

hirs bei jungen und erwachsenen Schafen beschrieben. Als begünstigender Faktor wird wahrscheinlich die Anwendung von Terramycin sowie Verabreichung eines mit krankheitserregenden Pilzen befallenen

Futters, angenommen. Die aus den inneren Organen, dem Gehirn und Futter isolierten Pilze haben sich als hefcartige Pilze der Art *Candida (Candida quillmondi)* erwiesen.

JAN SZURMAN

Użycie plazmy mleka jako płynu utrzymującego w hodowli wirusa choroby cieszyńskiej na komórkach nerkowych świni

Z Instytutu Weterynarii — Zakład Wirusologii — Pracownia Badań nad Zarazą Cieszyńska
Kierownik: dr JAN SZURMAN

Przebieg zakażenia hodowli komórek wirusem w obecności surowic zwierzęcych jest często hamowany przez występujące w surowicach „niespecyficzenie inhibitory”.

Baron i Low (1) wprowadzili do hodowli komórek i wirusów mleko chude jako płyn zastępczy. Przypuszczają oni, że mleko nie posiada niespecyficznym inhibitorów. Użycie mleka chudego oprócz niewątpliwych korzyści posiada również aspekty ujemne. Zawartość mleka w płynie utrzymującym powoduje jego zmętnienie, co w efekcie utrudnia odczyty zakażenia a) przy określaniu miana oraz b) w odczynie seroneutralizacji na tkankach. Białka mleka są potencjalnymi antygenami. Ogranicza to możliwość stosowania mleka jako płynu utrzymującego do produkcji szczepionek.

Celem naszej pracy było stwierdzenie, która z pochodnych mleka, zawierająca niższą zawartość ciał białkowych niż mleko wyjściowe jest przydatna jako składnik płynu odżywczego. Uwzględniając skład białek mleka odtłuszczonego (kazeina 2,5%, albumina + globuliny 0,6%, starano się wyeliminować ilościowo najbardziej reprezentowany składnik — kazeinę. Do wytrącenia kazeiny użyto metodę enzymatyczną. Enzym podpuszczka działając na kazeinian wapnia mleka zamienia go na parakazeinian, bardziej hydrofobowy, co powoduje w efekcie wytrącenie parakazeinianu wapnia z roztworu.

Materiał i metodyka

Otrzymanie plazmy mleka. Mleko krowie chude zbiorowe z zakładu mleczarskiego, niepasteryzowane, o temperaturze 37°C, poddano działaniu enzymu podpuszczki (preparat handlowy, moc 1:100.000), tak żeby uzyskać przejście mleka ze stanu sol w stan żel w ciągu 30 minut. Uzyskany skrzep pokrojono na kostki o wymiarach 1 x 1 x 1 cm celem ułatwienia synerzy. Pokrojony skrzep mieszano w temp. 37°C przez 30 minut. Podczas stałego mieszania skrzepu podniesiono temperaturę do 56°C i w tej temperaturze mieszano jeszcze 30 minut. Wytrącony parakazeinian wapnia usunięto przez filtrowanie. Przygotowaną w ten sposób plazmę mleka poddano działaniu pary bieżącej w autoklawie przez 30 minut. Podczas tego procesu wytrąca się dalsza frakcja białek, przypuszczalnie albuminy. Uzyskaną w ten sposób plazmę mleka przechowywano w temp. +4°C.

Hodowla trypsynizowanych komórek nerki świni na szkle była prowadzona wg Schwöbla (2).

Wirus: jako wirus wyjściowy użyto 48 pasaż wirusa choroby cieszyńskiej na trypsynizowanych komórkach nerkowych TID₅₀ tego pasażu = 10⁻⁷ ml. Jako płyn utrzymujący modelowy do hodowli wirusa stosowano płyn amnionalny bydłcy.

Przebieg doświadczeń i wyniki

Do doświadczeń użyto płynu o składzie: 40% plazmy mleka, 0,25% hydrolizatu laktalbuminy oraz 59,75% płynu buforowego Hanksa. Komórki trypsynizowane nerki świni utrzymują się w tym płynie przez okres 14 dni bez widocznych zmian morfologicznych. Okres ten jest wystarczający do namnażania się wirusa choroby cieszyńskiej, mianowania wirusa oraz przeprowadzenia prób seroneutralizacji na tkankach.

