AVP virus isolaat teenwoordig. Enkele of klein foki van hepatosiete met sitoplasmiese krimpings, sterk eosinofiliese verkleuring en sitoplasmiese afsnoerings, wat ooreengestem

BYSKRIFTE TOT FIGURE 42 - 47

- FIG. 42 Hialiene fibrineuse trombi in submukosa van die maagwand (lang pyl) onder area van isgemiese nekrose in mukosa (kort pyl) : HE x 1200
- FIG. 43 Groot en klein granulêre tot hialiene fibrineuse trombi in tak van interlobulêre arteriole en glomerulêre kapillêr van die nier (pyle) : HE x 3000
- FIG. 44 Gedeeltelik-PAS-positiewe rooi-pienk fibrineuse trombi in afferente arterioles en glomerulêre kapillêre van die nier : PAS x 3000
- FIG. 45 Gedeeltelik-PTAH-positiewe donkerblou tot bruin fibrineuse trombi in afferente arteriole en glomerulêre kapillêr van die nier : PTAH x 3000
- FIG. 46 Gedeeltelik-MSB-positiewe donkerrooi tot pienk fibrineuse trombi in afferente arteriole en glomerulêre kapillêr van die nier : MSB x 3000
- FIG. 47 Nekrotiese vaskulitis in arteriole van die brein omring deur areas van vakuolisasie van die neuropil asook gliose en kariorekse van leukosiete : HE x 3000



het met die sogenaamde "apoptotiese liggaampies" wat by Slenkdal-koors (Jubb et al., 1985a), en sekere lewer toestande gesien word (Kerr, Wyllie & Currie, 1972) kon ook in hierdie varke waargeneem word (Fig. 41).

Maag en dermkanaal: Maagwandmonsters is slegs histopatologies ondersoek waar bloedings en nekrose makroskopies sigbaar was. By 1 vark (no 19) besmet met die NHD-AVP virus waar nekrose en ulserasie van die maagwand opvallend was, kon strawwe trombose en gelokaliseerde areas van isgemiese nekrose gesien word (Fig. 42). By meeste van die aangetaste gevalle kon egter slegs ligte grade van intravaskulêre stollings en nekrose in die maagwand gesien word (Tabelle 10a & b). Bloedvat trombi het matige PAS- en PTAH-positiewe kleurreaksies en die fibrillêre voorkoms van fibrien vertoon.

Slegs ligte edemateuse, kongestiewe en intravaskulêre stollingsveranderinge sonder opvallende isgemiese veranderinge kon in die dun- en dikdermwande waargeneem word. Bloeding was telkens tot klein fokale areas in die villi en submukosa beperk (Tabelle 10a & b).

Niere: Bloedings, kongestie, trombose, degenerasie en nekrose was die belangrikste histopatologiese veranderinge wat in die niere gesien is. Strawwe fokale tot fokaal-ekstensiewe bloedings, soms moeilik om van kongestie te onderskei, was redelik wydverspreid maar hoofsaaklik in die korteks sigbaar by 3 varke (nos. 8, 10 & 12) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 2 (nos. 19 & 20) wat die NHD-AVP virus ontvang het. Petegiae en egimose was min of meer eweredig versprei deur die korteks en tot 'n mindere mate in die medulla by 8 varke (nos. 2-7, 9 & 11) ingespuut met die HD-AVP isolate, maar het voorgekom by slegs 1 dier (no. 16), besmet met die NHD-AVP virus (Tabelle 10a & b).

Fibrinoïede nekrose en trombose, hoofsaaklik in die arteries en venes van die korteks, was sigbaar by 5 varke (nos 4, 8, 9, 11 & 12) besmet met die HD-AVP isolate en by 4 varke (nos 14, 17, 19 & 20) ingespuut met die NHD-AVP virus (Fig. 43). Nekrose van bloedvatwande het dikwels die tunica media en intima ingesluit met segmentale swelling, degenerasie en nekrose van endoteelselle of

onherkenbare vernietiging van die tunica interna. Trombi was saamgestel uit lig eosinofiliese fibrineuse hialiene en globulêre plasma proteïen neerslae of granulêre bloedselfragmente wat die lumen van bloedvate geheel of gedeeltelik afgesluit het (Fig. 43). Positiewe kleuring met die PAS-, PTAH-, en gemodifiseerde MSB-kleurmetodes (Fig. 44-46) het gedui op die teenwoordigheid van fibrien en fibrineuse materiaal in die lumen, asook die infiltrasie van lig eosinofiliese fibrillêre tot homogene PAS- en PTAH-positiewe fibrineuse materiaal onder die endoteel en basaal membraan van die bloedvatwande. Verdagte nekrose en disintegrasie van die klein intertubulêre bloedvatwande kon ook ligmikroskopies in die areas van bloeding in die korteks en medulla waargeneem word.

Akute glomerulonefritis met variërende grade van glomerulêre swelling, kongestie en nekrose van verdagte endoteel- en mesangiaalselle, teenwoordigheid van wissellende hoeveelhede fibrineuse hialiene en globulêre trombi in kapillêre asook bloedings en plasmaproteïen aansamelings in Bowman se ruimtes (Fig. 43 & 43) en nierbuisies was opvallende veranderinge by 7 varke (nos 2, 3, 4, 8, 9, 11 & 12) besmet met die HD-AVP isolate en by 6 (nos 14 - 16, 19, 20, 22) besmet met die NHD-AVP virus (Tabelle 10a & b). Nekrotiese veranderinge in die glomerulêre selle met kariopiknose en kariorekse was soms moeilik om van leukosietfragmente in die kapillêre van die glomeruli te onderskei. Die fibrineuse materiaal in die glomerulêre vate het matig tot sterk positief gekleur met die PAS- (Fig. 44), en PTAH- (Fig. 45) reaksies asook met ons modifikasie van die MSB kleurmetode (Fig. 46).

Strawwe, diffuse kortikale degenerasie en nekrose, met swelling van die tubulêre-epiteelselle, vakuolisasie, verlies van sitoplasmiese eosinofilie en kernbasofilie en kariopiknose van die tubulêre epiteelselle, het 'n bleek voorkoms teenoor die kongestiewe en bloedingsveranderinge aan die kortikale parengiem verleen. Hierdie was opvallende veranderinge by 5 varke (nos 8-12) besmet met die HD-AVP virus isolate en by 2 (nos 19 & 20) wat die NHD-AVP virus ontvang het. Die epiteelselle in die medulla het opvallend sterker eosinofilies en basofilies verkleur. Matige tot ligter degeneratiewe en nekrotiese veranderinge was in die nier-

buisse by die oorblywende varke van beide groepe waarneembaar. Veranderinge was hoofsaaklik gekenmerk deur wissellende hoeveelhede hialienedruppels in die epiteelselle van die proksimale kronkelbuisse, asook homogene lig-eosinofiliese hialiene-, proteïen- en granulêre gietsels in die proksimale en distale kronkel- en versamelbuisse. Beide die hialiendruppels en gietsels in hierdie buise het matig tot sterk positief gekleur met die PAS-, PTAH- en MSB kleurmetodes, maar negatief vir hemoglobien met Pickworth se bensidien-metode (Pearse, 1985b).

Brein en meninges: 'n Ligte tot strawwe multifokale akute nekrotiese tot subakute vaskulitis in die meninges en brein was by 6 varke (nos 15 - 17, 20, 22 & 23) besmet met die NHD-AVP isolaat waarneembaar (Tabel 10a & b). Opvallende infiltrasies van mononukleêre leukosiete in die adventitia, tunica interna en lumen van arterioles en venes kon in die meninges en brein gesien word (Fig. 45). In strawwe gevalle is die omliggende meninges en selfs die breinweefsel geïnfiltreer deur talle mononukleêre leukosiete wat kariopiknose of kariorekse ondergaan het, soms met totale nekrose van bloedvatwande en omliggende breinweefsel (Fig. 47). Infiltrerende mononukleêre leukosiete was meestal omring deur 'n groot lig basofiliese tot amfofiliese sitoplasma. Oortuigende endoteelselnekrose was moeilik waarneembaar behalwe waar bloedvatwande totaal nekroties en vernietig was. Baie min tot geen fibrientrombi kon in bloedvate van die brein en meninges waargeneem word nie, selfs in bloedvate wat totaal nekroties was.

TABEL 10(a) Subjektiewe bepalings van die mikroskopiese vaskulêre en bloedingsveranderings by varke besmet met 4 verskillende virulente HD-AYP virus isolate

Vark no.	Virus isolaat	Histopatologiese veranderinge	Vel en aanhangsels	Hart en perikard	Longe en pleura	Milt	Lewer	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Brein en meninges	Oorlewir dae
1	CV	Edm			++							+	4
		Kong	++	+	++	++	+					+	
		Vaskulêre veranderinge	++	+	+	+						+	
		Ennk	+	+	+	+							
		Fibr		+	+	++							
		Infl											
		PTAH					+	+				+	
		PAS					+	+	+			+	
		Hial			+	+	+						
		Trombose				+	+					+	
		Gran				+		+				+	
		PTAH					+	+	+			+	
PAS					+	+	+			+			
2	CV	Edm	+		++		+					+	4
		Kong	++				+++	+		++	++	+	
		Vaskulêre veranderinge			+		+					+	
		Ennk	+			+	+					+	
		Fibr	+	+	+	++	++						
		Infl					+	+					
		PTAH				+					+	+	
		PAS	+	+	+	+	+	++		+	+	+	
		Hial	+	+	+	+	+					++	
		Trombose	+			+	+	+				++	
		Gran				+		+				++	
		PTAH	+	+	+	+	+	+		+	+	+	
PAS	++	++	+	+	+	++		+	+	++			
3	CV	Edm	+		++							+	5
		Kong		+	+	++				+	++	+	
		Vaskulêre veranderinge				+	+					+	
		Ennk				+	++					+	
		Fibr					++				+	+	
		Infl					+						
		PTAH					+					++	
		PAS					+			+	+	++	
		Hial				+						+	
		Trombose				++	+					++	
		Gran				++						+	
		PTAH				+				+	+	+	
PAS				+	+			+	+	++			

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteelse nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 10(a) Subjektiewe bepalinge van die mikroskopiese vaskulêre en bloedingsveranderinge by varke besmet met 4 verskillende virulente HD-APV virus isolate

Vark no.	Virus isolaat	Histopatologiese veranderinge	Vel en aanhangsels	Hart en perikard	Longe en pleura	Milt	Lewer	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Brein en meninges	Oorlewidae	
4	CV	Edm			++							+	5	
		Kong	+	+	++	+++	+			++		+		
		Vaskulêre veranderinge	+	+	+	++					+			+
		Ennk	+	+	+	+						+		+
		Fibr	+	+	++	++						++		++
		Infl			++	+								+
		PTAH			+	++	+					++		+
		PAS				+	+	+			+	++		++
		Hial			+	+					+	++		
		Trombose				+	+					++		
		Gran				++						+		
		PTAH				+		+				++		+
		PAS				++	+	++			+	++		++
5	951	Edm	+		++							+	4	
		Kong	+++		++	++			+	+		+		
		Vaskulêre veranderinge			+	++								+
		Ennk	+		++	++						+		+
		Fibr	++		++	++	+							
		Infl			++	+	+							
		PTAH			+	+								
		PAS	++		+	+	++			+	+			+
		Hial	+	+	+	+								
		Trombose				+	+							
		Gran				++	+							
		PTAH				+								
		PAS	+				+	+		+	+			+
6	951	Edm	+		+++							+	4	
		Kong	++		+++	++			+	+		+		
		Vaskulêre veranderinge	+		+	+				+				
		Ennk			+	++	+							
		Fibr	+		-	++	+							
		Infl			+	+								
		PTAH			+	+						+		
		PAS	+		+	+	+					+		+
		Hial	+	+	+	+						+		
		Trombose				+	+					+		
		Gran		+	++							+		
		PTAH	+		+							+		
		PAS	+		+	+	+		+	+		+		+

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteelnekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle



Vark no.	Virus isolaat	Histopatologiese veranderinge	Vel en aanhangsels	Hart en perikard	Longe en pleura	Milt	Lewer	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Brein en meninges	Oorlewingsdae	
7	MWI	Edm	+		+				+	+		+	4	
		Kong	+++	+	+	++						+		
		Vaskulêre veranderinge	+	++	+	+								+
		Ennk	+	+	+	++						+		
		Fibr	++	++	+	++	+					+		+
		Infl					+	+				+		+
		PTAH					+					+		
		PAS	++	++	+	+	+	++		+	+	+		
		Hial	++	+	+	+	+			+	+			
		Trombose					++					+		
		Gran	+	+	++									
		PTAH	++	++	+							+		
PAS	+		+		+			+	+					
8	951	Edm	+		+			+		+		+	5	
		Kong	++			+++		+	+	+	+++	+		
		Vaskulêre veranderinge	+	+		++					+++	+		
		Ennk	+			++					+			
		Fibr	++			++					++			
		Infl												
		PTAH						+			+			
		PAS	++		+	+								+
		Hial	++	+		+			+	+		+		
		Trombose					+					+		
		Gran				+						++		
		PTAH	++			+			+		+			
PAS	++		+		+		+	+	+		+			
9	DR	Edm			++							+	5	
		Kong		+	+	++					++			
		Vaskulêre veranderinge		+	+	+				+	+			
		Ennk			+	++					+			
		Fibr			+	++					++			
		Infl			+	+								
		PTAH			+	+					+			
		PAS				++		+			+	+		
		Hial		+	+	-					++			
		Trombose				++					++			
		Gran			+						++			
		PTAH			+	+					++			
PAS			-	+		+				+				

Edm = Edeem
Kong = Kongestie
Bld = Bloeding

Ennk = Endoteelisel nekrose
Fibr = Fibriniedede veranderinge
Infl = Vaskulêre inflamatoriese veranderinge
PTAH = Fosfowolframsuur-nematoksilien kleurreaksie
PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

Hial = Hialien trombi
Glob = Globulêre trombi
Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 10(a) Subjektiewe bepalinge van die mikroskopiese vasculêre en bloedingsveranderinge by varke besmet met 4 verskillende virulente HD-AVP virus isolate

Vark no.	Virus isolaat	Histopatologiese veranderinge	Vel en aanhangsels	Hart en perikard	Longe en pleura	Milt	Lewer	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Brein en meninges	Oorlewings-dae	
10	DR	Edm	+		++		+			+		+	5	
		Kong	++	+	+	++					++			
		Vaskulêre veranderinge	+			+					+	++		
		Ennk	+		+	++						++		
		Fibr	++		+	++						++		
		Infl				+	++							
		PTAH				+						+		
		PAS	++			+	+	+				+		+
		Hial	++			+	+							
		Trombose												
		Gran		+	++	+					+			
		PTAH	++		+	+	+				+			
		PAS	++		+	+	+				++	+		
11	CV	Edm			+++							+	5	
		Kong		+	++	+++					++			
		Vaskulêre veranderinge		+	++	++						+		
		Ennk			+	++						+		
		Fibr			++	++						+		
		Infl				+								
		PTAH					+	+				+		
		PAS		+	+	+	+	+				+		+
		Hial					+	++				+		
		Trombose												
		Gran		+	++		++			++	+			
		PTAH				+	++			+				
		PAS		+	+	++	++			++	+			
12	CV	Edm			+++							+	5	
		Kong	++		++	+++	+				+++			
		Vaskulêre veranderinge			+	++	+					+++		
		Ennk	+		+	++	++							+
		Fibr	++		++	++	+					+		
		Infl			+	+	+	++						
		PTAH				+	++	++				+		
		PAS	++			+	++	++	+			++		+
		Hial	++			+	++	++	+			++		
		Trombose												
		Gran			++	++	++			++	++			
		PTAH	++		+	+++	++	+		+++	++			
		PAS	++		++	+++	++			+++	++			

 dm = Edeem
 kong = Kongestie
 bloed = Bloeding

 Ennk = Endoteel nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-nematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 10(b) Subjektiewe bepalings van die mikroskopiese bloedings en vasculêre veranderings by varke besmet met die Lillie NHD-AYP virus

Vark no.	Histopatologiese veranderinge	Vel en aanhangsels	Hart en perikard	Longe en pleura	Milt	Lewer	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Brein en meninges	Oorlewings-dae
20	Edm	++		++							+	7
	Kong	+++		+	+	+				+++		
	Vaskulêre veranderinge	+			+					+++		
	Ennk	++			++	+				++	+	
	Fibr	++			++	+				+++	++	
	Infl					++					++	
	PTAH				+					++		
	PAS	++	+		+	++				++	+	
	Hial	++			+	+	+			++	+	
	Trombose	++	+		+					++		
21	Edm	+		++							+	10
	Kong	+++		+	+							
	Vaskulêre veranderinge	+										
	Ennk	++	+	+	++						+	
	Fibr	++		+	++						+	
	Infl		+		+						+	
	PTAH		+		+	+				+		
	PAS	+	+		+	+				+	+	
	Hial	++	++	++	+	+						
	Trombose	+	++	+	+	+	+					
22	Edm	++		++								10
	Kong	++		+++	+							
	Vaskulêre veranderinge				+							
	Ennk	+	++	+	+					+	++	
	Fibr	+	++	+	+					+	+++	
	Infl		++	++	+					+	+++	
	PTAH		+		+					+		
	PAS	++	++	+	+	+				+	++	
	Hial	++	+++	+	+	+						
	Trombose	+	+			+	+			++		
	Gran	+		+	+	+				++		
	PTAH	+	++	+	+	+				++		
	PAS	++	++	+	+	+				++		
										++		

 dm = Edeem
 kong = Kongestie
 ld = Bloeding

 Ennk = Endoteelstel nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 10(a) Subjektiewe bepalinge van die mikroskopiese vaskulêre en bloedingsveranderinge by varke besmet met 4 verskillende virulente HD-AVP virus isolate

Vark no.	Virus isolaat	Histopatologiese veranderinge	Vel en aanhangsels	Hart en perikard	Longe en pleura	Milt	Lewer	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Brein en meninges	Oorlewings-dae	
13	CV	Edm			+++		+		+	+			5	
		Kong	+	+	+	++	+		+	+	+			
		Vaskulêre veranderinge				+						+		
		Ennk	+		+	++				+	+	+		+
		Fibr	+		+	++						+		
		Infl				+	+							
		PTAH				+		+						
		PAS	+	+	++	+	+			+	+	+		+
		Hial	+		+					+	+	+		+
		Trombose							+					+
		Glob	+		+									+
		Gran	+		++									+
		PTAH	+		+			+						+
PAS	+		++			+			+		++			
Totaal	-												Gemiddeld ±S: 4,6 ± 0,5	

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteelse nekrose
 Fibr = Fibrinofede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 10(b) Subjektiewe bepalinge van die mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderings by varke besmet met die Lillie NHD-AVP virus

Vark no.	Histopatologiese veranderinge	Vel en aanhangsels	Hart en perikard	Longe en pleura	Milt	Lewer	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Brein en meninges	Oorlewings-dae
14	Edm	+		++	+	+					+	15
	Kong	+	+		+						+	
	Vaskulêre veranderinge			++			+					
	Ennk	+	+	+	++						+	
	Fibr	+			++						+	
	Infl	+	+	+	++							
	PTAH			+	++							
	PAS	++	+	+	++	+				+	+	
	Hial	++	+	+++	+++	+		+		++	+	
	Trombose				+					+		
Gran	+	+	++							+		
PTAH			+	+++	+++			+	++	+		
PAS	++	+	+	+++	+++			+	++	+		
15	Edm			++				+			+	12
	Kong	+		+	+	++		+		++	+	
	Vaskulêre veranderinge	+			+			+			+	
	Ennk		+							+		
	Fibr	+	+								++	
	Infl		+			+						
	PTAH	+										
	PAS	+	+			+				+		
	Hial	++				++	+			+	+	
	Trombose	++	+			++				++		
Gran		+	++		++	+			++			
PTAH	++	++			++	+			++			
PAS	+				++							
16	Edm			++							+	6
	Kong	+++		+	++		+					
	Vaskulêre veranderinge	+		+	+							
	Ennk	+	+	+	++					+	+	
	Fibr	+	+	+	++	+					++	
	Infl				++	++						
	PTAH				+							
	PAS		+	+	+		+					
	Hial	++		+	+	+	+			++		
	Trombose	+				+				+		
Gran	+	++	++	+	+				+			
PTAH		+	+						+			
PAS		++	++	+		++						

 dm = Edeem
 ong = Kongestie
 ld = Bloeding

 Ennk = Endoteelse nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatiese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-nematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 10(b) Subjektiewe bepalinge van die mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderings by varke besmet met die Lillie NHD-AVI virus

Vark no.	Histopatologiese veranderinge	Vel en ahangsels	Hart en perikard	Longe en pleura	Milt	Lewer	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Brein en meninges	Oorlewings-dae
17	Edm	+		++							+	8
	Kong	+	+	+	+					++	+	
	Vaskulêre veranderinge			++	+					+	+	
	Ennk	+		+		++				++		
	Fibr			++		+				++		
	Infl			+	+	+++					++	
	PTAH			+						+		
	PAS	+	+	+		+				+	+	
	Hial	+	+	+	+	+				+	+	
	Trombose				+	+				+		
Gran	+	+	++	+	+					+		
PTAH	+	+	+	+	+				+	++		
PAS			++	+	+				++			
18	Edm										+	14
	Kong				+							
	Vaskulêre veranderinge					+						
	Ennk					+						
	Fibr					+						
	Infl					+					+	
	PTAH					+						
	PAS					+	+			+		
	Hial					+	+				+	
	Trombose						+					
Gran												
PTAH					+	+						
PAS					+	+			+	+		
19	Edm	+		++							+	11
	Kong	++		++	++	+	+			++		
	Vaskulêre veranderinge				++	+	+			+		
	Ennk	++	+	+	++	+				++		
	Fibr	++	+	++	++					+++		
	Infl			+	+	++						
	PTAH			+	+					+		
	PAS			++	++	+				+++	+	
	Hial	++	+	+	++	+	++			+++	+	
	Trombose				+	+	++			+++		
Gran		++	++	+	+	++			++			
PTAH	++	+	+	+	+	++			++			
PAS	+		++	++	+	++				+		

 dm = Edeem
 kong = Kongestie
 bld = Bloeding

 Ennk = Endoteelse nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflamatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 10(b) Subjektiewe bepalings van die mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderings by varke besmet met die Lillie NHD-AYP virus

Vark no.	Histopatologiese veranderinge	Vel en aanhangsels	Hart en perikard	Longe en pleura	Milt	Lewer	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Brein en meninges	Oorlewings-dae
20	Edm	++		++							+	7
	Kong	+++		+	+	+				+++		
	Vaskulêre veranderinge	+			+					+++		
	Ennk	++			++	+				++	+	
	Fibr	++			++	+				+++	++	
	Infl					++					++	
	PTAH				+					++		
	PAS	++	+		+	++				++	+	
	Hial	++			+	+	+			++	+	
	Trombose	++	+		+					++		
21	Edm	+		++							+	10
	Kong	+++		+	+							
	Vaskulêre veranderinge	+										
	Ennk	++	+	+	++						+	
	Fibr	++		+	++						+	
	Infl			+		+					+	
	PTAH			+		+	+			+		
	PAS	+	+		+	+				+	+	
	Hial	++	++	++	+	+						
	Trombose	+	++	+	+	+	+					
22	Edm	++		++								10
	Kong	++		+++	+							
	Vaskulêre veranderinge				+							
	Ennk	+	++	+	+					+	++	
	Fibr	+	++	+	+					+	+++	
	Infl		++	++	+					+	+++	
	PTAH		+		+					+		
	PAS	++	++	+	+	+				+	++	
	Hial	++	+++	+	+	+						
	Trombose	+					+			++		
	Gran	+			+	+				++		
	PTAH	+	++	+	+	+				++		
	PAS	++	++	+	+	+				++		
										++		

 dm = Edeem
 kong = Kongestie
 ld = Bloeding

 Ennk = Endoteelstel nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 10(b) Subjektiewe bepalings van die mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderings by varke besmet met die Lillie NHD-AYP virus

Vark no.	Histopatologiese veranderinge	Vel en aanhangsels	Hart en perikard	Longe en pleura	Milt	Lewer	Maag	Dun-derm	Dik-derm	Niere	Brein en meninges	Oorlewings-dae
23	Edm			++		++					+	8
	Kong				++	++						
	Vaskulêre veranderinge			+	++	+						
	Ennk			+	+	+				+	+	
	Fibr			++	+	++					+	
	Infl			+	+	+					++	
	PTAH											
	PAS				++	++	+			+	+	
	Hial				+						+	
	Trombose				+	+					+	
24	Edm			++							+	8
	Kong			+	+							
	Vaskulêre veranderinge				+	+						
	Ennk			+						+	+	
	Fibr			+++		++				+	+	
	Infl			+		++						
	PTAH											
	PAS						+			+	+	
	Hial					+				+	+	
	Trombose				+					+	+	
25	Edm			++							+	8
	Kong			+	+							
	Vaskulêre veranderinge				+	++	+				+	
	Ennk			+	++	+				+	+	
	Fibr			++	++	++						
	Infl			+	+	++						
	PTAH				++	+						
	PAS				++	+					-	
	Hial				+	+				+	+	
	Trombose				+					+	+	
Totaal 12	Edm			++							+	Gemiddeld = SA 4,6 ± 0,3
	Kong			+	+							
	Vaskulêre veranderinge				+	++	+				+	
	Ennk			+	++	+				+	+	
	Fibr			++	++	++						
	Infl			+	+	++						
	PTAH				++	+						
	PAS				++	+					-	
	Hial				+	+				+	+	
	Trombose				+					+	+	

Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 f = Bloeding
 Ennk = Endoteelsel nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie
 e ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 11(a) Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese en mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderinge by noodlose ondersoek van die limfknope in varke besmet met die virulente HD- -AVP virus isolate

Vark no.	Virus iso-laai	Patologiese veranderinge	Mangels	Man-dibu-lêr	Parotis	Pre-skapu-lêr	Pre-fe-mo-raal	Bron-giaal	Gastro-hepa-ties	Me-sen-te-ries	Re-naal	Sub-lum-baal	Oorle-wing (dae)			
1	CV	Mikro- & makro-skopies	Edm Kong Bld						+	+			4			
		Mikro-skopies	Ennk Fibr						+	+						
		Vaskulêr	Infl PTAH PAS						+	+						
		Mikro-skopies	Hial Glob						+	+						
		Trombose	Gran PTAH PAS						+	+						
		Mikro- & makro-skopies	Edm Kong Bld	+						+	+				4	
		Mikro-skopies	Ennk Fibr	++						+	+					
		Vaskulêr	Infl PTAH PAS	+						++	+					
		Mikro-skopies	Hial Glob	+						+	+					
		Trombose	Gran PTAH PAS	+						+	+					
		Mikro- & makro-skopies	Edm Kong Bld		++					++	++					5
		Mikro-skopies	Ennk Fibr		+					+	+					
Vaskulêr	Infl PTAH PAS		++					+	+							
Mikro-skopies	Hial Glob		+					+	+							
Trombose	Gran PTAH PAS		+					+	+							

