

Васиньска Б. — Влияние содержания белка в кормовом рационе на уровень иммунитета у свиней привитых одновременно против чумы и рожи свиней и колибактериоза.

Исследования провели на 3 группах свиней: I группу кормили рационом содержащим сбалансированное количество белка, II — с 30% избытком а III с 40% недостатком этого компонента. Установили что это дифференцированное кормление оказывает существенное влияние на привесы продолжительность откорма и расход кормов. Кроме того в сыворотках свиней I и II группы проявился рост уровня полного белка а свиней III группы (с дефицитным кормлением) — его понижение а также понижение содержания альбуминов, а повышение альфаглобулинов. Наблюдаемый рост уровня гаммаглобулинов кажется быть связанным главным образом с иммунизацией животных. Экспериментально дифференцированное кормление не имело влияния на степень иммунитета против чумы свиней (чувствительность на экспериментальное заражение) в 5 и 7 месяце после одновременной вакцинации против 3 названных выше инфекционных заболеваний. Дефицитное кормление (III группа) понижало в незначительной степени иммунитет против колибактериоза и неблагоприятно повлияло на иммунитет против рожи. Автор приходит к выводу, что в случаях более продолжительного дефицитного кормления свиней (недостаток в рационе ок. 40% белка) надо после одновременной вакци-

нации против чумы, рожи и колибактериоза добавочно привить животных против рожи свиней раньше чем через 3 месяца после описанной тривалентной вакцинации.

Wasińska B. — The influence of the content of protein in the food ration on the immunity of pigs vaccinated against hog cholera, swine erysipelas and colibacteriosis.

The examinations were carried out on 3 groups of pigs: one was on diet with a balanced protein content, the second with 30% of surplus of protein, and the third with 40% deficiency of that component. It was found that this kind of diet influenced significantly the weight gains, time of fattening and usage of fodder. Besides, in the sera of pigs with balanced or surplus content of protein an increase of total protein was noticed. Instead in animals kept on diet in short supply a decrease of total protein and albumins, and an increase of alpha-globulins. The experimental feeding did not influence the degree of immunity against hog cholera (sensitivity to artificial infection) in the 5th and 7th month since immunization. But diet in short supply decreased immunity to some extent against colibacteriosis and influenced negatively immunity against swine erysipelas. The author suggests to vaccinate pigs against erysipelas again in three months since the first vaccination in case of long-lasting deficiency of protein in diet at about 40%.

JAN BUCZEK, BARBARA MAJER-DZIEDZIC, GRAŻYNA WRZOŁEK, GRAŻYNA ZIÓLKOWSKA

## Izolacja wirusów z przypadków ronień kłacz

Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Wirusowe ronienie kłaczy opisane w 1933 r. przez Dimocka i Edwardsa jako oddzielna jednostka chorobowa, powoduje duże straty w zarodowych hodowlach koni. Schorzenie to, szeroko rozprzestrzenione w świecie, jest przedmiotem zainteresowania wielu autorów (1). W Polsce zagadnienie to było przedmiotem wielu prac (2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10), a wyizolowane wirusy zostały przyjęte jako szczepy prototypowe.

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań płodów kłaczy z dwóch ośrodków hodowlanych, w których wystąpiły ronienia. Badania wirusologiczne przeprowadzono na hodowlach komórek linii ciągłej RK13. Zastosowane metody pozwoliły w naszym przypadku na szybką izolację zarazka.

### Materiał i metody

Badania wirusologiczne. Materiał do badań stanowiły narządy wewnętrzne poronionych płodów — płuca, wątroba, śledziona i nerki. Z narządów tych przygotowywano homogenizaty (4), którymi zakażano hodowlę komórek. Badania przeprowadzono na liniach ciągłych RK13 (hodowla komórek nerki królika) i PK15 (hodowla komórek nerki świni) namnożonych w płynie Eagle'a (MEM 1959) z dodatkiem 10% surowicy cielęcej. Jako podłoże utrzymujące użyto płynu Parkera (podłoże 199). Do poszczególnych probówek z wyrośniętą hodowlą wprowadzano po 0,1 ml przygotowanego materiału. Zakażone hodowle obserwowano pod mikroskopem (powiększenie 40 razy)

rejestrując zmiany morfologiczne w komórkach. W każdym przypadku wykonano 3 pasaże w celu wyizolowania, zaadaptowania i oczyszczenia izolowanego czynnika zakaźnego.

