

Z powyższego wynika, że odczyn immunofluorescencji jest próbą wysoce specyficzną. Reakcja dodatnia poszczególnych narządów nie zawsze występuje jednocześnie, a jest uzależniona od miana, zjadliwości wirusa i czasu trwania choroby.

## Piśmiennictwo

1. Aiken J. M., Hoopes K. H., Stair E. L.: Sc. Prac. Am. vet. med. Ass. 282, 1964.
2. Aiken J. M., Hoopes K. H., Stair E. L., Rhodes M. B.: J.A.V.M.A. 144, 1395, 1964.
3. Aiken J. M., Hoopes K. H., Rhodes M. B., Twiehaus M. J.: J.A.V.M.A. 150, 59, 1967.
4. Boulanger P.: Canad. J. comp. Med. 24, 262, 1960.
5. Boulanger P., Appel M., Bannister G. L., Ruckerbauer G. M., Mori K., Gray D. P.: Canad. J. comp. Med. 29, 201, 1965.
6. Kubin G., Kölbl O.: Wien. tierärztl. Mschr. 55, 578, 1968.
7. Maess J., Liess B.: Zb. Vet. Med. 13(B), 660, 1966.
8. Mengeling W. L., Pirtle E. C., Porrey J. P.: Can. J. Comp. Med. Vet. Sc. 27, 249, 1963.
9. Mengeling W. L., Torrey J. P.: Am. J. Vet. Res. 28, 1653, 1967.
10. Mengeling W. L.: Arch. gesamt. Virusforsch. 23, 27, 1968.
11. Meyling A., Scherning-Thiesen K.: Acta vet. scand. 9, 50, 1968.
12. Mihajlovic B., Jarmolenko G., Kuzmanovic M.: Zentbl. Bakt. Parasit. I Orig. 203, 300, 1963.
13. Ressang A. A., den Boer J. L.: Neth. J. vet. Sci. 1, 72, 1968.
14. Salarzano R. F., Thigpen J. E., Bedell D. M., Schwartz W. L.: J.A.V.M.A. 149, 31, 1966.
15. Samól S.: Pol. Arch. Wet. — w druku.
16. Sirbu Z., Bran L., Michailov L.: Arch. vet. 4 (Romania) 19, 1968.
17. Stair E. L., Rhodes M. B., Grace O. D., Aiken J. M.: Proc. U.S. Liverst. San. A. 67, 559, 1963.
18. Teebken L., Aiken J. M., Twiehaus M. J.: Amer. vet. med. Ass. 15, 53, 1967.
19. Wittman F., Schmir D., Bergmann H.: Arch. Exp. Vet. Med. 17, 1345, 1963.

Adres autora: dr Stefan Samól, Warszawa, ul. Lechicka 21.

Самуль С. — Ценность реакции иммунофлуоресценции в лабораторной диагностике классической чумы свиней.

Исследовали разные органы и ткани 8 свиней искусственно зараженных вирусом чумы свиней (штамм Вашингтон) методом иммунофлуоресценции (РИФ) и применением техники криостатовой, отпечатков а в случае крови также мазков. Исследовали также методом РИФ техникой отпечатков 155 случаев чумы выступающей в сельском хозяйстве. Установили высокую специфичность РИФ. Сомнительные результаты получали при низком титре вируса в исследуемом органе, при слабой вируленции возбудителя или при несвежем материале. Самыми ценными для РИФ были в практических условиях посредственно: миндалины, лимф-узлы, селезенка и почки. В прижизненной диагностике можно исследовать миндалины и, особенно в первом периоде болезни, кровь.

Samól S. — The value of immunofluorescence test in laboratory diagnosis of hog cholera.