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteel nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-nematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 11(a) Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese en mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderinge by nadoodse ondersoek van die limfknope in varke besmet met die virulente HD- -AVP virus isolate

Vark no.	Virus iso-laai	Patologiese veranderinge	Mangels	Man-dibu-lêr	Parotis	Pre-skapu-lêr	Pre-fe-mo-raal	Bron-giaal	Gastro-hepa-ties	Me-sen-te-ries	Re-naal	Sub-lum-baal	Oorle-wing (dae)	
4	CV	Mikro- & makro-skopies	Edm	+		++			+	++			5	
			Kong	++			++	++		++	++			
			Bld	+			+			++	+			
		Mikro-skopies	Ennk	+			+	+		+	+			
			Fibr	+++			++	+++		+++	+++			
			Vaskulêr	Infl										
		Mikro-skopies	PTAH	+			+	+		+	+			
			PAS	++			++	++		++	++			
			Trombose	Hial	+		+			+	+			
		Mikro-skopies	Glob											
			PTAH	+			+	+		+	+			
			PAS	++			++	++		++	++			
5	951	Mikro- & makro-skopies	Edm	++					++		+		4	
			Kong	++				+	+	+				
			Bld					+++	+++	+++	+			
		Mikro-skopies	Ennk					+	+	+	+			
			Fibr	+				+	++	++	++	+		
			Vaskulêr	Infl										
		Mikro-skopies	PTAH	+					+	+	+			
			PAS	+				+	+	+	+	+		
			Trombose	Hial								+		
		Mikro-skopies	Glob											
			PTAH	+						+	+			
			PAS	+				+	+	+	+			
6	951	Mikro- & makro-skopies	Edm						++	++			4	
			Kong				++		++	++				
			Bld							++	+			
		Mikro-skopies	Ennk							+	+			
			Fibr				+			+++	+++			
			Vaskulêr	Infl										
		Mikro-skopies	PTAH											
			PAS											
			Trombose	Hial										
		Mikro-skopies	Glob											
			PTAH											
			PAS											

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteesl nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 11(a) Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese en mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderinge by nadoodse ondersoek van die lmfknoppe in varke besmet met die virulente HD- -AVP virus isolate

Yark no.	Virus iso-laai	Patologiese veranderinge	Mangels	Man-dibu-tiër	Parotis	Pre-skapu-lër	Pre-fe-mo-raal	Bron-giaal	Gastro-hepa-ties	Me-sen-teries	Re-naal	Sub-lum-baal	Oorle-wing (dae)
7	MWI	Mikro- & makro-skopies	Edm							+			4
			Kong	+			++	+		+++	++		
			Bld										
		Mikro-skopies	Ennk	+			+	+		+++			
		Vaskulêr	Fibr	+			+	++					
			Infl										
			PTAH							++	+		
			PAS	++			+	++		++	++		
		Mikro-skopies	Hial						+	++			
		Trombose	Glob										
	Gran												
	PTAH	+						++	+				
	PAS	+			+			++	++				
8	951	Mikro- & makro-skopies	Edm	+		+			+	+			5
			Kong							+	+		
			Bld	++			++			+++			
		Mikro-skopies	Ennk	+			+			+	+		
		Vaskulêr	Fibr	+			+			+	+		
			Infl										
			PTAH										
			PAS	+						+			
		Mikro-skopies	Hial	+									
		Trombose	Glob										
	Gran												
	PTAH												
	PAS							+					
9	DR	Mikro- & makro-skopies	Edm	+		+			+	+			5
			Kong	+					+	++			
			Bld	+									
		Mikro-skopies	Ennk				+			+	+		
		Vaskulêr	Fibr	+			++		++	+			
			Infl										
			PTAH	+					+				
			PAS	++			+		+	+			
		Mikro-skopies	Hial	+			+		+	+			
		Trombose	Glob										
	Gran												
	PTAH	+						+					
	PAS	++			+		++	+					

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteelse nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 11(a) Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese en mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderinge by nadoodse ondersoek van die limfknope in varke besmet met die virulente HD- -AVP virus isolate

Vark no.	Virus iso-laar	Patologiese veranderinge	Mangels	Man-dibu-lêr	Parotis	Pre-skapu-lêr	Pre-fe-mo-raal	Bron-giaal	Gastro-hepa-ties	Me-sen-te-ries	Re-naal	Sub-lum-baal	Oorie-wing (dae)		
10	DR	Mikro- & makro-skopies	Edm	+		+	+		+	+	+		5		
			Kong	++			+	++			+++	++			
			Bld	+				+		+++	+	+++			
		Mikro-skopies	Ennk		+		+	+		+	+	+			
			Fibr		++		++	++		++	++	++			
			Vaskulêr	Infl											
		Mikro-skopies	Trombose	PTAH											
				PAS				+	+			+			
				Hial		+		+	+					+	
				Glob											
				Gran											
				PTAH											
PAS		+			+		+			+					
11	CV	Mikro- & makro-skopies	Edm	++					+		+++		5		
			Kong	+				++		+	+				
			Bld							+	++	+			
		Mikro-skopies	Ennk		+			+		+		+			
			Fibr		+++			+++		+++		++			
			Vaskulêr	Infl						+					
		Mikro-skopies	Trombose	PTAH							+				
				PAS		+		+		+		+			
				Hial											
				Glob											
				Gran											
				PTAH		+		+						+	
PAS		+		+		+		+		+					
12	CV	Mikro- & makro-skopies	Edm	+++			+		++		+		5		
			Kong	+					+++		++				
			Bld						+++		++				
		Mikro-skopies	Ennk		+			+		+		+			
			Fibr		+++			+++		+++		+++			
			Vaskulêr	Infl											
		Mikro-skopies	Trombose	PTAH							++				
				PAS		++		++		++		+			
				Hial							++			+	
				Glob											
				Gran											
				PTAH		+					++				
PAS		+			+		++		+						

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteelsel nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 11(b)

Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese bloedings en vaskulêre veranderinge by nadoodse ondersoek van die limfknope in varke besmet met die virulente MHD-
-AVP virus isolaat

Vark no.	Patologiese veranderinge	Mangels	Man- dibu- lêr	Parotis	Pre- skapu- lêr	Pre- fe- mo- raal	Bron- giaal	Gastro- hepa- ties	Me- sen- te- ries	Re- naal	Sub- lum- baal	Oorle- wing (dae)		
23	Mikro- & makro- skopies	Edm			++	++						8		
		Kong			++	+		+++						
		Bld				+			+++					
	Mikro- skopies	Ennk				+	+		+					
		Fibr				+++	+++		+++					
		Vaskulêr												
		Infl												
	Trombose	PTAH				+	+		++					
		PAS												
		Hial												
	24	Mikro- & makro- skopies	Edm			+			++					8
			Kong						+		++			
Bld									+		+++			
Mikro- skopies		Ennk				+			+		+			
		Fibr				+++			+++		+++			
		Vaskulêr												
		Infl												
Trombose		PTAH												
		PAS												
		Hial												
25		Mikro- & makro- skopies	Edm		+			+	+				8	
			Kong								++			
	Bld								++		+++			
	Mikro- skopies	Ennk		+				+	+		+			
		Fibr		+++				+++	+++		+++			
		Vaskulêr												
		Infl												
	Trombose	PTAH												
		PAS		++			+		++		+			
		Hial												
	Trombose	Glob												
		Gran												
PTAH														
	PAS		+											

Totaal 12 Gemiddeld ± SA
9,8 ± 2,81

Edm = Edeem	Ennk = Endoteelsel nekrose	Hial = Hialien trombi
Kong = Kongestie	Fibr = Fibrinoïede veranderinge	Glob = Globulêre trombi
Bld = Bloeding	Infl = Vaskulêre inflammatiese veranderinge	Gran = Granulêre trombi
	PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie	
	PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie	

TABEL 11(a) Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese en mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderinge by nadoodse ondersoek van die limfknope in varke besmet met die virulente HD-AVP virus isolate

Vark no.	Virus iso-laai	Patologiese veranderinge	Mangels	Man-dibu-lêr	Parotis	Pre-skapu-lêr	Pre-fe-mo-raal	Bron-giaal	Gastro-hepa-ties	Me-sen-te-ries	Re-naal	Sub-lum-baal	Oorie-wing (dae)
13	CV	Mikro- & makro-skopies	Edm			+	+		+				5
			Kong	++		+	+			++	+	++	
			Bld			+	++	++	+++		+++		
		Mikro-skopies	Ennk				+		+	+	+		
			Fibr				+++		+++	++	+++		
		Vaskulêr	Infl										
			PTAH										
			PAS				+		+		+		
		Mikro-skopies	Hial				+		+		+		
			Glob										
		Trombose	Gran									+	
			PTAH						+		+		
			PAS					+	+		+		
Totaal	13											Gemiddeld ± SD 4,6 ± 0,5	

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteelsel nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 11(b) Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese en mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderinge by nadoodse ondersoek van die limfknope in varke besmet met die virulente HD- -AVP virus isolaat

Vark no.	Patologiese veranderinge	Mangels	Man- dibu- lêr	Parotfis	Pre- skapu- lêr	Pre- fe- mo- raal	Bron- giaal	Gastro- hepa- ties	Me- sen- te- ries	Re- naal	Sub- lum- baal	Oorle- wing (dae)
14	Mikro- & makro- skopies	Edm						+				15
		Kong						++	+			
		Bld							+++	+		
	Mikro- skopies	Ennk							+			
		Fibr										
		Vaskulêr			+++							
	Mikro- skopies	PTAH		+					+	+		
		PAS		++					++	+		
		Trombose										
	Mikro- skopies	Hial		+					++	+		
		Glob							+			
		Gran										
Mikro- skopies	PTAH		+					+	+			
	PAS		++					++	+			
	Trombose											
15	Mikro- & makro- skopies	Edm						+		+		12
		Kong						+				
		Bld		++	++			++	++	+	++	
	Mikro- skopies	Ennk		+	+	+	+		+	+	+	
		Fibr		++		+	++		++	+	+	
		Vaskulêr										
	Mikro- skopies	PTAH		+		++	++		++	+	+	
		PAS										
		Trombose										
	Mikro- skopies	Hial		+	+							
		Glob										
		Gran										
Mikro- skopies	PTAH							+				
	PAS		+		+	++		+	++	+		
	Trombose											
16	Mikro- & makro- skopies	Edm				+	+	+				6
		Kong					+	+				
		Bld					++		++			
	Mikro- skopies	Ennk		+				+	+	+		
		Fibr		++				++	++	+		
		Vaskulêr										
	Mikro- skopies	PTAH										
		PAS		++				++	++	+		
		Trombose										
	Mikro- skopies	Hial		+				+	+	+		
		Glob										
		Gran						+				
Mikro- skopies	PTAH											
	PAS		++				++	++	++			
	Trombose											

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteel sel nekrose
 Fibr = Fibrinotiede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflamatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien
 kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 11(b) Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese en mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderinge by nadoodse ondersoek van die limfknope in varke besmet met die virulente HD- -AVP virus isolaat

Vark no.	Patologiese veranderinge	Mangels	Man- dibu- lêr	Parotis	Pre- skapu- lêr	Pre- fe- mo- raal	Bron- giaal	Gastro- hepa- ties	Me- sen- te- ries	Re- naal	Sub- lum- baal	Oorle- wing (dae)	
20	Mikro- & makroskopies	Edm						++				7	
		Kong											
		Bld		+					++	+	+++		
	Mikroskopies	Ennk		+		+	+		+		+		
		Fibr		++		++	++		++	+	++		
		Vaskulêr	Infl										
	Vaskulêr	PTAH		++		+	++		++		++		
		PAS		++		++	++		++	+	++		
		Mikroskopies	Hial		++		+	++		++	+		++
			Glob		+		+	+		+			+
Trombose	Gran		+		+	+		+		+			
	PTAH		++		+	++		++		++			
	PAS		++		++	++		++	+	++			
21	Mikro- & makroskopies	Edm				++	+		+	+		10	
		Kong							++				
		Bld		+									
	Mikroskopies	Ennk		+		+	+				+		
		Fibr		+		+	++		+		+		
		Vaskulêr	Infl										
	Vaskulêr	PTAH											
		PAS		+		+	++			+	+		
		Mikroskopies	Hial		+								
			Glob										
Trombose	Gran												
	PTAH		+										
	PAS		+		+	+			+	+			
22	Mikro- & makroskopies	Edm		+		+		+		+		10	
		Kong		++		+			+		+		
		Bld									+		
	Mikroskopies	Ennk		+		+							
		Fibr		+		+							
		Vaskulêr	Infl										
	Vaskulêr	PTAH											
		PAS		++		+			+				
		Mikroskopies	Hial										
			Glob										
Trombose	Gran												
	PTAH												
	PAS		+		+			++					

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteelse nekrose
 Fibr = Fibriniede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

TABEL 11(b)

Subjektiewe bepalinge van die makroskopiese en mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderinge by naadoosde ondersoek van die limfknope in varke besmet met die virulente MHD- -AVP virus isolaat

Yark no.	Patologiese veranderinge	Mangels	Mandibulêr	Parotis	Pre-skapulêr	Pre-femorale	Brongiaal	Gastro-hepaties	Mesenteries	Re-naal	Sub-lum-baal	Oorlewing (dae)
17	Mikro- & makro-skopies	Edm Kong Bld	+									8
						++						
						+++		+				
						++						
	Mikro-skopies	Ennk				+						
	Vaskulêr	Fibr				+++						
		Infl				+						
		PTAH				+						
		PAS				++			+			
	Mikro-skopies	Hial				++			+			
	Trombose	Glob										
		Gran										
	PTAH				+			+				
	PAS				+			+				
18	Mikro- & makro-skopies	Edm Kong Bld		+		+	+		+	+		14
	Mikro-skopies	Ennk										
	Vaskulêr	Fibr		+		+	+					
		Infl										
		PTAH										
		PAS		+		+	+		+			
	Mikro-skopies	Hial										
	Trombose	Glob										
		Gran										
		PTAH										
		PAS		+		+	+	+				
19	Mikro- & makro-skopies	Edm Kong Bld		++		+	++		++	++	++	11
				++		++		++	++	++		
						+		++	++	+++		
	Mikro-skopies	Ennk		+		+	+		+	+	+	
	Vaskulêr	Fibr		+		+	+		+	+	+	
		Infl										
		PTAH		+			++		+	+	++	
		PAS		++		++	++		++	++	++	
	Mikro-skopies	Hial		+		+	+		++	++	++	
	Trombose	Glob		+		+	+					
		Gran					+					
		PTAH		++		+	++		++	++	++	
	PAS		+		+++	++		++	++	++		

 Edm = Edeem
 Kong = Kongestie
 Bld = Bloeding

 Ennk = Endoteelse nekrose
 Fibr = Fibrinoïede veranderinge
 Infl = Vaskulêre inflammatoriese veranderinge
 PTAH = Fosfowolframsuur-hematoksilien kleurreaksie
 PAS = Perjoodsuur-Schiff kleurreaksie

 Hial = Hialien trombi
 Glob = Globulêre trombi
 Gran = Granulêre trombi

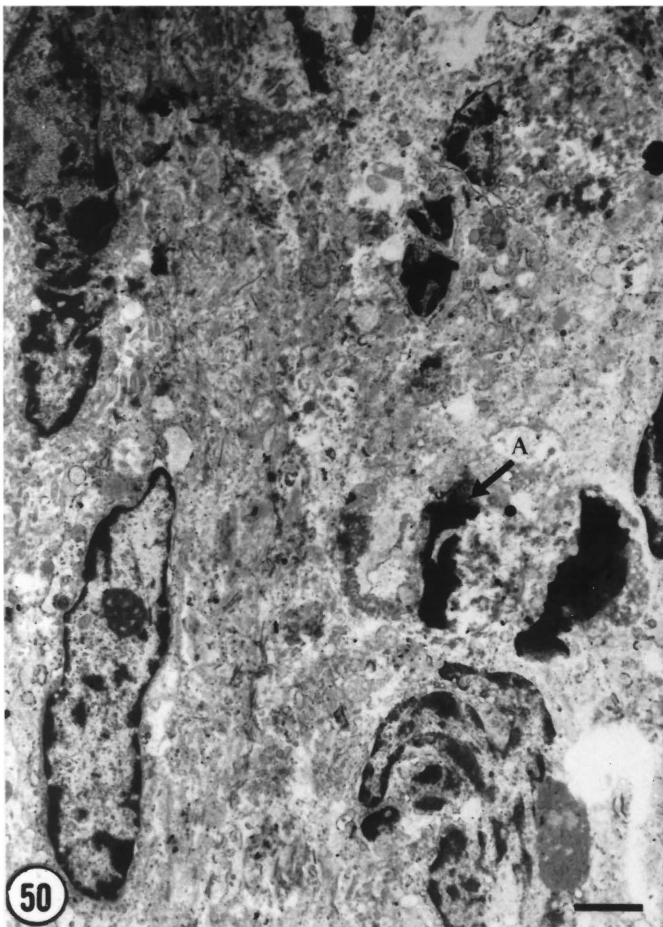
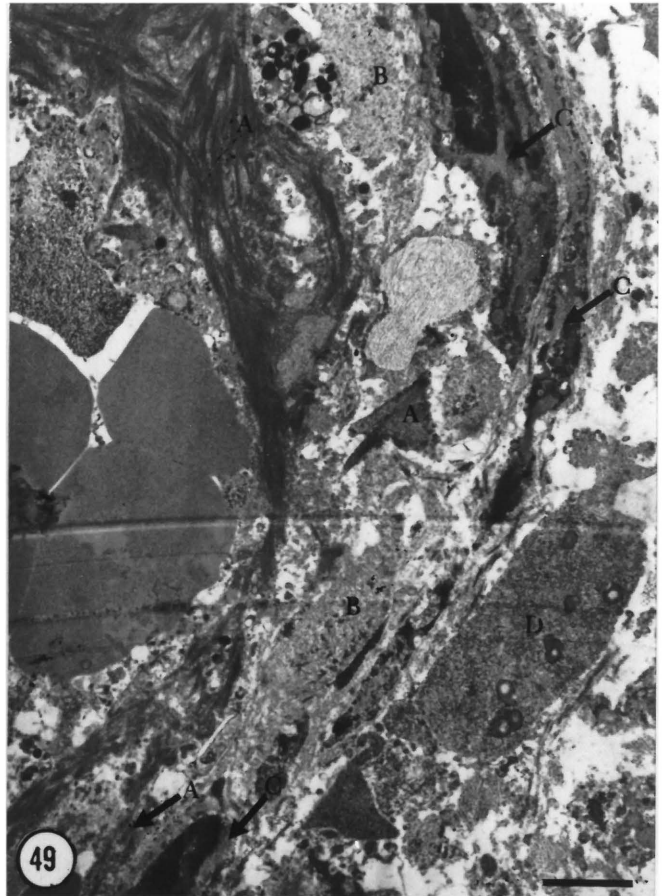
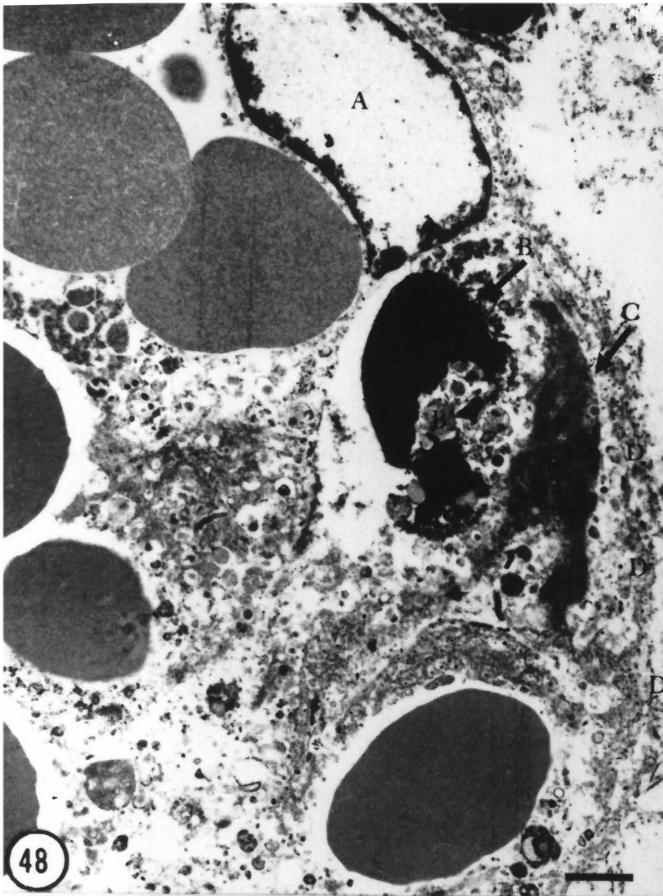
Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

ELEKTRONMIKROSKOPIESE VERANDERINGE

Limfknope: Die meeste van die veranderinge wat met die ligmikroskoop waargeneem is, is elektronmikroskopies bevestig. Spesiale aandag is aan die bloedvatveranderinge geskenk. Plasmaproteïenneerslae van varieërende hoeveelhede en wissellende elektron-digtheid asook rooibloedselle, leukosietfragmente en enkele bloedplaatjies kon in die lumen en wande van beskadigde bloedvate waargeneem word. Ligte flokulêre tot meer elektron-digte fibrineuse plasmaproteïenneerslae asook fibrillêre fibrien massas met of sonder die kenmerkende periodisiteit vir fibrien kon veral by vark no. 20 in die sinusoïedes, kapillêre venules en arterioles gesien word waar dit of vry in die lumen of in die wande van bloedvate voorgekom het (Fig. 48). Gefragmenteerde leukosiete was moeilik om te identifiseer, alhoewel sekere fragmente aan die ongelobde kerne en sitoplasmiese vakuole as monosiete of makrofage herkenbaar was. In enkele gevalle kon kenmerkende volwasse en onvolwasse partikels identies aan AVP virus in bloedplaatjies (Hoofstuk 2) in leukosietfragmente herken word. Daar was egter 'n opvallende skaarste van bloedplaatjies in trombie en plasmaproteïenneerslae in bloedvate van die limfknope. Baie van die endoteelselle het opvallende degeneratiewe of nekrotiese veranderinge, vertoon. Die degeneratiewe veranderinge is gekenmerk deur kernswelling en sitoplasmiese vakuolisasie terwyl nekrose sigbaar was as chromatienmarginasie, kariopiknose en afskilfering van die basaalmembraan. Sitoplasmiese veranderinge van endoteelselle was soms sigbaar as die aansameling van vakuoles, dilatasie van die endoplasmiese retikulum, en later lise of afskilfering van die basaalmembraan. Gedeeltelike disintegrasie van bloedvatwande of die vashegting en indringing van fibrien, rooibloedselle en ander bloedselfragmente in die wande kon dikwels waargeneem word (Fig. 48). Degeneratiewe en nekrotiese veranderinge kon ook in die dieper gladdespierslae van arterioles gesien word as die verdwyning van miofilamente in sommige selle of van individuele spierselle, kariorekse en fragmentasie van selle (Fig. 49) om amorge tot homogene massas van matige elektron-digtheid te vorm (Fig. 49 & 50). Tussen hierdie massas kon ook soms fibrien of fibrineuse materiaal van hoër elektrondigtheid waargeneem word. Alhoewel volwasse AVP-virus partikels soms in die wande van nekrotiese bloedvatwande voorgekom het, kon virus partikels nooit in die endoteelselle gesien word nie tenspyte van deeglike ondersoek.