Hodowle, w których wystąpiły zmiany cytopatyczne (CP) poddano badaniom zmierzającym do zidentyfikowania izolowanego czynnika. W tym celu w komórkach linii RK13 namnożono większą ilość zarazka, który przechowywany w temp. -20°C stanowił materiał do dalszych badań. Identyfikację czynnika CP oparto o badania zmierzające do określenia rodzaju kwasu nukleinowego przy pomocy 5-jodo 2-dezoksyurydyny; wielkości zarazka — metodą filtracji

Tab. 1. Czas powstawania zmian CP w HK RK13 zakażonych materiałem z narządów poronionych płodów

Płód	Pasaż	Czas powstawania zmian CP (w godzinach) po zakażeniu materiałem z:			
		płuca	wątroby	śledziona	nerka
I	1	12	48—56	—	—
	2	12	12	24	24
	3	12	12	12	12
II	1	24	—	—	—
	2	12	48	48	48
	3	12	12	12	12

Objaśnienie: — = brak zmian CP po 7 dniach inkubacji.

(filtry Millipore); wrażliwości na chloroform; właściwości hemaglutynacyjnych; zdolności tworzenia lysinek; charakteru zmian mikroskopowych w hodowlach komórek. W tym ostatnim przypadku hodowlę przygotowywano na szkiełkach nakrywkowych; zakażano komórki i po odpowiednim okresie inkubacji barwiono hematoksyliną i eozyną.

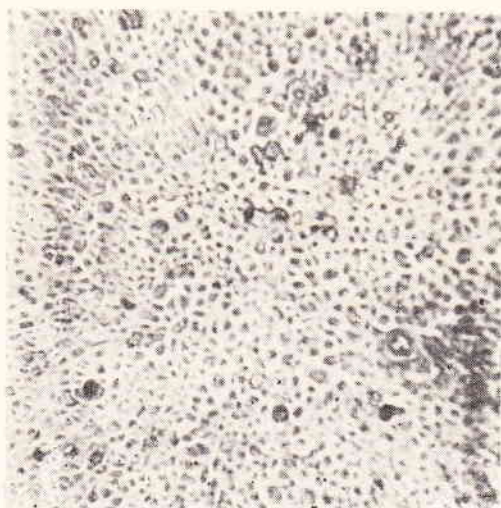
Badania serologiczne. Jako antygen zastosowano płyn utrzymujący z HK zawierający wirusy izolowane z poronionych płodów. Wyniki doświadczeń obliczono wg metody Reeda i Muencha i podano w  $TCID_{50}/0,1$  ml.

Przy pomocy odczynu seroneutralizacji i OWD (4, 5) przebadano surowice klaczy i ogierów z osrodków hodowlanych, w których schorzenie wystąpiło.

### Wyniki i omówienie

Badania wirusologiczne. Szybkość powstania zmian CP w hodowli RK13 zakażonej homogenizatami z narządów dwóch poronionych płodów przedstawia tab. 1.

Jak wynika z zestawienia w dwóch badanych przypadkach zmiany CP pojawiały się najwcześniej w hodowlach zakażonych materiałem z płuc. Rozwinęły się one już po 12—24 godzinach od zakażenia (ryc. 1, 2). Najpierw



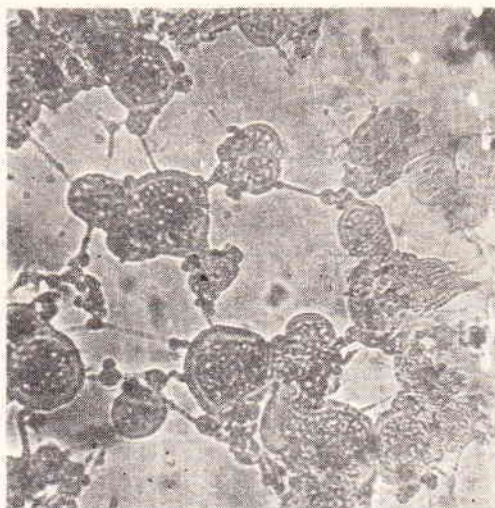
Ryc. 1. Hodowla kontrolna komórek linii RK13. Pow. ok. 80 x

obserwowano pojedyncze ogniska okrągłych, silnie załamujących światło komórek. W następnych dniach zmiany te pogłębiały się, część komórek odpadała, a z części na skutek lizy błon komórkowych utworzyły się charakterystyczne zespólnie wielojądrowe. Na czwarty dzień po zakażeniu hodowle ulegały całkowitemu

zniszczeniu. Podobny efekt CP, ale dopiero w drugim pasażu obserwowano w hodowlach zakażonych homogenizatami wątroby, nerek i śledziony. W 3-cim pasażu zmiany CP rozwinęły się już w jednakowym czasie.