The samples of various internal organs and tissues have been taken from 8 pigs artificially infected with the W hog cholera virus. They were investigated by means of direct immunofluorescence technique acc. to cryostatic method, impressed preparations and in the case of blood — smeared preparations. In addition, 155 field cases were also examined with the impressed technique. The results of the investigations of the material derived from artificially infected pigs were in agreement with the data from literature. The results of field examinations were highly specific too. Doubtful results were obtained in the case of low titre of the virus in examined organs, low virulence of the virus and when the examined material was not fresh. The most useful for immunofluorescence examinations, from practical point of view, were the following organs: tonsil, lymph nodes, spleen and kidney. For supravital examinations apart from tonsils — blood might be used — especially in the first period of the disease.

EDWARD NOLEWAJKA, ZOFIA KAPP, JAN SZURMAN, JERZY SZAFIARSKI

## Próba fotodynamicznej inaktywacji atenuowanego szczepu wirusa choroby cieszyńskiej

Katedra i Zakład Mikrobiologii Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach  
Kierownik: prof. dr J. SZAFIARSKI

### Materiał i metody

Enterowirusy na ogół nie ulegają uczuleniu na światło widzialne pod wpływem barwników akrydynowych (1, 4, 8). W pewnych jednak, ściśle dobranych warunkach pH, temperatury i składu środowiska udaje się uczulić enterowirusy na działanie światła widzialnego w nadmiarze tych barwników (10, 11, 12).

Jeśli replikacja enterowirusów przebiega w komórkach utrzymywanych w płynie odżywczym zawierającym barwniki akrydynowe, uzyskuje się zbiór wirusa wrażliwego na promienie światła widzialnego (1, 5, 8).

Ostatnio bada się możliwości wykorzystania fotodynamicznej inaktywacji do produkcji zabitych szczepionek wirusowych o dobrych właściwościach immunogennych (14).

W przedstawianej pracy podjęto próbę fotodynamicznej inaktywacji atenuowanego szczepu wirusa choroby cieszyńskiej.

W badaniach używano linię ciągłą komórek nerki płodu świni — RES (3). Komórki RES hodowano na szkle w płynie odżywczym wzrostowym zawierającym płyn Hanksa z dodatkiem 0,5% hydrolizatu laktoalbuminy oraz 10% surowicy cielęcej. W płynie utrzymującym stężenie surowicy cielęcej obniżano do 2%.

Wirus choroby cieszyńskiej, szczep atenuowany przez Szurmana (9) otrzymano z Pracowni Instytutu Zootechniki w Grodźcu Śl. w 1964 r.

Mianowanie wirusa przeprowadzano w jednowarstwowych hodowlach komórek RES w butelkach o pojemność 125 ml. Po zlanii i odsączeniu płynu odżywczego na komórki nanoszono zawiesinę kolejnych rozcieńczeń wirusa choroby cieszyńskiej. Na jedną hodowlę nanoszono 0,2 ml wirusa.

Do każdego rozcieńczenia używano 2 butelek. Adsorbacja wirusa przebiegała w temperaturze pokojowej przez 60 min. Po tym czasie komórki pokrywano agar odżywczym w ilości 8 ml na butelkę. Po 72 godz. inkubacji w temp. 37°C na agar odżywczy wylewano agar barwiący w ilości 4 ml na butelkę i po dalszych

24 godz. inkubacji w temp. 37°C obliczano ilość lysi- nek w każdej hodowli. Dla każdego rozcieńczenia wy- liczano średnią arytmetyczną, a następnie obliczano ilość jednostek lysi- nekotwórczych (plaque forming unit — PFU) w 1 ml badanej zawiesiny wirusa. Agar od- żywczy i agar barwiący sporządzano wg przepisu po- danego przez Dobrowolską (2).

Oranż akrydynowy, używany do doświadczenia, po- chodził z firmy Dr Bender, Dr Hoben AG Zürich (Szwajcaria).

Sporządzano roztwór wyjściowy w stężeniu  $10^{-3}$  mola/l w wodzie redestylowanej, wyjaławiano w autoklawie w temp. 120°C przez 15 min., przechowy- wano w temp. +4°C w ciemnym opakowaniu.

