

HISTOLOGISKE KVALITETSKRAV TIL  
ROTTELUNGER FOR INHALASJONSFORSØK

859

HD ~~858~~/81

VIDAR SKAUG

1. Innledning.
2. Oversikt over rottelungens anatomi.
3. Fikseringsmetodens innvirkning på patologisk anatomisk vurdering av lungevev.
4. Lungepatologi i SPF-dyr.
5. Momenter ved histologisk kvalitetsvurdering av SPF-dyr.
6. Konklusjon.

#### Referanser

VEDLEGG 1: Medical Research Council. Laboratory Animal Centre. (LAC). Mikrobiologiske kavalitetskrav til forsøksrotter.

VEDLEGG 2: Praktiske hygieniske forholdsregler ved behandling og oppbevaring av rotter til inhalasjonsforsøk.

#### Fotomateriale

## HISTOLOGISKE KVALITETSKRAV TIL ROTTELUNGER FOR INHALASJONSFORSØK

Spontant oppståtte lungeinfeksjoner hos forsøksdyr antas å være langt hyppigere enn hva som rapporteres i litteraturen. For sent diagnostisert og upåaktet lungeinfeksjon hos forsøksdyr har for mange forskergrupper ført til mye arbeid og store utgifter og hvor resultatene har vært ødelagt av uønsket betennelsesreaksjon. I denne sammenheng er det tre vesentlige forhold av betydning for langtidsinhalasjonsforsøk:

1. Det er en forutsetning for dyreeksperimentelle langtidsforsøk generelt at dyrene i utgangspunktet er fri for infeksjoner og annen sykdom.
2. Når lungene videre er det organ som først utsettes for ytre påvirkning ved inhalasjonsforsøk, er det dessuten viktig at opptaket av toksiske stoffer fra lungene ikke forstyrres ved på forhånd tilstedeværelse av lungepatologi.
3. Studiet av lungene som målorgan for inhalasjons-eksperimentene setter ytterligere krav til fravær av infeksjon.

En infeksjon vil kunne føre til døden før den effekt en ønsker å studere, er oppnådd. Dersom den forventede effekt oppnås, for eksempel lungefibrose, vil studiet av denne ikke være mulig p.g.a. samtidig uønsket betennelsesreaksjon.

I forbindelse med oppbygging av inhalasjonsstudier ved Yrkeshygienisk Institutt og kvalitetsvurdering av rottelunger til dette formål har jeg fått anledning til å se på histologiske snitt fra rottelunger ved Medical Research Council, Pneumoconiosis Unit, Llandough Hospital Penarth, Wales. Der var arkivert snitt fra 100 dyr, levert som kvalitetsdyr i kategori \*\*\*\* fra 8 forskjellige LAC godkjente avlslaboratorier, (Konf. Vedlegg I). De

fleste dyrene hadde mer eller mindre markerte histopatologiske lungeforeandringer, alle slik at instituttet ikke ville satse på dem til inhalasjonsforsøk. En god del av forskningen er sentrert omkring støvindusert lungefibrose. Krav til dyrekvalitet til disse formål er minst i kategori \*\*\*\*, men det har vist seg at kliniske og mikrobiologiske kriterier ikke er tilstrekkelig for å utelukke infeksjon i denne kategorien.

Denne rapporten baserer seg på det arkiverte materiale, snitt fra kontrolldyr og eksponerte dyr i pågående langtidsinhalasjonsstudier samt egne tidligere erfaringer. Hensikten er å påvise at histologisk undersøkelse av kontrolldyr er nødvendig før inhalasjonsstudier. Den tidligere fryktede kroniske murine pneumoni beskrives ikke da denne forekommer i konvensjonelle rottestammer og neppe i unge SPF dyr som leveres til forsøk.

#### Fotnote

Direktør Peter Elmes, M.D., C.J. Wagner, M.D., Mr. Rodney Hill og Mr. Dennis Munday takkes for at de har stilt materialet til disposisjon og for den praktiske tilrettelegging av studieoppholdet ved instituttet. Uten denne hjelp ville ikke foreliggende erfaringer kunne rapporteres.

## 2. Oversikt over rottelungenes anatomi.

Trakea deler seg i høyre og venstre hovedbronkus som representerer luftvei til de respektive lunger. Venstre lunge har én lapp. Høyre lunge har fire lapper (Kranial, midtre, median og candal). Den luftførende del av åndedrettsorganene forgrener seg videre i lungene til nivå med de respiratoriske bronchioli som representerer første del av det egentlige lungevev som har evne til gassutveksling (den respiratoriske del av lungene). Den respiratoriske bronkiol er kort og går over i alveoleganger som igjen deler seg i fire eller fem forgreninger. Hver forgrening gir direkte opphav til flere alveoler (lungeblærer) via alveolære atrier.

