

22. Keudell K. C., Goldberg H. S.: Appl. Microbiol. 19, 505, 1970.
23. Knorr M.: cyt. wg. poz. 2.
24. Lessie T. G., Whiteley H. R.: J. Bact. 100, 878, 1969.
25. Prevot A. R.: Manuel de classification et de determination des bacteries anaerobies. Masson, Paris 1948.
26. Prevot A. R.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1261, 1963.
27. Prevot A. R.: Manual for the classification and determination of the anaerobic bacteria. Lea and Febiger, Philadelphia 1966.
28. Roberts D. S., Egerton J. R.: J. comp. Path. 79, 217, 1969.
29. Sebald M.: Etude sur les bacteries anaerobies gram -- negatives asporulees. These, Paris 1962.
30. Sebald M.: Gazette Medicale de France 81, 1335, 1974.
31. Smith L.D. S.: Bull. Off. int. Epizoot. 59, 1517.
32. Suzuki S., Ushijima T., Ichinose H.: Jap. J. Microbiol. 10, 193, 1966.
33. Wattré P., Fievez L., Beerens H.: Annls Inst. Pasteur, Paryż 120, 643, 1971.
34. Werner H.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 210, 192, 1969.
35. Werner H., Sebald M.: Annls Inst. Pasteur, Paryż 115, 350, 1968.
36. Wilson G. S., Miles A. A.: Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity, E. Arnold Publ., London 1964.

Adres autora: doc. dr habil. Zygmunt Cygan, ul: Słowicza 2/7, 20-336 Lublin.

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, MARIA TERESZCZUKOWA, IRENA RUTKOWSKA-JURGA

Wstępne badania nad czynnym uodpornianiem drobiu przeciw pasterelozie

Z Instytutu Weterynarii w Puławach

Pastereloza powoduje znaczne straty w hodowli drobiu w wielu krajach, w tym również w Polsce (5, 12, 14). W ostatnich latach szczególnie ważnym problemem stała się u nas pastereloza gęsi, powodująca duże straty w gospodarce uspołecznionej. Stosowane w takich przypadkach postępowanie, polegające na podawaniu preparatów chemoterapeutycznych, jest kosztowne i często nie daje pożądanego efektu. Wydaje się, że najbardziej skutecznym i właściwym, ze względów ekonomicznych, sposobem walki z tą chorobą byłoby czynne uodpornianie drobiu przeciw pasterelozie. Dotychczas w skali międzynarodowej, w tym również i w Polsce, odczuwa się brak szczepionki chroniącej ptactwo w dostatecznym stopniu przed zakażeniem zjadliwymi szczepami *Past. multocida*.

Mając powyższe na uwadze podjęto badania, których celem były próby opracowania skutecznej szczepionki przeciw pasterelozie drobiu. W badaniach tych uwzględniono prace szeregu autorów zagranicznych, którzy uzyskiwali zachęcające wyniki przy uodpornianiu ptaków doświadczalnie przygotowanymi szczepionkami inaktywowanymi (1, 6, 7, 8, 9, 10), lub żywymi -- zawierającymi atenuowane szczepy *Past. multocida* (2, 3, 4, 11). Dobór szczepów do sporządzania doświadczalnych szczepionek oparto na poprzednich badaniach własnych (13).

W niniejszej pracy postanowiono przygotować i zbadać na skuteczność szczepionkę: inaktywowaną formaliną, inaktywowaną termicznie oraz żywą, zawierającą szczep *Past. multocida* o bardzo małej zjadliwości dla drobiu.

Materiał i metody

Szczepy bakteryjne. Do przygotowania szczepionek inaktywowanych użyto szczep nr 97, wyizolowany od gęsi padłej na ostrą postać pasterelozy. Szczep ten na podstawie badań biochemicznych, serologicznych i immunologicznych został zaliczony do najczęściej w Polsce występującego u drobiu typu *Pasteurella multocida* (typ II wg Tereszczuka). Szczepionkę żywą przy-

gotowano ze szczepu nr 20, wyizolowanego z kury padłej na przewlekłą postać pasterelozy. Szczep ten, jak wykazano w poprzednich badaniach własnych (13), różnił się od większości szczepów wyosobnionych z drobiu właściwościami biochemicznymi, serologicznymi oraz stopniem zjadliwości dla kurcząt i gęsi.

Do zakażania uodpornionych zwierząt używano oprócz szczepu homologicznego również szczep nr 67, wyosobniony z ostrej formy pasterelozy kur, oraz szczep nr 3, pochodzący z przewlekłej postaci tej choroby.