Celem ilościowego określenia namnażania się wirusa przeprowadzono oznaczenie TID₅₀ dla 5 pasażu. Wyniki ujęte są w tabeli Nr 1.

Tab. 1. Określenie TID₅₀ wirusa choroby cieszyńskiej w obecności plazmy mleka

Rozcieńczenie wirusa	Okres inkubacji w dniach									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10 ⁻³	0/4	4/4*								
10 ⁻⁴	0/4	0/4	4/4							
10 ⁻⁵	0/4	0/4	0/4	0,4	4/4					
10 ⁻⁶	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4				
10 ⁻⁷	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4			
10 ⁻⁸	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

*) licznik — ilość zakażonych probówek
mianownik — ilość probówek wziętych do doświadczenia.

TID₅₀ obliczono met. Muencha i Reeda wynosiło 10^{-7,5}. Po dalszych 5 pasażach oznaczono ponownie TID₅₀. TID₅₀ 10 pasażu wynosiło również 10^{-7,5}. Ten sam wynik uzyskano dla pasażu 20.

Wyniki te świadczą o osiągnięciu kryterium namnażania się wirusa na komórkach nerkowych świni w obecności podłoża zawierającego plazmę mleka.

Celem stwierdzenia ewentualnego działania neutralizującego plazmy mleka na wirus choroby cieszyńskiej przeprowadzono próbę seroneutralizacji *in vitro* w warunkach podanych

przez Mayra (2). Próby te dały przy użyciu plazmy nierozcieńczonej wyniki ujemne.

O mówienie wyników

Wyniki świadczą o tym, że kazeina mleka nie jest składnikiem niezbędnym płynu utrzymującego. Temperatury stosowane w procesie przy przygotowaniu plazmy mleka wskazują na to, że składnik aktywny jest termostabilny. Ujemne wyniki neutralizacji *in vitro* świadczą o tym, że plazma mleka nie posiada ciał neutralizujących wirus choroby cieszyńskiej. Seryjne pasaży wirusa choroby cieszyńskiej wykazały przydatność plazmy mleka jako płynu do namnażania wirusa.

W porównaniu z mlekiem odtłuszczonym plazma mleka posiada niższą zawartość ciał

białkowych, co umożliwia ewentualne użycie jej do produkcji szczepionek. W porównaniu z płynem amnionalnym bydłecym stosowanym normalnie w hodowli wirusa choroby cieszyńskiej, na korzyść plazmy mleka przemawia łatwość otrzymywania, tani koszt, oraz łatwość uzyskania stosunkowo ustandaryzowanego materiału.

Badania biologicznych właściwości wirusa namnożonego w obecności plazmy mleka są w toku.

Piśmiennictwo

1. Baron S.: Low R. J. Science 128, 89—90, 1958.
2. Schwöbel W.: Zbl. Bakteriol. I Orig. 168, 330—335, 1957.

Adres autora: Dr Jan Szurman, Śląska Akademia Medyczna, Zabrze 8, Rokitnica, Zakład Mikrobiologii.

TADEUSZ GOLAT

PZLZ Zawidz

Dwa przypadki pasterelozy u koni

W czasopismach spotkać można wzmianki o poszczególnych przypadkach stwierdzenia pasterelozy koni; np. Gołębiowski w 1955 r. stwierdził w rzeźni łódzkiej pałeczki posocznicy krwotocznej u jednego konia, co stanowiło zaledwie 0,039% ogólnej liczby poddanych ubojowi koni w okresie od 1952—1957 r. Natomiast dostępne podręczniki krajowe i zagraniczne nie uwzględniają choroby wywołanej przez pałeczki z grupy *Pasteurella multocida* u koni. Pasterelozy koni nie umieszczono również w urzędowym wykazie zaraźliwych chorób zwierzęcych.

Poniżej podano dwa przypadki pasterelozy u koni, przy czym w jednym przypadku właściwą diagnozę postawiono przyżyciowo. Potwierdzeniem właściwego rozpoznania choroby są wyniki badań bakteriologicznych przeprowadzone przez WZHW w Warszawie Nr bad. bakt. 3797/59 z dnia 25 listopada 1959 r. i nr 3920/59 z dnia 5 października 1959 r.

Przypadek pierwszy

Dnia 22.IX.1959 r. do PZLZ w Zawidzu, pow. Sierpc doprowadzono konia, klacz maści kasztanowej, lat 8, stanowiącą własność ob. C.M. ze wsi Jaworowo Kol. W wywiadzie właściciel podaje, iż koń zachorował przed 5 godzinami przy objawach nieznacznego podniecenia, braku apetytu i oglądania się na boki.