Lungene er omgitt av en tynn pleura. Det er ikke septa fra denne inn i lungene.

Morfometriske målinger i dette nivå har gitt følgende verdier: (Barbero et al 1973):

struktur	måleresultater
alveolegang	
lengde	288 - 624 $\mu$ m
diameter	68 - 154 $\mu$ m
antall forgreninger	2 - 5
atrier, diameter	15 - 264 $\mu$ m
alveoli, diameter	57 - 112 $\mu$ m

Luftrør: Avsmalende hulrør med forgreninger, kledd innad av et enlaget flerradert epitel med flimmerhår, (respiratorisk epitel) som avtar i høyde mot lungens respiratoriske del. Det er forskjellige oppfatninger om epitelets oppbygning. Jeffery et al 1975 har beskrevet 10 forskjellige celletyper

hos rotte, hvor noen skal nevnes her: De antar at den serøse epiteliale celle er spesiell for rotte, siden den ikke er funnet i andre spesies. Det er denne cellen som skulle være ansvarlig for å produsere væske med lavere viskositet enn i det slimet som har opphold i begercellene og bronkialkjertlene. Denne væsken omgir flimmerhårene og på toppen av disse ligger spredte slimtepper som transporteres mot svelget ved hjelp av rytmiske cilieslag. Begerceller (slimproduserende celler) finnes spredt i epitelet. Antallet og lokalisasjon varierer med luftveienes irritasjon og infeksjonstilstand, men ses normalt ikke hos dyr yngre enn 30 uker. Begercellene oppstår først omkring delingsstedet for stammebronkus, oftest i epitelet som ligger over lymfocyttansamlinger i vegglaget. Cellene avtar i antall mot periferien. Celler med flimmerhår er i størst antall mot perifere deler av luftveiene, men avtar i respiratoriske bronkioli og lenger perifert er de fraværende. Basalcellene er i størst antall proksimalt hvor epitelet har størst høyde. De metabolsk aktive Clara-celler er i størst antall i de respiratoriske bronkioler.

Epitelet hviler på en tynn basalmembran. Tverrsnitt gjennom luftrørene viser videre lag av glatt muskulatur som blir smalere mot periferien og bruskniger som bare er lokalisert til hovedbronkiene. Bronkialkjertlene mangler hos rotter. Omkring luftrørene er det enkelte små ansamlinger av lymfocytter. Mengden avhenger av luftveienes irritasjons- og infeksjonstilstand.

#### Den respiratoriske del av lungen

Normalt ses noe utvidede alveole ganger helt ut til det indre brysthinnelag (pleura viscerale). Alveolenes diameter varierer også. Det vil derfor være varierende oppfatninger av hva som skal oppfattes som emfysem (utvidede luftrum perifert for den termiale bronkiolus). Skilleveggen mellom alveolene (alveolesepta) fungerer som en fysiologisk membran og er jevnt tynn.

Den er cellefattig. Alveolene har normalt ikke påvisbare væskeansamlinger og antall alveolære makrofager skal være null eller bare noen ganske få.

Hjertemuskelfibre finnes normalt i adventitia i lungevener hos rotter og er derfor ikke patologisk.

### 3. Betydningen av forskjellige fikseringsmetoder for vurdering av patologiske tilstander i lungene.

Den makroskopiske undersøkelse av lungene skjer best etter fiksering ved pertracheal eller intravaskulær tilførsel av fikseringsvæsken.

Pertracheal fiksering er raskest og mest praktisk. Metoden er rutine ved lysmikroskopisk undersøkelse av lunger i omfattende dyreforsøk. Trykkforholdene ved installasjon av fikseringsvæsken er av betydning for den senere histologiske vurderingen. Noen presser væsken inn ved hjelp av sprøyte og jevn håndkraft, mens andre standardiserer fikseringstrykket ved hjelp av manometer.

Fiksering via blodbanen er en mer krevende teknikk, tidsmessig og teknisk. Lungearterien perfunderes først med en væske som skyller blod ut av lungekarene, deretter med fikseringsmidlet/ene. Lungene fikseres raskere på denne måten og egner seg for senere transmisjonselektronmikroskopisk undersøkelse. Morfometriske undersøkelser av lungevevet krever også optimal fiksering, med konstante trykkforhold (Gil et al 1979).