BYSKRIFTE TOT FIGURE 48 - 51

- FIG. 48 Degeneratiewe endoteelsel met swelling en chromatien marginasie van die selkern (A); Gefragmenteerde nekrotiese leukosiet (B) en elektrondigte fibrien massa (C) teen ge-disintegreerde nekrotiese bloedvatwand (D) : X 5,000 (Staaft = 2μ)
- FIG. 49 Bloedvatwand met nekrose en neerlegging van elektrondigte fibrienvesels (A) teen binnewand, sowel as in dieper lae van wand (A); Amorfe verdagte degeneratiewe en nekrotiese gladdespierselle in die tunica media (B); Osmofiliese saamgetrekte gladdespiersel (C) en verdagte fibroblast (D) in adventitia : X 6,000 (Staaft = 2μ)
- FIG. 50 Degeneratiewe en nekrotiese amorfe gladdespierselle in die tunica media met verlies van gladdespierselwande, miofilamente en fragmentasie van kern (A) : X 5,500 (Staaft = 2μ)
- FIG. 51 Segment van interlobulêre vene in die lewer met endoteelsel verlies; gladdespierselle en onvolwasse onomhulde AYP virus partikel (A) (nie baie duidelik in hierdie foto) in tunica media : X 9,000 (Staaft = 1μ)



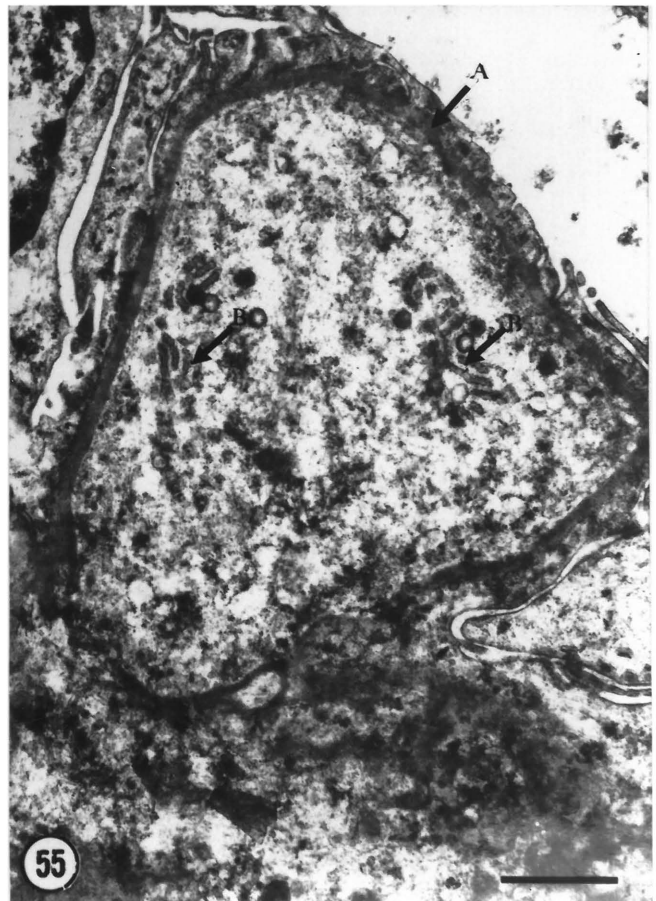
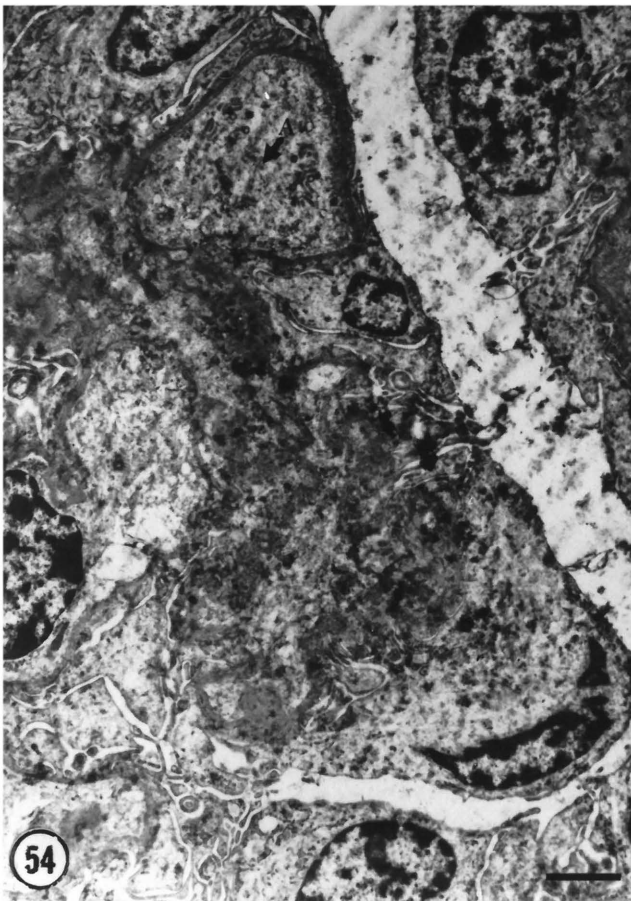
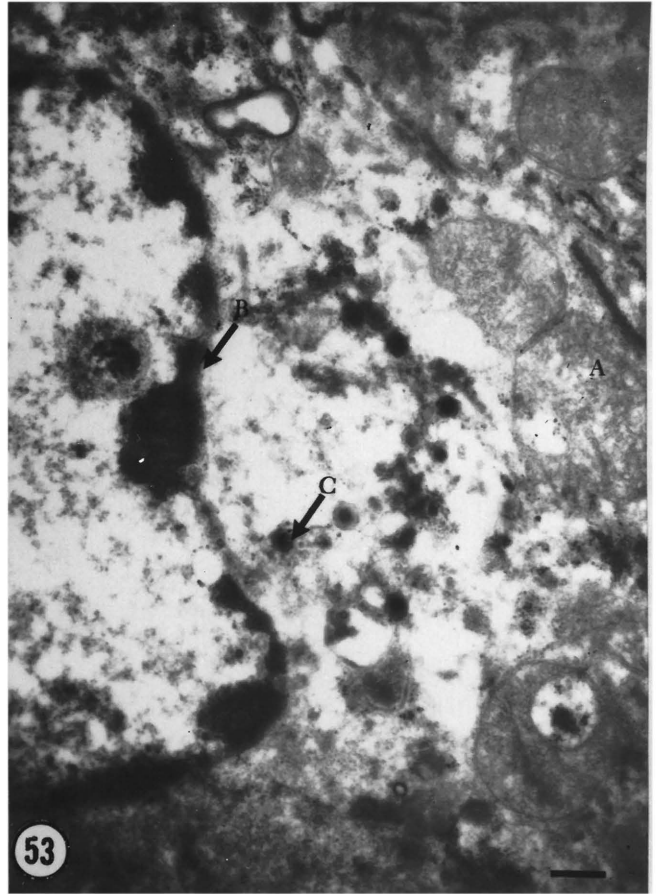
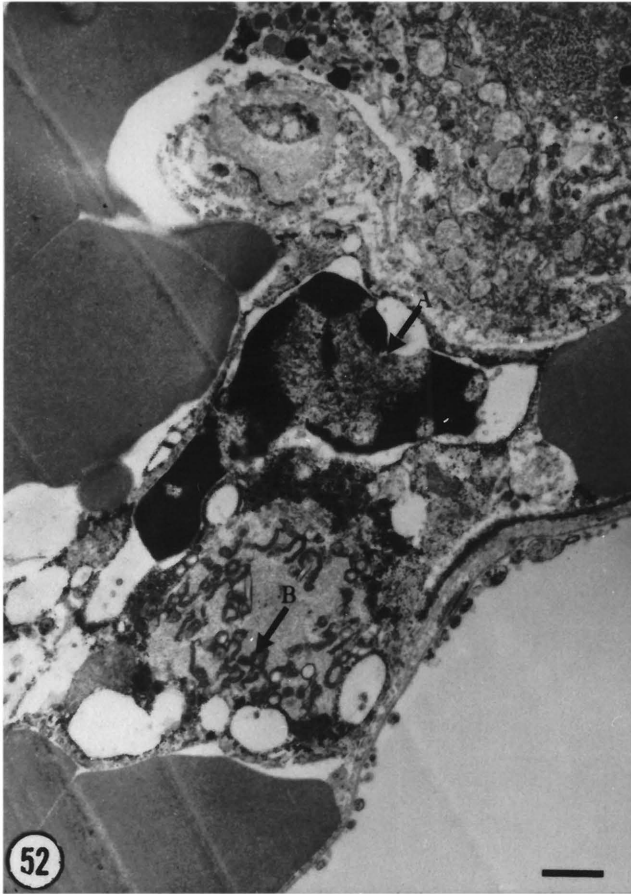
Long: Letsels in die venules en arterioles in die long het baie sterk ooreengekom met die in die limfknope. Dit was weer eens opvallend dat baie min bloedplaatjies tussen trombi van fibrien, leukosietfragmente en ander bloedselle waargeneem kon word. Viruspartikels kon tenspyte van deeglike ondersoek ook nie in endoteelselle van die long waargeneem word nie. Nie-omhulde repliserende AVP virus partikels en membraneuse strukture soos in bloedplaatjies waargeneem (Hoofstuk 2) kon wel in makrofage in die interalveolêre kapillêre vate van die long waargeneem word (Fig. 52). Dit is reeds aangetoon dat makrofages intiem geassosieerd met endoteelselle in die kapillêre van die long in spesies soos die skaap, bok en kalf mag voorkom (Warner, Barry & Brain, 1986). Dit wil dus blyk asof soortgelyke makrofages tussen die endoteelselle in die long ook by die vark voorkom. Nekrose van makrofages was gewoonlik herkenbaar aan kariorekse, sitoplasmiese vakuolisasie en fragmentasie (Fig. 52).

Lewer: Matige tot strawwe degenerasie of selfs nekrose van talle hepatosiete kon waargeneem word. Die sitoplasma van degeneratiewe en nekrotiese selle het swelling en dilatasie van die endoplasmiese retikulum en mitochondrië vertoon, terwyl die selkerne dikwels deur chromatienmarginasie of totale disintegrasie gekenmerk is (Fig. 53). Talle repliserende AVP viruspartikels kon in die sitoplasma van sekere hepatosiete waargeneem word waar hul ontwikkeling blykbaar intiem geassosieer was met die granulêre endoplasmiese retikulum.

Strawwe swelling, nekrose en afskilfering van endoteelselle kon ook in sekere areas van die interlobulêre venes van die portale bane waargeneem word maar AVP viruspartikels kon nooit in endoteelselle gesien word nie. Enkele volwasse AVP virus partikels kon wel in die wand van die interlobulêre venes waargeneem word (Fig. 51). Repliserende AVP viruspartikels kon ook in 'n verdagte monosiete in die adventitia van 'n interlobulêre vene gesien word.

BYSKRIFTE TOT FIGURE 52 - 55

- FIG. 52 Makrofaag in longkapillêre-vat (A) met repliserende AVP-virus in sitoplasma (B) asook sitoplasmiese vakuolisasie en chromatien saamklompings van die kern : X 10 000 (Staaf = 1μ)
- FIG. 53 Degeneratiewe besmette hepatosiet met swelling van mitochondrië (A), chromatien marginasie in die kern (B) asook byna-volwasse en onvolwasse AVP virus partikels in die sitoplasma (C) : X 18,000 (Staaf = 55 nm)
- FIG. 54 Nierglomerulus met besmette verdagte makrofaag (A) in glomerulêre kapillêre vat : X 5,000 (Staaf = 2μ)
- FIG. 55 Hoër vergroting van figuur 54. Glomerulêre kapillêre bloedvat met dik elektron-digte basaalmembraan (A) wat verdagte besmette monosiet in lumen bevat met repliserende onvolwasse en byna volwasse AVP viruspartikels in sitoplasma (B) : X 12 000 (Staaf = 1μ)



Niere: Elektron-digte massas bestaande uit fibrineuse materiaal wat dikwels die kenmerkende fibrillêre voorkoms en periodisiteit van fibrien vertoon het asook leukosiet fragmente en eritrosiete kon as trombi in die lumen en soms in die wand van bloedvate by vark no. 20 aangetoon word. Bloedplaatjies was blykbaar skaars en moeilik waarneembaar tussen fibrien massas in trombi. Alhoewel AVP virus nooit in endoteelselle gesien kon word nie, kon repliserende AVP-virus partikels wel in die sitoplasma van 'n makrofaag in 'n glomerulêre kapillêr by vark no. 2 waargeneem word (Fig. 54 & 55). Die AVP viruspartikels het weereens die kenmerkende morfologie van nie-omhulde partikels asook die membraneuse strukture vertoon wat in bloedplaatjies gesien kon word (Hoofstuk 2).

BESPREKING

Hierdie studie was 'n poging om die patogenese en patologie van die makroskopiese en mikroskopiese bloedings en vaskulêre veranderinge by varke besmet met virulente heemadsorberende en 'n nie-heemadsorberende AVP virus isolaat te ondersoek en kwalitatief sowel as kwantitatief te probeer vergelyk. Om die letsels op hierdie basis in die 2 groepe te probeer beskryf moes 'n semi-kwantitatiewe graderingsskaal vir die bepaling van die intensiteit en omvang van die veranderinge aangewend word. Histochemiese, lig- en elektronmikroskopiese metodes is ook toegepas om die patologie en patogenese van die bloedstollings- en vaskulêre-wandveranderinge te bestudeer.

Kongestie en bloedings op die vel en sigbare slymvliese was dikwels moeilik om makroskopies van mekaar te onderskei. Die skerp begrensde rooi areas van kongestie oor die ventrale aspekte van die boude was mees waarskynlik die gevolg van die sternale lê-houding wat die siek varke dikwels ingeneem het. Oortuigende bloedings in die vel was slegs by 3 varke wat die HD-AVP virus isolaat ontvang het en by 1 vark besmet met die NHD-AVP isolaat waarneembaar en het die vorm van purpura hoofsaaklik op die ventrale velgedeeltes, neus en ore aangeneem. Bloedings in die vel het slegs by 1 vark wat met die NHD-AVP isolaat besmet was verband gehou met 'n lae trombosiettelting. Bloedplaatjie funksieversteurings kon ook nie eenparig deur die verskillende toetse aangetoon word nie alhoewel terminale bloedmonsters nie by alle varke op die laaste dag van lewe ondersoek kon word nie.

Die aard en sporadiese voorkoms van die velbloedings by hierdie varke stem ooreen met die beeld van purpura wat by iso-immuun-trombositopenie van varke beskryf is deur Lie (1968). Bloedings in die vel kom by hierdie toestand ook sporadies voor en kon slegs waargeneem word waar trombosiettellings tot so laag as 40×10^9 /liter gedaal het (Lie, 1968). Bloedings in die vel by ons varke kon egter nie alleen toegeskryf word aan trombositopenie of trombosietdisfunksie nie. Duidelike hialiene fibrientrombi en globulêre fibrineuse trombi wat soms sterk positief gekleur het met die

PAS-, PTAH- en gemodifiseerde MSB-reaksies, sowel as bloed-ekstrasvasies kon mikroskopies in die kapillêre en venules in die boonste lae van die dermis waargeneem word wat dus ooreenstem met 'n toestand van DIS volgens Jubb et al. (1985e). Die groter arteries en venes in die dieper lae van die dermis was egter selde aangetas. Verder mag die groter geneigdheid vir purpura letsels om oor die ventrale velgedeeltes by trombositopeniese varke voor te kom die gevolg van gewigsdrukking en bloed-ekstrasvasies in die sternale lê-houding verteenwoordig. Die vena cava anterior het blykbaar die herhaaldelike naaldsteke tydens bloedversameling goed weerstaan. Die subkutane bloedings in die klavikulêre fossa waar bloedmonsters herhaaldelik versamel is was beperk tot slegs 2 diere in elke groep. Subkutane hematoma wat onafhanklik van inspuitsplekke by AVP gevalle ontwikkel het, kon nie by die gevalle in hierdie eksperimente waargeneem word soos beskryf is by natuurlike gevalle in Suid-Afrika deur De Kock et al. (1940) en by 'n eksperimentele geval in die VSA nie (Edwards, 1983).

Soos die geval was by die herhaaldelike bloedmonsterversameling uit die venae cava anterior, was die herhaaldelike inspuittings van die berustingsmiddel in die boudspiere slegs by 2 varke geassosieer met merkbare edeem en nekrose in die boudspiere.

Die limfknope het as groep gesamentlik die strafste bloedings van al die organe vertoon. Die viserale limfknope was die swaarste aangetas met die gastrohepatiese, mesenteriese en renale limfknope min of meer in dalende rangorde van voorkoms en intensiteit wat ooreenstem met die bevindings van De Kock et al. (1940) en Maurer et al. (1958). Die brongiale limfknope is nie in alle gevalle ondersoek nie en hoofsaaklik limfknope met makroskopiese veranderinge van bloeding, kongestie, edeem of swelling is verder mikroskopies ondersoek. Alhoewel duidelike degeneratiewe en nekrotiese veranderinge in groter bloedvate waargeneem kon word, is bloeding deur die disintegrasie van groter bloedvatwande nie in limfknope waargeneem nie. Volgens ons waarnemings was bloedings meestal geassosieer met nekrose van retikulo-endoteelselle, kapillêre-, venulêre- en klein arteriolêre bloedvatwande wat ooreen-

stem met die bevindings van De Kock et al. (1940). Hierdie waarnemings is egter teenstrydig met die bevindings van Maurer et al. (1958) en Edwards (1983), waar bloedings nie met vaskulêre nekrose geassosieer was nie. Dit moet egter toegegee word dat Edwards (1983) blykbaar met 'n minder virulente isolaat uit die Dominikaanse Republiek (DR79) gewerk het. Die moontlike rol van trombositopenie en trombosietdisfunksie was weer eens moeilik om in verband te bring met die bloedingsveranderinge in die limfknope, aangesien terminale bloedplaatjie ondersoek nie by alle varke moontlik was nie. Uitgebreide degenerasie en nekrose van vaskulêre gladdespier asook die infiltrasie van bloedselle, fibrien, fibrinouse neerslae en plasmabestanddele kon elektronmikroskopies tussen die gefragmenteerde bloedvatwand-elemente waargeneem word. Alhoewel endoteelswellings, degenerasie en nekrose lig- en elektronmikroskopies waargeneem kon word, kon ons, ten spyte van deeglike elektronmikroskopiese ondersoek, nie die virus in vivo in endoteelselle demonstreer nie. Dit is moontlik dat ons sekere vroeë replikasiestadia in die endoteelselle nie kon waarneem nie, maar endoteelsel-infeksie sal eers duidelik in vivo gedemonstreer moet word voordat dit as 'n faktor in die patogenese van AVP beskou sal kan word soos voorheen beweer is (Wilkinson & Wardley, 1978; Anderson, 1986). Die hialiene veranderinge in bloedvatwande wat lig- en elektronmikroskopies waargeneem is, stem ooreen met fibrinoïede degenerasie en nekrose van bloedvatwande (Jubb et al., 1985d; Pearse, 1985b). Soortgelyke vaskulêre veranderinge is ook by edeemsiekte (kolibasilose), Europese-varkpes, "mulberry heart disease" en "hepatosis dietetica" van varke beskryf. Die letsels ontstaan vermoedelik as gevolg van gladdespierdegenerasie en nekrose asook plasmaproteïenneerlegging in bloedvatwande en is dus nie spesifiek vir AVP nie (Van Vleet, Ferrans & Ruth, 1977; Jubb et al., 1985d). Die fibrinoïede vaskulêre veranderinge by akute AVP kom verder merkwaardig ooreen met die letsels gesien by eksperimenteel verwekte hipertensie by rotte en vermoedelik ook by kwaadaardige hipertensie van mense (Wiener, Spiro & Lattes, 1965; Hüttner, Jellinek & Kerenyi, 1968; Ghadially, 1982). Aangesien prostaglandien E₂ en hidrolitiese ensieme uit besmette makrofages, serotonien uit geaktiveerde bloedplaatjies en kinienes uit plasma verhoogde bloedvatwanddeurlaatbaarheid kan veroorsaak (Slauson et al., 1982e) moet die uitwerking van hierdie mediators op die

bloedvate as 'n moontlike verklaring vir die morfologiese veranderinge in bloedvatwande oorweeg word. Serotien mag ook gladdepiersametrekking, bloedvatvernouing en hipertensie veroorsaak afhangende van die spesie en orgaan betrokke (Slauson et al., 1982e) wat die gladdespierveranderinge in bloedvatwande mag verklaar. Enkele vry AVP virus partikels (Plowright et al., 1968) kon ook elektronmikroskopies tussen degeneratiewe en nekrotiese gladdespierselle in die wande van bloedvate in die long en lewer waargeneem word waar hulle vermoedelik saam met plasmaproteïenes deur die beskadigde endoteel ge-infiltreer het (Fig. 51). Dit is egter te betwyfel of hierdie vry AVP virus partiekels direk verantwoordelik vir die gladdespierveranderinge kon wees aangesien die virus nie gladdespierselle besmet en daarin repliseer nie (Vinuela, 1985).

Relatief min fibrienneerlegging kon ligmikroskopies deur middel van die spesiale kleurmetodes vir fibrien in die bloedvate, limfvate, limfsinusse en retikulêre ruimtes by limfknope van meeste varke waargeneem word. Duidelike hialiene-fibriëntrombi en globulêre fibrineuse neerslae kon slegs in die limfknope van enkele varke saam met matige bloed-ekstravasasies waargeneem word. Hierdie skaarste aan trombose en fibrienneerlegging in die lumen en wande van bloedvate in die limfknope was onverwags en moeilik verklaarbaar in die lig van die endoteel- en bloedvatwandveranderinge wat ligmikroskopies deur ons en vorige werkers waargeneem is (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Endoteelbeskadiging en blootlegging van subendoteliale kollageen soos waargeneem in meeste limfknope mag aanleiding gee tot die aktivering van die ekstrinsieke- en intrinsieke stollingsisteme met fibrienneerlegging en trombose (Kirk, 1962; Zeldis et al., 1972; Slauson et al., 1982e; Williams, 1983a). Hierdie skaarste aan demonstreerbare fibrienneerlegging staan egter in teenstelling met die beskrywings van Maurer et al. (1958), alhoewel hulle van die PAS- en Gram-Weigert metodes gebruik gemaak het wat minder spesifiek vir fibrienkleuring is (Pearse, 1985b). Die PTAH- en PAS-kleurmetodes wat by al die ondersoeke aangewend is, is die mees betroubare histochemiese-kleurmetodes vir die demonstrasie van fibrien, behalwe waar dit moontlik minder as 12 uur gelede gevorm het of etlike dae oud is (Pearse, 1985b). Die PTAH- en MSB-metodes moet egter verkieslik saam met immunositochemiese

en elektronmikroskopiese ondersoeke toegepas word om die betroubaarste resultate vir die demonstrasie van fibrien te lewer (Wiener et al., 1965; Hüttner et al., 1968; McIver et al., 1972; Ghadially, 1982; Pearse, 1985b). Wissellende hoeveelhede fibrien met die kenmerkende elektrondigtheid, dwarsstrepings, periodisiteit en fibrillêre oriëntasie asook meer homogene minder digte fibrineuse materiaal kon tussen nekrotiese gladdespiervesels en plasmaproteïene in die wande van arteriole en venules waargeneem word. Gedurende die vroeë stadia (5-7 dae) van eksperimentele hipertensieletsels ontwikkeling in rotte, is fibrienneerlegging ylverspreid en as los fibrillêre tot kleiner elektron-digte fibrienneerslae waarneembaar, maar na verloop van tyd word fibrienneerlegging meer kompak met 'n groter elektron-digtheid. Verdikking van die sub-endoteliële basaalmembraan deur glikoproteïen en fibrineuse materiaal neerlegging soos ook by eksperimentele hipertensie in rotte beskryf is (Wiener et al., 1965), is ook by enkele van ons varke waargeneem. Stadigvormende fibrien in die teenwoordigheid van klein hoeveelhede trombien vertoon ook 'n gebrek aan kenmerkende dwarsstrepings (Hall, 1949). Benewens die moontlikhede van gebrekkige fibrienneerlegging gedurende die kort akute verloop van die siekte of die moontlike onvermoë van die histochemiese metodes om die neergelegde fibrienmateriaal deur die kenmerkende kleurreaksies te demonstreer, moet 'n verdere moontlike verklaring oorweeg word. Verhoogde fibrien- en/of FDP'e en defektiewe fibrienstolselvorming kon in die plasma van etlike varke waargeneem word (Hoofstuk 4). Die moontlikheid van 'n hiperfibrinolitiese neiging in limfoïede organe met 'n ryk makrofaag en endoteelselkomponent wat die bron van plasminogeen aktiveerder is moet dus beslis by akute AVP oorweeg word (Unkeless et al., 1974; Edwards, 1983; Francis & Marder, 1983). Intravaskulêre stolling en trombose stimuleer naasliggende endoteelselle maar nie verderafgeleë endoteel in patente kapillêre vate om plasminogeen-aktiveerder af te skei. Plasminogeen-aktiveerder het 'n hoë affiniteit vir fibriengebonde plasmien en aktiveer, versnel en lokaliseer sodoende die fibrinolitiese reaksie (Francis & Marder, 1983) wat die skaarste aan demonstreerbare fibrien in die limfknope mag verklaar. Omdat fibrinolise deur plasmien nadoods voortduur, is dit ook moontlik dat fibrien trombi 'verlore' mag raak vir diagnostiese doeleindes waar post-mortem ondersoeke vir langer as c. 3 uur na dood vertraag

word (Jubb et al., 1985a). In sekere gevalle waar varke 'onverwags' gedurende die nag dood is, kon post-mortale fibrinolise wel 'n rol gespeel het by die skaarste aan waarneembare fibrien trombi. Ons het egter deurgaans gepoog om ondersoek so spoedig moontlik na spontane vrektes af te handel.

Benewens kongestie, bloeding en bloedvatwandveranderinge, was die strawwe multifokale tot ekstensiewe areas van mononukleêre- en retikuloëndoteelse nekrose met diffuus verstrooide kernfragmente in bloedvate, limfoïede-organe en ander weefsels die mees opvallende histopatologiese veranderinge by hierdie siekte. Moulton & Coggins (1968b) en Boulanger et al. (1966) vermeld deur Moulton & Coggins (1968b) het op grond van lig- en fluoressensie ondersoek gepostuleer dat dit hoofsaaklik die monosiete makrofages en retikulêre-selle is wat by AVP aangetas word, eerder as die limfosiete. In vitro ondersoek op selkulture het ook aangedui dat die monosiete, makrofages en endoteelselle deur hierdie virus besmet word (Wardley & Wilkinson, 1977b; Wilkinson & Wardley, 1978; Anderson, 1986). Teenstrydige bevindings is egter met betrekking tot die moontlike replikasie van die AVP virus in limfosiete beskryf (Wardley et al., 1977; Wardley et al., 1980; Sanchez-Vizciano et al., 1981; Casal et al., 1984).

Die stimulasie van monosiete en makrofage tot fagositose of die lise van makrofages deur besmetting of nekrose mag verreikende implikasië vir ander liggaamsweefsels inhou weens die vrystelling van verskillende chemiese mediators.

Interleukien-1, 'n groep polipeptiedverbindinge wat in geaktiveerde makrofages gevorm word, beskik oor die vermoë om weefselproko-agulant produksie in endoteelselle en neutrofielvashegting aan endoteel te stimuleer en kan sodoende vaskulitis en trombose veroorsaak. Interleukien-1 induseer egter ook prostasiklien (PGI₂) produksie in endoteelselle wat 'n kragtige vasodilator is en trombosiet aggregasie mag inhibeer (Smith, 1980; Bevilacqua, Pober, Majeau Cotran & Gimbrone, 1984; Dinarello, 1985; Rossi, Breviario, Ghezzi, Dejana & Mantovani, 1985; Ryan, 1986). Die vrystelling van lisosomale fosfolipases tydens inflammatoriese

stimulasie van makrofages mag ook lei tot aragidoonsuurvrystelling uit sel membrane en prostaglandien (PGE₂, PGF₂) produseer deur die siklo-oksigenase ensiemsisteem asook tot leukotrienvorming deur die lipoksigenase ensiemafbraakpad van aragidoonsuur (Humes, Bonney & Pelus et al., 1977; Slauson et al., 1982e). Prostaglandienes PGE₂ en PGF₂ verhoog vaskulêre deurlaatbaarheid deur 'n direkte effek op bloedvate of deur die moontlike vrystelling van histamien uit mastosiete (Smith, 1980; Slauson et al., 1982e). Verhoogde PGE₂ en verlaagde PGI₂ produksie is by varke besmet met virulente- en matig-virulente AVP virus isolate beskryf en gepostuleer as die oorsake van verhoogde bloedvatwand deurlaatbaarheid, eksudasie, skok, trombositopenie en bloeding. Die verlaagde PGI₂ vlakke wat moontlik toegeskryf kon word aan endoteelselbesmetting deur die AVP virus mag bydra tot trombosiet-aggregasie en trombositopenie. In vitro ondersoeke by hierdie varke het egter aange-ton dat bloedplaatjie aggregasie progressief afgeneem het in die terminale fase van die siekte alhoewel die verswakte aggregasie reaksie moontlik deels teweete kon wees aan die trombositopenie (Anderson, 1986; Anderson et al., 1987). Benewens die uitwerking van interleukien-1 en prostaglandien produkte van aragidoonsuur-metabolisme moet die moontlike rol van lisosomale-ensiemvrystel-ling uit fagositerende of afgestorwe monosiete, makrofages en ander leukosiete ook oorweeg word. Hierdie ensieme mag bemidde-laars van inflammasie in eie reg wees en direkte weefsel en bloed-vatwand skade veroorsaak om sodoende die verhoogde vaskulêre deur-laatartheid, bloeding en trombose te verklaar wat in strawwe vorme van akute inflammasie waargeneem kan word (Slauson et al., 1982e). Indirekte bloedvatwand beskadiging deur vrygestelde leu-kosiet produkte of direkte endoteelsel besmetting deur AVP virus (Wilkinson & Wardley, 1978; Anderson, 1986; Anderson et al., 1987) mag verdere belangrike gevolge hê deur die blootlegging van sub-endoteliale kollageen. Kontak aktivering van Hageman-faktor XII in plasma deur kollageen lei tot kinien vorming, trombien produk-sie deur die intrinsieke stollingssisteem en fibrinolise deur die aktivering van plasminogeen soos uiteengesit in Hoofstuk 4. Ge-aktiveerde Hageman-faktor XII mag kallikrein via pre-kallikrein vorm om bradikiniën vanuit hoë-molekulêre massa kininogeen (HMK) vry te stel. Die gevormde plasmien mag verder met die HMK reageer om meer bradikiniën vry te stel en sodoende die reaksie te ver-

sterk (Slauson et al., 1982c; Williams, 1983a). Die kinienes vaarvan bradikinin die prototipe is, veroorsaak drastiese verhogings van bloedvatwand deurlaatbaarheid deur sametrekking en skeiding van endoteelselle in venules (Slauson et al., 1982e). Verder mag trombien gevorm deur die aktivering van die intrinsieke stollingspad via Hageman-faktor XII aktivering, bloedplaatjies aktiveer om serotonien vry te stel wat ook 'n kragtige vasodilator is (Slauson et al., 1982e; Vanhoutte & Lüscher, 1986; Houston & Vanhoutte, 1986). Samevattend behoort 'n verskeidenheid en oormag chemiese mediators van bloedvatwand deurlaatbaarheid en vaskulêre gladdespier sametrekking of verwyding teoreties betrokke te wees by die indirekte beskadiging van bloedvatwande deur die AVP virus. Direkte endoteelselbeskadiging sal egter deur in vivo demonstrasie van AVP virus in endoteelselle aangetoon moet word. Verhoogde plasmavlakke van die genoemde chemiese mediators sal deur betroubare bepalingsmetodes bewys moet word.

