

szczepem S 19. Antygen *Vibrio foetus* był aglutynowych w rozcieńczeniu do 1/400 jedynie przez surowicę jałówki, która poroniła; surowica ta aglutynowała antygen brucellowy tylko w rozcieńczeniu 1/12,5. W odczynie wiązania dopełniacza przy użyciu zabitego 3% antygeny *Vibrio foetus* wystąpiło zahamowanie hemolizy. W odczynie wiązania dopełniacza przy użyciu antygeny brucellowej wystąpiła hemoliza.

#### Wnioski

1. Stosowanie pożywki stałej w hodowli *Vibrio foetus* (3% agar z 2% dodatkiem gliceryny, pH = 7.4) daje dodatnie wyniki.

2. Na pożywkę Bartletta w warunkach zmniejszonego ciśnienia tlenu i w warunkach tlenowych *Vibrio foetus* rośnie dobrze i daje się pasażować.

3. Najlepsze wyniki hodowli mętlika płodowego uzyskuje się przy przemiennym stosowaniu obydwu wymienionych pożywek, przy czym pożywka Bartletta zdaje się być najodpowiedniejszym podłożem dla podtrzymania żywotności *Vibrio foetus*.

4. Z 42 surowic bydła badanych serologicznie tylko surowica pochodząca od jałówki, która poroniła na tle zakażenia *Vibrio foetus*, dała wynik dodatni w odczynie zlepnym (Wrighta) oraz w odczynie wiązania dopełniacza.

#### Piśmiennictwo

1. A. Czarnowski: Med. Wet. Nr 9/1950.
2. Fr. Harms u. R. Hörter: Dtsch. Tierärztl. Wschr. 27/30 1953.
3. S. Stępkowski M., Winiański: Med. Wet. Nr 4/1954.
4. Terpstra J. I. und W. A. Eisman: Tijdschrift voor Diergeneeskunde 433/951, ref. Dtsch. Tierärztl. Wschr. (Belage, Fortpfl. u. Bes. d. Haust. 1, 4, (1953).
5. P. A. Trilenko: Wietierarija 6/1953.

#### ZDZISŁAW LARSKI

## Hodowla tkanek w badaniach wirusologicznych

Państwowy Instytut Weterynaryjny — Ośrodek Badań nad Zarazą Cieszyńską

Za pierwsze chociaż bardzo prymitywne próby hodowania wirusów na wyizolowanych z ustroju tkankach uznać możnaby doświadczenia Aldershoff'a i Broersa, którzy w 1906 r. wykonali następujące doświadczenie. Zakazili królika drogówkowo wirusem ospy, następnie zabili go i wyjętą z oka rogówkę trzymali w cieplarni na gazie zwilżonej płynem fizjologicznym; po 48 godzinach stwierdzono w komórkach rogówki ciała wtrętowe Guarnieriego. W piśmiennictwie znaleźć można jeszcze wcześniejsze doniesienia odnośnie prób namnażania tego samego wirusa. Ishigami (cyt. wg Gildemeistera) hodował go w 1902 r. na eksplantowanej z ustroju jałowej limfie z komórkami epitelialnymi. Ponieważ jednak autor ten nie podał w doniesieniu jak długo i w jakich warunkach hodował wirusa, nie można mieć pewności, czy miało w danym wypadku miejsce jego namnażanie się, czy tylko utrzymywanie się przy życiu (przeżywanie) na tkance. Również w całym szeregu dalszych prac innych badaczy nad zastosowaniem hodowli tkanek do hodowli różnych wirusów uzyskano raczej tylko ich przeżywanie a nie trwałe i stałe namnażanie. Pierwsze próby namnażania wirusów neurotropowych na tkankach poza ustrojem wykonał w 1913 roku Levaditi z wirusem choroby Heinego-Medina oraz wirusem wścieklizny. Używaną przez niego hodowlę tkankową stanowiła dla wirusa polio plazma z kawałeczkami tkanki zwojów rdzenia zakażonych domógowo małp. Wirusa tego udało się utrzymać na tkankach przez 6 pasaży i następnie zakazić małpę.