Przygotowanie szczepionek inaktywowanych. Po 16 godzinach namnażania na agarze szczepu nr 97 splukiwano wyrosłe kolonie 7-dniową hodowlą bulionową tegoż drobnoustroju. Po dokładnym wymieszaniu zawiesiny w kolbce z perełkami oznaczano metodą płytkowa Kocha jej gęstość, która wynosiła około 20 miliardów bakterii w 1 ml. Zawartość kolbki dzielono na dwie części. Do jednej dodawano 0,2% formaliny i pozostawiano przez 48 godzin w temperaturze 37°C, druga natomiast inaktywowano w łaźni wodnej przez 30 minut w temperaturze 70°C. Celem sprawdzenia skuteczności inaktywacji, posiewano szczepionki na dwie probówki z bulionem zwykłym i dwie z agarem, zawierającym 5% surowicy. Nieszkodliwość uzyskanych preparatów sprawdzano, szczepiąc podskórnie po 2 myszki białe dawką 0,2 ml.

Badanie wartości ochronnej szczepionek. W przypadku stwierdzenia braku zanieczyszczeń bakteryjnych i nieszkodliwości szczepionek, uodporniano nimi zwierzęta doświadczalne. Kurczęta 14-tygodniowe i kury otrzymywały podskórnie po 1 ml, a gęsi po 2,5 ml szczepionki. Po 7-dniowej przerwie stosowano powtórne szczepienie takimi samymi dawkami.

Po upływie trzech tygodni od ostatniego szczepienia dzielono ptaki na 6 grup, po 3 kurczęta i 2 gęsi w każdej grupie. Poszczególne grupy zakażano domięśniowo wzrastającymi rozcieńczeniami danego szczepu w dawce 0,25 ml. Szczepami nr 3 i 67 zakażano ptaki w rozcieńczeniach od 10^{-2} do 10^{-7} , natomiast szczepem nr 97 od 10^{-8} do 10^{-9} . Równolegle w ten sam sposób zakażano taką samą liczbę ptaków kontrolnych. Z krwi padłych zwierząt sporządzano preparaty mikroskopowe i barwiono je metodą Löfflera, a narządy wewnętrzne oraz krew wysiewano na agar z krwią.

Po 7 dniach od daty zakażenia określano, na podstawie upadków w grupie kontrolnej, dawkę śmiertelną danego szczepu (najwyższe rozcieńczenie zarazka powodujące śmierć 100% zwierząt). Porównując, w odpowiednich grupkach, upadki zwierząt uodpornianych w stosunku do zwierząt kontrolnych, określano jaką wartość ochronną posiadała badana szczepionka. Jeśli np. padły zwierzęta kontrolne w grupach zakażonych

zarazkiem rozcieńczonym od 10^{-8} do 10^{-7} , natomiast zwierzęta uodporniane — od 10^{-3} do 10^{-5} , to szczepionka chroniła zwierzęta przed zakażeniem 10 DLM zjadliwego szczepu *Past. multocida*. Pozostałe przy życiu zwierzęta po 7 dniach od zakażenia skrawiano i przeprowadzono sekcję. Krew i narządy wewnętrzne wysiewano na płytki z krwią oraz sporządzano preparaty mikroskopowe i barwiono je metodą Löfflera.

Przygotowanie szczepionki żywej. Szczep *Past. multocida* nr 20 hodowano na bulionie zwykłym, w temperaturze 37°C , przez 24 godziny. Jednorodność hodowli sprawdzano, sporządzając z niej preparaty mikroskopowe, barwione metodą Grama. Gęstość hodowli, określana metodą płytkową Kocha, wynosiła około 600 milionów bakterii w 1 ml.

Badanie wartości ochronnej szczepionki. Szczepionką uodporniano 14-tygodniowe kurczęta i dorosłe gęsi wg następującego układu prób:

1. Kurczęta dzielono na trzy grupy po 18 kurcząt. Zwierzęta otrzymywały szczepionkę podskórnie w dawkach: 0,25 ml, 0,5 ml i 1,0 ml. Gęsi dzielono na dwie grupy po 12 sztuk, stosując podskórnie u jednej z nich dawkę 0,5 ml, a u drugiej 1,0 ml szczepionki.

2. 18 kurcząt uodporniano podskórnie dawką 0,25 ml szczepionki, przechowywanej w temperaturze pokojowej przez okres 14 dni po jej przygotowaniu.

3. Grupie kurcząt w liczbie 18 podawano 24-godziną hodowlę szczepu nr 20 przez okres 4 dni w wodzie do picia (1 część szczepionki i 9 części wody).