Hidrotoraks, hidroperikardium, interstisiële en alveolêre longedeem gekenmerk deur 'n swak stolbare deursigtige tot effens troebel fibrineuse transudaat of eksudaat was by etlike varke waarneembaar soos voorheen beskryf is (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958). Bloedvatwand degenerasie, nekrose, vaskulitis en trombose met verhoogde bloedvatwand deurlaatbaarheid as gevolg van moontlike direkte AVP virus besmetting van endoteelselle of die uitwerking van chemiese mediators van inflammasie en die produkte van makrofaagsitolise moet oorweeg word in die patogenese van die longletsels (Wilkinson & Wardley, 1978; Anderson, 1986; Anderson et al., 1987). Repliserende AVP virus partikels kon wel deur ons in die sitoplasma van onherkenbare selle, moontlik makrofages (Moura Nunes et al., 1975; Wardley, Hamilton & Wilkinson, 1979; Carrascosa, Santarén & Vinuela, 1982) intiem geassosieer met die longendoteel (Warner et al., 1986) gedemonstreer word wat prostaglandien, interleukien-1, lisosomale ensiemes en plasminogeen aktiveerders as inflammatoriese mediators tydens fagositose, endositose of sitolise vrystel met die reeds bekende gevolge op bloedvatwandintegriteit. Laasgenoemde produkte van besmette makrofages mag ook die vorming van kinienes bevorder wat kragtige vasodilators is en sodoende die longedeem en hidrotoraks kan vererger. Die lae fibrieninhoud van die long effusies soos aangetoon

deur die swak positiewe reaksies met die fibrien kleurmetodes was onverwags en moet waarskynlik toegeskryf word aan effektiewe fibrinolise of slegs beperkte bloedvatwand deurlaatbaarheid van fibrienarme-transudaat in die longe. Alhoewel die soortlike gewig (SG) van die long-effusies nie bepaal is nie, was die liggeel tot effens troebel kleur, die relatiewe hoë viskositeit en die mate van stolbaarheid eerder 'n aanduiding van long eksudasie as van 'n proteïen-arme transudaat met 'n lae SG. In die lig van die verhoogde FDP vlakke wat in plasma waargeneem is, en die AVP virus besmetting van intravaskulêre en alveolêre makrofages met moontlike plasminogeen aktiveerder produksie behoort aggressiewe fibrinolise 'n meer waarskynlike verklaring vir die swak fibrien kleuring in die long te wees. Dieselfde vermoede bestaan ook dat die relatiewe skaarste aan fibrien-trombi ten spyte van die duidelike degeneratiewe en nekrotiese veranderinge in die long bloedvate by 'n groot persentasie van varke in beide groepe ook die gevolg van die hiperfibrinolitiese toestand kan wees. Die moontlike verlies van fibrien trombie in die gevalle waar nadoodse ondersoek moontlik vir meer as 3 uur lank vertraag is kan ook oorweeg word. Verder moet ook onthou word dat nuutgevormde fibrien van jonger as 12 uur swak kleur met enige fibrien kleurstof (Pearse, 1985b). Slegs 'n beperkte aantal longmonsters kon onder die TEM ondersoek word. Verbasend min bloedplaatjie-aggregasie kon egter binne trombi waargeneem word ten spyte van die relatiewe hoë voorkoms van granulêre trombi wat ligmikroskopies in die longe by varke besmet met beide die HD- en NHD-AVP virus isolate waargeneem kon word. Die granulêre trombi in die longe was dus volgens ons elektronmikroskopiese waarnemings hoofsaaklik saamgestel uit intakte en gefragmenteerde leukosiete, eritrosiete en plasmaproteïen. Die aard en oorsaak van die opvallende vasculitis in die longe, hart, lewer, milt en brein by verskeie varke besmet met die HD-isolate en die NHD-isolaat was moeilik om presies te verklaar. Die histopatologiese beeld van 'n oorheersende mononukleêre leukosiet en enkele neutrofiel en eosinofiel infiltrasies hoofsaaklik vanuit die adventitia stem ooreen met 'n vertraagde (tipe IV) hipersensitiwiteitsreaksie soos gesien na 40 - 70 dae by daging van varke met 'n Mycobacterium avium stam (Bergman, 1980; Slauson et al., 1982f). Vertraagde hipersensitiwiteitsreaksies mag ook 'n moontlike rol speel by die patogeneese van chroniese AVP veral met betrekking tot

die nekrotiserende pneumonie wat dikwels by chroniese AVP voorkom (Shimizu, Pan & Hess, 1977). Alhoewel Shimizu et al. (1977) ook in vitro aangetoon het dat sellulêre immuniteit 20 dae na besmetting by varke met AVP ontwikkel, bestaan daar belangrike besware teen die moontlikheid van 'n vertraagde hipersensitiwiteits- en selbemiddelde immuun reaksie as moontlike oorsaak van die vaskulêre inflammatoriese en nekrotiese letsels by ons varke met akute AVP. Eerstens was die oorlewingsperiode van al ons varke hoogstens 15 dae wat onvoldoende was vir die ontwikkeling van sensitiviteit (Shimizu et al., 1977). Tweedens kon vaskulêre-wand degenerasie en nekrose dikwels onafhanklik van mononukleêre leukosiet infiltrasies waargeneem word wat die moontlike direkte lokale effek van hierdie selle op die vaskulêrewand onwaarskynlik maak het. Derdens kon die AVP virus in die wande van aangetaste bloedvatwande waargeneem word (Fig. 51). Alhoewel die gladdepierselle van die bloedvatwande dikwels degenerasie en nekrose vertoon het, (Fig. 50) was hulle nooit sigbaar met AVP virus besmet nie. Die moontlikheid dat die mononukleêre leukosiete en enkele neutrofiel die beskadigde bloedvatwande binnegedring het as deel van 'n inflammatoriese reaksie teen die virus partikels in die wande moet eerder oorweeg word. Alhoewel limfosiete en monosiete gewoonlik gedurende die laat stadia van die inflammatoriese reaksie infiltrer (Slauson et al., 1982d), is mononukleêre leukosiete reeds binne 24 uur na besmetting in die letsels van vaskulitis by muise met eksperimentele enkefalomiokarditisvirus-infeksie gesien (Burch & Rayburn, 1977). Nekrose met kariorekse van mononukleêre leukosiete in sekere areas van vaskulitis in hierdie varke was mees waarskynlik die gevolg van direkte sitolise deur die AVP virus. Die lise van besmette makrofages kon ook bygedra het tot die nekrotiese letsels in sekere bloedvatwande deur die vrystelling van hidrolitiese ensieme (Slauson et al., 1982e) soos reeds genoem is.

Die fibrineuse perikarditis en epikarditis by die 2 langslwendste varke na 12-15 dae was ongewoon by akute AVP en stem ooreen met die letsels wat 2-5 maande na besmetting beskryf is by chroniese AVP (Moulton & Coggins, 1968b). Die letsels moet onderskei word van die perikarditis en pleuritis veroorsaak deur Haemophilus pleuropneumoniae (parahaemolyticus) (Jubb et al., 1985c) ook bekend as "Glässer's disease". Bakteriologiese ondersoeke op

perikardiale monsters by hierdie 2 varke was egter negatief vir Haemophylus spp. (Neser & Henton, ongepubliseerde waarnemings, 1983). Diffuse limfositiese miokarditis soos deur Edwards (1983) beskryf by 1 vark besmet met 'n relatief avirulente AVP virus iso-laar is nie by ons varke gesien nie, behalwe by 3 van die langslwendste varke in die boonste lae van die miokardium onder die epikardium geassosieer met die areas van epikarditis en om sekere foki van vaskulitis. Foki van bloeding in die miokardium was mees waarskynlik ook soos by die limfknope en longe die gevolg van degenerasie en nekrose van kapillêre- en klein bloedvate eerder as deur disintegrasie van groter bloedvatwande. Vaskulitis met 'n soortgelyke histopatologiese beeld as by die longe was ook by enkele varke besmet met beide die HD-isolate en NHD-AVP virus iso-laar waarneembaar en mees waarskynlik ook primêr die gevolg van AVP virus indringing en beskadiging van bloedvatwande eerder as deur 'n selbemiddelde immuunreaksie waarvoor die nodige periode van sensitisasie ontbreek het (Bergman, 1980; Slauson et al., 1982e). Alhoewel trombose baie skaars was in die hartwand, was dit baie straf in die apeks by 1 vark en was omring deur areas van koagulatiewe hartspiernekrose wat mees waarskynlik isgemies van oorsprong was (Jubb et al., 1985f). Volgens die mikroskopiese morfologiese- en Gram kleuringseienskappe was die organismes in die nekrotiese hartspier foki mees waarskynlik Staphylococcus spp. Die patogenetiese rol van hierdie organismes was moeilik verklaarbaar aangesien hulle met hoegenaamd geen inflammatoriese selreaksies geassosieerd was nie. Die organismes mag agonale of nadoodse indringers wees.

Die merkbare vergroting van die milt wat veral as 'n toename in lengte en afstomping van die rande met 'n donker blou-swart verkleuring sigbaar was by meeste van ons varke besmet met beide die HD- en NHD-AVP virus isolate, stem ooreen met die vroeëre beskrywings van die milt veranderinge by akute AVP (Steyn, 1928; De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b). Op grond van die mikroskopiese ondersoeke blyk dit dat die milt swelling eerder die gevolg van kongestie en bloeding was, as van proliferasie en parengiemhiperplasie. Die splenomegalie was by al ons varke opsigtelik te wyte aan 'n toename van bloed en rooipap elemente eerder as deur proliferasie van die limfoïede follikels in die wit pap. Die klein oppervlakkige infarkte wat in

die milt by c. 7% van gevalle met AVP beskryf is deur Maurer et al. (1958) is nie by ons varke gesien nie. Verdagte infarksie wat mikroskopies gekenmerk was deur strawwe trombose van die follikulêre arteries, uitgebreide areas van rooipap kongestie, hemolise en nekrose was slegs by 1 vark besmet met 'n HD-AVP virus isolaat waarneembaar. Bloedings in die milt het blykbaar soos by die limfknope hoofsaaklik ontstaan deur degenerasie en nekrose van die retikuloendoteel, monosiete en makrofages in die SS-skedes en wande van die sinusoides soos voorgestel deur De Kock et al. (1948) eerder as deur disintegrasie van groter bloedvatwande. Oormatige indringing van rooibloedselle in die limfoïede follikels mag moontlik as bloeding in die milt beskou word (Bloom & Fawcett, 1975b). Bloedings het blykbaar ook meer dikwels in die milt by varke besmet met die meer virulente HD-AVP virus isolate voorgekom as by die varke besmet met die NHD-AVP virus wat ooreenstem met die beskrywing van Edwards (1983) waar ook 'n minder virulente AVP isolaat gebruik is. Omdat kongestie en bloeding egter uiters moeilik is om akkuraat van mekaar te onderskei in 'n bloedryke orgaan soos die milt, moet hierdie waarnemings egter met versigtigheid vertolk word. Vaskulêre degenerasie, nekrose en trombose van die follikulêre arterioles was uiters skaars en beperk tot die milt van slegs 1 vark uit elke groep besmet met die HD- en AVP Isolate en die NHD-AVP virus isolaat. Die lig-eosinofiliese fibrineuse materiaal in die lumen en wande van hierdie arterioles het matige PTAH- en PAS-positiewe kleurreaksies vir fibrien gegee (Pearse, 1985b) wat vermoedelik deel van 'n DIS toestand by hierdie varke was. In die geheel gesien, was trombose en fibrienneerlegging in die sinusoides en bloedvate van die milt egter relatief skaars indien die strawwe retikuloëndoteel en vaskulêre wand nekrose en vaskulitis in aanmerking geneem word. Soos reeds vermeld, mag die trombositopenie, die verlaagde aggregasievermoë van bloedplaatjies en die fibrinogeen disfunksie wat reeds in vivo aangetoon is (Hoofstukke 3&4) ook hier 'n rol gespeel het by die skaarste aan trombose, fibrien en bloedplaatjieneerlegging in die lumen en wande van die beskadigde bloedvate. Soos by die limfknope word hoofsaaklik die retikuloendoteel, monosiete en makrofages deur die AVP virus besmet en vernietig (Moulton & Coggins, 1968b; Boulanger et al., 1966, vermeld deur Moulton & Coggins, 1968b). Die verreikende

gevolg van die stimulasie en lise van hierdie selle met die moontlike vrystelling van kragtige inflammatoriese mediators op die bloedvatwand deurlaatbaarheid, vasotonus en aktivering van die plasma-stollings en fibrinolitiese meganismes is reeds by die limfknope en vorige hoofstukke beskryf. Die moontlike patogenese van die vaskulitis in die groter bloedvate van die milt word om die genoemde redes as soortgelyk as by die ander organe aanvaar. Daar was groter variasie in die graad van aantasting by die limfoïede follikels in die milt van die varke besmet met die NHD-AVP isolaat waar die oorlewingsperiode meer wisselvallig was. Veranderinge het gewissel van strawwe nekrose en uitputting tot ligte proliferatiewe veranderinge van die retikulêre- en mononukleêre-selle in die limfoïede follikels en SS-skedes. Dit was egter in die meeste gevalle onmoontlik om op die histopatologiese veranderinge in die milt te onderskei tussen die varke besmet met die HD-AVP isolaat en die NHD-AVP virus isolaat.

Matige egimotiese bloedings was in die galblaaswand by 1 vark besmet met die NHD-AVP virus isolaat waarneembaar soos soms gesien deur De Kock et al. (1940) en gedeeltelik ooreenstem met 'n geval van bloeding in die galblaaslumen by 1 vark beskryf deur Edwards (1983). Die merkbare edeem wat makroskopies in die galblaaswand waargeneem is by 2 varke wat die HD-AVP isolaat en 2 wat die NHD-AVP isolaat onderskeidelik ontvang het, was mees waarskynlik die gevolg van lewer edeem en akute virus hepatitis (Jubb et al., 1985a).

Gedissemineerde enkele nekrotiese selle of klein foki van hepatosellulêre nekrose was by meeste varke besmet met die HD-AVP isolaat of NHD-AVP virus isolaat waarneembaar. Diffuus verspreide nekrose van makrofages en ander leukosiete in die wande en lumen van die sinussoïedes was prominent en soms moeilik om van nekrotiese hepatosiete te onderskei. Groter foki van sentrilobulêre, multifokale of periportale hepatosellulêre nekrose soos by 1 vark beskryf deur Maurer et al. (1958) was ook by enkele van ons varke besmet met die HD-AVP isolaat of die NHD-AVP virus isolaat teenwoordig. Repliserende virus partikels wat morfologies ooreenstem met AVP virus soos in die bloedplaatjies beskryf (Hoofstuk 2) kon elektronmikroskopies in die sitoplasma van hepatosiete by 1 vark waargeneem word. Die ligmikroskopiese veranderinge van kernchro-

matien marginasie en gekondenseerde eosinofiliese sitoplasmiese afsnoerings of 'apoptotiese liggaampies' wat kenmerkend is by virus infeksies van hepatosiete (Jubb et al., 1985a) was ook by ons varke waarneembaar. Akute AVP mag dus ook as 'n vorm van virus hepatitis beskou word alhoewel die monosiet makrofaagselle blykbaar die grootste predeleksie vir besmetting vertoon (Moulton & Coggins, 1968b; Boulanger et al., 1966, soos vermeld deur Moulton & Coggins, 1968b; Wardley & Wilkinson, 1977b; Wilkinson & Wardley, 1978; Wardley et al., 1979; Anderson, 1986). Die groter areas van sentrilobulêre, multifokale en periportale hepatosellulêre nekrose mag die gevolge van isgemie wees alhoewel trombose en fibrien neerlegging in bloedvate en sinusoiëdes uiters skaars was en hoofsaaklik beperk was tot granulêre fibrien-arme neerslae van selffragmente en plasmaproteïenes soos met die PTAH- en PAS-kleurreaksies aangetoon kon word. Die moontlikheid van effektiewe fibrinolise in die lewer moet ook sterk oorweeg word weens die groot kompliment van endoteel- en makrofaagselle in die sinusoiëdes wat moontlik 'n groot bron van plasminogeen aktiveerder kan wees wanneer gestimuleer deur AVP virus besmetting soos reeds by die bespreking van die limfoïede veranderinge verduidelik is.

Die lewer is die setel van belangrike plasma stollingsfaktorsintese, naamlik onder andere protrombien (faktor II), faktore VII, IX, X (Mann, Shonyo & Mann, 1951; Olsen, Miller & Troup, 1966; Furie, 1983; Williams, 1983b). Parengiemselskade van die lewer soos gesien by hepatitis en sirrose mag betekenisvolle versteurings uitoefen op die sintese van hierdie faktore (Ratnoff, 1963; Williams, 1983b). Die hemostatiese abnormaliteite by lewersiektes is dikswels subklinies maar 'n verlengde protrombientyd PT soos ook gesien by ons varke (Hoofstuk 4) mag by matige tot strawwe gevalle in mense voorkom (Ratnoff, 1963; Blanchard, Furie, Jorgenson, Kruger & Furie, 1981; Furie, 1983). Alhoewel fibrinogeen (faktor I) ook hoofsaaklik in die lewer gesintetiseer word, is hipofibrinogenemie skaars by mense met lewersiektes en is in sulke gevalle eerder die gevolg van fibrinogenolise of DIS toestand (Finkbiner, Mc Govern, Goldstein & Bunker, 1959; Tytgat, Collen & Verstraete, 1971; Williams, 1983b). Faktor V word ook in die lewer en mees waarskynlik in die Kupffer selle gesintetiseer soos eksperimenteel by die rot aangetoon en diere met eksperimen-

tele lewerskade of hepatektomie toon verlaagde faktor V vlakke in plasma (Mann et al., 1951; Owen, Walter & Bowie, 1977; Williams, 1983b). Eksperimentele gegewens oor die spesifieke sintese van faktore XI, XII, XIII, prekallikreïen en HMK in die lewer ontbreek, alhoewel verlaagde plasmavlakke by mense met lewer siektes bekend is wat dus 'n moontlike rol vir produksie deur die lewer impliseer (Williams, 1983b). Die biologiese halfleeftyd ($T_{\frac{1}{2}}$) van protrombien by mense wissel tussen 2-5 dae (Biggs & Denson, 1963; Williams, 1983b). Die $T_{\frac{1}{2}}$ van die ander stollingsfaktore by mense is as volg: Faktor V, 1-5 dae (Borchgrevinck & Owren, 1961; Williams, 1983b); faktor VII, 70-375 minute (Roos, Van Arkel, Keuter & Ballieux, 1960; Williams, 1983b); faktor IX, 1-8 dae (Williams, 1983b); faktor XI, 40-84 uur (Williams, 1983b); prekallikreïen, c. 35 uur (Hathaway, Wuepper, Weston, Humbert et al., 1976; Williams, 1983b); HMK 6,5 dae (Lacombe, Varet & Levy, 1975; Williams, 1983b). Die $T_{\frac{1}{2}}$ van die genoemde stollingsfaktore wissel dus van c. 1 uur - c. 8 dae by mense en alhoewel ons varke besmet met die HD-AVP isolate vir hoogstens 5 dae oorleef het, kon moontlike tekorte van 1 of meer faktore deur die lewerselskade veroorsaak word veral by die varke besmet met die NHD-AVP virus isolaat waar die oorlewingsstye langer was. Dit sal ook moeilik wees om die moontlike stollingsfaktor tekorte as gevolg van lewersel beskadiging by akute AVP afsonderlik van die gepaardgaande uitputtingskoagulopatie en verlengde GGTT te bepaal wat deur die vermeende hiperfibrinolitiese en DIS toestande by hierdie siekte geskep is (Hoofstuk 4). Bloedings in die lewer was egter skaars, en hoofsaaklik beperk tot klein fokale areas in enkele varke besmet met beide die HD- en NHD-AVP virus isolate. Alhoewel trombositopenie en trombosit disfunksie (Hoofstuk 2&3) sowel as defektiewe fibrienstolselvorming (Hoofstuk 4) 'n moontlike rol by die patogeenese van die bloedings in die lewer mag speel, blyk dit asof die fokale areas van lewerselnekrose met die gepaardgaande sinusoïedwand verbreking die belangrikste oorsaak van bloeding in die lewer is. Die beperktheid van bloedings tot relatiewe klein areas, meestal binne of aangrensend tot hierdie nekrotiese foci versterk hierdie vermoede.

Die strawwe mononukleêre leukosiet infiltrasies van die portale bane soos beskryf deur Maurer et al. (1958) was ook by al ons varke waarneembaar alhoewel die infiltraat by ons varke blykbaar

oorheersend uit monosiete en minder limfoïede selle bestaan het. Leukosiet infiltrasie het beslis nie slegs die bloedvate omring soos Maurer et al. (1958) beskryf het nie, maar dikwels die wande en soms ook die intima binne gedring soos gekenmerk deur die strawwe vaskulitis wat in die portale bane by etlike varke voorgekom het. Die vaskulitis is ook hier soos in die longe, milt en brein toegeskryf aan 'n direkte sitolitiese effek van die virus op mononukleêre leukosiete en perisiete in en om bloedvatwande soos elektronmikroskopies gesien is. Die waarneming dat vaskulêre degenerasie en nekrose hier soms onafhanklik van leukosiet infiltrasies in die bloedvatwande kon voorkom ondersteun die moontlikheid van 'n direkte sitolitiese effek van die virus eerder as 'n selbemiddelde immuunreaksie in die patogenese van die vaskulêre letsels. Die skaarste aan trombose en fibrienneerlegging in die bloed- en limfvate van die portale bane soos by die vaskulêre letsels in die groter bloedvate van die long en milt waargeneem is, was verbasend. Moontlike verklarings hiervoor mag die trombositopenie, trombosiet disfunksie en defektiewe fibrienstolselvorming as gevolg van hiperfibrinolise of uitputting van die plasmastollingsfaktore tydens DIS wees soos reeds voorheen in die bespreking verduidelik is.

Die teenwoordigheid van vars maaginhoud by enkele van ons varke stem ook ooreen met die bevindinge van De Kock et al. (1948) en Maurer et al. (1958) wat daarop dui dat varke mees waarskynlik hul eetlus tot kort voor dood behou het. Die voorkoms van ulsera in die maagwande van 3 uit 13 en 3 uit 12 varke besmet met die HD-AVP virus isolate en die NHD-AVP virus isolaat respektiewelik stem merkwaardig ooreen met die bevindings van Maurer et al. (1958) waar soortgelyke letsels by ongeveer een kwart van hul varke gesien is. Nekrotiese ulsera blyk waarskynlik die gevolg van isgemie te wees (De Kock et al., 1948; Maurer et al., 1958) alhoewel trombose en infarksie van die maagwand by slegs 1 van ons varke met hierdie letsels gesien kon word. Bloedings in die dun- en dikderm wande was skaars en beperk tot areas van egimotiese bloedings by slegs ongeveer een kwart van die varke besmet met die HD-AVP virus isolate. Behalwe vir die moontlike rol van die trombosiet en fibrinogeen disfunksie wat by hierdie varke beskryf is, was dit baie moeilik om die presiese oorsaak van die bloedings in

die dermwand te bepaal. Enkele fibrien neerslae kon in bloedvate waargeneem word maar isgemiese nekrose van die dermwande was skaars. Die kenmerkende "button" ulsera soos in die caecum en kolon by Europese varkpes beskryf (Maurer et al., 1958) is nooit by ons varke gesien nie.