Późniejsze prace Parkera i Nye'a w 1925 roku oraz Haagena w 1928 r. wskazały na

możliwość długotrwałego pasażowania z namnażaniem wirusa na tkankach dzięki ulepszeniu techniki hodowli tkanek, wirus ospy zachował wszystkie poprzednie posiadane cechy. Poważnym krokiem naprzód w tej dziedzinie było wprowadzenie w 1927 r. przez Carrela i Riversa specjalnych naczynek, w których ilość hodowanej tkanki mogła być znacznie większa. Dalszy postęp stanowiły badania Maitylandow którzy w roku 1928 podali technikę hodowli tkanek; hodowane tkanki są zawieszane w płynie zawierającym surowicę i płyn Tyrode'a w kolbkach Erlenmayera. Hodowla wirusa polio na tkankach była przedmiotem badań Sabina i Olitsky'ego (1936), którzy używali do tego celu mózgową tkankę embrionalną ludzką zawieszoną w płynie Tyrode'a, uzyskując namnożenie wirusa w 6-ciu pasażach. Próby hodowania tego wirusa na tkankach płuc, nerek, śledziony i wątroby embrionów ludzkich nie udały się z czego autorzy wyciągnęli wnioski o ścisłym jego neurotropizmie. Mimo pozytywnych wyników hodowli wirusów na tkankach, metoda ta nie przyjęła się na szerszą skalę w pracowniach wirusologicznych. Była ona bowiem żmudna, wymagała zachowania specjalnych środków ostrożności dla zapobieżenia zanieczyszczeniom bakteryjnym hodowanych tkanek, a dała małą wydajność wirusa w porównaniu z pasażowaniem na wrażliwych zwierzętach doświadczalnych, czy też na zarodkach kurzych. O ile dla celów praktycznych hodowla tkanek nie przyjęła się, o tyle dla celów ściśle naukowych znajdowała wielokrotnie zastosowanie, pozwalając na rozwiązanie wielu ciekawych problemów. Ten stan rzeczy trwał przez długi czas i dopiero po

drugiej wojnie światowej pojawił się w wielu pracowniach zagranicznych nawrót do hodowli tkanek jako metody wirusologicznej. Przyczyniły się do tego zdobycze biochemii odsłaniające szczegóły przemiany materii tkanek a zatem umożliwiające odtworzenie *in vitro* optymalnych warunków ich rozwoju przez sporządzenie naturalnego czy też syntetycznego środowiska oraz odkrycie antybiotyków, których zastosowanie w hodowli tkankowej czyni ją znacznie prostszą, zapobiegając stratom wskutek zakażeń bakteryjnych i umożliwiając hodowanie wirusów na wielką skalę. W ostatnim dziesięcioleciu ukazało się w tej dziedzinie dużo prac o wielkim znaczeniu dla wirusologii zarówno praktycznym jak teoretycznym. Na ostatnim międzynarodowym zjeździe mikrobiologów w Rzymie w 1953 r. poważną część obrad zajęły referaty wyników badań w tym kierunku

Metody hodowli tkanek można ogólnie podzielić na dwie grupy. W pierwszej grupie stosowane metody zapewniają hodowanej tkance nie tylko otrzymanie substancji odżywczej, ale również i podłoża, na którym tkanka może rosnąć. W grupie drugiej hodowane tkanki pozbawione są stałego podłoża.

W pierwszej grupie stosuje się następujące metody:

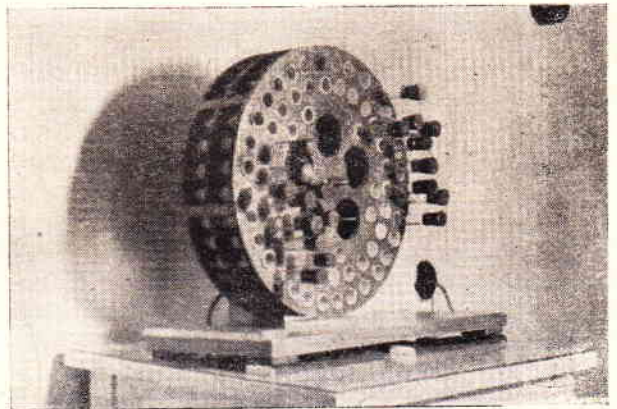
Metoda kropli wiszącej (Harrison 1907 r.) przy której mały (około 2mm<sup>3</sup>) fragment tkanki umieszcza się w kropli plazmy na szkiełku nakrywkowym, dodaje w celu skrzepnięcia plazmy kroplę ekstraktu embrionalnego, po czym zamyka całość szkiełkiem przedmiotowym z głębinem i obraca, aby szkiełko nakrywkowe z kroplą znalazło się w górze. Można również umieścić kroplę z tkanką w przestrzeni zamkniętej dwoma szkiełkami oraz pierścieniem mosiężnym, który przed połączeniem obu szkiełek zanurza się w roztopionej parafinie. Metoda kropli wiszącej jest bardzo prosta, ale jej wadą jest to, że ilość tkanki hodowanej jest mała a ponadto tkanka nie może być należycie odżywiana.

Metoda Carrel'a (1927 r.) pozbawiona jest wad wymienionych powyżej, pozwala bowiem na hodowanie większej ilości tkanki oraz należyte jej odżywianie. Fragmenty tkanki umieszcza się w krzepnącej plazmie w specjalnych naczyńkach Carrel'a, a po jej skrzepnięciu nalewa się płyn odżywczy, który można łatwo co pewien czas wymieniać.