Badaniem klinicznym stwierdzono: temp. 38,2°C, tętno — 36/min, oddechy — 10/min.

Opukiem stwierdzono, iż płuca znajdują się w granicach fizjologicznych, zaś osłuchem stwierdzono szmer pęcherzykowy nieco zaostrzony. W obrębie jamy brzusznej stwierdzono: osłuchem — wzmoczoną perystaltykę jelit, a badaniem rektalnym — bębniącą ogólną jelit. Na podstawie objawów klinicznych nie można było postawić właściwej diagnozy. Zastosowano leczenie objawowe przez podanie środków przeczyszczających, przeciwfermentacyjnych i uspokajających. Pacjenta pozostawiono na obserwacji. W następnym dniu choroby wystąpiły zaburzenia w stanie ogólnym zwierzęcia.

Temperatura wzrosła do 39,2°C. Na skutek gromadzenia się płynu wysiękowego w worku osierdziowym wystąpiło osłabienie uderzenia sercowego, przy wzroście tętna do 68/min. Oddechy stały się utrudnione i wzrosły do 24/min. Zaobserwowano zaczerwienienie spojówek. Osłuchem w obrębie narządu oddechowego stwierdzono zaostrzony szmer pęcherzykowy, i trze-

szczenia. Ponadto wystąpiła biegunka, wydalany kał był konsystencji papkowatej, kleisty, cuchnący. Mimo tych objawów wzdęcie jelit nie ustąpiło.

Biorąc pod uwagę zmiany fizykalne i uwzględniając dane epizootyczne zagrody, postawiono diagnozę pasterelozy koni i zastosowano odpowiednie leczenie. Koń otrzymał 100 ml „Polisepsin”, 60 ml „Cero-mangan”, 10,0 streptomycyny oraz dwukrotnie po 20 ml Coffein n.b. W trzecim dniu choroby temperatura wzrosła do 40,2°, w narządzie krążenia wystąpiła niemiarowość zupełna. Przy wzmagającej się duszności wydechowej nastąpiła przewaga oddychania typu brzuszno-gardłowego z wydatnymi ruchami powłok brzusznych. Wśród zaburzeń ze strony centralnego układu nerwowego nastąpiła śmierć zwierzęcia.

Przeprowadzona w dniu 25.IX.1959 r. sekcja wykazała: temperatura zwłok wyrównana z temperaturą otoczenia, stężenie pośmiertne zwłok częściowo zachowane, gałki oczne i koniec języka wyschnięte, tkanka podskórna dobrze rozwinięta, mięśnie dobrze rozwinięte koloru blade różowego. Ułożenie trzewów prawidłowe, mierna ilość płynu śluzowo-krwawego w jamie brzusznej, nieliczne wybroczyny pod błoną surowiczą jelita biodrowego i jelit cienkich, krwotoczny stan zapalny błony śluzowej odcinków jelita grubego. W obrębie klatki piersiowej stwierdzono przekrwienie płuc, płyn surowiczo-krwawy w worku osierdziowym oraz liczne wybroczyny pod osierdziem. Zmiany sekcyjne potwierdziły postawioną diagnozę.

Przypadek drugi

Dnia 5.X.1959 r. zgłoszono do sekcji padłego konia, klacz kasztan, 10 miesięcy, własność ob. M.K., zam. na terenie powiatu płockiego. Właściciel podał, iż koń zachorował poprzedniego dnia z następującymi objawami chorobowymi: brak apetytu, utrudniony oddech, obrzęk galaretowaty okolicy gardła. Po kilku godzinach choroby nastąpiła śmierć zwierzęcia. Przeprowadzona sekcja wykazała następujące zmiany: obrzęk surowiczy okolicy gardła, obejmujący swym zasięgiem dolną szczękę (żuchwę). Ponadto stwierdzono około 5 l płynu surowiczego w jamie brzusznej, liczne wybroczyny pod błoną surowiczą jelit cienkich i grubych. W obrębie klatki piersiowej stwierdzono płyn śluzowo-krwawy w worku osierdziowym, liczne wybroczyny pod osierdziem oraz niezbyt dróg oddechowych. Na podstawie opisanych zmian anatomo-patologicznych rozpoznano pasterelozę koni.