Benewens die limfknope, was die niere die organe met die mees prominente en konstante bloedings waarneembaar. Bloedings het meer dikwels voorgekom by die varke besmet met die HD-AVP virus isolate maar die intensiteit van bloedings was dieselfde waar dit by die varke besmet met die NHD-AVP isolaat voorgekom het. Bloedings was mees prominent in die korteks om nekrotiese glomeruli alhoewel talle petegiale bloedings ook in die medulla sigbaar was. Bloedings was blykbaar meestal die gevolg van fibrinoïede degenerasie, en nekrose van kapillêre bloedvatwande eerder as deur nekrose en disintegrasie van groter bloedvatwande in die korteks en medulla. Die moontlike rol van trombositopenie, trombosit- en fibrinogeen disfunksie soos reeds aangetoon behoort ook sekerlik van belang te wees alhoewel die lokalisering van bloedings om gedisintegreerde bloedvate in meeste gevalle mag aantoon dat die bloedvatwand letsels van primêre belang is in die patogenese van bloedings in hierdie orgaan. Bloeding was moeilik om van kongestie te onderskei vanweë die digte glomerulêre- en kapillêre bloedvat netwerk in die korteks. Die donker rooi-swart geswolle niere wat by etlike van die varke besmet met die HD-AVP isolate en die NHD-AVP virus isolaat gesien is, was die gevolg van strawwe trombose, kongestie en bloeding. Die patogenese van trombose in die bloedvate van die niere mag moontlik multifaktoriaal wees maar die rol van makrofaagbesmetting in die glomeruli moet primêr oorweeg word. Alhoewel die AVP virus nie met sekerheid elektronmikroskopie in die endoteel- of mesangiaalselle van die nier glomeruli gevind kon word nie, kom die virus mees waarskynlik in die monosiet-makrofaagselle in die kapillêre lumen van die nier glomeruli voor. Die stimulasie van monosiete en makrofages tot fagositose of die lise van makrofages deur besmetting met AVP virus mag lei tot die vrystelling van produkte van aragidoonsuur metabolisme, interleukien-1, leukotrien, prostaglandien en hidrolitiese lisosomale ensiemes wat aktiewe mediators van vaskulitis-en bloedvatwand beskadiging is, soos reeds by die bespreking van die limfoïede

veranderinge verduidelik is. Endoteel- en mesangiaalse beskadiging, proteïen-urie, akute glomerulonefritis asook DIS en trombose wat in die glomeruli, afferente, efferente en interlobulêre bloedvate waargeneem is, kon dus die skadelike gevolge van hierdie makrofaagbesmettingsprodukte verteenwoordig het. Die graad en omvang van hierdie vaskulêre beskadiging verteenwoordig blykbaar die spektrum van bloedingsveranderinge wat makroskopies en mikroskopies in die niere waargeneem kon word en wissel van hemorragiese glomeruli en kortikale petegiae (sogenaamde "turkey-egg" patroon) by varke (Jubb et al., 1985b) tot ekstensiewe bloedings en kongestie as gevolg van DIS en trombose wat ooreenstem met die algemene Schwartzman reaksie (Jubb et al., 1985b). Die resultaat is multifokale tot aaneenlopende areas van tubulêre isgemiese degenerasie en nekrose tot totale bilaterale kortikale nekrose as gevolg van infarsie. Die histopatologiese beeld wissel van akute nekrose van enkele proksimale en distale kronkelbuis tot totale kortikale degenerasie en nekrose wat 'n "bleek" ligte agtergrondskleur aan die kongestiewe en bloedingsveranderinge in die korteks gee. Die hialiene-druppels in die sitoplasma van die proksimale kronkelbuis epiteelselle en die eosinofiliese gietsels in die nierbuisies was 'n aanduiding van verhoogde glomerulêre deurlaatbaarheid, strawwe proteïen-urie en proteïen herabsorpsie deur lisosome in die buis epiteelselle (Jubb et al., 1985b). Die sterk positiewe PAS-, PTAH- en gemodifiseerde MSB-kleurreaksies was 'n aanduiding van fibrien of fibrineuse bestanddele in die tubulêre gietsels en hialiene druppels. Die negatiewe kleurreaksie met Pickworth se bensidien reaksie (Pearse, 1985d), dui daarop dat die gietsels en hialiene-druppels in die nierbuisies mees waarskynlik nie hemoglobien as gevolg van moontlike mikro-angiopatiese hemolise bevat het nie (Jubb et al., 1985b). Die sterk- tot matig-positiewe PAS- en PTAH-kleuring van die eosinofiliese hialiene- en globulêre-trombie en neerslae in die lumen en wande van die glomerulêre kapillêre bloedvate asook in die afferente, efferente, interlobulêre en subkortikale arteries en enkele venes in die nier korteks versterk ook die vermoede dat die trombi en plasmaproteïen neerslae uit fibrien en moontlik ook uit fibrien- en fibrinogeen degradasie produkte FDP'e saamgestel is (Pearse, 1985b). Die fibrillêre voorkoms met die kenmerkende periodisiteit vir fibrien was ook in sekere areas van die elektrondigte materiaal aanwesig wat elek-

tronmikroskopies in hierdie bloedvate waargeneem kon word (Wiener et al., 1965; Hüttner et al., 1968; Ghadially, 1982). Alhoewel immunositochemiese ondersoeke nie op niersnitte by ons varke uitgevoer kon word nie, behoort die positiewe fibrienkleurings en die kenmerkende elektronmikroskopiese voorkoms van die trombi asook die verhoogde FDP vlakke in plasma (Hoofstuk 4) by sekere varke egter as oortuigende bewyse vir die teenwoordigheid van fibrien en FDP'e in die bloedvate van die niere te dien (Pearse, 1985b). Lig- en elektronmikroskopiese ondersoeke het verder aangetoon dat granulêre trombie en neerslae in die niere uit 'n verskeidenheid van bloedselfragmente en rooibloed selle saamgestel was. Bloedplaatjie aggregasies was blykbaar nie 'n prominente komponent van die granulêre trombie by ons varke met akute AVP nie alhoewel slegs 'n beperkte aantal niermonsters elektronmikroskopies ondersoek is. Die trombositopenie en trombosietdisfunksie as gevolg van die moontlike direkte beskadiging van trombosiete deur die AVP virus (Hoofstukke 2&3) mag 'n rol speel in die skaarste van bloedplaatjies in die granulêre-trombi wat in die niere waargeneem is, soos ook die geval in die ander organe was. Die ekstensiewe bloedings en kongestie in die niere het blykbaar gepaardgegaan met die trombose en infarksie, maar die rol van trombositopenie, trombosiet- en fibrinogeen disfunksie wat aangetoon is (Hoofstukke 2-4) moet ook in aanmerking geneem word by die patogene van bloeding in die niere van ons varke met akute AVP.

'n Opvallende multifokale akute nekrotiserende tot sub-akute vaskulitis kon in die meninges en brein van c. 50% varke besmet met die NHD-AVP virus isolate waargeneem word. Alhoewel vaskulitis in die brein nie by die varke ondersoek deur De Kock et al. (1940) in Suid-Afrika gesien kon word nie, was hierdie letsels opvallend in die varke met AVP wat deur Maurer et al. (1958) en Moulton & Coggins (1968b) in Sentraal-Afrika beskryf is. Dit is moeilik om te verklaar waarom hierdie letsels in die brein slegs by die varke besmet met die NHD-AVP virus isolaat waargeneem kon word. Die vaskulitis verteenwoordig mees waarskynlik 'n inflammatoriese reaksie teen AVP virus partikels wat die bloedvatwande binnegedring het via die beskadigde intima van bloedvate deur die genoemde chemiese mediators. Die moontlike rol van prostaglandien

(PGE₂), produkte van aragidoonsuurmetabolisme, hidrolitiese ensieme vanaf nekrotiese makrofages en serotonien vrygestel uit bloedplaatjies soos reeds beskryf is, sal verder ondersoek moet word ten einde die patogenese van die degeneratiewe en nekrotiese letsels in bloedvatwande te kan verklaar. Ten spyte van die strawwe vaskulêre-wand letsels in die brein, was hialiene of globulêre-trombi en neerslae wat positief gekleur het vir fibrien baie skaars in die bloedvate. Bloeding in die brein was oor die algemeen lig tot matig. Multifokale areas van petegiale bloeding was hoofsaaklik versprei in die meninges, wit en grysstof van die brein en in sekere gevalle in die ventrikels waar dit blykbaar ontstaan het deur nekrose en disintegrasie van kleiner bloedvate in die meninges, korteks en choroïedplexus. Die rol van trombositopenie asook trombosiet- en fibronogeendisfunksie moet soos by bloeding in die ander organe vanselfsprekend ook in aanmerking geneem word.

HOOFSTUK 6

BESMETTING VAN BEENMURGMEGAKARIOSIETE IN VARKE MET VIRULENTE HEEM-
ADSORBERENDE AFRIKAANSE VARKPES VIRUS ISOLATE EN 'N VIRULENTE NIE-
HEEMADSORBERENDE AFRIKAANSE VARKPES VIRUS ISOLAAT

INLEIDING

Afrikaanse varkpes virus-antigeen is reeds deur immunofluo-
ressensie in beenmurgmegakariosiete van varke besmet met 'n viru-
lente (Colgrove et al., 1969) en 'n relatief a-virulente (Edwards,
1983; Edwards, Dodds & Slauson, 1985a) AVP virus isolaat aange-
toon. Slegs 'n klein persentasie van megakariosiete het egter po-
sitief gereageer met die FT, en geen afname in megakariosiettel-
lings of betekenisvolle sitopatologiese veranderinge kon ligmikro-
skopies waargeneem word nie (Edwards, 1983; Edwards et al.,
1985a). Alhoewel 'n ligte hiperplasie van beenmurgmegakariosiete
11-15 dae na besmetting sigbaar geword het, kon geen afwykings van
die normale rypwordingsproses of moontlike versteurde trombositopoiëse ligmikroskopies waargeneem word nie (Edwards, 1983; Edwards et al., 1985a).

Die doel van hierdie ondersoek was om die moontlike sitopato-
logiese veranderinge in vivo by die HD- en NHD-AVP virus besmette
varke lig- en elektronmikroskopies te probeer vergelyk en om te
bepaal of die AVP virus in beenmurgmegakariosiete repliseer.

METODES EN MIDDELS

Gedeeltes van die sternum en kopgedeeltes van die humerus en
femur van 2 varke (nos 2 & 5) besmet met die HD-AVP virus isolate
en 3 varke (nos 23, 24 & 25) besmet met die Lillie (NHD)-AVP virus
isolaat is tydens nadoodse ondersoek versamel en gefikseer in 'n

4% gebufferde formalien en 1% glutaraldehyd oplossing (Yanoff, 1973) vir lig- en elektronmikroskopiese ondersoek van die rooibeemurg. Die beengedeeltes is ontkalk in 'n 10% asynsuuroplossing vir 7 dae. Gedeeltes van die ontkalkte been met rooibeemurg is verder geprosesseer en gekleur met HE vir roetine histopatologiese ondersoeke. Verder is klein blokkies van c. 1 mm³ rooibeemurg versigtig tussen ontkalkte trabeculae uitgesny, verder gefikseer in 1% osmium-tetroksied en kakodilaat buffer, en geprosesseer en ingebed vir elektronmikroskopiese ondersoeke soos reeds beskryf by die vorige orgaanondersoeke (Hoofstuk 5).

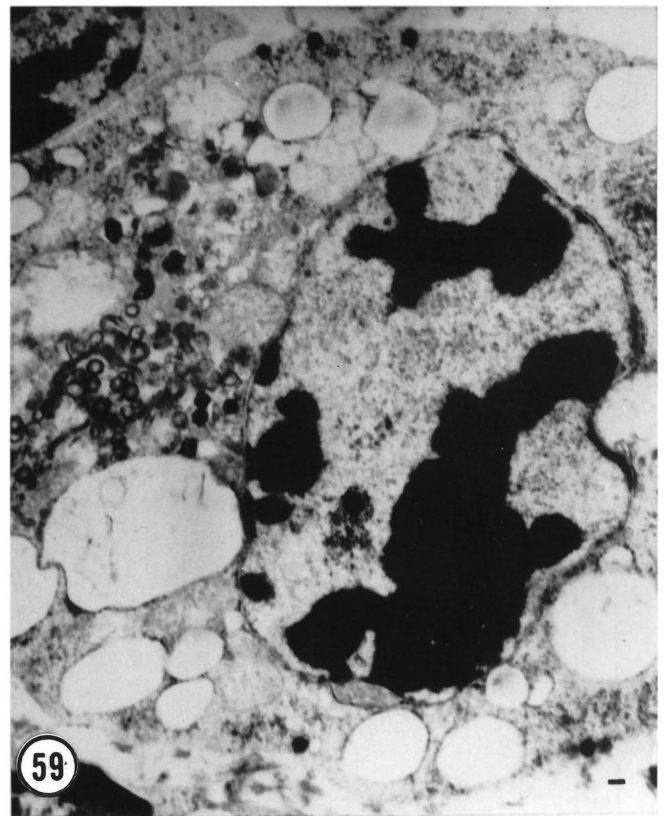
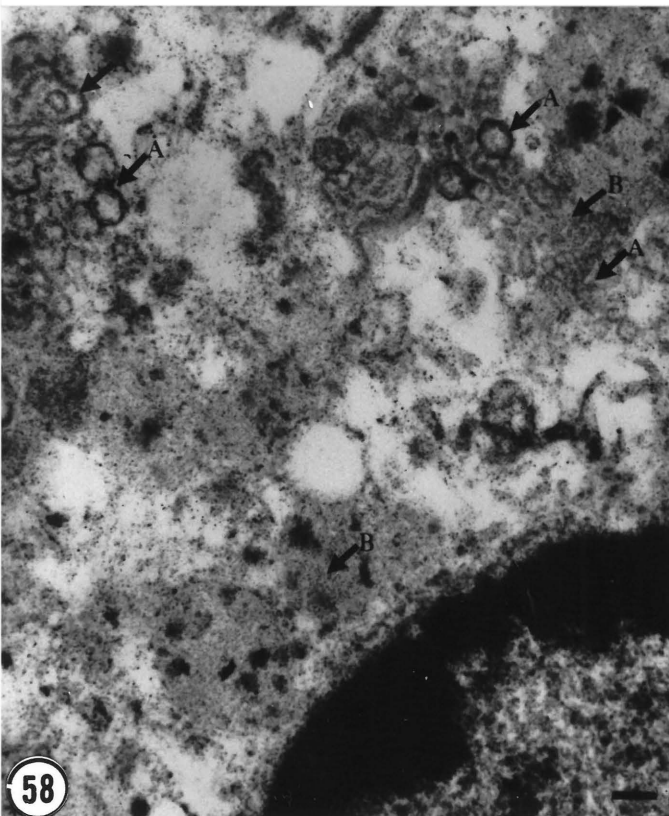
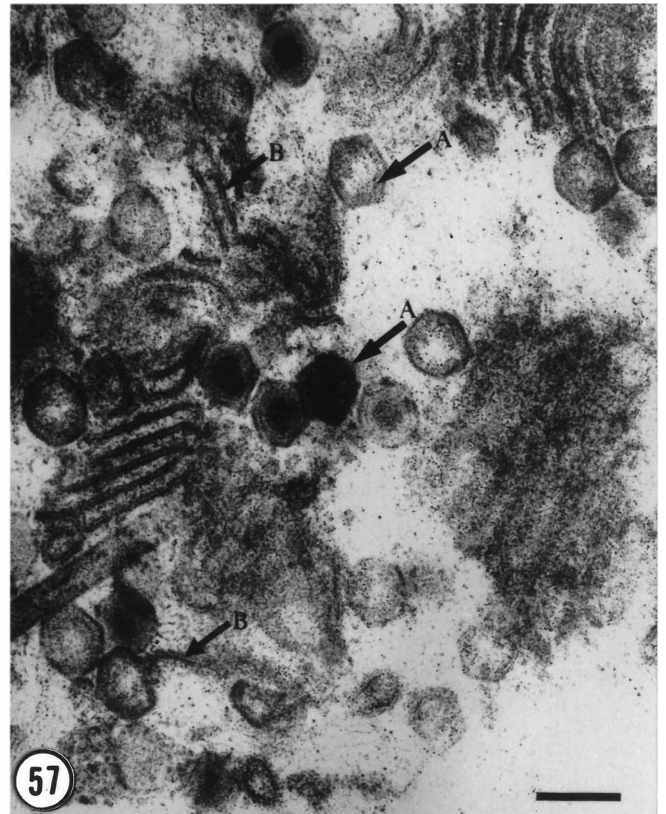
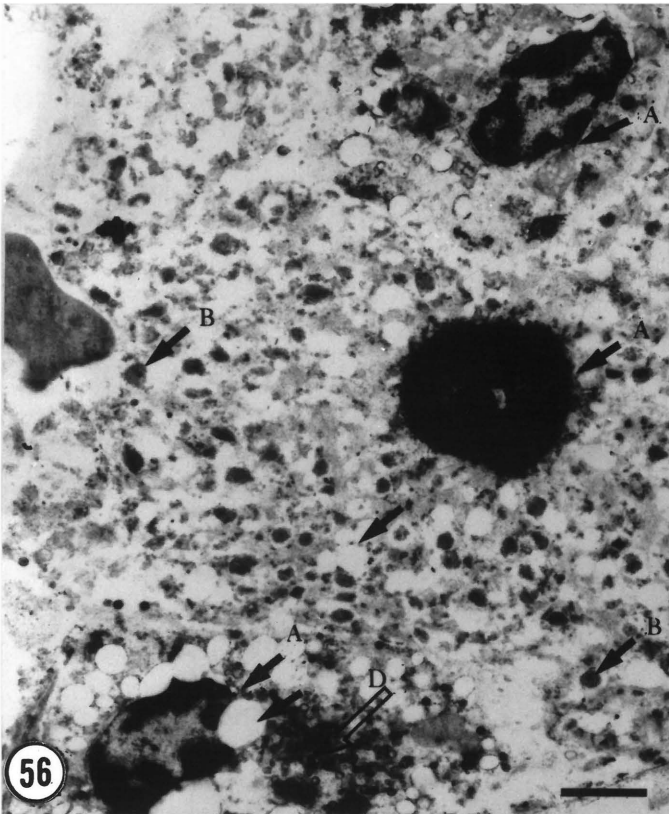
RESULTATE

Ligmikroskopiese ondersoeke van beenmurgsnitte: Alhoewel deeglike tellings op kontrole en besmette weefsels nie uitgevoer kon word nie, was daar geen ooglopende vermindering van die megakariosiete waarneembaar nie. Behalwe vir enkele megakariosiete wat verdagte degeneratiewe en nekrotiese veranderinge gekenmerk deur kariorekse en kariopiknose vertoon het, kon geen ooglopende sitopatologiese veranderinge ligmikroskopies in hierdie selle waargeneem word nie. In teendeel, kon strawwe kariorekse en piknose in ander beenmurgselle met diffuse verstrooiing van kernfragmente in die myeloïede weefsel waargeneem word. Die ontkalkingsproses het blykbaar weinig nadelige effekte op die beenmurgweefsel gehad aangesien die sellulêre struktuur en kleuring duidelik behoue gebly het.

Elektronmikroskopiese veranderinge in beenmurgselle: Megakariosiete is uitgeken aan die groot gelobde- of blykbaar meerlobbige kerne afhanklik van die snitvlak binne 'n gemeenskaplike sitoplasma-massa met diffuse elektrondigte granules en 'n uitgebreide kanalikulêre sisteem (Fig. 56; Bloom & Fawcett, 1975a). Fokale tot uitgebreide areas van sitoplasmiese en para-nukleêre vakuolisasie en verdwyning van digte granules kon elektronmikroskopies waargeneem word (Fig. 56). Soortgelyke on-omhulde poligonale tot heksogonale virus partikels en membraneuse strukture kenmerkend vir repliserende AVP virus partikels soos waargeneem in bloedplaatjies (Hoofstuk 2) en ander weefsels (Hoofstuk 5) kon slegs in

BYSKRIFTE TOT FIGURE 56 - 59

- FIG. 56 Beenmurgmegakariosiet van vark besmet met die Lillie-148 NHD-AVP virus isolaat. Let op blykbaar meerlobbige kerne (A); elektrondigte sitoplasmiese granules (B); sitoplasmiese en paranukleêre vakuolisasie (C) en AVP virus replikasie area in sitoplasma (D) : X 7,500 (Staaf = 2 μ)
- FIG. 57 Vergroting van virus replikasie area "D" in fig. 56. Tipiese poligonale tot heksogonale on-omhulde repliserende AVP virus partikels (A) en membraneuse strukture (B) in die sitoplasma van megakariosiet : X 75,000 (Staaf = 200 nm)
- FIG. 58 Beenmurgmegakariosiet van vark besmet met die Control-HD AVP virus isolaat. Let op vroeë replikasiestadia in die sitoplasma gekenmerk deur S-vormige, sirkulêre en poligonale membraneuse strukture (A) en flokulêre matig-elektron-digte areas van verdagte virusproteïen-sintese in sitoplasma (B) : X 32,000 (Staaf = 200 nm)
- FIG. 59 On-identifiseerbare beenmurgsel met soortgelyke repliserende AVP virus partikels en membraneuse strukture in gasheersitoplasma. Let ook op sitoplasmiese vakuolisasie en chromatien saamklompings en marginasie in die selkern : X 11,000 (Staaf = 200 nm)



'n klein persentasie van beenmurgmegakariosiete by vark no 2 besmet met die HD-AVP virus en 2 varke (nos 24 & 26) besmet met die NHD-AVP virus isolaat waargeneem word (Fig. 57 & 58). Tipiese repliserende AVP virus partikels kon ook in 'n on-identifiseerbare mononukleêre beenmurgsel by vark no 5 besmet met die HD-AVP virus waargeneem word (Fig. 59).

BESPREKING

Hierdie elektronmikroskopiese bevindings bevestig die FT tegniek ondersoek van Edwards (1983) en Edwards et al. (1985a) dat die AVP virus slegs 'n klein persentasie van beenmurgmegakariosiete besmet. Verder kon byna al die replikasiestadia van beide die HD- en NHD-AVP virus isolate in hierdie selle aangetoon word, behalwe die finale stadium van omhulling met die gasheerselmembraan en vrystelling van die volwasse virus partikels soos in vitro in beenmurgkultuurselle aangetoon is (Moura Nunes et al., 1975). Alhoewel slegs 'n beperkte aantal besmette beenmurgmegakariosiete elektronmikroskopies ondersoek is, kon geen aanduidings van die besmetting van onvolwasse trombosiete tydens trombositopoiëse in die megakariosiete waargeneem word wat moontlik die teenwoordigheid van die AVP virus partikels in die periferele bloedplaatjies (Hoofstuk 2) kon verklaar nie. Eksperimentele studies in muis het reeds aangetoon dat megakariosiete ideale gasheerselle verteenwoordig vir die in vitro en in vivo replikasie van Sitomegaal- en Friend Leukemie-virusse met gevolglike onderdrukking van trombositopoiëse en trombositopenie (Osborn & Shahidi, 1973; Brown & Axelrad, 1976). Die berekende leeftyd van 5-6 dae vir varktrombosiete deur middel van 'n radio-aktiewe merkingstegniek (Robinson, Bier & McCarter, 1961; Edwards, 1983; Edwards et al., 1985b) impliseer egter dat 'n tydperk van nagenoeg 5-6 dae nodig sou wees vir trombositopenie om te kan ontwikkel wat langer as die leeftyd van die varke besmet met die HD-AVP virus isolate is waar trombositopenie die strafste was. Die trombositopenie by hierdie varke met akute AVP behoort dus eerder die gevolg van periferele trombosietvernietiging as onderdrukte trombosietopoiëse weens die besmetting van 'n klein persentasie van megakariosiete in die beenmurg te wees. Die voorkoms van groot hipogranulêre onvolwasse trombosiete in die periferele sirkulasie is eerder 'n aanduiding van verhoogde as van onderdrukte trombositopoiëse soos vermeld in Hoofstuk 2.

HOOFSTUK 7

VIROLOGIESE ONDERSOEKE OP BLOED, BEENMURG EN ORGAAN MONSTERS VER-
SAMEL TYDENS NADOODSE ONDERSOEK VAN VARKE BESMET MET VIRULENTE
HEEMADSORBERENDE AFRIKAANSE VARKPES VIRUS ISOLATE EN 'N VIRULENTE
NIE-HEEMADSORBERENDE AVP VIRUS ISOLAAT

INLEIDING

Die waarnemings van Pini (1977) dat die Control (CV) HD-AVP virus isolaat wat bekend was vir dodelike besmettings in vatbare varke die HD-eienskap na 40 - 70 passasies in BLK of MK-kultuur-selle kon verloor en relatief avirulent kon word na herhaaldelike oorspuiting in vatbare varke het gelei tot die postulasie dat die AVP virus genetiese mutasies tenopsigte van hierdie eienskappe kon ondergaan (Pini, 1977). Alhoewel die Lillie-148 (NHD)-AVP virus isolaat nooit die HD-eienskap by passasie in weefselkultuur of lewende varke kon herwin nie, het besmette varke soms onopsigtelike kliniese tekens en patologiese veranderinge getoon wat op die moontlike verlies van virulensie gedui het (Pini, 1977). Thomson et al. (1979) het egter byna 100% mortaliteit en stabiliteit van die HD-eienskappe ondervind tydens patogeniteitsstudies op varke besmet met die CV (HD)- en Lillie-NHD-AVP virus isolate. Die doel van ons studie was om die virulensie, patologiese veranderinge en stabiliteit van die HD-eienskap in die 2 groepe varke besmet met die HD-AVP isolate en die NHD-AVP virus isolaat te bepaal.

MATERIAAL EN METODEDES

Virus titrasies: Die virus konsentrasies in die bloed van 3 varke besmet met die HD-AVP virus isolate en 3 besmet met die NHD-AVP virus isolaat is bepaal soos beskryf in Hoofstuk 2 (Tabel 3). Virus titrasies is ook by 'n verskeidenheid van organe uitgevoer (Tabelle 12a & b) volgens die metode beskryf deur Thomson et al.

(1979). Kortliks is 10-voudige verdunnings van 10% orgaansuspensies in gemodifiseerde Eagle's medium met antibiotiese en swamdodende middels van elke orgaan berei. Uit elke verdunning is 0,2 ml in 4 of 5 leukosietkultuur (BLK) buisies geplaas. Hierna is die omgekeerde \log_{10} waarde van die 50% weefselkultuurbesmetlike dosis (TC₅₀) per gram weefsel of die 50% heemadsorberende dosis per ml bloed (HD₅₀/ml) bereken (Tabel 12).

RESULTATE

Die HD-eienskappe en AVP-virus titers in die bloed, limfknope, milt, beenmurg, long, lewer, nier en brein monsters waar dit nadoods bepaal kon word is in Tabela 12a & b aangetoon.

In alle monsters waar positiewe isolasies gemaak kon word, het die HD-eienskappe van die oorspronklike toegediende AVP-virus isolate (Tabel 1) onveranderd gebly. Alhoewel beide die titers van die AVP virus isolate en die NHD-AVP isolaat in die bloed op die laaste dag van lewe by 3 varke (nos 11 - 13) besmet met die HD- en 3 besmet met die NHD-AVP virus isolate (nos 23 - 25) (Tabel 3) hoër was as die ooreenkomstige nadoodse titers (Tabel 12), was die verskille relatief klein. Dit is ook duidelik dat positiewe AVP-virus titers in 1 of meer weefsels by elke vark gevind kon word alhoewel titers dikwels aansienlik gevarieer het binne dieselfde dier of tussen die verskillende varke van beide groepe.