Próbki do naświetlania, o objętości 1 ml, wlewano do probówek o wymiarach 14×160 mm. Probówki układano pod kątem 5° na folii aluminiowej. Probówki kontrolne dla ochrony przed światłem owijano szczelnie folią aluminiową. Do naświetlania używano 8 lamp jarzeniowych o mocy 20 W każda. Naświetlano w odległości 30 cm przez 30 min. w temp. pokojowej. Natężenie oświetlenia próbki wynosiło 1900 luksów.

W celu uniknięcia inaktywacji wirusa, w czasie ob- serwacji mikroskopowych, stosowano filtr zawierają- cy roztwór oranżu akrydynowego.

Wszystkie doświadczenia wymagające ochrony przed światłem dziennym przeprowadzono w ciemni oświe- lonej lampami z czerwonym filtrem fotograficznym.

### Przebieg doświadczeń i wyniki

Istnienie wirusów naturalnie wrażliwych na światło widzialne (13) nasuwało konieczność sprawdzenia pod tym względem wirusa choro- by cieszyńskiej. Ustalono, że naświetlanie w warunkach podanych w metodyce nie wpływa na jego miano wyznaczone w PFU/ml.

Następnie wykonywano doświadczenia mają- ce wykazać, czy istnieje możliwość uczulenia dojrzałego wirusa choroby cieszyńskiej na światło widzialne przy pomocy oranżu akrydy- nowego. Stężenie wirusa choroby cieszyńskiej doprowadzono roztworem Hanksa do około  $10^5$  PFU/ml. Następnie przenoszono wirus do roz- tworów oranżu akrydynowego o pH 6,0; 7,0; 8,0.

Każda próbka zawierała 1 cz. oranżu akry- dynowego o stężeniu  $10^{-3}$  mola/l. 8 cz. buforu fosforanowego o odpowiednim pH i 1 cz. za- wiesiny wirusa o stężeniu około  $10^5$  PFU/ml. Stężenie oranżu akrydynowego w próbce wy- nosiło więc  $10^{-4}$  mola/l, a stężenie wirusa oko- ło  $10^4$  PFU/ml. Wirus naświetlano w warun- kach podanych w metodyce. Kontrolę do tego doświadczenia stanowił wirus rozcieńczony w podobny sposób w buforze fosforanowym o wy- mienionych pH, jednak bez dodatku oranżu akrydynowego. Po naświetleniu określano miano wirusa choroby cieszyńskiej w PFU/ml. Wy- niki zamieszczono w tab. 1.

Z tab. 1 wynika, że sam oranż akrydynowy w stężeniu  $10^{-4}$  mola/l nie wywiera w opisa- nych warunkach doświadczenia wpływu na miano wirusa choroby cieszyńskiej wyrażone w PFU/ml, a naświetlanie wirusa choroby cie- szyńskiej poddanego działaniu oranżu akrydy- nowego w stężeniu  $10^{-4}$  mola/l również nie zmienia miano tego wirusa.

Tab. 1. Wpływ oranżu akrydynowego i światła wi- dzialnego na wirus choroby cieszyńskiej. Miano wirusa wyrażone w log PFU/ml.

pH	Bufor fosforanowy	Oranż akrydynowy $10^{-4}$ mola/l	
		ciemnia	naświetlanie
6,0	4,1	4,0	4,1
7,0	4,0	4,1	4,0
8,0	4,1	4,1	4,1

W następnych doświadczeniach wirus choro- by cieszyńskiej namnażano w komórkach RES w obecności oranżu akrydynowego i otrzymany materiał wirusowy poddawano naświetlaniu.