Fikseringsartefakter kan reduseres ved å velge osmolariteten i perfusjonsvæskene slik at lungevevsvolumene i forskjellige avsnitt (spesielt interalveolarsepta) holdes konstant.

Til rutine lysmikroskopisk undersøkelse av rottelungepatologi ved MRC pneumocomocis unit ble lungene fiksert ved pertracheal installasjon av 10% buffret formalin ved hjelp av en 20 cc sprøyte. Lungene ble "blåst opp" til de ved inspeksjon hadde fått formalin i alle avsnitt.

Den lysmikroskopiske bedømmelse av lungene vil måtte ta med i vurderingen på hvilken måte lungene er fiksert. Områder som er dårlig perfundert eller "oppblåst" må ikke uten videre bedømmes som patologisk.

#### 4. Lungepatologi i SPF-dyr.

Ved histologisk undersøkelse av lunger fra rotter levert fra kategori xxxx avl ble det i to hovedområder påvist lungeforandringer, til risiko for inhalasjonsforsøk.

##### I. Store luftveier.

###### 1) Lymfocytreaksjoner.

Lymfocyttene ligger diffust omkring større luftveier eller anordnet i follikler som i mer uttalte tilfeller invaderer bronkialveggen og bryter inn til eller i det respiratoriske epitel. Dette er avflatet med konvekse bue inn mot lumen.

Lymfocyttene kan også ses som begrensede veldefinerte follikler under slimhinnen, eventuelt med avflatning og kurveforandring av det respiratoriske epitel. I mer uttalte tilfelle vil folliklene øke i antall og individuell diameter. Utvikling av kimcentre er også tegn på økt vevsreaksjon.

###### 2) Begercellemetaplasti.

Det ble registrert begerceller i varierende mengder i det respiratoriske epitel i stamme-



bronkus og en sjelden gang i dennes første forgrening. Slimfarging av snittene er nødvendig for å identifisere flest mulig beger-celler.

## II. Respiratorisk lungevev.

1) Lymfocytreaksjon omkring mindre blodkar. I tidlige stadier er det ødem og utvidelse av rommet omkring arteriolene. Dernest øker infiltrasjonen av lymfocytter i dette området. Flere kar i det samme området er affisert. Ses ofte ved samtidig peribronkial lymfocytinfiltrasjon.

2) Økt celletall i alveole septa (interstitiell pneumoni). Det er ofte samtidig karreaksjon. I tidlige stadier er det ikke vesentlig breddeøkning av septa. Cellene synes å være mononukleære leukocytter.

3) Lungefibrose. Økt mengde av kollagenfibre i alveolesepta, ofte ledsaget av økt celletall og tydelig breddeøkning av septa.

Endel av dyrene av kategori \*\*\*\* hadde tydelig, fra lite til moderat uttalt diffus fibrose. SPF dyr ved AFI og enkelte nyleverte SPF dyr har hatt mer uttalt og flekkvis utbredt lungefibrose.

4) Emfysem. Enkelte av dyrene hadde tydelig centrilobulære emfysematøse forandringer, eventuelt ledsaget av annen lungepatologi. Flere dyr viste underlapper med perifert emfysem og betennelsescelle-

infiltrater i pleuraspissen på overgang mellom diafragma og toraxveggen, samtidig med andre tegn på infeksjon.

5) Intraalveolære forandringer.

Økt mengde alveolære makrofager og eksudat i varierende grad. Ses ofte sammen med de andre forandringene. Isolert kan dette være tegn på begynnende lungeirritasjon. Det kan være vanskelig å skille pneumocytter type II fra alveolære makrofager som ligger inntil alveole-septrum.

6) Granulomatøs pneumoni.

Denne tilstand ble påvist hos noen få dyr og karakteriseres ved granulomer uten kjempeceller og uten henfall. Det er ikke påvist dobbeltbrytende materiale. Nærmere undersøkelser for å klarlegge etiologi er ikke utført.

Mikrobiologisk undersøkelse av lungene er ikke foretatt. Dyrene er på forhånd garantert fri for mycoplasma pneumonia og pasteurella pneumotropica; to tidligere fryktede etiologiske agens for lungeinfeksjon. Virusetiologi er mest sannsynlig.

5. Momenter ved histologisk kvalitetsvurdering av SPF dyr.

Det er funnet varierende grader av forandringer, og det vil være nødvendig å ta stilling til hva som kan kalles akseptable lunger til inhalasjonsforsøk. Ved å velge for strenge kriterier vil det bli vanskelig å få tak i akseptable dyr. Ved å akseptere større grader av forandringer vil sjansene for å få manifest infeksjon øke. Man må være forsiktig med å senke kvalitetskriteriene ved mindre langvarige inhalasjonsforsøk. Ethvert langtidsforsøk må sette optimale krav til dyrekvalitet.