Po upływie trzech tygodni po podaniu szczepionki zwierzęta zakażano zjadliwymi szczepami *Past. multocida*. Sposób zakażenia i dalsze postępowanie były analogiczne jak po uodpornianiu szczepionkami inaktywowanymi.

Wyniki przedstawione w tab. 2 dowodzą, że szczepionka żywa, zastosowana bezpośrednio po jej przygotowaniu u kurcząt w dawkach 0,25 ml, 0,5 ml lub 1,0 ml, a u gęsi w dawkach 0,5 lub 1,0 ml, uodporniła te ptaki na 100 — 1000 DLM trzech heterologicznych szczepów *Past. multocida*. Znaczną immunogenność wykazała również szczepionka użyta do uodporniania kurcząt po 14 dniach od daty jej przygotowania. Dawka 0,25 ml tego preparatu zapewniła bowiem doświadczalnym ptakom niewrażliwość na 100 DLM heterologicznego szczepu *Past. multocida*. Nie uzyskano natomiast — jak wynika z tab. 2 — pozytywnych efektów po podaniu kurczętom wymienionej szczepionki w wodzie do picia. Wszystkie ptaki doświadczalne okazały się bowiem tak samo wrażliwe na domięśniowe zakażenie zjadliwym szczepem *Past. multocida* jak kurczęta kontrolne.

Przedstawione wyniki badań własnych można, wydaje się, uznać za pomyślne i praktycznie ważne. Przemawiają one bowiem za tym, że i w warunkach krajowych istnieje możliwość uzyskania skutecznej szczepionki do czynnego uodporniania drobiu przeciwko pastere-lozie. Może to być zarówno szczepionka inaktywowana formaliną, szczepionka inaktywowana termicznie, a także szczepionka żywa. W ni-

Tab. 1. Badania wartości uodporniającej dla kurcząt i gęsi szczepionek *) inaktywowanych ze szczepu *Past. multocida* 97

Szczepionka	Zwierzęta uodporniane	Liczba zwierząt	Dawka szczepionki	Nr szczepu do zakażenia	Liczba DLM zarazka, na którą szczepionka uodpornia zwierzęta
Inaktywowana formaliną 0,2%	kurczęta	18	2 x 1 ml	3	10
	"	18	"	67	100
	"	18	"	97	100
Inaktywowana termicznie $70^{\circ}\text{C}/30\text{ min.}$	kurczęta	18	2 x 1 ml	3	100
	"	18	"	67	10
	"	18	"	97	100
Inaktywowana termicznie $70^{\circ}\text{C}/30\text{ min.}$	kury	18	2 x 1 ml	97	10
Inaktywowana termicznie $70^{\circ}\text{C}/30\text{ min.}$	gęsi	12	2 x 2,5 ml	97	1000

Objaśnienia: *) = gęstość szczepionek wynosiła 20 miliardów bakterii w 1 ml.

Wyniki i omówienie

Wyniki pracy zostały przedstawione w tab. 1 i 2. Dane zawarte w tab. 1 przemawiają za tym, że badane szczepionki, inaktywowane przy użyciu formaliny lub ogrzewane w temperaturze 70°C przez 30 minut, posiadają biologicznie wykrywalną u kurcząt i gęsi wartość uodporniającą. Oba rodzaje szczepionek podane kurczętom podskórnie, dwukrotnie w dawkach po 1 ml, zapewniły tym ptakom pełną odporność na 10 — 100 DLM wstrzykniętego domięśniowo szczepu homologicznego, a także wprowadzonych tą samą drogą dwu heterologicznych szczepów *Past. multocida*. Szczepionka inaktywowana termicznie, po zastosowaniu jej u dorosłych kur w dawce 2 razy po 1 ml, oraz u gęsi 2 razy po 2,5 ml, uodporniła pierwsze z tych ptaków na 10 DLM, a drugie na 1000 DLM homologicznego zarazka.

niejszej pracy nie stwierdzono istotnej różnicy w zakresie aktywności immunogennej między szczepionką formolową a szczepionką pozbawioną zjadliwości dla drobiu drogą ogrzania

Tab. 2. Badania wartości uodporniającej dla kurcząt i gęsi szczepionki żywej*) ze szczepu *Past. multocida* 20

Zwierzęta uodporniane	Dawka szczepionki	Liczba zwierząt	Nr szczepu do zakażenia	Liczba DLM zarazka, na którą szczepionka uodpornia zwierzęta
Kurczęta	1,0 ml	18	3	1000
	"	18	67	1000
	"	18	97	1000
Kurczęta	0,5 ml	18	3	1000
	"	18	67	1000
	"	18	97	1000
Kurczęta	0,25 ml	18	3	100
	"	18	67	1000
	"	18	97	1000
Kurczęta	0,25 ml**	18	97	100
Kurczęta	1:10***	18	97	0
Gęsi	1,0 ml	12	97	1000
Gęsi	0,5 ml	12	97	1000