Wyniki przedstawiono w tab. 2. Wynika z niej, że:

a) stężenie oranżu akrydynowego  $10^{-5}$  mola/l obniża w niewielkim stopniu miano wirusa choro- by cieszyńskiej (o 0,6 log PFU/ml),

b) naświetlenie takiego zbioru wirusa promie- niami światła widzialnego powoduje obniżenie miano o 1,7 log PFU/ml,

c) naświetlanie zbioru wirusa z hodowli ko- mórek w płynie utrzymującym zawierającym oranż akrydynowy w stężeniu  $10^{-6}$  mola/l ob- niża miano tego wirusa o 1 log PFU/ml.

Tab. 2. Wpływ światła widzialnego na wirus choroby cieszyńskiej namnożony w komórkach RES w obec- ności oranżu akrydynowego. Miano wirusa wyrażone w log PFU/ml.

	Kontro- la wirusa	Oranż akry- dynowy $10^{-5}$ mola/l		Oranż akry- dynowy $10^{-6}$ mola/l	
		ciem- nia	naświe- tlanie	ciem- nia	naświe- tlanie
Pasaż 1	5,8	5,2	3,5	5,5	4,5
Pasaż 3	5,7	5,5	3,8	5,6	4,9

Fracja wirusa choroby cieszyńskiej nie ule- gająca fotodynamicznej inaktywacji może sta- nowić część inokulum wirusa, który nie został zaadsorbowany, nie wszedł w fazę eklipsy i re- plikacji. Dlatego wykonano dalsze pasaże wiru- sa choroby cieszyńskiej w hodowli komórek RES przy stężeniu oranżu akrydynowego  $10^{-5}$  i  $10^{-6}$  mola/l.

Następnie oznaczono ilość PFU/ml przed na- świetlaniem i po naświetlaniu. Wyniki dla 3. pasażu zamieszczono w tab. 2. Porównanie wy- ników otrzymanych dla 3. pasażu z wynikami dla 1. pasażu wykazuje, że frakcja oporna na naświetlanie utrzymuje się nadal.

W następnych doświadczeniach badano wpływ naświetlania na zbiory wirusa choroby cieszyńskiej z hodowli komórek RES trakto- wanych przed zakażeniem oranżem akrydy- nowym przez 3 godziny. Wynika z nich że:

a) traktowanie komórek RES oranżem akry-

dywym w stężeniu  $10^{-4}$  mola/l obniża miano wirusa choroby cieszyńskiej o 1,2 log PFU/ml,

b) naświetlanie takiego zbioru wirusa powoduje dalsze obniżenie miana o 1,2 log PFU/ml,

c) traktowanie komórek RES oranżem akrydynowym w stężeniu  $10^{-5}$  mola/l powoduje niewielki spadek miana wirusa choroby cieszyńskiej,

d) zbiory wirusa otrzymane z tych komórek są wrażliwe na naświetlanie, co wyraża się obniżeniem miana o 1,1 log PFU/ml.

#### Omówienie wyników i dyskusja

W wykonanych doświadczeniach nie stwierdzono wpływu oranżu akrydynowego oraz światła widzialnego na badany szczep wirusa choroby cieszyńskiej.

Wynik ten jest zgodny z rezultatami badań nad wpływem barwników o fotodynamicznym działaniu światła widzialnego na wirus *poliomyelitis* i inne enterowirusy. Na ogół przyjmuje się, że kapsyd enterowirusów jest nieprzepuszczalny dla tych barwników i stąd brak ich fotodynamicznej inaktywacji przy bezpośrednim działaniu barwników i światła widzialnego na dojrzały wirus. Na korzyść tego przypuszczenia przemawiają wyniki badań Helprina i Hiatta (6), którzy stwierdzili związek między przydatnością bakteriofagów na barwniki i światło widzialne, a ich osmotyczną przepuszczalnością.

Zbiory wirusa choroby cieszyńskiej otrzymane po jego replikacji w komórkach RES w obecności oranżu akrydynowego uległy inaktywacji po naświetleniu, co świadczyłoby o związaniu barwnika przez część wirionu podatną na fotodynamiczną inaktywację. Stopień tej inaktywacji jest zależny od stężenia barwnika w płynie utrzymującym. Uzyskane wyniki są zgodne z rezultatami badań innych autorów (1,8).