Det er diskusjon om hvor stor lymfocytreaksjon omkring de store luftrør kan være uten av de utvikler seg videre, d.v.s. holder seg stasjonære over måneder - eventuelt år. Små mengder bør kunne aksepteres, men når de bryter gjennom det respiratoriske epitel er det patologisk. Kimcentre i lymfepolikler må heller ikke aksepteres.

Lymfocytansamlinger i perifere deler av lungen er tegn på infeksjon. Perivaskulære lymfocytansamlinger antas å føre til interstitiell pneumoni i løpet av uker eller måneder.

Begerceller må ikke forekomme utover 2. forgrening av stammebronkus. Øvre grenseverdi for antallet er vanskelig å gi.

Lungefibrose og emfysem kan ikke aksepteres i dyr til inhalasjonsforsøk. Problemet kan være å diagnostisere disse på et tidlig stadium. Van Giessen farging av kollagene fibre vil kunne være til hjelp. Det er i denne forbindelse spesielt viktig å ta hensyn til fikseringsmetoden og fikseringstrykket.

Når dyrene undersøkes under forsøkene kan økende alder føre til at det må aksepteres begerceller og lymfocytreaksjoner utover det som ble akseptert før forsøkene begynte.

Andre parametre som kan måles er antall mastceller, plasmaceller, corpora amylacea, samt mengde slim i luftrørene. Økt mengde eller antall vil kunne støtte en infeksjonsdiagnose. Spesialfarging og kvantitering ble ikke utført i denne undersøkelsen.

## 6. Konklusjon.

Det er kjent at en lungeinflammatorisk respons etter inhalasjonsforsøk vil kunne potenseres ved samtidig tilstedeværelse av infeksjon. Lungen som opptaksorgan vil også kunne endre funksjon. Mulighet for innvirkning på metabolske funksjoner (detoksifisering) kan heller ikke utelukkes.

Det er påvist tildels betydelige histopatologiske lungeforandringer hos unge rotter som er levert til forsøk med attest for fravær av en rekke vanlige sykdomsfremkallende mikroorganismer.

Disse infeksjonene er forskjellig fra den kroniske murine pneumoni (KMP) ved at forandringene ikke er så uttalte. Det er i de undersøkte dyrene ikke funnet tegn til total oblitasjon av luftrørene p.g.a. lymfoid hyperplasi, med sekundære atelektaser og abcesser slik som ved KMP. Purulente bronkitter er naturlig nok heller ikke sett.

Den mikrobiologiske kvalitetskontroll av dyrene fanger ikke opp mikroorganismer som sannsynlig årsak til lavgradig luftrørsinfeksjoner og interstitielle pneumonier. SPF dyr må derfor vurderes histologisk før inhalasjonsforsøk igangsettes. Denne kvalitetsvurdering vil kunne være avgjørende for langtidsforsøk. Det er satt frem endel momenter for denne vurdering. Endel erfaring er nødvendig for å kunne diagnostisere de tidligste tegn på lungeinfeksjon.

Oppfølging av kvaliteten på dyr under forsøkene er også vesentlig. Flere forandringer kan aksepteres med økende alder.

Det trenges fortsatt mer erfaring for å kunne forutsi forløpet av de påviste forandringer for derved å kunne sette enda klarere grenser for histologisk akseptable rottelunger til inhalasjonsforsøk.

Referanser:

1. Barbero, B.B., Youref, M.K., Wawerna, J.C. and Bradlly, W.G. (1973): Comparativ histology of the respiratory apparatus of three deserts lodents and the albino rat. A View of Morphological Adaptions. Comp. Biochem. Physiol. 44. 585-597.
2. Bell, D.P. (1967): Chronic respiratory disease in a coesarian-derived and a conventional rat colony. Lab. Anim. 1: 159-170.
3. Gil. J., Bachofen, H., Gehr. P., Weibe E.R. (1979): Alveolan volume-surface area relation in air and saline filled lungs by Vascular perfusion (The American Physiological Society s. 990-1001)
4. Jeffery, P.K. and Resli, L. (1975): New Observations of Rat Ailway Epittrilium. A Quantitativ and Electron Microscopic Study. J. Anat. 120. 295 - 320.
5. Lamb, D. (1975): Rat lung Pathology and quality of Laboratory Animals. The users view. Lab. Anim. 9: 1-

Medical Research Council. Laboratory Animal Centre. (LAC)  
Mikrobiologiske kvalitetskrav til forsøksrotter.