Metoda rotacyjna (Carrel 1913 r.) polega na użyciu probówek, w których umieszcza się w krzepnącej plazmie kawałeczki tkanki, po czym dodaje się płynu odżywczego. Probówki wkłada się do aparatu rotacyjnego (zdjęcie 1), w którym obracane są one w pozycji prawie poziomej 8—20 razy na godzinę. Przy tym sposobie hodowli tkanek jest przemywana płynem odżywczym, lecz nie jest w nim stale zanurzona. Ułatwia to oddychanie tkankowe, tkanki dłużej za-

chowują żywotność i szybciej rosną. Metoda ta, wprowadzona w 1913 r., nie była do ostatnich lat stosowana. Obecnie używa się jej do dokładnych badań wirusologicznych.

W wymienionych trzech metodach podłoże dla rozwijającej się tkanki stanowi skrzepła plazma. Robiono próby zastąpienia jej przez inne substancje. Evans i Earle uzyskali dobry wzrost komórek przy zastosowaniu perforowanych błon celofanowych a także na samym szkle, Wirth i Barski oraz Barski i Maurin hodowali tkanki na cienkich warstewkach odpowiednich mas plastycznych, Zisser i współpracownicy na agarze z płynem Tyrod'a. Wydaje się jednak, że najlepsza do tego celu jest plazma kurza, chociaż ma ona wadę, że ulega pod wpływem działania fermentów proteolitycznych tkanek, szczególnie tkanki macicy oraz tkanki nerwowej, upłynnieniu, powodującemu odklejanie się fragmentów tkankowych od podłoża. Aby temu zapobiec należy zawczasu uzupełnić nadtrawione przestrzenie świeżą plazmą.



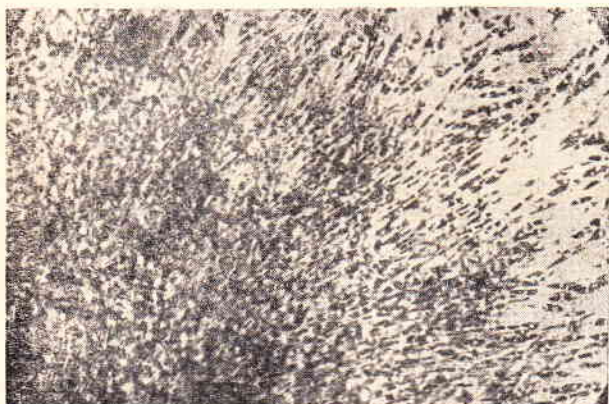
Zdjęcie 1. Aparat rotacyjny.

Takie „latanie“ plazmy jest w hodowli tkankowej dość kłopotliwe. Bardzo dobre wyniki uzyskali E nders i współpracownicy dodając do hodowli wyciąg z soi, który jako trypsynowy inhibitor zapobiega upłynnianiu się plazmy już w stężeniu 0,18 mg na 1 ml płynu odżywczego

Druga grupa obejmuje właściwie tylko jedną metodę, która różni się od poprzednich tym, że tkanka jest pozbawiona stałego podłoża, ponieważ jest zawieszona w płynie, jest to metoda Maitlandow. Drobnoposiekana tkankę umieszcza się w kolbce Erlenmayera na dnie naczynka i dodaje się płynu odżywczego tylko tyle aby pokryć tkankę. Przy takiej metodzie tkanka nie rośnie ale żyje co jednak w zupełności wystarcza do namnażania na niej wirusa.

W skład płynu odżywczego używanego przy metodzie Carrel'a, rotacyjnej i Maitlandow wchodzi roztwory buforowe, ekstrakt embrionalny oraz surowica, a ponadto antybiotyki i wskaźnik pH-roztwór czerwieni fenolowej. Zmiany pH wskazują żywotność tkanki, albowiem tkanka

silnie metabolizująca szybko zakwasza płyn odżywczy. E n d e r s i współpracownicy polecają płyn owodniony krwi, w którym hodowane tkanki dają dużą wydajność wirusa. Stosowane są również gotowe syntetyczne płyny odżywcze jak np. mieszanka nr. 199. Dla uzyskania lepszego wzrostu polecają E n d e r s i współpracownicy zadziać na tkankę przed założeniem hodowli trypsyną. Badania porównawcze wykazały dużą różnicę na korzyść tkanki poddanej takiemu działaniu. Tłumaczy się to tym, że trypsyna powoduje proteolizę substancji hamujących wzrost a znajdujących się w samej tkance. Inny zabieg zastosowany przez K i l b o u r n e'a i T a t e n o w hodowli wirusów na tkankach polega na dodaniu do hodowli tkankowej cortisonu (11-dehydro-17 hydroxy corticosteron), co powoduje wzrost wrażliwości tkanki i wydawniejsze namnożenie się wirusa. Środek ten wykazuje podobne działanie *in vivo*, zwiększając wyraźnie wrażliwość zwierząt doświadczalnych jak również zarodków kurzych na zakażenie pewnymi wirusami, bakteriami i grzybkami. Jego końcowe stężenie 14 gamma na 1ml dało w hodowli tkankowej wirusów grypy znacznie większą wydajność w porównaniu z kontrolą.