W badaniach własnych otrzymywano frakcję wirusa choroby cieszyńskiej oporną na naświetlanie, stanowiącą w zależności od użytego stężenia oranżu akrydynowego 2—10% wyjściowej populacji wirusa. Ta frakcja może stanowić część populacji wirusa, która nie uległa replikacji.

Wydawało się, że pasażowanie wirusa w obecności oranżu akrydynowego mogłoby doprowadzić do uczulenia całej populacji wirusa choroby cieszyńskiej na naświetlanie. Trzykrotne przepasażowanie wirusa choroby cieszyńskiej w obecności oranżu akrydynowego nie wpłynęło w istotny sposób na wrażliwość wirusa na fotodynamiczną inaktywację.

Schaffer (8) badając układ wirus *poliomyelitis* — komórka HeLa-proflawina obserwował oporną na naświetlanie frakcję wirusa nawet po piątym pasażu w obecności barwnika.

Z badań Joklika i Darnella (7) wynika, że w trakcie zakażenia wirusem *poliomyelitis* bar-

dzo mała ilość wirusa pozostaje związana z komórkami nie wchodząc w fazę eklipsy. Być może, w przypadku wirusa choroby cieszyńskiej występuje podobne zjawisko. Tłumaczyłoby to w pewnym sensie istnienie obserwowanej frakcji wirusa choroby cieszyńskiej odpornej na naświetlanie.

W omówionych powyżej doświadczeniach własnych oranż akrydynowy wprowadzano do hodowli po zakażeniu wirusem choroby cieszyńskiej. Interesującym wydawało się stwierdzenie, jaka będzie światłoczułość zbiorów wirusa otrzymanych po zakażeniu komórek uprzednio traktowanych oranżem akrydynowym. Uzyskano zbiory wirusa, których czułość na naświetlanie nie odbiegała od wrażliwości na światło zbiorów wirusa choroby cieszyńskiej otrzymanych w poprzednich doświadczeniach. Wallis i Melnick (13) uzyskali całkowitą fotodynamiczną inaktywację wirusa *poliomyelitis* namnożonego w komórkach nerki małpy traktowanych, przed zakażeniem wirusem, proflawiną. Podobnie całkowitą fotodynamiczną inaktywację innych enterowirusów uzyskali Wallis i wsp. (14) w 3. pasażu wirusa w hodowlach komórek traktowanych uprzednio czerwienią obojętną.

W zbiorach z 1. i 2. pasażu obserwowali małe frakcje oporne na światło wirusa, które ich zdaniem stanowiły resztkowe inokulum wirusa.

Badania mające na celu wyjaśnienie mechanizmu powstawania opornych na naświetlenie cząstek wirusa choroby cieszyńskiej są kontynuowane.

#### Piśmiennictwo

1. Crowther D., Melnick J. L.: *Virology* 14, 11, 1961.
2. Dobrowolska H., Przesmycki F.: *Zarys Wirusologii Praktycznej*, PZWL, 1963.
3. Gavrilov V. I., Shchekochikhina E. A.: *Wopr. Wirusol.*, 9, 468, 1964.
4. Gendon J. Z.: *Wopr. Wirusol.*, 9, 16, 1964.
5. Hackett A. J.: *Photochem. Photobiol.* 1, 147, 1962.
6. Helprin J. J., Hiatt C. W.: *J. Bacteriol.* 77, 502, 1959.
7. Joklik W. K., Darnell J. E.: *Virology*, 13, 439, 1961.
8. Schaffer F. L.: *Virology* 18, 412, 1962.
9. Szurman J.: *Post. Hig. Med. Dośw.* 18, 357, 1964.
10. Wallis C., Melnick J. L.: *Virology*, 21, 332, 1963.
11. Wallis C., Melnick J. L.: *J. Bacteriol.* 89, 41, 1965.
12. Wallis C., Melnick J. L.: *Virology*, 23, 520, 1964.
13. Wallis C., Melnick J. L.: *Photochem. Photobiol.*, 4, 159, 1965.
14. Wallis C., Scheiris Ch., Melnick J. L.: *J. Immunol.*, 99, 1134, 1967.