Det anbefales å bruke et system basert på kategorier for å beskrive dyrenes helsemessige status. Fem kategorier er utarbeidet av LAC, basert på fravær av veldefinerte mikroorganismer. Dette systemet er mer presist enn ved bruk av uttrykk som SPF (specific pathogen free), "barrier maintained", "minimal disease" etc. Inndelingen tar hensyn til betydningen af tilstedeværelsen av patogene og ikke-patogene mikroorganismer i dyrene. Dyreleverandørene får sine dyregrupper inndelt i kategorier, fra en til fem stjerner. En stjerne betyr at det ikke er holdepunkter for at det foreligger menneskepatogene mikroorganismer, basert på klinisk undersøkelse og autopsi. I fem stjerners kategorien er dyrene fri for alle påvisbare organismer som følge av oppbevaring i lukket system ("germ free").

For rotter er det listet opp følgende kategorier:

- \* Infeksjon av følgende mikroorganismer må ikke kunne påvises:

- LCM (lymfocytic choriomeningitis) virus
- alle Salmonella species
- Mycobacterium tuberculosis
- Yersinia pseudotuberculosis
- Leptospira. sebogruppene Ballum, Canicola,  
Icterohaemorrhagia og Hebdomadis
- Listeria monocytogenes
- Streptobacillus moniliformis
- Dermatophytes
- Sarcoptes scabiei

- \*\* Som for kategori \* , og i tillegg må kunne utelukkes infeksjon forårsaket av:

- Cestoder, inkludert alle intermediærstadier.

- \*\*\* Som for kategori \*\* og i tillegg må de være av opprinnelse fra hysterektomi eller hysterotomi. Barriereoppbevaring. De må i tillegg ikke vise tegn til infeksjon pga følgende mikroorganismer:

Mycoplasma arthrididis  
Mucoplasma pulmonis  
Pasteurella multocida  
Bordetella bronchoseptica  
Coccidia, alle spesies  
Hexamita muris  
Giardis muris  
alle nematoder unntatt Syphacia obvelata og  
Aspiculuris tetraptera  
alle arthropoder.

\*\*\*\* Som kategori \*\*\*, og i tillegg må det ikke påvises infeksjon forårsaket av følgende mikroorganismer:

alle typer pneumokokker  
Pasteurella pneumotropica  
alle intestinale protozooer  
Helminther.

\*\*\*\*\* Disse dyrene skal være uten påvisbare mikrober og oppbevares i lukket system.

Praktiske hygieniske forholdsregler ved behandling og oppbevaring av rotter til inhalasjonsforsøk.

I LAC anbefalinger for bruk av barriæretiltak for kategori \*\*\*\*

Stigende krav til forsøksdyrs renhet fører også med seg strengere praktiske forholdsregler for å forhindre kontaminasjon fra omgivelsene. Dyr med kategori \*\*\*\* status må holdes klart adskilt fra dyr med lavere status, siden disse representerer en betydelig fare for smitte. Med barriære forstås enhver fysisk anordning, prosedyre eller rutine som har til oppgave å forhindre at dyrene blir smittet med uønskede mikroorganismer. LAC anbefalingene for rotter i kategori \*\*\*\* er som følger:

- 1 Dyrestallen vekk fra potensielle farer (eks: ville rotte)
- 2 Fysisk adskilte bygninger
- 3 Bygningene bygges slik at det er mulig å opprette "enveiskjøring" for derved å adskille rene fra urene arbeidsoperasjoner.
- 4 Arbeidsprosedyrene innrettes slik at disse reduserer smitte. Personell, forsøksdyr, fôr og strø er potensielle smittekilder som må anordnes slik at smitte og kryssmitte unngås.
- 5 Et ekstra rom i dyreavdelingen er nødvendig for å få til en rutinemessig syklus for romsteriliseringen, fortrinnsvis en til to ganger pr. år.
- 6 Alle utvendig dører forsynes med barriære mot smågnagere, minimum 37 cm høy.
- 7 Insektbarriære ved alle utganger/innganger til dyreavdelingen. UV lys med elektrokautersystem kan brukes (ikke kjemikalier!)
- 8 Begrensning av personadgangen til dyrerommene.
- 9 Viktige gode arbeidsrutiner for personellet:
  - desinfeksjonskar for føtter
  - skifte fottøy
  - Dusje og skifte alt tøy
  - Bruke munnbind og hansker når i kontakt med dyrene.