BESPREKING

Dit is duidelik dat die HD-eienskappe en virulensie van die verskillende AVP-virus isolate ook in hierdie studie stabiel en onveranderd na passasie in varke gebly het wat ooreenstem met die bevindings van Thomson et al. (1979).

Dit is onwaarskynlik dat die HD eienskap in die CV (HD)-AVP virus isolaat 'n genetiese mutasie na 'n NHD-AVP isolaat kon ondergaan gedurende passasie in weefselkultuurselle soos deur Pini (1977) vermoed is. Die NHD kenmerk en virulensie van AVP virus klone is stabiele genetiese eienskappe wat nie deur herhaaldelike passasies in selkulture of lewende varke kan verander nie (Pan &

TABELLE 12a & b Virus titers en HD-eienskappe van AVP virus geïsoleer uit bloed en verskillende organe versamel tydens nadoodse ondersoek van varke besmet met virulente HD- en NHD-AVP virus isolate

Vark no	HD-virus ingespuif	Orgaan/weefsel, virus titer* en HD-eienskap van AVP virus geïsoleer	Vark no	NHD-virus ingespuif	Orgaan/weefsel, virus titer* en HD-eienskap van AVP virus geïsoleer
1	CV	Mandibulêre Lk 4,4 HD; gastro-hepatiese LK 4,6 HD; beenmurg 5,6 HD; milt 6,2 HD; mandibulêre lk 3,2 HD; nier 5, HD	14	L-148	Bloed 3,2 NHD
2	CV	Mandibulêre lk 3,2 HD; gastro-hepatiese lk 4,8 HD; beenmurg 2,8 HD; milt 6,0 HD; Long 5,6 HD; lewer 5,0 HD; nier 5,0 HD; brein 3,6 HD	15	L-148	Bloed 3,4 NHD
3	CV	Mandibulêre lk 5,0 HD; gastro-hepatiese lk 4,8 HD; beenmurg 2,8 HD; milt 6,0 HD; long 5,5 HD; lewer 5,0 HD; nier 5,0 HD; brein 3,6 HD	16	L-148	Mandibulêre lk 4,8 NHD; preskapulêre lk 5,8 NHD; milt 7,2 NHD; long 7,0 NHD; lewer 6,7 NHD; nier 5,7 NHD
4	CV	Preskapulêre lk 3,2 HD; mandibulêre lk 4,8 HD; milt 2,2 HD; long 5,4 HD; lewer 4,4 HD; nier 4,4 HD; brein 4,2 HD	17	L-148	Mandibulêre lk 3,0 NHD; prefemorale lk 6,2 NHD; milt 6,0 NHD; long 6,2 NHD; lewer 6,0 NHD
5	951	Gastro-hepatiese lk 4,0 HD; milt 5,0 HD; lewer 2,6 HD; nier 2,2 HD; brein 2,6 HD	18	L-148	Gastro-hepatiese lk 2,8 NHD; beenmurg 2,2 NHD; milt 3,6 NHD; long 3,0 NHD
6	951	Mandibulêre lk 5,4 HD; gastro-hepatiese lk 5,8 HD; milt 6,2 HD; beenmurg 3,6 HD; long 5,6 HD; lewer 4,8 HD; nier 5,0 HD; brein 4,8 HD	19	L-148	Mandibulêre lk 5,2 NHD; milt 6,0 NHD; long 5,0 NHD; lewer 4,8 NHD; nier 4,6 NHD
7	MWI	Bloed 5,6 HD; mandibulêre lk 5,0 HD; gastro-hepatiese lk 4,8 HD; milt 6,0 HD; long 6,8 HD; lewer 5,6 HD; nier 4,8 HD	20	L-148	Mandibulêre lk 5,2 NHD; mangel 4,8 NHD; milt 5,2 NHD; long 5,6 NHD; lewer 5,2 NHD
8	MWI	Bloed 6,2 HD; milt 4,6 HD; lewer 3,8 HD; nier 2,4 HD; brein 3,2 HD	21	L-148	Bloed 6,0 NHD; milt 3,2 NHD; lewer 7,0 NHD; nier 7,2 NHD
9	DR	Bloed 7,2 HD; preskapulêre lk 2,2 HD; mandibulêre lk 5,0 HD; gastro-hepatiese lk 2,2 HD; long 4,4 HD; brein 2,8 HD	22	L-148	Bloed 7,2 NHD; long 4,2 NHD
10	DR	Bloed 6,3 HD; preskapulêre lk 2,2 HD; mandibulêre lk 5,0 HD; gastro-hepatiese lk 2,2 HD; long 4,4 HD; brein 2,3 HD	23	L-148	Bloed 7,2 NHD
11	CV	Bloed 6,8 HD	24	L-148	Bloed 7,2 NHD
12	CV	Bloed 7,8 HD	25	L-148	Bloed 7,2 NHD
13	CV	Bloed 7,8 HD			
TOTAAL	13		TOTAAL	12	

Virus titers* voorgestel as die omgekeerde/negatiewe log₁₀ waarde van die 50% weefselkultuur besmetlike dosis (TC₅₀) per gram weefsel of die 50% heemadsorberende dosis per ml bloed (HD₅₀/ml)

Lk = limfknoop

Alle ander konvensies soos vir vorige tabelle

Hess, 1985). Die DR isolaat uit die Dominikaanse Republiek het blykbaar ook meer virulent as die oorspronklike veld isolaat opgetree in ons eksperiment (Pan & Hess, 1984; sien ook Hoofstuk 2). Hierdie veranderinge kan moontlik verklaar word deur die bevinding van Pan & Hess (1985) dat AVP virus isolate saamgestel is uit gemengde klone van heterogene virulensie en ander biologiese eienskappe. Die passasie van 'n bepaalde isolaat in weefselkultuur of lewende varke mag moontlik die seleksie van bepaalde klone bevoordeel (Pan & Hess, 1985). In hierdie opsig was die CV (HD)- en Lillie-148 (NHD)-AVP isolate wat deur Thomson et al. (1979) en in ons eksperiment saam met die ander virulente HD-AVP virus isolate ingespuut is (Tabel 1) moontlik meer homogeen as die oorspronklike veld isolate van Pini (1977). Dit moet egter beklemtoon word dat geen verdere passasies in lewende varke deur ons uitgevoer is om hierdie vermoede te bevestig nie.

Beide die HD- en NHD-AVP virus titers het dikwels aansienlik gevarieer en was soms aanmerklik laer (c. $1-6 \times 10^1$ TCD₅₀⁻¹) as die long en milt titers beskryf deur Thomson et al. (1979). Relatiewe lae virus titers kon egter ook in weefsels by varke met subakute en chroniese AVP waargeneem word wat die CV(HD) isolaat ontvang het (Pini, 1977). Die moontlikheid bestaan ook dat die AVP virus titers tydens opberging kon daal. Virus titrasies kon weens praktiese probleme nie altyd spoedig na ontvangs van monsters by die laboratorium uitgevoer word nie. Plowright & Parker (1967) het egter aangetoon dat die AVP virus konsentrasies in bevrore varkbloedmonsters vir meer as 1 jaar lank redelik konstant kon bly by 'n temperatuur van -4°C en vir meer as 12 maande lank in bevrore milt monsters by -70°C . Die relatiewe lae AVP virus konsentrasies van orgaanmonsters by ons varke was dus moeilik om te verklaar. Die feit bly egter staan dat die isolate almal virulent was volgens die lengte van die oorlewingsstye by die varke besmet met beide die HD-AVP virus isolate en die NHD-AVP virus isolaat (Tabelle 12a & b) (Pan & Hess, 1984). Die virulensie van 'n AVP virus isolaat blyk ook nie noodwendig afhanklik te wees van die besmetlike dosis wat toegedien word nie maar wel van die virulensie van die predominerende klone in die bepaalde isolaat (Pan & Hess, 1985).

HOOFSTUK 8

ALGEMENE BESPREKING EN GEVOLGTREKKINGS

Afrikaanse-varkpes is 'n siekte van gedomestikeerde en sekere wildevarke soorte wat veroorsaak word deur 'n groot deoksiribonukleïensuur-bevattende virus van onsekere klassifikasie, met eienskappe van beide die Irido- en Pokke-virus groepe (Carrascosa et al., 1984). Die verloop van die siekte mag variëer van akute met 'n hoë mortaliteit, tot chroniese vorme met onopsigtelike kliniese tekens en patologiese veranderinge. Wydverspreide bloedings en hemostatiese versteurings is prominente kenmerke van die akute en subakute vorme van die siekte (De Kock et al., 1940; Maurer et al., 1958; Moulton & Coggins, 1968b; Edwards, 1983; Edwards et al., 1984; Edwards et al., 1985b; Nesor et al., 1986; Nesor & Kotzé, 1987). Die oorsaak van dood by AVP is nie presies bekend nie, maar daar is oortuigende aanduidings dat 'n besmetting van die monosiet-makrofaag- en retikuloëndoteelselle sowel as die bloedplaatjies van sentrale belang is in die patogeenese van dood en bloeding by akute- en subakute vorme (Moulton et al., 1968b; Colgrove et al., 1969; Wilkinson & Wardley, 1978; Wardley et al., 1979; Wardley et al., 1983; Edwards, 1983; Edwards et al., 1984; Edwards et al., 1985b; Nesor et al., 1986; Nesor & Kotzé, 1987). Verhoogde prostaglandien-E₂ (PGE₂) vlakke in makrofaag-weefselkulture en plasma van besmette varke is deur Anderson et al. (1987) aangetoon. Aangesien PGE₂ 'n kragtige vaso dilator en bemiddelaar van trombosiet-aggregasie is, mag die verhoogde PGE₂ vlakke in plasma by akute- en subakute AVP aanleiding gee tot verhoogde deurlaatbaarheid van bloedvate, edeem, skok en bloeding (Anderson, 1986; Anderson et al., 1987).

Hemostatiese versteurings kan in 3 groepe geklassifiseer word, naamlik versteurings as gevolg van abnormaliteite van die bloedplaatjies, abnormaliteite van plasmastollingsfaktore en defekte van bloedvate of kombinasies hiervan (Williams, 1983b).

Die telling van trombosiete in hierdie studie was bemoeilik deur die strawwe sitolitiese aard van veral die HD-AVP virus iso-

late. Die "weiering" van die Coulter Teller om bloedplaatjietellings uit te voer of die buitensporige hoë elektroniese-plaatjietellings het ernstige bedenkinge opgelewer oor die geskiktheid van hierdie instrument as hulpmiddel by die studie van trombositopenie in akute AVP (Neser et al., 1986; sien ook Hoofstuk 2). Edwards (1983), Edwards et al. (1985b) en Anderson et al. (1987) het ook trombositetelling in akute en subakute AVP uitgevoer maar ongelukkig versuim om hul metodes bekend te maak. Dit is te betwyfel of sitoplasmiese leukosietfragmente en trombositete akkuraat van mekaar onderskei sal kan word in die telkamer met die direkte mikroskopiese telmetode (Schalm et al., 1975a).

Trombositopenie kom eers gedurende die middel of terminale fases van akute en subakute AVP voor, maar keer weer binne 10 - 20 dae terug na normale vlakke by varke besmet met minder virulente isolate waar mortaliteite laer is en varke langer oorleef (Edwards, 1983; Edwards et al., 1985b; Neser et al., 1986; Anderson et al., 1987). 'n Groter aantal varke besmet met die HD-AVP virus isolate het trombositedisfunksie en verdagte trombositopenie ontwikkel in vergelyking met die wat die NHD-AVP virus ontvang het. In die groep varke wat met die NHD-AVP isolaat gespuit is het trombositedisfunksie en verdagte trombositopenie ook meer dikwels by die varke voorgekom wat binne 9 dae dood is. Die graad van trombositedisfunksie en verdagte trombositopenie word dus blykbaar eerder deur die virulensie as die HD-eienskap van die isolaat bepaal (Hoofstuk 2).

Die oorsake van trombositopenie by AVP kon nog nie bevredigend opgeklar word nie. Aanduidings vir 'n direkte beskadiging van trombositete deur die virus kon in hierdie studie gevind word (Hoofstuk 2). Repliserende AVP virus partikels kon egter slegs in 'n klein persentasie (c. 1%) van beskadigde bloedplaatjies en plaatjie-fragmente met die TEM aangetoon word. Die graad van besmetting mag egter betekenisvol hoër wees indien in aanmerking geneem word dat slegs 'n enkele snitvlak met die TEM ondersoek kan word. Die identifikasie en bevestiging van bloedplaatjies en bloedplaatjie-fragmente onder die TEM was baie moeilik en slegs 'n beperkte aantal kriteria waarvolgens hierdie strukture gekarakteriseer kan word is beskikbaar (Bloom & Fawcett, 1975a). Die ver-

onderstelde replikasie van die AVP virus in die sitoplasma van trombositete wat sogenaamde kernlose selle is, is ook problematies in die lig van die feit dat die selkern benodig word vir replikasie van die AVP virus in vero-selkulture (Ortin & Vinuela, 1977). Verdere in vitro studies is dus nodig om hierdie probleem op te klaar.

Immuun-bemiddelde vernietiging van bloedplaatjies in AVP is deur Edwards (1983) en Edwards et al. (1985b) gepostuleer. Die relatiewe lae sensitiwiteit van die DIF tegniek vir AVP virus antigeen in bloedplaatjies en die ontwikkeling van spesifieke AVP virus teenliggame in serum na c. 7 dae maak hierdie moontlikheid egter onwaarskynlik indien in aanmerking geneem word dat ons varke wat met die HD-AVP virus isolate besmet is reeds binne 4 - 5 dae dood is. Die rol van verhoogde PGE₂ en moontlik verlaagde PGI₂ vlakke in plasma as gevolg van makrofaag en endoteelsel besmetting in akute en subakute AVP is deur Anderson et al. (1987) gepostuleer as oorsake van verhoogde trombosit-aggregasie en trombositopenie by AVP. Die primêre inisiërende faktor vir die trombosit aggregasie in vivo kon egter nog nie vasgestel word nie (Anderson et al., 1987). Die vermoede dat die direkte beskadiging van trombositete deur die AVP virus soos in hierdie studie aangetoon is (Hoofstuk 2) die proses van trombosit aggregasie en trombositopenie in vivo kan inisiëer moet dus ook oorweeg word. Repliserende AVP virus partikels kon elektronmikroskopies in 'n klein persentasie van beenmurgmegakariosite gedemonstreer word wat die resultate van die fluoresserende-teenliggaamstudies van Edwards et al. (1985a) bevestig. Alhoewel slegs 'n beperkte aantal beenmurgmegakariosiete elektronmikroskopies ondersoek kon word, kon geen aanduidings van die besmetting van onvolwasse bloedplaatjies tydens trombositopoeïese in die megakariosiete waargeneem word wat moontlik die teenwoordigheid van die AVP virus partikels in die periferele bloedplaatjies kon verklaar nie. Die berekende leeftyd van 5 - 6 dae vir vark trombositete deur 'n radio-aktiewe merkingstegniek impliseer egter dat nagenoeg 5 - 6 dae nodig sou wees vir trombositopenie om te kan ontwikkel. Die trombositopenie by hierdie varke behoort dus eerder die gevolg van periferele trombosit-vernietiging as onderdrukte trombositopoeïese weens die besmetting van 'n klein persentasie van megakariosiete in die beenmurg te wees.

Trombosiete vervul essensiële funksies tydens hemostase deur die vorming van hemostatiese bloedplaatjie-pluisies en dien om bloeding te beëindig (Karpatkin & Holmsen, 1983; Zucker, 1983). Die blootlegging van sub-endoteliale kollageen, trombien, adenosindifosfaat (ADP) en prostaglandien E₂ stimuleer bloedplaatjies om saam te trek, die inhoud van interne granules vry te stel, aggregasie te ondergaan en aan endoteel vas te heg. Plaatjie-vrystelling is 'n energie-afhanklike proses en is nie die gevolg van fisiese verbreking van organell nie. Verlengde bloeityd, vertraagde bloedplaatjie-aggregasie en verminderde stolselsametreking is sterk aanduidings vir trombosiet disfunksie (Hougie, 1983; Weiss, 1983; Pitney & Brozovic, 1984). Die afwykings van die normale bloeityd, plaatjie-aggregasie en stolselsametreking mag dus benewens trombositopenie ook op moontlike plaatjie-disfunksie dui (Hoofstuk 3). Dieselfde resultate van progressief-verminderde plaatjie-aggregasie in vitro is ook deur Anderson et al. (1987) gerapporteer op monsters van varke besmet met hoogs virulente en minder virulente AVP virus isolate. Weer eens was dit moeilik om presies vas te stel of die afname in aggregasie tewege was aan die progressief ontwikkelende trombositopenie, en/of dit die gevolg van werklike trombosietbeskadiging en disfunksie was. Die moontlikheid van versteurde plaatjie-funksie by AVP sou egter strydig wees met die teorieë van Edwards et al. (1985b) en Anderson et al. (1987) waarvolgens trombosiete moontlik deur immuun-komplekse (Edwards et al., 1985b) of aragidoonsuur metaboliëte (Anderson et al., 1987) gestimuleer sou word om aggregasie en vrystelling van die inhoud te ondergaan. Trombosiet-aggregasie en vrystelling is delikate fisiologiese prosesse wat nie by beskadigde bloedplaatjies verwag sou word nie (Karpatkin & Holmsen, 1983; Zucker, 1983). Toekomstige ondersoek om die werklike aard en graad van trombosiet-disfunksie te kan bepaal is dus uiters noodsaaklik omdat dit ook groter duidelikheid oor die oorsake van trombositopenie by AVP sal bring.

Alhoewel die afwykings van die bloeityd, stolselsametreking en plaatjie-aggregasie meer dikwels voorgekom het by die varke wat met die HD-AVP virus isolate besmet was, was dit ook meer uitgesproke by die varke besmet met die NHD-AVP isolaat wat binne 9 dae dood is. Die virulensie van die isolate het dus blykbaar 'n be-

langriker invloed op die bloedplaatjie funksie uitgeoefen as die HD-eienskap daarvan, soos ook die geval was by die trombosiettelings (Hoofstuk 2).

Betekenisvolle toenames van die GGTT, TT, FDP'e sowel as geringe stygings van die protrombientyd (PT) het by die varke besmet met die HD-AVP virus isolate voorgekom. By die varke wat die NHD-AVP isolaat ontvang het was slegs die TT en FDP vlakke noemenswaardig verhoog. Hierdie waarnemings stem grootliks ooreen met die resultate van Edwards (1983) en Edwards et al. (1984) in varke wat met virulente en minder virulente AVP virus isolate besmet is. Verlenging van die stoltyd in die onderskeie varke dui op merkbare stollingsfaktor tekorte, die teenwoordigheid van anti-stollingsagente soos byvoorbeeld FDP'e of 'n kombinasie hiervan (Hougie, 1983). Alhoewel die biologiese halfleeftyd van die plasmastollingsfaktore wissel van c. 1 uur tot c. 8 dae by mense en sekere proefdiersoorte (Hoofstuk 5) en alhoewel ons varke besmet met die HD-AVP isolate vir hoogstens 5 dae oorleef het, kon moontlike tekorte van 1 of meer faktore deur die lewerselskade veroorsaak word, veral by die varke besmet met die NHD-AVP isolaat waar die oorlewingsstye langer was. Dit sal egter baie moeilik wees om die moontlike stollingsfaktortekorte as gevolg van die lewerselbeskadiging by akute AVP afsonderlik van die gepaardgaande uitputtingskoagulopatie en verlengde GGTT te bepaal wat deur die hiperfibrinolitiese en DIS toestande by hierdie siekte geskep is (Hoofstukke 4 & 5). Verminderde bloedstolselsametrekking, grys-wit tot rooi stolselverkleuring, pap en breekbare bloedstolsels en variërende grade van oplossing en disintegrasië van stolsels na c. 7 ure van inkubasië by 37°C (Hoofstukke 3 & 4) is beskou as sterk aanduidings vir trombositopenie, trombosietdisfunksie, DIS en/of oordrewe fibrinolise. Die onvermoë van etlike terminale bloedmonsters om te stol en die skeiding van boonste wit-grys fibrineuse en onderste donker-rooi bloedfraksies na 1/2 - 1 uur in die stollingstydtoets is ook geïnterpreteer as verdere bewyse vir DIS, merkbare stollingsfaktor tekorte en/of oordrewe fibrinolise en die teenwoordigheid van teenstolmiddels soos FDP'e (Hougie, 1983). Die voorkoms van die rooibloedsel-arme, onstabiele fibrienstolsel wat aan die oorrand by 1 vark gesien is (Fig. 19) het die vermoë van defektiewe fibrienstolselvorming in vivo by

ons varke met akute AVP versterk. Plasma-fibrinogeenvlakke kon ongelukkig nie suksesvol bepaal word met die fisies-chemiese metodes wat in hierdie studie aangewend is nie. Dit moet ongelukkig erken word as 'n swak punt want dit sou duideliker kon aantoon of die defektiewe bloedstolsels en die verlengde plasmastollingstye te wyte was aan die uitputting van fibrinogeen en die ander stollingsfaktore. Edwards (1983) en Edwards et al. (1984) het egter bewys dat slegs matige fibrinogeenvlakdalings maar sterk positiewe FDP-vlak stygings by varke besmet met virulente AVP isolate voorgekom het. Plasminogeen-aktiveerdersekresie en fibrinoliese mag bevorder word deur die aktivering van makrofages deur AVP virus besmetting. Vertraagde fagositose en suiwing van FDP'e en plasmin as gevolg van die progressiewe besmetting van makrofages deur die AVP virus mag tot verdere inhibisie van bloedstolling lei (Unkeless et al., 1974; Edwards, 1983; Edwards et al., 1984). Verder mag intravaskulêre stolling en trombose endoteelselle stimuleer om plasminogeenaktiveerder af te skei wat fibrinolise kan aktiveer, versnel en lokaliseer. Die blootlegging van subendotheliale kollageen en die aktivering van Hageman-faktor XII is ook 'n baie belangrike meganisme wat fibrinolise kan inisiëer (Francis & Marder, 1983).

Hialiene-, globulêre- en granulêre-trombi en intravaskulêre neerslae wat swak tot sterk positief vir fibrien gekleur het met die PAS-, PTAH- en gemodifiseerde MSB-metodes en ooreenstem met 'n DIS toestand (Jubb et al., 1985e) was by varke van beide groepe sigbaar (Hoofstuk 5). Trombose en DIS was mees opvallend in die niere, longe en vel in dalende volgorde by beide groepe met die milt, limfknope, lewer en hart slegs in enkele gevalle aangetas. Trombi en intravaskulêre neerslae was moeilik om in suiwer hialiene-, globulêre- en granulêre- tipes te klassifiseer (Skjorten, 1968; Bleyl & Rossner, 1976; Jubb et al., 1985e). Hialiene- en globulêre fibrineuse trombi het egter meestal in die kapillêre en venules in die boonste dermis van die vel voorgekom terwyl granulêre trombi meer dikwels in die longe gesien is. Trombi in die groter bloedvate van die niere was gewoonlik mengsels van granulêre-, hialiene- en globulêre tipes terwyl die glomeruli meestal fibrineuse hialiene- en globulêre trombi bevat het. Intravaskulêre neerslae wat vermoedelik uit plasmaproteïen of FDP'e bestaan het met negatiewe tot gedeeltelik positiewe kleurreaksies vir fi-

brien kon gereeld saam met die granulêre- en hialiene-trombi in bloedvate waargeneem word. Hierdie beeld stem ooreen met die algemene Schwartzman reaksie as gevolg van trombose en DIS in die nier met gevolglike multifokale tot totale renale kortikale nekrose en infarsie (Jubb et al., 1985b). Daar was relatief min fibrien-positiewe trombi of eksudaat in die bloedvate en alveoli van die longe asook in die bloedvate en sinussoïedes van die milt, limfknope en lewer. Hierdie skaarste aan fibrienneerlegging is moeilik om te verklaar. Dit moet egter in aanmerking geneem word dat hierdie organe 'n ryk monosiet-makrofaagkompliment besit wat moontlik verhoogde plasminogeen-aktiveerder kan produseer tydens AVP virus besmetting om plaaslike en sistemiese fibrinolise te inisiëer (Unkeless et al., 1974; Edwards, 1983; Edwards et al., 1984). Omdat fibrinolise deur plasmien nadoods voortduur, is dit ook moontlik dat fibrien trombi 'verlore' mag raak vir diagnostiese doeleindes waar post mortem ondersoeke vir c. 3 uur na dood vertraag word (Jubb et al., 1985e). Nadoodse ondersoeke kon ongelukkig nie by alle varke onmiddellik na dood uitgevoer word nie hoofsaaklik weens onvoorspelbare vrektes gedurende die nag. Die PTAH-, PAS- en gemodifiseerde MSB-kleurmetodes is betroubaar vir die demonstrasie van fibrien, maar nuutgevormde fibrien van jonger as c. 12 uur of etlike dae oud mag moontlik vals negatiewe kleurreaksies gee. Histochemiese kleurmetodes moet dus verkieslik saam met immuno-sitochemiese en elektronmikroskopiese metodes toegepas word (Ghadially, 1982; Pearse, 1985b). Alhoewel dit baie moeilik was om die sigbare graad van trombose in DIS kwantitatief te vergelyk in die 2 groepe varke, wil dit voorkom asof hierdie veranderinge meer dikwels in die varke besmet met die NHD-AVP isolaat voorgekom het. Die strafste grade van mikroskopiese trombose en DIS kon slegs in 1 vark (no. 12) gespuit met 'n HD-AVP isolaat maar by 4 varke (nos. 14, 15, 19 & 20) besmet met die NHD isolaat gesien word (Tabelle 10a & b). Die ooreenkoms tussen die in vitro stollingstoetsresultate (Tabelle 7a & b; 8a & b) en die sigbare trombose en DIS was egter teleurstellend waar dit by individuele diere vergelyk is. Dit moet egter onthou word dat die histopatologiese beeld van trombose en DIS die endstadium van fibrienneerlegging en fibrinolise verteenwoordig. Die relatiewe skaarste aan waarneembare PAS- en PTAH-positiewe fibrientrombi en intravaskulêre neerslae by die varke besmet met die HD-AVP isolate wat blyk-

baar meer virulent as die NHD-AVP isolaat was (Hoofstuk 2) mag eerder die gevolg van meer aktiewe fibrinolise by hierdie groep wees. Die FDP vlakke en stollingstydwaardes (GGTT en TT) was blykbaar relatief hoër by die varke besmet met die HD-AVP virus isolate wat moontlik 'n strawwer graad van DIS en fibrinoliese by hierdie groep kon aandui (Hougie, 1983). Weens die onvoorspelbaarheid van vrektes by ons varke kon hierdie toetse egter nie in alle gevalle daagliks tot op die dag van dood uitgevoer word nie. Duidelike gevolgtrekkings oor die verskille tussen hierdie parameters by die varke wat die HD-AVP isolate en die NHD-AVP isolaat ontvang het kon dus nie gemaak word nie (Hoofstuk 4).