Adres autora: dr Edward Nolewajka, Bytom, ul. 5 Stycznia 36 m. 18.

Нолевайка Э., Капп З., Шурман Е., Шафлярски Е. — **Попытка фотодинамической инактивации аттенуированного штамма вируса тешенской болезни.**

Акридин-оранжевый (а.-о.) не сенсибилизирует вируса тешенской болезни (т.б.) на действие видимых световых лучей. Вирус т.б. культивируемый в присутствии а.-о. делается чувствительным на световое облучение. Однако небольшая часть вирусной популяции остается живой даже после трехкратного облучения вируса т.б. в присутствии а.-о. Ретикулеэндотелиальные клетки подвергнутые действию а.-о. перед заражением вирусом т.б. освобождают вирус чувствительный на световое облучение, но и в этом случае наблюдали фракцию которая осталась резистентной на облучение.

Nolewajka E., Kapp Z., Szurman J., Szaflarski J. — **Trial of photodynamic inactivation of attenuated strain of the Teschen disease virus.**

Acridine orange does not make sensitive the Teschen disease virus (TDV) to the day light. The TDV multiplied in the presence of acridine orange has gained photosensitivity to the day light. All the

same, some particles of the TDV are resistant to the day light. The resistance persists even after 3 passages of the TDV in the presence of acridine orange. The RES cells exposed to acridine orange before the virus infection release the photosensitive particles of the TDV. In this case the resistant fraction to the light exposure has been observed.

JERZY GÓRSKI

## Studia nad zakaźnym zapaleniem mózgu lisów (wątroby psów) w Polsce

### IV. Oporność wirusa na działanie czynników fizycznych

Badawcza Pracownia Wirusologiczna Puławskich Zakładów Przemysłu Bioweterynaryjnego  
Kierownik Pracowni: dr J. GÓRSKI

Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynarii WSR w Lublinie  
Kierownik: prof. dr T. JASTRZĘBSKI

Zdolność przeżywania infekcyjnego wirusa poza organizmem (w środowisku) ma poważny wpływ na rozprzestrzenianie choroby. Badania wykonane w kraju (5, 7, 10, 16, 17) i za granicą (1, 2, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15) wykazały, że choroba Rubarth'a (ch.R.) występuje stosunkowo często we wszystkich prawie krajach świata. Jest to uwarunkowane szerokim spektrum zakaźności wirusa, oraz prawdopodobnie także znaczną jego opornością na działanie czynników fizyko-chemicznych. Poznanie wrażliwości w.ch.R. na działanie czynników fizycznych posiada zatem poważne znaczenie dla ustalenia najważniejszych metod postępowania przeciwepidemiotycznego, a zwłaszcza dewastacji zarazka.

Celem niniejszej pracy było przebadanie żywotności wirusa w różnych temperaturach, oraz wpływu wielokrotnego zamrażania. W wykonanych badaniach starano się ponadto zgromadzić niezbędne dane do opracowania metodyki produkcji i kontroli swoistych preparatów immunologicznych przeznaczonych do zwalczania ch.R.