- 10 Rutineundersøkelser av personellet for å finne eventuelle patogene mikroorganismer.
- 11 Gode steriliseringsrutiner for fôr, strø, bur, flasker og annet utstyr. Eventuelt sterilisering av drikkevann.
- 12 Bruk av desinfeksjonsmidler for overflater i dyrerommene.
- 13 Bruk av riktige luftmengder, filtrert, med riktig fuktighet og temperatur. Overtrykk for å forhindre smitte fra mindre ren til renere del av dyrestallen.

II Dyreavdelingen ved MRC Pneumoconiosis Unit,  
Penarth Wales

Vurdering av lungepatologi hos rotter etter inhalasjonsforsøk krever fravær av infeksjon. Instituttet har konsentrert interessen for lungepatologi til pneumokonioser (støvindustriell lungesykdom) og svulster. Dyreavdelingen er delt i tre og har ca 2800 dyr. Den ligger i enden av instituttet, forbundet via en kort lav korridor. Det avles dyr i alle avdelinger.

Den minste avdelingen inneholder ca 500 dyr, alle i et stort rom. Her holdes en stamme rotter med forventet levetid 1 - 2 år etter eksponering, og som forventes å utvikle svulster i det lymfocide system. De andre avdelingene er avgrenset med henblikk på henholdsvis transplantasjonsforsøk av maligne mesoteliomer (ondartede brysthinesvulster) og inhalasjonsforsøk.

Praktiske forholdsregler.

1. Luft:

Det er alltid positivt lufttrykk i rommene. Luften filtreres til 2 mikrometer generelt og videre til 0,1 mikrometer i dyreinhalasjonsrommene. Temperatur konstant 22 grader og relativ fuktighet på 55.

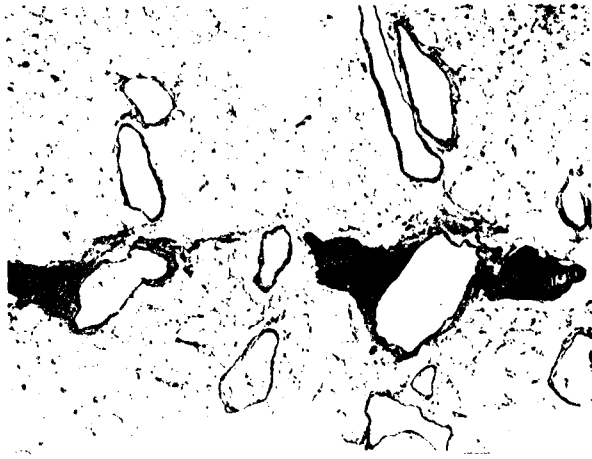
2. Generelle beskyttelsestiltak: Sperrer for uønskede ville smågnagere i alle korridorer som fører inn til dyreavdelingen. Innenfor dørterskelen til de enkelte dyrerom må personellet skifte over til gummistøvler som må trækkes gjennom et forbad med TAGO<sup>R</sup> (nontoksisk anti-septicum av tysk fabrikat) som skiller forrommet fra selve dyrerommet. Det brukes ikke hansker ved håndtering av dyrene. Istedet vaskes hender med desinfeksjonsmiddel (TAGO. Frakk skiftes samtidig med at gummistøvler tas på, men tøyskift utover dette utføres ikke.
3. For: Kommersielt fremstillet pellets, strålebehandlet av leverandøren (2,5 Mrad). Disse leveres i tredobbel pakning på 25 kg's sekker: papir ytterst, en midtre pose av plast og et indre papirlag. Når sekkene tas fra lageret rives ytre lag av. Midtre lag spyles før det tas inn i dyreavdelingen. Det midtre plastlaget tas av før foret tas inn i selve dyrerommet. Det er mindre praktisk å autoklavere foret enn å strålebehandle det. Forets sammensetning kontrolleres av leverandøren hver annen til tredje måned.
4. Vann: Gis direkte uten spesielle forholdsregler vedrørende kvalitetskontroll eller sterilisering.
5. Renhold av bur: Burene er av metall og vaskes i maskin hvoretter de desinfiseres med TAGO (se over). Til det daglige stellet brukes ikke strø, men under burene legges autoklavert absorberende papirark som skiftes en gang i døgnet.