Zdjęcie 2. Normalny wzrost fibroblastów hodowli tkankowej pow. 100x wg Cserey - Pechany.

Oprócz podłoża stałego i płynu odżywczego decydującą rolę w hodowli tkanek odgrywa odpowiednia atmosfera. Zapotrzebowanie tlenu jest różne w zależności od rodzaju tkanek a także ich wieku. Na ogół starsze tkanki potrzebują tlenu więcej, młode mniej. I tak np. serca zarodków kurzych do piątego dnia wylęgania mogą żyć i rosnać w ściśle beztlenowych warunkach. M e i e r stwierdził w 1932 r. (cyt. wg I. F i s c h e r), że hodowle tkankowe wymagają do swego wzrostu obecności dwutlenku węgla. Jest rzeczą niemożliwą hodować fibroblasty w atmosferze wolnej od tego gazu. Dlatego też wszystkie naczynia, w których hoduje się tkanki zamyka się szczelnie korkami gumowymi. Tkanki silnie metabolizujące, jak większość tkanek embrionalnych oraz tkanka macicy same bardzo szybko stwarzają sobie odpowiednią atmosferę. Tkan-

kom słabo metabolizującym pomagamy w ten sposób, że wprowadzamy do naczynia nad hodowaną tkanką jałowe powietrze zawierające 5% CO<sub>2</sub>. Tkanki hoduje się zwykle w temp. +37°C, obserwacje wielu badaczy wykazują jednak że wzrost tkanki i namnażanie się w niej wirusa ma miejsce przy dość szerokich wahaaniach temperatury od +27°C do +39°C.

Metoda hodowli tkankowej oddaje cenne usługi w badaniach wirusologicznych. Umożliwia uzyskanie wirusa w postaci możliwie czystej (z małą ilością obcych antygenowo domieszek), co jest ważne przy sporządzaniu antygenów do prób serologicznych oraz szczepionek. S a l k podał w 1953 r. wstępne wyniki badań nad szczepionkami przeciw poliomyelitis, które sporządzono na wirusie uzyskiwanym drogą hodowli tkankowej. Szczególnie dobrą do tego celu okazała się tkanka nerkowa, która daje bardzo wysoką koncentrację wirusa przy względnie niskiej zawartości w płynie zawierającym wirus decyduje o tym, że sporządzona na takim płynie szczepionka ma wyższą wartość antygenową. W nieapublikowanych jeszcze doświadczeniach autor stwierdził, że domieszanie do wirusa grypy zawiesiny tkanki mózgowej osłabia bardzo znacznie jego własności antygenowe. U zwierząt kontrolnych, którym wprowadzono sam wirus grypy obserwuje się pełny efekt antygenowy. Dane te są całkowicie zgodne z wynikami doświadczeń L a i d l a v a nad wirusem nosówki, który stwierdził, że przy użyciu zawiesiny tkanki nerwowej jako szczepionki brak efektu antygenowego odnieść należy nie do samych własności wirusa lecz do obecności względnie dużej ilości elementów tkankowych, które blokują układ wytwarzający przeciwciała.

Metoda hodowli tkankowych umożliwia ściśle kontrolowaną zmianę warunków środowiska tkanki a tym samym i warunków życia wirusa, co może wpływać na jego zmienność. Ma to duże znaczenie zarówno teoretyczne, gdyż pozwala poznać bliżej biologię wirusów oraz praktyczne, daje bowiem możliwość uzyskania szczepionek, które przy zmniejszonej zjadliwości mogą posiadać pełną wartość antygenową. Ciekawym przykładem tego są prace T h e i l e r a nad pantropowym wirusem żółtaczk. Autor ten zakażał płody myszy *in utero* a stwierdziwszy największą ilość wirusa w ich mózgach hodował go następnie w wielu pasażach w hodowlach tkankowych mózgow zarodków mysich. Później udało mu się ten szczep adaptować do pozostałych tkanek płodu myszy a stąd przenieść na zapłodnione jaja kurze. W czasie tych pasażów wirus utracił najpierw swoją neuro, a później wiscero-patogenność, natomiast zachował w pełni swoje własności antygenowe, co dało możliwość sporządzenia dobrej szczepionki przeciw temu schorzeniu. C a s s e l b e r r y i M a l q u i s t donieśli (1953)

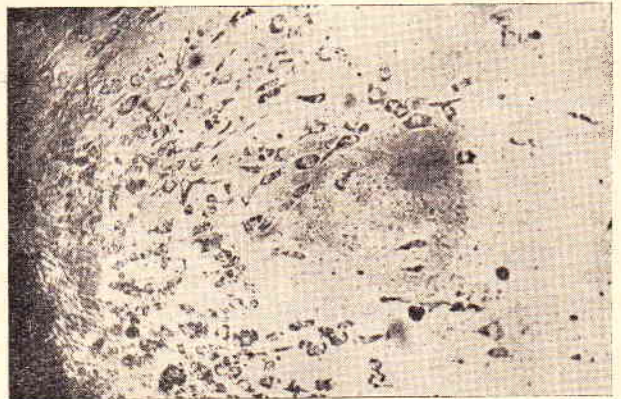
o dużej wartości uodporniającej szczepionki przeciw pomorowi świń sporządzanej na wirusie zmodyfikowanym drogą hodowli tkankowej.