Die stimulasie van monosiete en makrofage tot fagositose, of die lise van makrofages deur besmetting of nekrose mag 'n belangrike invloed op fibrinolise, bloedvatwandintegriteit en bloedplaatjie-aggregasie uitoefen deur die vrystelling van chemiese mediators soos plasminogeen-aktiveerder, hidrolitiese ensieme en prostaglandien produkte (PGE_2 & PGF_2) van aragidoonsuurmetabolisme. Verhoogde PGE_2 en verlaagde PGI_2 produksie is by varke besmet met virulente en matige virulente AVP virus isolate beskryf en gepostuleer as die oorsake van verhoogde bloedvatwand deurlaatbaarheid, eksudasie, skok, trombositopenie en bloeding. Die verlaagde PGI_2 vlakke wat moontlik toegeskryf kon word aan endoteelselbesmetting deur die AVP virus mag bydra tot trombosiet-aggregasie en trombositopenie (Anderson, 1986; Anderson *et al.*, 1987). Direkte bloedvatwand beskadiging deur AVP virus besmetting van endoteelselle (Wilkinson & Wardley, 1978) of indirekte beskadiging deur vrygestelde leukosiet produkte (Anderson, 1986; Anderson *et al.*, 1987) mag ook verdere belangrike gevolge hê deur die blootlegging van sub-endoteliale kollageen. Kontak-aktivering van Hageman-faktor XII in plasma deur kollageen lei ook tot kinienvorming wat skeiding van endoteelselle in venules en drastiese verhogings van bloedvatdeurlaatbaarheid veroorsaak (Slauson & Cooper, 1982e). Verder mag die aktivering van faktor XII ook lei tot trombienvorming via die intrinsieke stollingspad om bloedplaatjies te aktiveer om serotonien vry te stel wat periferele bloedvate kan laat saamtrek of verwyd. Serotonien kan ook verhoogde deurlaatbaarheid van bloedvate bevorder deur die spasies tussen endoteelselle te verwyd (Slauson & Cooper, 1982e). 'n Verskeidenheid van chemiese

mediators van bloedvatwanddeurlaatbaarheid en gladdespiersametrekking of verwyding behoort teoreties betrokke te wees by die veronderstelde indirekte beskadiging van bloedvatwande deur die AVP virus. Verhoogde plasmavlakke van kinienes en serotonien sal egter nog bewys moet word (Hoofstuk 4 & 5). Direkte endoteelselbeskadiging sal deur in vivo demonstrasie van AVP virus in endoteelselle aangetoon moet word. Ons kon tenspyte van herhaaldelike elektronmikroskopiese ondersoeke van bloedvate slegs degenerasie en nekrose van endoteelselle aantoon maar geen besmetting met die AVP virus nie. Repliserende AVP virus partikels kon wel elektronmikroskopies in die sitoplasma van verdagte makrofages intiem geassosieer met die long- en glomerulêre-endoteel gedemonstreer word. Besmetting en lise van hierdie selle saam met makrofages in ander weefsels kon moontlik aanleiding gegee het tot die vrystelling van genoemde mediators van bloedvatwandbeskadiging, trombose, bloeding, edeem, fibrinolise en die swak stolbare sereuse tot fibrineuse torakale- en perikardiale effusies (Hoofstuk 5). Die hialiene veranderinge in bloedvatwande wat lig- en elektronmikroskopies waargeneem is stem ooreen met fibrinoïede degenerasie en nekrose van bloedvatwande (Jubb et al., 1985d; Pearse, 1985b). Die letsels ontstaan vermoedelik as gevolg van gladdespierdegenerasie en nekrose asook plasmaproteïenneerlegging in bloedvatwande (Jubb et al., 1985d). Die uitwerking van genoemde mediators mag moontlik die ontstaan van die fibrinoïede vaskulêre veranderinge by akute AVP verklaar. Hierdie veranderinge stem morfologies ook ooreen met die fibrinoïede vaskulêre veranderinge by edeemsiekte (kolibasilose) in die maag en brein, EVP en sekere vorme van vitamien E tekortsiektes by varke (Jubb et al., 1985d). Die fibrinoïede vaskulêre veranderinge by akute AVP kom verder baie ooreen met die vaskulêre letsels by eksperimenteel verwekte hipertensie by rotte en vermoedelik ook by kwaadaardige hipertensie van mense (Wiener et al., 1965; Hüttner et al., 1968; Ghadially, 1982). Die aanwending van die antihipertensiewe middel "ketanserien" wat 'n kragtige serotonergiese antagonist is (Vanhoutte & Lüscher, 1986) gedurende eksperimentele besmettings met virulente AVP virus isolate om moontlike modulasie van die morfologiese veranderinge te bestudeer behoort aandag te geniet in toekomstige navorsingsprojekte. Alhoewel enkele vry AVP virus partikels elektronmikroskopies in die wande van beskadigde bloedvate in die long en lewer

gesien kon word (Fig. 51) is besmetting en replikasie nooit in endoteel, gladdespierselle of fibroblaste waargeneem nie. Dit is dus te betwyfel of die nekrotiese letsels in bloedvatwande aan 'n direkte sitolitiese effek van die virus toegeskryf kan word. Vry AVP virus partikels (Plowright et al., 1968) kon moontlik saam met plasma proteïenes uit die sirkulasie in die wande van beskadigde bloedvatwande neergelê word. Die oorsaak van die vaskulitis gekenmerk deur die infiltrasie van hoofsaaklik mononukleêre leukosiete, enkele neutrofiele en eosinofiele in die long, lewer, hart, milt en brein by sekere varke besmet met die HD-AVP isolate en die NHD-AVP isolaat was moeilik om te verklaar. Alhoewel die histopatologiese beeld van die vaskulitis met 'n selbemiddelde of vertraagde hipersensitiwiteitsreaksie ooreengestem het (Bergman, 1980; Slauson & Cooper, 1982f) was die oorlewingsperiode by meeste van ons varke te kort vir sensitisasie om te ontwikkel (Shimizu et al., 1977). Die moontlikheid van 'n inflammatoriese reaksie teen AVP virus partikels in die wand moet eerder oorweeg word (Hoofstuk 5). Die relatiewe skaarste van demonstreerbare fibrien, beide met die elektronmikroskoop en histochemiese metodes in beskadigde bloedvatwande, kan waarskynlik op dieselfde wyse verklaar word as die gebrek aan fibrienneerlegging in die lumen van bloedvate. Die relatiewe akute verloop van die siekte by meeste varke, die moontlike onvermoë van die histochemiese metodes om jong fibrien van c. minder as 12 uur oud te kleur asook die hiperfibrinolitiese aard van die siekte moet in aanmerking geneem word.

Samevattend kan gesê word dat dit moeilik was om presies te bepaal watter organe die strafste en mees gereelde bloedings vertoon het omdat bloeding en kongestie redelik wisselvallig in die limfknope en ander organe van die verskillende varke voorgekom het. Bloedings en kongestie was ook dikwels selfs mikroskopies moeilik om van mekaar te onderskei. Dit wil egter voorkom asof die strafste en mees gereelde bloedings in die limfknope, milt, niere en die vel voorgekom het. Bloedings was ook baie moeilik om van kongestie in die milt te onderskei vanweë die ryk sinusoïdale en kapillêre-bloedvatvoorsiening in hierdie orgaan. Behalwe vir die niere waar merkbare bloedings in enkele gevalle voorgekom het, was die bloedings by ons varke relatief lig in vergelyking met die strawwe en somtyds dodelike subkutane, rektale, galblaas en intra-

abdominale bloedings wat deur vorige navorsers in die VSA beskryf is (McVicar et al., 1981; Edwards, 1983; Edwards et al., 1985b). In nie een van ons varke was daar aanduidings van progressiewe onbeheersde inwendige bloedings waarneembaar wat moontlik vir die dood van varke verantwoordelik gehou kon word soos beskryf is deur Edwards (1983) en Edwards et al. (1985b) ten spyte van die gereelde bloedmonster versameling uit die vena cava anterior nie. Die bloeityd soos bepaal volgens "Duke se oorsny metode" was egter merkbaar verleng by enkele varke wat getoets is wat dui op moontlike trombositopenie en/of trombositidisfunksie (Hoofstuk 3). Die oorheersend ventraal verspreide velbloedings by ons varke was mees waarskynlik die gevolg van die ventrale gewigsdrukking as gevolg van die lêhouding bykomstig tot die hemostatiese versteurings van AVP. Pupura is byvoorbeeld by varke met iso-immuun trombositopenie eers gesien wanneer trombosiëttellings laer as $40 \times 10^9/L$ gedaal het (Lie, 1968) (Hoofstuk 2). Bloedings was hoofsaaklik gelokaliseer om sinusoïdale-, kapillêre en klein venulêre bloedvate waar die wande degeneratiewe en nekrotiese veranderinge vertoon het wat ook aandui dat bloedvatwand-disintegrasie mees waarskynlik die belangrikste oorsaak van bloeding by hierdie siekte verteenwoordig. Hierdie bevinding verskil dus van Edwards (1983) en Edwards et al. (1984) se siening dat bloedvatwand-nekrose nie by AVP voorkom nie en dat trombositopenie en onstabiele fibrienstolselvorming die belangrikste oorsake van bloeding by dié siekte is. Verder was dit baie moeilik om te onderskei tussen die graad van die makroskopiese en mikroskopiese bloedings en ander patologiese veranderinge in die groep varke besmet met die HD-AVP virus isolate en dié besmet met die NHD-AVP isolaat. Alhoewel bloedings in die vel, milt en niere blykbaar meer gereeld voorgekom het by die groep varke besmet met die HD-AVP isolate, is dit duidelik dat strawwe bloedings, vaskulêre veranderinge en limfoïede nekrose ook by die varke besmet met die virulente NHD-AVP isolaat teenwoordig was. Hierdie waarnemings bevestig dus nie alleen die bevindings van Pini (1977) en Thomson et al. (1979) dat 'n NHD-AVP virus isolaat virulent mag wees nie, maar demonstreer ook verder dat behalwe vir die graad van DIS, die makroskopiese en ligmikroskopiese patologiese veranderinge by die oorgrootte meerderheid van hierdie varke nie onderskeibaar was van die ooreenkomstige veranderinge by die varke wat met die HD-AVP virus isolate besmet was nie. Dit

moet egter genoem word dat DIS en trombose blykbaar opvallend was by die varke wat met die NHD-AVP virus besmet is. Dit mag aandui dat fibrinolise minder aktief by hierdie groep was en moontlik verband hou met die laer virulensie van die NHD-AVP isolaat. Die FDP vlakke was ook oor die algemeen laer by hierdie groep wat bogenoemde vermoede ondersteun. Alhoewel vaskulitis nie in die bloedvate van die meninges en brein van die varke besmet met die HD-AVP virus isolate sigbaar was nie, was soortgelyke letsels wel in die bloedvate van die long, milt en lewer van etlike varke besmet met die HD-AVP virus isolate waarneembaar. Die strawwe fibrineuse perikarditis wat by 2 varke besmet met die NHD-AVP virus isolaat teenwoordig was waar die oorlewingsperiode 12 - 15 dae lank was, kan moontlik verwant wees aan die letsels van fibrineuse pleuropneumonie wat dikwels by varke met subakute tot chroniese AVP waargeneem is (Moulton & Coggins, 1968b; Nesor & Gainaru, ongepubliseerde waarnemings, 1981). Pini (1977) het egter ook aangetoon dat die CV (HD)-AVP isolaat relatief avirulent kon optree na herhaalde passasies in vatbare varke. Uit hierdie gegewens blyk dit dus dat die HD-eienskap nie sondermeer as 'n kenmerk van virulensie by AVP virus isolate beskou kan word nie, aangesien 'n NHD isolaat soms virulent mag wees (Pini, 1977; Thomson *et al.*, 1979; Nesor *et al.*, 1986) en die omgekeerde ook vir 'n HD-AVP isolaat kan geld (Pini, 1977). Dit is egter duidelik dat beide die HD-AVP isolate en die NHD-AVP isolaat in hierdie studie virulent was (Pan & Hess, 1984) en dat die HD- en NHD-eienskappe stabiel en onveranderd gebly het soos blyk uit die eienskappe van die virusse geïsoleer uit die organe van die onderskeie varke (Tabelle 12a & b).

Die patogenese van AVP en die hemorragiese-virus-koorsiektes van mense mag ooreenstem deurdat die makrofaag die primêre setel van virusreplikasie verteenwoordig. Alhoewel endoteelselbesmetting moontlik by Slenkdalkoors, Ebola- en Hantaan-koors plaasvind, ontbreek bewyse hiervoor nog by ander hemorragiese-virus-koorsiektes. Bloedplaatjie-funksie word versteur by beide Ebola- en Lassa-koors. Prostasiklien (PGI₂) produksie word ook ingekort en bloedstollingsversteurings en DIS kom ook in die terminale stadia van die siektes voor (Fischer-Hoch, Platt, Lloyd, Simpson, Neild & Barret, 1983; Fischer-Hoch, Platt, Neild, Southee, Baskerville, Raymond, Lloyd & Simpson, 1985; Anderson *et al.*, 1987).

Aangesien AVP nie dieselfde veiligheidsrisiko vir mense inhou nie, deur 'n relatiewe groot virus veroorsaak word wat maklik is om elektronmikroskopies te bestudeer en die vark 'n gerieflike proefdier is, behoort hierdie model meer aandag te geniet in toekomstige studies van hemorragiese-virus-koorssiektes van mense.

BRONNELYS

- ANDERSON, E.C., 1986. African swine fever : Current concepts on its pathogenesis and immunology. Revue Scientifique et Technique, Office International des Epizooties, 5, 477-486.
- ANDERSON, E.C., WILLIAMS, S.M., FISHER-HOCH, S.P. & WILKINSON, P.J., 1987. Arachidonic acid metabolites in the pathophysiology of thrombocytopenia and haemorrhage in acute African swine fever. Research in Veterinary Science, 42, 387-394.
- ANON., 1986. African swine fever in The Netherlands. The Veterinary Record, 412.
- ASTER, R.H., 1983. Thrombocytopenia due to enhanced platelet destruction - thrombotic thrombocytopenic purpura : Microscopic pathology. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J. & LICHTMAN, M.A. (Eds.). Hematology, 3rd Edn., 1306. New York, USA : McGraw Hill Book CO.
- BELDEKAS, J., TEAS, JANE., & HERBERT, J.R., 1986. African swine fever virus and AIDS. The Lancet, 564-565.
- BERGMAN, R., 1980. Cell-mediated immune response in pigs persistently infected with a Mycobacterium avium strain. Research in Veterinary Science, 28, 315-320.
- BEVILACQUA, M.P., POBER, J.S., MAJEAU, G.R., COTRAN, R.S. & GIMBRONE, M.A., 1984. Interleukin 1 (IL-1) induces biosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. Journal of Experimental Medicine, 160, 618-623.
- BIELEFELDT OHMANN, H. & BABIUK, L.A., 1986. Viral infections in domestic animals as models for studies of viral immunology and pathogenesis. Journal of General Virology, 66, 1-25.
- BIGGS, R. & DENSON, K.W., 1963. The fate of prothrombin and factors VIII, IX and X transfused to patients deficient in these factors. British Journal of Haematology, 9, 532-547.
- BLANCHARD, R.A., FURIE, B.C., JORGENSON, M., KRUGER, S.F. & FURIE, B., 1981. Acquired vitamin K-dependent carboxylation deficiency in liver disease. New England Journal of Medicine, 305, 242-248.

- BLECHER, T.E. & GUNSTONE, M.J., 1969. Fibrinolysis, coagulation and haematological findings in normal large white/Wessex cross pigs. British Veterinary Journal, 125, 74-81.
- BLEYL, U. & ROSSNER, J.A., 1976. Globular hyaline microthrombi - their nature and morphogenesis. Virchows Archives of Pathological Anatomy and Histology, 370, 113-128.
- BLOOM, W. & FAWCETT, D.W., 1975a. Blood platelets. In: A textbook of histology, 10th Edn. 139. Philadelphia, USA: W.B. Saunders Company.
- BLOOM, W. & FAWCETT, D.W., 1975b. The splenic white pulp. In: A textbook of histology, 10th Edn. 490. Philadelphia, USA : W.B. Saunders Company.
- BONBLED, P., 1986. Apparition de la peste porcine Africaine en Belgique. Epidemiologie et Santé animale, 9, 57-60.
- BORCHGREVINK, CHR. F. & OWREN, P.A., 1981. Surgery in a patient with factor V (proaccelerin) deficiency. Acta Medica Scandinavica, 170, 743-746.
- BOWIE, E.J.W., OWEN, C.A., ZOLLMAN, P.E., THOMPSON, J.H. & FASS, D.N., 1973. Tests of hemostasis in swine: Normal values and values in pigs affected with Von Willebrand's disease. American Journal of Veterinary Research, 34, 1405-1407.
- BREESE, S.S. & DE BOER, C.J., 1966. Electron microscopic observations of African swine fever virus in tissue culture cells. Virology, 28, 420-428.
- BROWN, W.M. & AXELRAD, A.A., 1976. Effect of Friend leukemia virus on megakaryocytes and platelets in mice. International Journal of Cancer, 18, 764.
- BURCH, G.E. & RAYBURN, P., 1977. Encephalomyocarditis (EMC) viral infection of the coronary blood vessels in newborn mice : viral vasculitis. British Journal of Experimental Pathology, 58, 565-571.
- CARRASCOSA, J.L., CARAZO, J.M., CARRASCOSA, A.L., GARCIA, N., SANTISTEBAN, A. & VINUELA, E., 1984. General morphology and capsid fine structure of African swine fever virus particles. Virology, 132, 160-172.
- CARRASCOSA, A.L., SANTARÉN, J.F. & VENUELA, E., 1982. Production and titration of African swine fever virus in porcine alveolar macrophages. Journal of Virological Methods, 3, 303-310.
- CASAL, I., ENJUANES, L. & VINUELA, E., 1984. Porcine leucocyte cellular subsets sensitive to African swine fever virus in vitro. Journal of Virology, 52, 37-46.

- CHRISTOPH, H.J. & MEYER, H., 1965. Klinisches Laboratorium Arbeitsmethoden des Laboratoriums in der Veterinärmedizin. In: LEMAN, A.D., GLOCK, R.D., MENGELING, W.L., PENNY, R.H., SCHOLL, E. & STRAW, B. (Eds.). Diseases of swine, 5th Edn., 33. Ames, Iowa, USA : Iowa State University Press.
- CLIFTON, E.E. & DOWNIE, G.R., 1950. Variations in proteolytic activity of serum of animals including man. Proceedings Society of Experimental Biology and Medicine, 73, 559-560.
- COGGINS, L., 1966. Growth and certain stability characteristics of African swine fever virus. American Journal of Veterinary Research, 27, 1351-1358.
- COGGINS, L., 1968. Segregation of a non-haemadsorbing African swine fever virus in tissue culture. Cornell Veterinarian, 58, 12-20.
- COGGINS, L., MOULTON, J.E. & COLGROVE, G.S., 1968. Studies with Hinde attenuated African swine fever virus. Cornell Veterinarian, 58, 525-540.
- COLGROVE, G.S., HAELTERMAN, E.O. & COGGINS, L., 1969. Pathogenesis of African swine fever in young pigs. American Journal of Veterinary Research, 30, 1343-1359.
- CRESSIE, N.A.C. & WHITFORD, H.J., 1986. How to use the 2-sample-t-test. Biometrical Journal, 28, 131-148.
- DE BOER, C.J., 1967. Studies to determine neutralizing antibodies in sera of animals recovered from African swine fever and laboratory animals inoculated with African swine fever virus with adjuvants. Archiv für gesamte Virusforschung, 20, 164-179.
- DE BOER, C.J., PAN, I. & HESS, W.R., 1972. Immunology of African swine fever. Journal of the American Veterinary and Medical Association, 160, 528-532.
- DE CLERCK, F., BORGERS, M., DE GAETANO, G. & VERMYLEN, J., 1975. Dissociation of clot retraction from platelet granule fusion and degranulation: an ultrastructural study of reptilase-human platelet-rich plasma clots. British Journal of Haematology, 29, 341-348.
- DE KOCK, G., ROBINSON, E.M. & KEPPEL, J.J., 1940. Swine fever in South Africa. Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry, 14, 31-93.

- DeTRAY, D.E., 1957. Persistence of viremia and immunity in African swine fever. American Journal of Veterinary Research, 18, 811-816.
- DeTRAY, D.E. & SCOTT, G.R., 1957. Blood changes in swine with African swine fever. American Journal of Veterinary Research, 18, 484-490.
- DeTRAY, D.E., 1963. African swine fever. Advances in Veterinary Science, 8, 299-331.
- DINARELLO, C.A., 1985. An update on human interleukin-1: From molecular biology to clinical relevance. Journal of Clinical Immunology, 5, 287-297.
- EDWARDS, J.F., 1983. The pathogenesis of thrombocytopaenia and hemorrhage in African swine fever. PhD. thesis, Cornell University, Ithaca, New York.
- EDWARDS, J.F., DODDS, W.J. & SLAUSON, D.O., 1985a. Megakaryocytic infection and thrombocytopaenia in African swine fever. Veterinary Pathology, 22, 171-176.
- EDWARDS, J.F., DODDS, W.J. & SLAUSON, D.O., 1985b. Mechanism of thrombocytopaenia in African swine fever. American Journal of Veterinary Research, 46, 2058-2063.
- EDWARDS, J.F. & DODDS, W.J., 1985. Platelet and fibrinogen kinetics in healthy and African swine fever affected swine: [⁷⁵SE] Selenomethionine-labeling study. American Journal of Veterinary Research, 46, 181-184.
- EDWARDS, J.F., DODDS, W.J. & SLAUSON, D.O., 1984. Coagulation changes in African swine fever virus infection. American Journal of Veterinary Research, 45, 2414-2420.
- ELS, H. & PINI, J., 1977. Negative staining of a non-haemadsorbing strain of African swine fever virus. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 44, 39-45.
- FINKBINER, R.B., MCGOVERN, J.J., GOLDSTEIN, R. & BUNKER, J.P., 1959. Coagulation defects in liver disease and response to transfusion during surgery. American Journal of Medicine, 26, 199-213.
- FISCHER-HOCH, S.P., PLATT, G.S., LLOYD, G., SIMPSON, D.I.H., NEILD, G.H. & BARRETT, A.J., 1983. Haematological and biochemical monitoring of Ebola infection in Rhesus monkeys: Implications for patient management. Lancet, (ii), 1055-1058.

- FISCHER-HOCH, S.P., PLATT, G.S., NEILD, G.H., SOUTHEE, T., BASKERVILLE, A., RAYMOND, R.T., LLOYD, G. & SIMPSON, D.I.H., 1985. Pathophysiology of shock and haemorrhage in a fulminating viral infection (Ebola). Journal of Infectious diseases, 152, 887-894.
- FRANCIS, C.W. & MARDER, V.J., 1983. Mechanisms of fibrinolysis. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J. & LICHTMAN, M.A. (Eds.), Hematology, 3rd Edn., 1266-1276. New York, USA : McGraw Hill Book Co.
- FURIE, B., 1983. Disorders of the vitamins-K-dependent coagulation factors. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J. & LICHTMAN, M.A. (Eds.). Hematology, 3rd Edn. 1421-1424. New York : Mc Graw Hill Book Co.
- GARCIA-BARRENO, B., SANZ, A. NOGAL, M.L., VINUELA, E. & ENJUANES, L., 1986. Monoclonal antibodies of African swine fever virus: Antigenic differences among field virus isolates and viruses passaged in cell culture. Journal of Virology, 58, 385-392.
- GHADIALLY, F.N., 1982. Ultrastructure of fibrin. In: Ultrastructural pathology of the cell and matrix, 2nd Edn., 726-729. London, UK : Butterworths Publ. Co.
- GITLIN, D., CRAIG, J. & JANEWAY, C., 1957. Studies on the nature of fibrinoid in the collagen diseases. American Journal of Pathology, 33, 55-77.
- GREIG, A., 1980. Studies on African swine fever. Ph.D Thesis. University of London, UK.
- GREIG, A. & PLOWRIGHT, W., 1970. The excretion of two virulent strains of African swine fever virus by domestic pigs. Journal of Hygiene, Cambridge, 68, 673-682.
- GROOCOCK, C.M., HESS, W.R. & GLADNEY, W.J., 1980. Experimental transmission of African swine fever virus by Ornithodoros coriaceus, an Argasid tick indigenous to the United States. American Journal of Veterinary Research, 41, 591-594.
- HALL, C.E., 1949. Electron microscopy of fibrinogen and fibrin. Journal of Biological Chemistry, 179, 857-865.
- HALL, L.W. & CLARKE, K.W., 1983. Inhalation anaesthesia in the pig with Azaparone and Trichloro-ethylene by the semi-open method. In: Veterinary Anaesthesia, (8th Edn.) pp. 177, 299. London, U.K.: Bailliére & Tindall Publ. Co.

- HARESHAPE, J.M., 1984. African swine fever in Malawi. Tropical Animal Health Production, 16, 123-125.
- HATHAWAY, W.E., WUEPPER, K.D., WESTON, W.L., HUMBERT, J.R. et al., 1976. Clinical and physiologic studies on two siblings with prekallikrein (Fletcher factor) deficiency. American Journal of Medicine, 60, 654-664.
- HAWN, C. & PORTER, K.R., 1947. The fine structure of clots formed from purified bovine fibrinogen and thrombin: A study with the electron microscope. Journal of Experimental Medicine, 86, 285-292.
- HESS, W.H., 1984. African swine fever. In: Foreign animal diseases, their prevention, diagnosis and control, Revised Edn., 31-45. Committee on Foreign Animal Diseases of the United States Animal Health Association.
- HEUSCHELE, W.P. & COGGINS, L., 1965. Isolation of African swine fever virus from a giant forest hog. Bulletin of Epizootiological Diseases of Africa, 13, 255-256.
- HEUSCHELE, W.P. & COGGINS, L., 1969. Epizootiology of African swine fever virus in warthogs. Bulletin of Epizootiological Diseases of Africa, 17, 179-183.
- HOLMSEN, H. & KARPATKIN, S., 1983. Metabolism of platelets. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E. & LICHTMAN, M.A. (Eds.), Hematology, 1156-1157. New York: McGraw-Hill Book Co.
- HOUGIE, C., 1983. Haemostasis studies: Whole blood coagulation time: Clot observation and bleeding time. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J. & LICHTMAN, M.A. (Eds.). Hematology, 3rd Edn., 1661-1671. New York, USA : McGraw Hill Book Co.
- HOUSTON, D.S. & VANHOUTTE, P.M., 1986. Serotonin and the vascular system. Role in health and disease, and implications for therapy (Review Article), Drugs, 31, 149-163.
- HOVIG, T. & STORMORKEN, H., 1974. Ultrastructural studies on the platelet plug formation in bleeding time wounds from normal individuals and patients with Von Willebrand's disease. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica (Suppl.), 248, 105-122.
- HUMES, J.L., BONNEY, R.J., PELUS, L. et al., 1977. Macrophages synthesize and release prostaglandins in response to inflammatory stimuli. Nature, 269, 149-150.