Przeprowadzone równoległe próby izolacji wirusa na linii ciągłej PK15 nie przyniosły pozytywnego wyniku. W trzech kolejnych ślepych pasażach wykonanych na komórkach tej hodowli zmian CP nie obserwowano. Wyniki badań fizyko-chemicznych izolowanych czynników cytopatycznych zestawiono w tab. 2.

Uzyskane wyniki wskazują, że replikacja wyizolowanych czynników CP w obecności JUDR ulega całkowitemu zahamowaniu. Zarazki te przechodzą częściowo przez filtr o średnicy 220 nm a chloroform powoduje ich inaktywację, nie posiadają one właściwości hemaglutynacyjnych w stosunku do krwinek świnek morskich, barana i konia. Na podstawie przeprowadzonych badań izolowane czynniki CP można sklasyfikować do podtypu *Deoxyvira*, rodziny *Herpes-viridae*.



Ryc. 2. Zmiany CP wytwarzane w komórkach linii RK13 przez szczep WRK 1/73 po 48 godz. ink. Pow. ok. 80 x

Badania mikroskopowe wykazały, że pierwsze zmiany w zakażonych komórkach linii RK13 można zaobserwować w 8 godzin po zakażeniu. Zmiany te dotyczą jąder, w których obserwuje się zanik jąderka, a tworzące się eozynofilne złogi otoczone są bezbarwną otoczką, która oddziela je od jądrowej chromatyny.

Tab. 2. Właściwości izolowanych szczepów

Szczep	Kontrola	JUDR 50 ug/ml	Filtr 450 nm	Filtr 220 nm	Filtr 50 nm	CHCl <sub>3</sub> 5% 20° 10'	Odczyn HA z krwinkami w temp. 4°, 20°		
							barana	świnki morskiej	konia
WRK 1/72	3,74	—	3,50	2,50	—	1,0	—	—	—
WRK 1/73	4,24	—	3,74	2,74	—	1,0	—	—	—

Miano w  $\log_{10} TCID_{50}/0,5$  ml; — = brak HA i zmian CP.



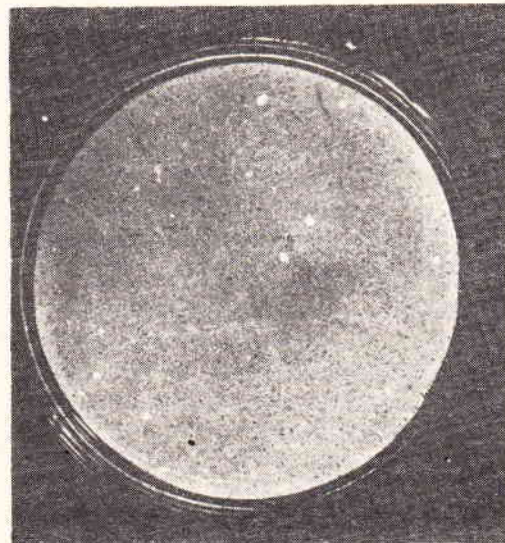
Ryc. 3. Komórki linii RK13 po 8 godz. od zakażenia szczepem WRK 1/73. Pow. ok. 875 $\times$ ; barwienie: hematoksylina-eozyna



Ryc. 4. Komórki linii RK13 po 18 godz. od zakażenia szczepem WRK 1/73. Pow. ok. 875 $\times$ ; barwienie: hematoksylina-eozyna

Ilość złogów eozynofilnych i ich wielkość zwiększa się wraz z upływem czasu, obok małych ziarenek można obserwować olbrzymie wtręty wypełniające całe jądro (ryc. 3, 4). Ten typ zmian odpowiada ciałkom wtrętowym Cowdry typu A — charakterystycznym dla wirusów rodzaju *Herpes*. Na hodowli RK13 izolowane zarazki tworzą lysinki (ryc. 5).

Przy pomocy odczynu SN wykazano, że surowice pochodzące od roniących klaczy neutralizują izolowane przez nas szczepy WRK 1/72, WRK 1/73 oraz wzorcowy szczep wirusa ronięcia zakaźnego klaczy.



Ryc. 5. Lysinki wytwarzane przez szczep WRK 1/73 rozc.  $10^{-3}/0,2$  ml

Wyniki te wskazują na podobieństwo antygenowe między tymi szczepami. Jednokierunkowe porównanie izolowanych przez nas zarazków ze szczepem prototypowym, przy pomocy surowic z przypadków terenowych nie upoważnia do zajęcia ostatecznego stanowiska, co do identyczności serologicznej badanych zarazków.