Metoda hodowli tkankowych umożliwia bardzo znaczne uproszczenie techniki podstawowych badań wirusologicznych, jak określanie miana wirusa oraz typowanie szczepów drogą seroneutralizacji. Przykładem tego są badania Endera i współpracowników nad hodowlą wirusa polio na tkankach. Zamiast badań na drogich małpach, które posiadać mogły tylko zakłady wyposażone w specjalne urządzenia, podana przez autorów technika umożliwia badanie tych wirusów w każdym niemal laboratorium wirusologicznym. W hodowlach tkankowych można namnażać wszystkie trzy typy wirusa polio — Brumhilde, Lansing i Leon; można również tą metodą określać ich miano oraz typować je za pomocą swoistych surowic. Hodowana tkanka o odpowiednio dużym odroście fibroblastów wykazuje po zakażeniu wirusem charakterystyczne zmiany degeneratywne.

Niezależnie od dużego praktycznego znaczenia prac Endera i współpracowników podnieść należy stronę teoretyczną. Chodzi o kwestię tropizmu wirusa poliomyelitu. Dodatnie wyniki hodowli tego klasycznie neurotropowego wirusa na tkankach nie nerwowych podważa pogląd o jego wyłącznie neurotropowym charakterze. Huang używał hodowli tkankowych do mianowania wirusa zachodniego encefalitu końskiego. Stwierdził, że tkanka zarodka kurzego, poddana działaniu wspomnianego wirusa przez około 48 godzin w hodowli „wyjściowej” okazuje się po eksploatacji niezdołną do rozwoju, względnie jeżeli nawet rozpocznie się odrost fibroblastów to w krótkim czasie ulegają one degeneracji. Zdjęcie 2 przedstawia część normalnego wieńca fibroblastów, otaczającego fragment tkanki serca zarodka kurzego, zdjęcie 3 przedstawia tę samą tkankę po 48 godzinach od zakażenia wirusem — widoczne są początkowe zmiany degeneratywne w wielu miejscach. Regularna siateczka fibroblastów uległa w dużym stopniu zniszczeniu. Zdjęcie 4 przedstawia tę samą hodowlę w 72 godziny od zakażenia wirusem, siatka fibroblastów znikła zupełnie i widać tylko pojedyncze, różnego kształtu komórki, wykazujące różne stopnie degeneracji.

Cserey-Pechany, Belady i Iwanowics operując techniką Huanga, namnażali wirusa choroby Aujeszky i określali jego miano. Dla określenia miana  $ID_{50}$  (infekcyjna dawka 50%) autorzy eksplantowali po kilka, przetrzymywanych przez określony czas w różnych rozcieńczeniach wirusa kawałeczków tkanki i hodowali w kropli wiszącej. Obliczenie wyników przeprowadzono metodą Muencha i Reeda. Wirus wykazywał wysokie miano równe przeciętnie  $10^5$ , tj. wyższe niż wirus pasażowy domózgowo na królikach i myszach. Autorzy wykonali również próby seroneutralizacji używając surowic świń

ozdrowieńców po chorobie Aujeszky. Wirus choroby Aujeszky lokalizuje się w hodowli tkankowej głównie we fragmentach tkanki, w płynie odżywczym natomiast jest go znacznie mniej. Podobnie zachowuje się wirus wścieklizny, natomiast wirusy grupy. Grypa-Newcastle, mumps, uwalniając się dzięki działaniu enzymatycznemu, przechodzą do płynu odżywczego. Wirusem, który rozmieszcza się równomiernie w tkance i w płynie odżywczym, jest wirus Theillera GD VII (Cserey-Pechany i współpracownicy).



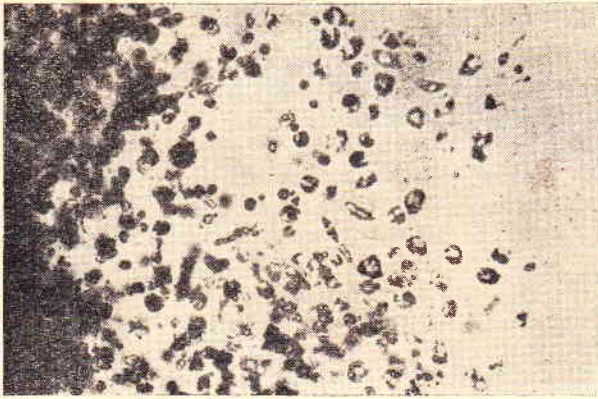
Zdjęcie 3. Zmiany degeneratywne w 48 h po zakażeniu wirusem Wg Cserey - Pechany.