- HÜTTNER, I., JELLINEK, & KERENYI, T., 1968. Fibrin formations in vascular fibrinoid change in experimental hypertension: An electron microscopic study. Experimental and Molecular Pathology, 9, 309-321.
- JUBB, K.V., KENNEDY, P.C. & PALMER, N., 1985a. Patterns of hepatic necrosis; Inflammation of the liver, and biliary tract; Rift Valley fever. In: Pathology of domestic animals, 3rd Edn., Vol. 2, 255, 266-268, 274. New York, USA : Academic Press, Inc.
- JUBB, K.V., KENNEDY, P.C. & PALMER, N., 1985b. Renal cortical necrosis; Acute tubular necrosis; Morphology and chronology of glomerular nephritis. In: Pathology of domestic animals, 3rd Edn., Vol. 2, 358, 368. New York : Academic Press, Inc.
- JUBB, K.V., KENNEDY, P.C. & PALMER, N., 1985c. Haemophilus spp. infections. In: Pathology of domestic animals, 3rd Edn., Vol. 2, 492. New York : Academic Press, Inc.
- JUBB, K.V., KENNEDY, P.C. & PALMER, N., 1985d. Hyaline degeneration of blood vessels; Hog cholera. In: Pathology of domestic animals, 3rd Edn., Vol. 3, 41, 67. New York : Academic Press, Inc.
- JUBB, K.V., KENNEDY, P.C. & PALMER, N., 1985e. Disseminated intravascular coagulation. In: Pathology of Domestic Animals, 3rd Edn., Vol. 3, 44. New York : Academic Press, Inc.
- JUBB, K.V., KENNEDY, P.C. & PALMER, N., 1985f. Myocardial necrosis. In: Pathology of Domestic Animals, 3rd Edn., Vol. 3, 19. New York : Academic Press, Inc.
- KARPATKIN, S. & HOLMSEN, H., 1983. Biochemistry, function and composition of platelets. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J. & LICHTMAN, M.A. (Eds.). Hematology, 3rd Edn., 1136-1149. New York, USA: McGraw Hill Book Co.
- KERR, J.F., WYLLIE, A.H. & CURRIE, A.R., 1972. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. British Journal of Cancer, 26, 239-257.
- KIRK, J.E., 1962. Thromboplastin activities of human arterial and venous tissues. Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine, 109, 890-892.
- KOUZAN, S., GALLAGHER, J.E., ELING, T. & BRODY, A.R., 1985. Binding of iron beads to sialic acid residues on macrophage membranes stimulates arachidonic acid metabolism. Laboratory Investigation, 53, 320-327.

- KUZNAR, J., SALAS, M.L. & VINUELA, E., 1980. DNA-dependent RNA polymerase in African swine fever virus. Virology, 101, 169-175.
- LACOMBE, M., VARET, B. & LEVY, J.P., 1975. A hitherto undescribed plasma factor acting at the contact phase of blood coagulation (Flaujeac Factor): Case report and coagulation studies. Blood, 46, 761-768.
- LUNA, L.G., 1968. Brown-Hopps method for Gram positive and Gram negative bacteria. In: Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd Edn., 224-225. New York :Mc Graw Hill Book Co.
- LIE, H., 1968. Thrombocytopenic purpura in baby pigs - clinical studies. Acta Veterinaria Scandinavia, 9, 285-301.
- McIVER, A.G., 1972. A comparison of tinctorial and immuno-histological methods for the detection of fibrinoid change and fibrin deposition in the kidney. Histochemical Journal, 4, 169-176.
- MALMQUIST, W.A. & HAY, D., 1960. Hemadsorption and cytopathic effect produced by African swine fever virus in swine bone marrow and buffy coat cultures. American Journal of Veterinary Research, 21, 104-108.
- MANN, F.D., SHONYO, E.S. & MANN, F.C., 1951. Effect of removal of the liver on blood coagulation. American Journal of Physiology, 164, 111-116.
- MANSO RIBEIRO, J., ROSA AZEVEDO, J.A., TEXEIRA, M.J.O., BRACOFORTE, M.C. et al., 1958. Peste porcine provoquée par une souche différente (souche L) de la souche classique. Bulletin Officielle Internationale Epizotologia, 50, 516-534.
- MAURER, F.D., GRIESEMER, R.A. & JONES, T.C., 1958. The pathology of African swine fever - a comparison with hog cholera. American Journal of Veterinary Research, 19, 517-539.
- McVICAR, J.W., MEBUS, C.A., BECKER, H.N., BELDEN, R.C. & GIBBS, E.P.J., 1981. Induced African swine fever in feral pigs. Journal of the American Veterinary Medical Association, 179, 441-446.
- MEBUS, C.A. & DARDIRI, A.H., 1980. Western hemisphere isolates of African swine fever virus: Asymptomatic carriers and resistance to challenge inoculation. American Journal of Veterinary Research, 41, 1867-1869.

- MEBUS, C.A., McVICAR, J.W. & DARDIRI, A.H., 1983. Comparison of the pathology of high and low virulence African swine fever virus infections. Proceedings CEC/FAO Research Seminar on African Swine Fever (EUR 8466) Sassari; Sardinia, September 1981, 183-194.
- MONTGOMERY, R.E., 1921. On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony). The Journal of Comparative Pathology and Therapeutics, 34, 160-262.
- MOULTON, J. & COGGINS, L., 1968a. Synthesis and cytopathogenesis of African swine fever virus in porcine cell cultures. American Journal of Veterinary Research, 29, 219-232.
- MOULTON, J. & COGGINS, L., 1968b. Comparison of lesions in acute and chronic African swine fever. Cornell Veterinarian, 58, 364-388.
- MOULTON, J.E., PAN, I.C., HESS, W.R., DE BOER, C.J. & TESSLER, J., 1975. Pathologic features of chronic pneumonia in pigs with experimentally induced African swine fever. American Journal of Veterinary Research, 36, 27-31.
- MOURA NUNES, J.F., VIGARIO, J.D. & TERRINHA, A.M., 1975. Ultrastructural study of African swine fever virus replication in cultures of swine bone marrow cells. Archives of Virology, 49, 59-66.
- NAKAJIMA, K., 1983. Pharmacological observations of plasminogen activator release caused by vasoactive agents in isolated perfused pig ears. Thrombosis Research, 29, 163-174.
- NESER, J.A., PHILLIPS, T., THOMSON, G.R., GAINARU, M.D. & COETZEE, T., 1986. African swine fever. I. Morphological changes and virus replication in blood platelets of pigs infected with virulent haemadsorbing and non-haemadsorbing isolates. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 53, 133-141.
- NESER, J.A. & KOTZÉ, C., 1987. African swine fever. II. Functional disturbances of thrombocytes in pigs infected with virulent haemadsorbing and non-haemadsorbing virus isolates. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 54, 147-155.
- NORLEY, S.G. & WARDLEY, R.C., 1982. Complement-mediated lysis of African swine fever virus-infected cells. Immunology, 46, 75-82.

- NORLEY, S.G. & WARDLEY, R.C., 1983. Effector mechanisms in the pig. Antibody-dependent cellular cytolysis of African swine fever virus infected cells. Research in Veterinary Science, 35, 75-79.
- NORLEY, S.G. & WARDLEY, R.C., 1984. Cytotoxic lymphocytes induced by African swine fever infection. Research in Veterinary Science, 37, 255-257.
- OLSON, J.P., MILLER, L.L. & TROUP, S., 1966. Synthesis of clotting factors by the isolated perfused rat liver. Journal of Clinical Investigation, 45, 690-701.
- ORTIN, J. & VINUELA, E., 1977. Requirement of cell nucleus for African swine fever virus replication in Vero cells. Journal of Virology, 21, 902-905.
- OSBORN, J.E. & SHAHIDI, N.T., 1973. Thrombocytopenia in murine cytomegalovirus infections. Journal Laboratory Clinical Medicine, 81, 53-77.
- OWEN, C.A. & WALTER BOWIE, E.J., 1977. Generation of coagulation factors V, XI & XII by the isolated rat liver. Haemostasis, 6, 205-212.
- PAN, I.C., SHIMIZU, M. & HESS, W.R., 1980. Replication of African swine fever virus in cell cultures. American Journal of Veterinary Research, 41, 1357-1367.
- PAN, I.C. & HESS, W.R., 1984. Virulence in African swine fever: Its measurement and implications. American Journal of Veterinary Research, 45, 361-366.
- PAN, I.C. & HESS, W.R., 1985. Diversity of African swine fever virus. American Journal of Veterinary Research, 46, 314-320.
- PAULUS, J.M. & ASTER, R.H., 1983. Clinical evaluation of thrombo-kinetics. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J. & LICHTMAN, M.A. (Eds.). Hematology, 3rd Edn., 1196. New York : McGraw Hill Book Co.
- PEARSE, A.G.E., 1985a. Masson stain for collagen. In: Histochemistry, theoretical and applied, 4th Edn., Vol. 2, 549.
- PEARSE, A.G.E., 1985b. Fibrinogen and fibrin. In: Histochemistry, theoretical and applied, 4th Edn., Vol. 2, 564-569, 595-596. Edinburgh & London : Churchill Livingstone.
- PEARSE, A.G.E., 1985c. Congo red method for amyloid. In: Histochemistry, theoretical and applied, 4th Edn., Vol. 2, 578.

- PEARSE, A.G.E., 1985d. Benzidine method for haemoglobin (after Pickworth, 1934-35). In: Histochemistry, theoretical and applied, 4th Edn., Vol. 2, 888, 918. Edinburgh & London : Churchill Livingstone.
- PINI, A. & WAGENAAR, G., 1974. Isolation of a non-haemadsorbing strain of African swine fever virus from a natural outbreak of the disease. Veterinary Record, 94, 2.
- PINI, A. & HURTER, L.R., 1975. African swine fever: An epizootiological review with special reference to the South African situation. Journal of the South African Veterinary Association, 46, 227-232.
- PINI, A., 1976. Isolation and segregation of non-haemadsorbing strains of African swine fever virus. Veterinary Record, 99, 479-480.
- PINI, A., 1977. Strains of African swine fever virus isolated from domestic pigs and from Ornithodoros moubata in South Africa. D.V.Sc thesis, University of Pretoria.
- PITNEY, W.R. & BROZOVIC, M., 1984. Investigation of platelet function. In: DACEY, J.V. & LEWIS, S.M. (Eds.), Practical Haematology, 6th Edn., 248-251. New York, USA: Churchill Livingstone Publ. Co.
- PLOWRIGHT, W., BROWN, F. & PARKER, J., 1966. Evidence for the type of nucleic acid in African swine fever virus. Archiv für Virusforschung, 19, 289-304.
- PLOWRIGHT, W. & PARKER, J., 1967. The stability of African swine fever virus with particular reference to heat and pH inactivation. Archiv für Gesamte Virusforschung, 21, 383-402.
- PLOWRIGHT, W., PARKER, J. & STAPLE, R.F., 1968. The growth of a virulent strain of African swine fever virus in domestic pigs. Journal of Hygiene, Cambridge, 66, 117-134.
- PLOWRIGHT, W., PARKER, J. & PEIRCE, M.A., 1969a. African swine fever virus in ticks (Ornithodoros moubata, Murray) collected from animal burrows in Tanzania. Nature, 221, 1071-1073.
- PLOWRIGHT, W., PARKER, J. & PEIRCE, M.A., 1969b. The epizootiology of African swine fever in Africa. The Veterinary Record, 85, 668-674.
- PLOWRIGHT, W., PERRY, C.T. & PEIRCE, M.A., 1970. Transovarial infection with African swine fever virus in the Argasid tick, Ornithodoros moubata porcinus, Walton. Research in Veterinary Science, 11, 582-584.

- PLOWRIGHT, W., PERRY, C.T., PEIRCE, M.A. & PARKER, J., 1970. Experimental infection of the Argasid tick, Ornithodoros moubata porcinus with African swine fever virus. Archiv für die Gesamte Virusforschung, 31, 33-50.
- RATNOFF, O.D., 1963. Hemostatic mechanisms in liver disease. Medical Clinics of North America, 47, 721-735.
- RAVAIOLI, F., PALLIOLA, E. & IOPPOLO, A., 1967. Swine fever in wild boars. Note I Veterinaria Italiano, 18, 508-513.
- ROBERTSON, W., 1905. Swine fever, hog cholera or pig typhoid. The Agricultural Journal of the Cape of Good Hope, 27, 735-746.
- ROBINSON, G.A., BIER, A.M. & McCARTER, A., 1961. Labelling of blood platelets of pigs with [³⁵S] sulfate. British Journal of Haematology, 7, 271-275.
- RODRIQUES, L.C., ANDRADE, C. DE M., DA SILVA, A.G. & BAPTISTA, M DE F.D., 1983. Ultramicroscopic observations of African swine fever virus in pig erythrocytes. Proceedings CEC/FAO (EUR 8466) of Research Seminar on African Swine Fever, Sassari, Sardinia. 181, 161-164.
- ROOS, J., VAN ARKEL, C., KEUTER, E.J. & BALLIEUX, R.E., 1960. Blood coagulation as a continuous process. II. The turnover rate of proconvertin. Acta Medica Scandinavica, 168, 477-483.
- ROSSI, V., BREVIARIO, F., GHEZZI, P., DEJANA, E. & MANTOVANI, A., 1985. Prostacyclin synthesis induced in vascular cells by interleukin-1. Science, 229, 174-176.
- RUIZ GONZALVO, F., CARNERO, M.E. & BRUYEL, V., 1983. Immunological responses of pigs to partially attenuated African swine fever virus and their resistance to virulent homologous and heterologous viruses. Proceedings CEC/FAO Research Seminar on African Swine Fever (EUR 8466). Sassari, Sardinia, September 1981, 206-216.
- RUIZ GONZALVO, F., CABALLERO, C., MARTINEZ, J. & CARNERO, M.E., 1986a. Neutralization of African swine fever virus by sera from African swine fever-resistant pigs. American Journal of Veterinary Research, 47, 1858-1862.
- RUIZ GONZALVO, F., CARNERO, M.E., CABALLERO, C. & MARTINEZ, J., 1986b. Inhibition of African swine fever infection in the presence of immune sera in vivo and in vitro. American Journal of Veterinary Research, 47, 1249-1252.

- RYAN, U.S., 1986. The endothelial surface and responses to injury. Federation Proceedings, 45, 101-108.
- SAKARIASSEN, K.S., BOLHUIS, P.A. & SIXMA, J.J., 1979. Human blood platelet adhesion to artery subendothelium is mediated by factor VIII - Von Willebrand factor bound to the subendothelium. Nature, 279, 636-638.
- SALAS, M.L., KUZNAR, J. & VINUELA, E., 1983. RNA synthesis by African swine fever (ASF) virus. Proceedings CEC/FAO Research Seminar on African Swine Fever (EUR 8466), Sassari, Sardinia, September 1981, 235-239.
- SALZMAN, E.W., 1963. Measurement of platelet adhesiveness: A simple in vitro technique demonstrating an abnormality in Von Willebrand's disease. Journal of Laboratory Clinical Medicine, 62, 724-735.
- SANCHEZ-BOTIJA, C., 1962. Estudios sobre la peste porcine africana en Espana. Bulletin Officielle Internationale Epizootologia, 58, 707-727.
- SANCHEZ-BOTIJA, C., 1963a. Reservorios del virus de la peste porcine Africana. Investigacion del virus de la PPA en los artropodos mediante la prueba de hemoadsorcion. Bulletin Officielle Internationale Epizootologia, 60, 895-899.
- SANCHEZ-VIZCAINO, J.M., SLAUSON, D.O., RUIZ-GONZALVO, F. & VALERO, M.S., 1981. Lymphocyte function and cell-mediated immunity in pigs with experimentally induced African swine fever. American Journal of Veterinary Research, 42, 1335-1341.
- SCHALM, O.W., JAIN, N.C. & CARROLL, B.S., 1975a. Materials and methods for the study of the blood, including brief comments on factors to be considered in interpretation. In: Veterinary Haematology, 3rd Edn., 69. Philadelphia, USA : Lea & Febiger Publ. Co.
- SCHALM, O.W., JAIN, N.C. & CARROLL, B.S., 1975b. Bleeding time. In: Veterinary Haematology, 3rd Edn., 291. Philadelphia, USA : Lea & Febiger Publ. Co.

- SCHALM, O.W., JAIN, N.C. & CARROLL, B.S., 1975c. Platelet Function. In: Veterinary Haematology, 3rd Edn., 70, 339. Philadelphia, USA : Lea & Febiger Publ. Co.
- SCHULZE, W., 1981. Physical examination. In: LEMAN, A.D., GLOCK, R.D., MENGELING, W.L., PENNY, R.H., SCHOLL, E. & STRAW, B. (Eds.). Diseases of swine, 5th Edn., 690. Ames, Iowa, USA : Iowa State University Press.
- SHIMIZU, M., PAN, I.C. & HESS, W.R., 1977. Cellular immunity demonstrated in pigs infected with African swine fever virus. American Journal of Veterinary Research, 38, 27-36.
- SKJORTEN, F.S., 1968. On the nature of hyaline microthrombi. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica, 73, 489-501.
- SKOKOZA, L., ZUCKER, M.B., JERUSHALMY, Z. & GRANT, R., 1967. Kinetic studies of platelet aggregation induced by adenosine diphosphate and its inhibition by chelating agents, guanidino compounds and adenosine. Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica, 18, 713-725.
- SLAUSON, D.O. & COOPER, B., 1982a. Haemorrhage. In: Mechanisms of Disease, 1st Edn., 88. Baltimore USA : Williams & Wilkins Publ. Co.
- SLAUSON, D.O. & COOPER, B., 1982b. Fibrinolysis and thrombolysis. In: Mechanisms of Disease, 1st Edn., 121. Baltimore, London : Williams & Wilkins Publ. Co.
- SLAUSON, D.O. & COOPER, B., 1982c. Edema. In: Mechanisms of Disease, 1st Edn., 137. Baltimore, London : Williams & Wilkins Publ. Co.
- SLAUSON, D.O. & COOPER, B., 1982d. Monocytes and macrophages in inflammation. In: Mechanisms of Disease, 1st Edn., 194. Baltimore, London : Williams & Wilkins Publ. Co.
- SLAUSON, D.O. & COOPER, B., 1982e. Mediators of vascular permeability, prostaglandins, lysosomal enzymes and humoral amplification systems of inflammation. In: Mechanisms of Disease, 1st Edn., 166-168, 204, 207-208. Baltimore : Williams & Wilkins Publ. Co.
- SLAUSON, D.O. & COOPER, B., 1982f. Characteristics of delayed type hypersensitivity reactions. In: Mechanisms of Disease, 1st Edn., 294. Baltimore : Williams & Wilkins Publ. Co.

- SLAUSON, D.O. & SANCHEZ-VIZCAINO, J.M., 1981. Leukocyte-dependent platelet vasoactive amine release and immune complex deposition in African swine fever. Veterinary Pathology, 18, 813-826.
- SMITH, J.B., 1980. The prostanoids in haemostasis and thrombosis. A review. American Journal of Pathology, 99, 743-804.
- SMITH, D., GILBERT, M. & OWEN, W.G., 1985. Tissue plasminogen activator release in vivo in response to vasoactive agents. Blood, 66, 835-839.
- STEYN, D.G., 1928. Preliminary report on a South African virus disease amongst pigs. Reports of Director of Veterinary Education & Research Union of South Africa, 13, 14, 415-428.
- STONE, S.S. & HESS, W.R., 1973. Effects of some disinfectants on African swine fever virus. Applied Microbiology, 25, 115-122.
- TABARES, E. & SANCHEZ-BOTIJA, C., 1979. Synthesis of DNA in cells infected with African swine fever virus. Archives of Virology, 61, 49-59.
- THEILER, A., 1905. Observations and experiments on swine fever and swine plague. Report of Government Veterinary Bacteriologist, Transvaal Department Agriculture, 121-133.
- THOMSON, G.R., GAINARU, M.D. & VAN DELLEN, A.F., 1979. African swine fever: pathogenicity and immunogenicity of two non-haemadsorbing viruses. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 46, 149-154.
- THOMSON, G.R., GAINARU, M.D. & VAN DELLEN, A.F., 1980. Experimental infection of warthog (Phacochoerus aethiopicus) with African swine fever virus. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 47, 19-22.
- THOMSON, R.G., 1984. Haemorrhage; Hyaline thrombi. In: General Veterinary Pathology, 2nd Edn., 112, 137. Philadelphia & London : W.B. Saunders Publ. Co.
- THOMSON, G.R., 1985. The epidemiology of African swine fever: The role of free-living hosts in Africa. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 52, 201-209.
- TYTGAT, G.N., COLLEN, D. & VERSTRAETE, M., 1971. Metabolism of fibrinogen in cirrhosis of the liver. Journal of Clinical Investigation, 50, 1690-1701.

- TSCHOPP, T.B., WEISS, H.J. & BAUMGARTNER, H.R., 1974. Decreased adhesion of platelets to subendothelium in Von Willebrand's disease. Journal of Laboratory Clinical Medicine, 83, 296-300.
- UNKELESS, J.C., GORDON, S. & REICH, E., 1974. Secretion of plasminogen activator by stimulated macrophages. The Journal of Experimental Medicine, 139, 834-849.
- VANHOUTTE, P.M. & LÜSCHER, T.F., 1986. Serotonin and the blood vessel wall. Journal of Hypertension, 4 (suppl 1) S29-S35.
- VAN VLEET, J.F., FERRANS, V.J. & RUTH, G.D., 1977. Ultrastructural alterations in nutritional cardiomyopathy of selenium-vitamin E. deficient swine. II. Vascular lesions. Laboratory Investigation, 37, 201-211.
- VIGARIO, J.D., RELVAS, M.E., FERRAZ, F.P., RIBEIRO, J.M. & PEREIRA, C.G., 1967. Identification and localization of genetic material of African swine fever virus by autoradiography. Virology, 33, 173-175.
- VIGARIO, J.D., TERRINHA, A.M. & MOURA-NUNES, J.F., 1974. Antigenic relationships among strains of African swine fever virus. Archiv für die gesamte Virusforschung, 45, 272-277.
- VINUELA, E., 1985. African swine fever virus - a review. Current Topics in Microbiology and Immunology, 116, 151-170.
- WARDLEY, R.C., ANDRADE, C. DE M., BLACK, D.N., DE CASTRO PORTUGAL, F.L., ENJUANES, L., HESS, W.R., MEBUS, C., ORDAS, A., RUTILI, D., SANCHEZ-VIZCAINO, J., VIGARIO, J.D., WILKINSON, P.J., MOURA NUNES, J.F. & THOMSON, G.R., 1983. African swine fever virus - brief review. Archives of Virology, 76, 73-90.
- WARDLEY, R.C. & WILKINSON, P.J., 1977a. The association of African swine fever virus with blood components of infected pigs. Archives of Virology, 55, 327-334.
- WARDLEY, R.C. & WILKINSON, P.J., 1977b. The growth of virulent African swine fever virus in pig monocytes and macrophages. Journal of General Virology, 38, 183-186.
- WARDLEY, R.C., WILKINSON, P.J. & Hamilton, F., 1977. African swine fever replication in porcine lymphocytes. Journal of General Virology, 37, 425-427.
- WARDLEY, R.C., HAMILTON, F. & WILKINSON, P.J., 1979. The replication of virulent and attenuated strains of African swine fever virus in porcine macrophages. Archives of Virology, 61, 217-225.

- WARDLEY, R.C. & WILKINSON, P.J., 1980. Lymphocyte responses to African swine fever virus infection. Research in Veterinary Science, 28, 185-189,
- WARNER, A.E., BARRY, B.E. & BRAIN, J.D., 1986. Pulmonary intravascular macrophages in sheep. Laboratory Investigation, 55, 276-288.
- WEISS, H.J., 1974. Relationship of Von Willebrandt factor to bleeding time. New England Journal of Medicine, 62, 420.
- WEISS, H.J., 1983. Disorders of hemostasis-qualitative platelet disorders. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J. & LICHTMAN, M.A. (Eds.). Hematology, 3rd Edn., 1346-1362. New York, USA : McGraw Hill Book Co.
- WIENER, J., SPIRO, D. & LATTES, R.G., 1965. The cellular pathology of experimental hypertension. II. Arteriolar hyalinosis and fibrinoid change. American Journal of Pathology, 47, 457-485.
- WILKINSON, P.J. & WARDLEY, R.C., 1978. The replication of African swine fever virus in pig endothelial cells. British Veterinary Journal, 134, 280-282.
- WILKINSON, P.J., 1986. Epidemiology of swine fever. Revue Scientifique et Technique Office International Epizooties, 5, 487-493.
- WILKINSON, P.J., WARDLEY, R.C. & WILLIAMS, S.M., 1983. Studies in pigs infected with African swine fever virus (MALTA/78). Commission of the European Communities. Proceedings CEC/FAO Research Seminar on African Swine Fever (EUR 8466 EN), Sassari, Sardinia, September 1981, 74-85.
- WILLIAMS, W., 1983a. Mechanisms of coagulation and sequences of coagulation reactions. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J. & LICHTMAN, M.A. (Eds.). Hematology, 3rd Edn., 1239-1242.
- WILLIAMS, W.J., 1983b. Life-span of plasma coagulation factors. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J. & LICHTMAN, M.A. (Eds.). Hematology, 3rd Edn., 1230-1237. New York, USA : McGraw Hill Book Co.
- YANOFF, M., 1973. Formaldehyde-glutaraldehyde fixation. American Journal of Ophthalmology, 76, 303-304.

- ZELDIS, S.M., NEMERSON, Y., PITLICK, A. & LENTZ, T.L., 1972. Tissue factor (thromboplastin): Localization to plasma membranes by peroxidase-conjugated antibodies. Science, 175, 766-768.
- ZUCKER, M.B., 1983. Platelet function. In: WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J. & LICHTMAN, M.A. (Eds.). Hematology, 3rd Edn., 1176-1184. New York, USA: McGraw Hill Book Co.
- ZWIERZINA, W.D., SCHMALZL, F., KUNZ, F., DWORZAK, E., LINKER, H. & GEISLER, D., 1983. Studies in a case of Bernard-Soulier Syndrome. Acta Haematologica, 69, 195-203.