## VEDLEGG 2 FORTS.

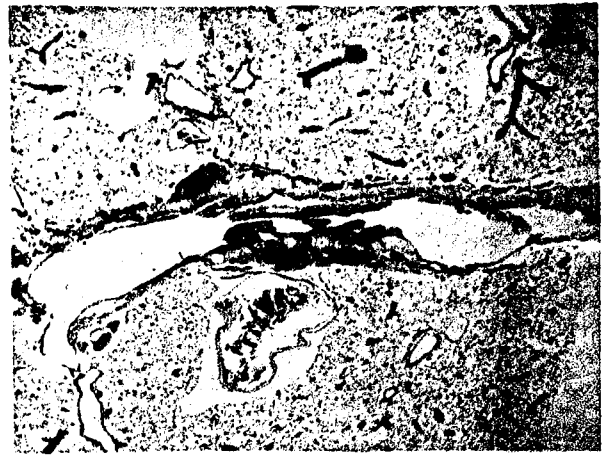
5. Renhold osv. De har ingen holdepunkter for at trivselen  
forts. hos dyrene er dårligere enn ved bruk av  
strø. Det tar en person ca én time å stelle  
500 dyr.
6. Desinfeksjon Når rommene er tømme, brukes formaldehyd-  
av dyre- damp som genereres i en "bombe" (Tilsetting  
rommene: av kaliumpermanganat til formaldehyd).
7. Auto- Alt utstyr som tas inn i dyrerommene,  
klavering: autoklaveres.
8. Merking av For å unngå forveksling av dyrene dersom  
rottene: de skulle komme ut av burene, merkes de  
ved perforasjon av ørene etter et spesielt  
system som svarer til 1 - 399.

MIKROFOTOGRAFIER AV INTRATRAKEALT FIKSERT LUNGEVEV FRA  
ROTTER. ENKELTE EKSEMPLER PÅ HISTOPATOLOGISKE FORANDRINGER:

- A og B ( x 25)           Oversikt over store luftrør med lymfoid hyperplasi.  
Luftrørene bør skjæres i lengderetning slik som i B  
for å få oversikt over utbredelsen av lymfocyttansamlingene
- C ( x 80 )               Lymfocyttmansjett omkring store luftrør. Ødem og mono-  
nukleære leukocytter omkring årer
- D ( x 80 )               Emfysem og betennelsescelleinfiltrasjon i spissen på  
lungelappen. Forandringene er mer uttalt enn hva som kunne  
forventes ved bruk av for høyt trykk på fikseringsvæsken.
- E ( x80 )               **Øverst til venstre sees snitt gjennom** normal alveolegang  
som når helt ut til pleura. Det er emfysem, økt celletall i  
lungevevet og en lett fortykket pleura omkring lungespissen.
- F (x80 )               Lokalisert betennelsescelleinfiltrat bestående av mono-  
nukleære leukocytter. Det er økt celletall i vevet og  
ødem med betennelsesceller omkring en åre.
- G (x80)               Oversikt. Økt celletall i lett breddeforøket septa. Varierende  
snittykkelse må vurderes i forhold til celletallet.
- H og I (x200)           Betennelsesmansjett omkring en åre. Forandringene har  
også bredt seg til alveolesepta. Lett alveolært eksudat med  
noe økt celletall i H
- J (x200)               Mer uttalt betennelsesreaksjon i alveolesepta med alveole-  
utvidelser.
- K (x20) og L (x200) Granulomatøs lungevevsreaksjon.