Dulbecco (1952 r.) podał ciekawą metodę określania ilości cząstek wirusa zachodniego encefalitu końskiego w jednowarstwowej hodowli tkankowej. Odpowiednio przygotowana (Dulbecco, Frisch) zawiesina tkanki zarodka kurzego daje po 48 godzinach hodowania pojedynczą siateczkę fibroblastów na dnie naczynia. Po zakażeniu jej znacznie rozcieńczonym wirusem pokrywa się tą warstwę komórek agarem odżywczym. Po trzech dniach hodowania stwierdza się efekt cytopatogeny w postaci okrągłych, nekrotycznych pól, średnicy około 2—4 mm. Przeliczenia wskazują, że każde takie pole powstaje na skutek działania jednej cząsteczki wirusowej. Dokładność określenia, uzyskana na podstawie wyników jednej kolbki, była równa dokładności uzyskanej na nie mniej niż 100 zarodkach kurzych techniką Muencha i Reeda. Metoda ta stosowana była również do badania wirusa Newcastle oraz wirusa polio.

Z powyższego wynika, że metoda hodowli tkankowych pozwala na usprawnienie diagnostyki w każdym niemal laboratorium, co umożliwi przeprowadzanie badań w skali masowej a tym samym może oddać wielkie usługi w epidemiologii. W Polsce zapoczątkował badania te oparte na nowoczesnej metodyce hodowli tkanek, Prof. Morzycki w Instytucie Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdańsku.

Materiał badany na obecność wirusów może posiadać toksyczne substancje, które powodują w hodowli tkankowej zmiany degeneratywne, co zaciemnia cytopatogeny efekt działania danego

wirusa. Również ilość w badanym materiale może być tak mała, że zwykle metody hodowli tkanek nie wykażą jego obecności. Obie podane ewentualności występują np. przy badaniach kału na obecność wirusa poliomyelitis, gdyż zawiesiny kału zawierają bardzo często substancje toksyczne dla tkanki a wirusa jest niekiedy bardzo mało. Metodyka podana przez Klöne'a (1954) umożliwiła uniknięcie tych niedogodności przez wprowadzenie „stopniowej“ hodowli wirusa. W fazie pierwszej — namnażającej, zakaża się badaną zawiesinę względnie dużą ilość tkanki, co daje związanie na tkance substancji toksycznych oraz jego namnożenie się. Najlepszą okazało się do tego celu hodowla typu Maitlandow. W fazie drugiej — indykatorowej, namnożony wirus przenosi się na tkankę w hodowli próbkowej i obserwuje się efekt cytopatogeny. W fazie trzeciej — neutralizacyjnej, zastosowanie homologicznej surowicy odpornościowej w hodowli tkankowej rozstrzyga o swoistości cytopatogenego działania.



Zdjęcie 4. Zmiany degeneratywne w 72 h po zakażeniu wirusem. Wg Cserey - Feczany.

Odnosnie wirusów wywołujących schorzenia zakaźne zwierząt domowych, można stwierdzić na podstawie danych z literatury, że większość ich badano w kierunku zdolności namnażania się in vitro w hodowlach tkankowych. Były to wirusy pryszczycy, pomoru świń, psittakozy, japońskiego zapalenia mózgu, wścieklizny rzekomej, wścieklizny, ospy drobiu, mięsaka kurzego Rous'a, myksomatozy królików, zapalenia pęcherzykowego jamy ustnej koni, pomoru kur, choroby Neu-Castle, zapalenie mózgu i rdzenia koni, Louping-ill, ronienia zakaźnego klaczy, nosówki, zakaźnego zapalenia wątroby psów. Większość tych badań dało wyniki pozytywne, pewna jednak ilość negatywne lub niewystarczające dla praktycznego zastosowania. Odnosnie tych ostatnich, z uwagi na to, że były przeprowadzane dość dawno, kiedy nie rozporządzano takimi środkami technicznymi jak obecnie, powtórzenie tych prób przy zastosowaniu nowej techniki hodowli tkanek może dać pozytywne wyniki.