Stwierdzono, że izolowane szczepy mogą zostać użyte jako antygeny do OWD. Zarazki te zebrane z zakażonych hodowli komórek linii RK13 i przetrzymywane w temp. 4 $^{\circ}$  i -20 $^{\circ}$  utrzymywały właściwości antygenowe przez 44 dni.

Wyniki badań surowic pochodzących od klaczy i ogierów z ośrodków, w których izolowano szczepy zestawiono w tab. 3

Ogółem przebadano w odczynie OWD 31 surowic. Jak wynika z zestawienia tylko jedna z badanych surowic pochodząca od klaczy reagowała ujemnie nawet w rozcieńczeniu 1:1. Z pozostałych reagujących dodatnio, miano przeciwciał było dość zróżnicowane i wahało się w

Tab. 3. Miano surowic w OWD w stosunku do wirusa WRK 1/72

Stadnina	Płeć	Ilość surowic	Ilość surowic reagujących w mianie:						Ujemne miano 1:16	Dodatnie miano 1:16 i >	% dodatnich
			1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32 i >			
I	Klacje Ogiery	7	1	1	—	2	2	—	5	2	28 0
		1	—	—	1	—	—	—	1	—	
II	Klacje Ogiery	14	1	—	2	3	1	7	6	8	57 44
		9	1	1	—	3	2	2	5	4	
Ogółem:		31	3	2	3	8	5	9	17	14	45

granicach od 1:1 do powyżej 1:32. Przyjmując za innymi autorami, że najniższe miano pozytywne wynosi 1:16 w naszym przypadku na ogólną ilość 31 surowic 45% reagowało dodatnio, co wskazywałoby na przebyte zakażenie. Jak wynika z zestawienia zakażenie przebyły tak klacze, jak i ogiery znajdujące się w tym samym ośrodku hodowlanym.

### Wnioski

1. Z użytych do badań 2 linii komórkowych RK13 i PK15, linia RK13 okazała się bardzo wrażliwa na zakażenie wirusem wywołującym ronienie klaczy i może być polecana do badań diagnostycznych w tego rodzaju przypadkach.

2. Wyizolowane zarazki należą do grupy *Herpesviridae* i wykazują pokrewieństwo serologiczne z wirusem ronienia zakaźnego klaczy.

3. Wyosobnione szczepy posiadają zdolność wiązania przeciwciał w odczynie OWD i przechowywane w temp. +4° i -20° przez okres 44 dni nie tracą tych właściwości.

4. Szczepy te nadają się do przygotowania antygeny diagnostyczne do badań serologicznych.

5. Wyizolowane wirusy były przyczyną infekcji koni w ośrodkach, w których przeprowadzono badania.

### Piśmiennictwo

1. Bagust T. J.: The Vet. Bull. 41, 79, 1971.
2. Brill J., Woyciechowska S.: Med. Dośw. i Mikrobiol. 5, 347, 1953.
3. Brill J., Woyciechowska S.: Med. Dośw. i Mikrobiol. 5, 346, 1953.
4. Buczek J.: Pol. Arch. wet.: 13, 317, 1970.
5. Buczek J., Wrzolek G., Ziółkowska G.: Medycyna Wet. 29, 582, 1973.
6. Woyciechowska S.: Annales Inst. Past. 102, 353, 1962.
7. Woyciechowska S.: Med. Dośw. i Mikrobiol. 12, 253, 1960.

INGR I., FOUKALOVÁ M., NAPRAVNÍK A.: Zawartość porfiryn jako obiektywne wskaźniki stopnia postmortalnego przemiany surowego mięsa. (Der Porphyringehalt als objektiver Indikator für den Grad der postmortalen Veränderungen in Rohfleisch). Fleischwirtschaft 56, 103—106, 1976.