#### Materiał i metody

Użyto 2 szczepów w.ch.R. — atenuowanego (h) Hep i zjadliwego LJG namnażanych na hodowli komórek nerki psa (HKNP) (4). Miano szczepu (w log. HKID<sub>50</sub>) (h)Hep wynosiło ok. 7,0 a LJG ok. 6,0. Przebadano działanie temperatur: 100°, 56°, 37°, 20—22°, 4° i —70°C. Próbki płynu wirusowego w zatopionych cienkościennych ampulkach poddawano działaniu określonej temperatury w określonym czasie i wysiewano na HKNP dla ustalenia żywotności i miana zakaźnego. W przypadku ujemnego wyniku wykonywano dodatkowo 2 ślepe pasaże. Wyniki obliczono wg Reeda i Muencha i podano w log. HKID<sub>50</sub>/ml. Miareczkowanie wirusa wykonywano przy inoculum 0,1 ml w przedziale 1 log, z użyciem 6 probówek HKNP na każde rozcieńczenie.

#### Wyniki i omówienie\*)

Wpływ temp. 100°. W 5-krotnie wykonanych badaniach 1-minutowe ogrzewanie

płynu wirusowego z HK — szczepów (h)Hep i LJG wykazało całkowitą jałowość. Odmienne wyniki osiągnięte przez innych autorów, a podane przez Steffenową (15), być może związane były z użyciem do badań materiału wirusowego w postaci grubych wycinków narządów.

Wpływ temp. 56°. Temperatura ta ma istotne znaczenie przy inaktywacji surowic odpornościowych. Badanie miało na celu ustalenie czy zwykle stosowane 30-minutowe ogrzewanie wystarcza dla zabicia wirusa. Wykazano, że w tych warunkach następuje jedynie wyraźne obniżenie miana. Pełną inaktywację w 56° osiągnęto dopiero po 4—5 godzinach ogrzewania (tab. 1). Osiągnięte wyniki

Tab. 1. Wpływ ogrzewania w temp. 56°C na żywotność wirusa Rubarth'a

Szczep	Nr badania	log miana wirusa po ogrzaniu (minut)							
		0	10	30	60	120	180	240	300
(h)Hep	I	+ (7,4)	x	+ (2,15)	+ (2,15)	+ (2,15)	x	—	x
	II	+ (7,5)	+ (3,0)	+ (3,5)	+ (3,2)	+ (1,5)	+ (3,2)	+ (1,5)	x
	III	+ (7,5)	+ (3,3)	+ (2,7)	+ (4,5)	+ (3,5)	+ (1,0)	+ (1,0)	—
LJG	I	+ (5,5)	x	+ (2,15)	+ (2,15)	+ (2,15)	x	—	x
	II	+ (5,7)	+ (2,6)	+ (2,5)	+ (1,5)	+ (0,6)	+ (0,6)	—	x
	III	+ (5,7)	+ (3,0)	+ (2,5)	+ (2,5)	+ (1,3)	—	—	x

Objaśnienia: + = żyje, — = nie żyje, x = nie badano

są zgodne z badaniami Hodgmana i Larina (6), a nie pokrywają się z wynikami uzyskanymi przez Fastiera (3), wg których wirus HCC ginie w 56° już w ciągu 10—28 minut. Przyczyną odmiennych wyników tego autora (3) mogła być zbyt krótka obserwacja posiewów i nie wykonanie ślepych pasaży. Należy przy tym podkreślić, że Fastier operował tylko 1 szczepem. W badaniach własnych pomimo, że użyto tylko 2 szczepów, wykazano możliwość jednakowej ciepłooporności.

W świetle osiągniętych wyników należy sądzić, że surowice lecznicze, zwłaszcza psie, wprowadzane do obrotu w krótkim czasie po wyprodukowaniu, winny być poddawane, poza normalnym badaniem na jałowość, badaniu wirusologicznemu na HKNP.

Wpływ temp. 37°. Badanie wpływu tej temperatury ma bardzo poważne znaczenie przy namnażaniu wirusa na HK. Poza tym

\*) W pracy wykorzystano niepublikowane fragmenty dysertacji doktorskiej autora p.t. „Właściwości szczepu h/Hep w.ch.R. i jego przydatność do uodporniania zwierząt” — promotor prof. dr T. Jastrzębski.