Poza doniesieniem Horstman (1952) brak dotychczas w literaturze badań nad możliwością zastosowania metody hodowli tkankowych dla namnażania wirusa choroby cieszyńskiej świń. Horstman zajmowała się tym zagadnieniem w ramach swych obszernych doświadczeń nad tym wirusem. Używała ona do hodowli tkanki zarodka kurzego a posługiwała się techniką rotacyjną, badała dwa szczepy wirusa w trzech pasażach. Wyraźnie pozytywny wynik otrzymała przy zakażeniu świń materiałem pierwszego pasażu, przy czym jak sama podaje mogło tu mieć miejsce poprostu tylko utrzymanie się wirusa przy życiu w hodowli tkankowej, chociaż z uwagi na pewne sugestywne wyniki drugiego i trzeciego pasażu (słabe zmiany histologiczne przy braku objawów klinicznych zakażonych świń), nie może wykluczyć jego namnażania się. Badania powyższe jak widać są bardzo skromne, poważnym brakiem wydaje się być użycie tkanek zwierząt niewrażliwych na chorobę cieszyńską.

Szczegółowym przeprowadzeniem tego zagadnienia zajmuje się w tej chwili nasze laboratorium ośrodka badań nad chorobą cieszyńską k/Cieszyna, gdzie uruchomiono dział hodowli tkanek a uzyskane wstępne dane pozwalają spodziewać się otrzymania pomyślnych wyników.

#### Piśmiennictwo

1. Bang F. B. Bull. Johns Hosp. 92 (4) 291—308 1953, ref. B. A. 25665/1953.
2. Barski G., Jezierski A., Lepine P.: Ann. Inst. Pasteur 86/2/243—247 1954.
3. Czumakow M. P., Prisman I. M., Zaccin T. S.: Poliomyelit. dietskij epinnomozgowej paraliz. Moskwa 1953.
4. Cserey-Pechany E., Belady I., Iwanowicz G.: Acta Phys. Acad. Scient. Hung. 2/2/227—241 1951.
5. Caselberry N. H., Malquist W. H. i inni Vet. Med. 48/1/24—27 1953 ref. B. A. 20149/1953.
6. Cabasso V., Stebbins M., Norton T., Cox H.: Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. 83/2/1954.
7. Chwisticka W.: konsultacje ustne.
8. Dulbecco R.: Proc. Natl. Acad. Science 38/8/747—752 1952 ref. B. A. 25675/53.
9. Dulbecco R., Vogt M.: Jour. Exp. Med. 99/2/167 1954.
10. Day W. C., Delaha E. C., Reagan R. L., Bruecker A. L.: Cornell Vet. 43/2/203—206 1953.
11. Dedie K., Klapotke E.: Arch. Exp. Vet. Med. 6/6/487—496 1952/1953.
12. Dedie K., Klapotke E.: Arbeit. Forsch. Anst. Tierseuchen Insel Riems 137—146 1951.
13. Enders J.: Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. 82/1/100—105 1953.
14. Feller A. E. — rozdz. w Handb. d. Verusforschung Doera i Hallaura II Ergänzungsbund. Wiedeń 1950.
15. Fresch A. W., Jentoft V.: Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. 82/2/322—323 1953.
16. Fischer I.: Grundriss der Gewebezuchtung Jena 1942.
17. Fischer A.: Gewebezuchtung Jena 1930.
18. Gildemeister E., Haagen E., Waldemann O.: Handbuch der Viruskrankheiten Jena 1939.
19. Horstman D. M.: Journ. of Immun. Nr 4 1952.
20. Koch A., Abraham E.: Act. Veter. Acad. Scient. Hungar. 2/4 1952.
21. Kilbourne E. D., Tateno I.: Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. 82/2/274—277 1953.
22. Klöne W.: Zeitschr. f. Hyd. 140/1/58—69 1954.
23. Ledinko N., Melnick J.: Amer. Jour. Hyg. 58/2/223—247 1953.
24. Morzycki J., Chwisticka W., Morzycka M., Georgiades J., Kawecki Z.: Med. Dośw. Mikrob. 4/438—448, 1953.
25. Morgan H.: Jour. of Cell. Comp. Physiol. 40/2/279—300, 1952.
26. Parker R. C.: Methodes of tissue culture. Nowy Jork, 1950.
27. Robbins F. C., Enders J. F.: The Americ. Jour. Med. Scie 220/3/316—336, 1950.
28. Robbins F. C., Weller T. H., Enders J. F.: Jour. Immun. 69/6/73, 1952.
29. Randall C. G., Ryden F., Doll E., Shell F. S.: Americ. Jour. Pathology 29/1/139—153, 1953.
30. B. A. 20037/53.
31. Robbins F. C., Enders J. F., Weller T. H.: Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. 75/2/370—374, 1950.
32. Salk J. E.: J. A. M. A. Nr 3/1953.
33. Szubladze A. K., Gaidamowicz S. J.: Praktyczeskaja wirusologia, Moskwa, 1949.
34. Waller T. H., Enders J. F., Robbins F. C., Stoddard M. B.: Jour. Immun. 69/6/45, 1952.
35. Youngner J. S.: Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. 85/2/202, 1954.
36. Zalkind S. J.: Zizn kiletok wnie organizma, Moskwa, 1953.