Fluorometryczne oznaczenie zawartości porfiryn może być użyte w praktyce jako wskaźnik biochemicznych przemian zachodzących w surowym mięsie, a zwłaszcza towarzyszących zaawansowanemu stadium dojrzewania i rozkładowi mięsa. Cechy psującego się mięsa wyczuwalne są organoleptycznie przy zawartości od 250 do 500 nanogramów porfiryn w 1 g mięsa, bez uwzględniania temperatury i czasu składowania. Wartości niższe niż 250 ng/g wskazują na proces dojrzewania, a wyższe niż 500 ng/g na proces rozkładu. W praktyce metoda jest czuła, szybka i łatwa, gdyż tylko jeden rodzaj porfiryn (protoporfiryna) produkowany jest w mięsie, istnieje wysoka korelacja pomiędzy zawartością porfiryn a zmianami organoleptycznymi tkanki mięśniowej, zakażeniem bakteryjnym i zawartością amoniaku. Dynamika tworzenia się porfiryn w czasie dojrzewania i rozkładu mięsa oraz niewielka zależność od składu mikroflory bakteryjnej są dodatkowymi pozytywnymi czynnikami. Połączenie oznaczenia ilościowego porfiryn z oceną sensoryczną ma duże praktyczne znaczenie.

a. a.

8. Woyciechowska S.: Med. Dośw. i Mikrobiol. 12, 265, 1960.
9. Woyciechowska S.: Med. Dośw. i Mikrobiol. 12, 251, 1960.
10. Woyciechowska S.: Patol. Pol. 1, 343, 1950.

Adres autora: doc. dr habil. Jan Buczek, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin.

Бучек Я., Маер-Дзедзиц Б., Вжолек Г., Зиулковска Г. — Выделение вирусов из случаев абортов кобыл. Характеристика вируса, серологические исследования.

Целью работы была идентификация вирусов выделенных из внутренних органов абортированных плодов кобыл. Вирусологические исследования вели на 2 клеточных линиях RK13 и PK15. Сыворотки кобыл и жеребцов из животноводческих хозяйств, где случились выкидыши, исследовали методом серонейтрализации (РН) и реакции связывания комплемента (РСК).

Установили, что изолированные вирусы принадлежат к группе Herpesviridae и имеют серологическое родство с вирусом инфекционного аборта кобыл. Линия клеток RK13 является очень чувствительной к этому вирусу и может быть рекомендована для диагностических исследований. Кроме того исследованные штаммы имеют способность связывания комплемента в РСК и могут быть применены для приготовления диагностического серологического антигена.

Buczek J., Majer-Dziedzic B., Wrzolek G., Ziółkowska G. — Isolation of viruses from abortive cases in mares. Characteristics of viruses, serological examinations.

The purpose of the work was to identify an infectious agent isolated from the internal organs of foetuses of mares. The virological examinations were carried out on two cell lines, i.e. RK<sub>13</sub> and PK<sub>15</sub>. Sera of mares and stallions, of those centres where abortions had been noticed, were examined by SN and CF tests. It was found that isolated pathogens belonged to Herpesviridae group and were related serologically with virus of infectious abortion in mares. The cell line RK<sub>13</sub> was very suitable for isolation of that virus and can be used for diagnostic purposes. Besides, the strains examined reacted in CF test and therefore may be used to prepare diagnostic antigens for serological tests.

CAMPBELL N. J., BROUWIDJOYO M. D.: Efektywność kloksanidu i rafaksonidu przy różnych drogach stosowania u owiec zarażonych *Fasciola hepatica*. (The efficacy of cloxanide and rafaxonide agents *Fasciola hepatica* in sheep by different routs of administration). Aust. vet. J., 51, 500—503, 1975 (11).

Badania miały na celu określenie efektywności kloksanidu i rafaksonidu w stosunku do 6—12 tygodniowych postaci *Fasciola hepatica* po stosowaniu doustnym, dożwaczowym lub do trawieńca. Owce w 9 grupach (po 4 sztuki) zakażono żywymi metacercariami *F. hepatica*, a następnie po 6 lub 12 tygodniach podawano badane leki w trzech różnych dawkach jedną z trzech dróg. Kloksanid w dawce 40 mg/kg stosowany doustnie wykazywał 85% efektywności, zaś stosowany dożwaczowo 90% efektywności w stosunku do 6 tygodniowych form *F. hepatica*. Po podaniu do trawieńca dawki 80 mg/kg jego efektywność wynosiła 43%. W dawce 20 mg/kg po podaniu doustnym lub do żwacza jego efektywność w stosunku do 12 tygodniowych form motylicy wątrobowej wynosiła 96%, zaś po podaniu do trawieńca 82%. Rafaksonide natomiast w dawce 7,5 mg/kg wykazywał 91% efektywności po stosowaniu doustnym, 98% po stosowaniu do żwacza i 94% po podaniu do trawieńca w stosunku do 6 tygodniowych form *F. hepatica*. Ponad 95% efektywność obserwowano po dawce 3,75 mg/kg w stosunku do 12 tygodniowych form pasożyta niezależnie od drogi podania.

G