**A**



**B**



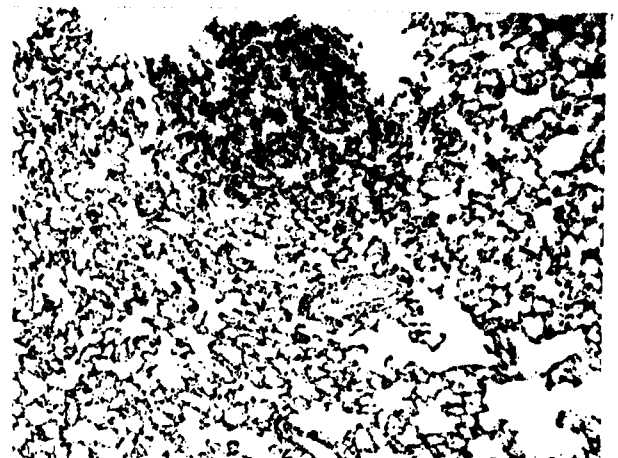
**C**



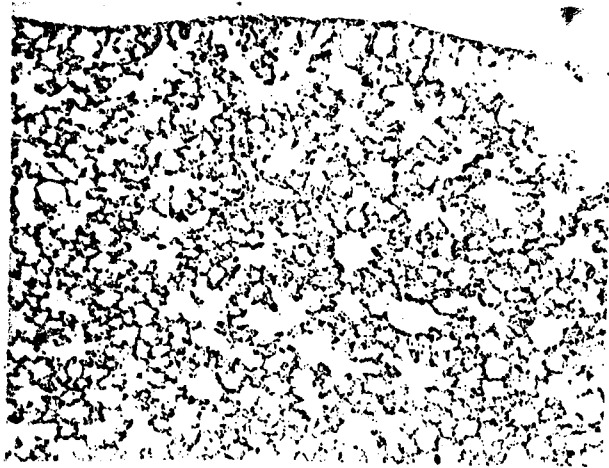
**D**



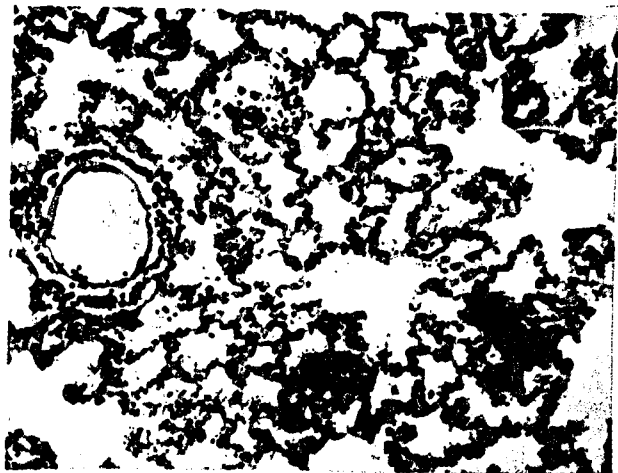
**E**



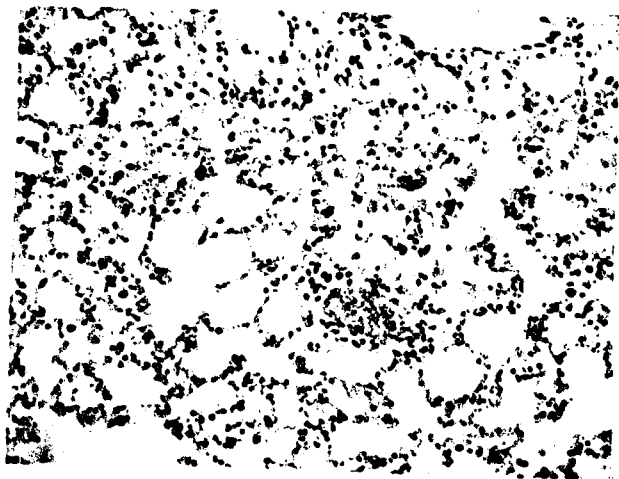
**F**



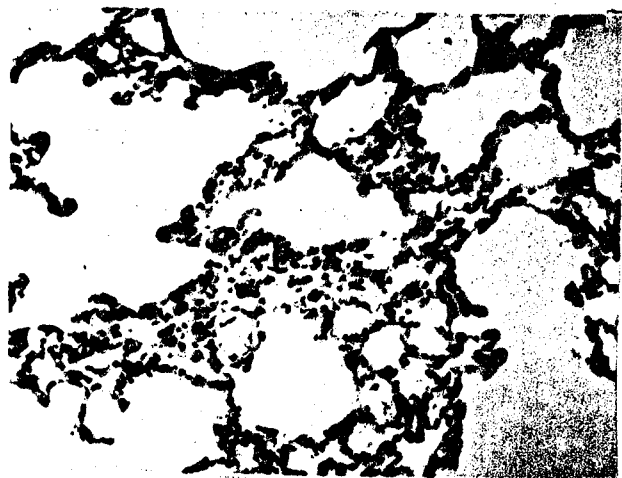
**G**



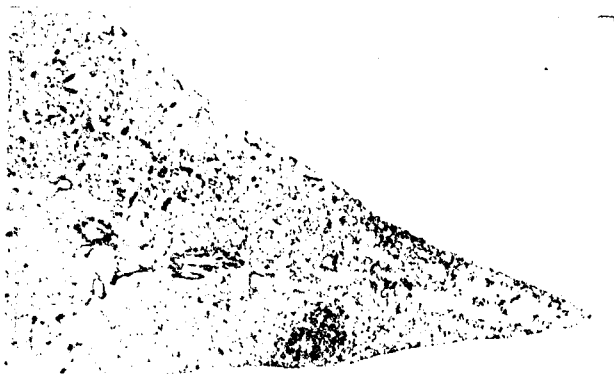
**H**



**I**



**J**



**K**



**L**