JERZY SZAFIARSKI

## Choroba cieszyńska u dzików

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej Stalinośćród  
Kierownik: dr J. SZAFIARSKI

Wirus choroby cieszyńskiej w warunkach naturalnych atakuje świnie, dzika i świnie malgaską (*Potomochaerus larvatus*). Wszelkie próby puadaptowania go na inne zwierzęta jak małpy, psy, koty, króliki, świnki morskie, chomiki, szczury, myszy itd. skończyły się niepowodzeniem. Również i fretki, jak wykazują liczne doświadczenia, nie udało się zakazić tym wirusem. W roku 1950 B a b i k w Czechosłowacji stwierdził kilka przypadków choroby cieszyńskiej u dzików. W dostępnym piśmiennictwie z terenu innych krajów nie spotkałem się dotychczas z doniesieniami na ten temat. Również i na naszym terenie, do obecnej chwili, choroba cieszyńska u dzików nie była stwierdzana.

### Przypadek własny

Dnia 3 września 1954 roku do WZHW w Stalinośćródzie dostarczono dzika (warchlaka) około 7 miesięcy celem przeprowadzenia badań rozpoznawczych. Do przesyłki dołączone było pismo następującej treści: Nadleśnictwo Państwowe Rudy Raciborskie przesyła w załączeniu znalezione, padłego dzika z prośbą o przeprowadzenie badania celem stwierdzenia przyczyny padnięcia i powiadomienie o wyniku.

Warchlak został znaleziony w dniu 1 września 1954 r. w drzewostanie 115 lat na terenie suchym oddz. 33 f 1-ctwa Jankowice Nadleśnictwa Rudy

Raciborskie Okręgu Lasów Państwowych Opole. Stwierdzono, że jest to trzeci przypadek padnięcia dzika w ciągu ostatnich 4-ch tygodni. Dotychczas nie obserwowano żadnych objawów chorobowych. W łowisku tym bytują lisy i w małej ilości jastrzębie.

Sygnalizowane w tym piśmie upadki dzików występują na terenie lasów państwowych w odległości 25 do 30 km w linii powietrznej od granicy czechosłowackiej w trójkącie między Raciborzem — Gliwicami a Rybnikiem, gdzie była stwierdzona choroba cieszyńska.

Sekcja padłego prosiaka dała wynik ujemny, podobnie jak badanie bakteriologiczne i parazytologiczne. Badanie histologiczne wykazało zmiany nieropnego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego.

Stwierdzenie po raz pierwszy w Polsce u dzików nieropnego zapalenia rdzenia kręgowego i mózgu zmusza nas do zwrócenia szczególnej uwagi na to zagadnienie przy śledzeniu epizocjologii choroby cieszyńskiej. Należy też tutaj zaznaczyć, że w terenie przygranicznym łatwo może przychodzić do przeniesienia epizocji przez zwierzęta dziko żyjące, z terenu jednego kraju do drugiego na co niejednokrotnie nie zwraca się uwagi.

### Piśmiennictwo

B a b i k J.: Nakaziliva obrna u diviakov. C. C. Vet. 1950, 326—327.

## ZOOHIGIENA I ZOOTECHNIKA

R. PRAWOCHEŃSKI, W. PIOTRASZEWSKI

### Zdolność pociągowa koni na podstawie prób przeprowadzonych w roku 1951—1952

Instytut Zootechniki — Oddz. Hodowli Koni

Potrzeba zracjonalizowania hodowli koni, w kierunku podniesienia ich wydajności pociągowej, spowodowała Ministerstwo Rolnictwa do wydania przepisów o próbach dla ogierów licencjonowanych, polegających na wykazaniu minimalnego wysiłku pociągowego oraz minimalnej szybkości w klusie i stępie. Także z chwilą uruchomienia Zakładów Treningowych przez Centralny Zarząd Hodowli Koni, wprowadzono dla ogierów państwowych próby pociągowe poza innymi wymaganiami sprawdzającymi wytrzymałość konia.

W związku z tymi potrzebami praktyki, Oddział Hodowli Koni Instytutu Zootechniki przystąpił do badań nad zdolnością pociągową koni w kraju.

W badaniach tych określono przede wszystkim maksymalny wysiłek pociągowy, aby móc porównać wartości różnych ras hodowlanych w Polsce i tym samym dać podstawy ustalenia norm wysiłku pociągowego dla praktyki. Równocześnie uzyskane wyniki zostały wykorzystane do określenia przydatności konia zależnie od jego kalibru i budowy.

Niniejsza praca przedstawia w skrócie wyniki prób przeprowadzonych w latach 1951—52.

### Metoda badań

Dla określenia siły pociągowej posługiwano się siłomierzem ciśnieniowym (dynamometr hydrauliczny) wmontowanym na przodzie samochodu. (wzorowanym na modelu fińskim).