Objaśnienia: * = gęstość szczepionki wynosiła około 600 milionów bakterii w 1 ml; ** = szczepionka użyta po 14 dniach od daty sporządzenia; *** = szczepionka podana w wodzie do picia.

jej do temperatury 70°C. Preparaty te wykazały zbliżoną wartość uodporniającą. Wyniki te różnią się od wyników osiągniętych przez Bhasina i Bibersteina (1), którzy porównując wartość uodporniającą dla drobiu przeciwpasterelozowych szczepionek formolowych i inaktywowanych termicznie, stwierdzili wyższą skuteczność tych ostatnich. Przyczyny powyższej niezgodności można się dopatrywać między innymi w tym, że wymienieni autorzy stosowali nieco inne parametry inaktywacji niż te, które przyjęto w pracy własnej. Nie jest również wykluczone, że pewien wpływ na różnice między wynikami Bhasina i Bibersteina oraz wynikami badań własnych miał odmienny sposób zakażenia ptaków, jak również fakt, że wymienieni autorzy przeprowadzali badania na indykach, a nie na kurczętach, jak to uczyniono w niniejszej pracy.

Stwierdzone w badaniach własnych negatywne wyniki, uzyskane przy domięśniowym zakażeniu ptaków uprzednio uodpornianych *per os* są zgodne z wynikami wykonanej ostatnio pracy Maheswarana i wsp. (11). Wymienieni autorzy wykazali, że doustne stosowanie żywej szczepionki przeciw pasterelozie drobiu powoduje u ptaków powstanie odporności miejscowej w zakresie narządu oddechowego. Chroni je ona jedynie przed zakażeniem drogą kontaktu. Nie stwierdzono natomiast odporności tych zwierząt na zachorowanie po domięśniowym podaniu zjadliwego zarazka.

Parenteralne podawanie żywej szczepionki przeciw pasterelozie drobiu jest wprawdzie bardziej pracochłonne, niż stosowanie tych preparatów w wodzie do picia, ale uzyskiwane przy tym wyniki są zachęcające. Przemawiają za tym badania autorów zagranicznych (10, 11), a także efekty osiągnięte w pracy własnej. Oprócz niewątpliwych zalet, szczepionki żywe posiadają też wady. Najważniejszą z nich jest niebezpieczeństwo powikłań poszczepiennych u uodpornianych ptaków. W badaniach nad zjadliwością, użytego do produkcji szczepionki, szczepu *Past. multocida* nr 20 stwierdzono, że kurczęta po dawce 0,25 ml szczepionki a gęsi po dawkach 0,5 i 1,0 ml, nie wykazywały żadnych objawów chorobowych. Jednak u około 10% kurcząt, które otrzymały 0,5 ml szczepionki wystąpiły przejściowe objawy częściowego porażenia kończyn. Natomiast po dawce 1,0 ml szczepionki obserwowano takie same zaburzenia u około 20% kurcząt. Powyższe skłania do ostrożności w ocenie perspektyw praktycznego użycia tego preparatu. Mimo to wydaje się, że w wyniku dalszych badań, dotyczących atenuacji szczepu oraz przy stosowaniu małych dawek szczepionki, będzie ona mogła być wykorzystana w praktyce, szczególnie u gęsi.

Wnioski

1. Szczepionka inaktywowana formaliną (0,2%) lub działaniem temperatury (70°C przez

30 minut), zastosowana u 14-tygodniowych kurcząt dwukrotnie w dawkach po 1,0 ml, zapewnia odporność na zakażenie 10—100 DLM szczepów *Past. multocida*.

2. Szczepionka inaktywowana termicznie (temp. 70°C przez 30 minut), zastosowana dwukrotnie u gęsi w dawkach po 2,5 ml, zapewnia odporność na zakażenie co najmniej 1000 DLM homologicznego szczepu *Past. multocida*.

3. Szczepionka żywa przeciw pasterelozie drobiu, zastosowana u 14-tygodniowych kurcząt w dawce 0,25 ml, zapewnia odporność na 100 do 1000 DLM zjadliwych szczepów *Past. multocida*. Gęsi uodporniane tą szczepionką w dawkach 0,5 i 1,0 ml są niewrażliwe na zakażenie 1000 DLM zjadliwego szczepu *Past. multocida*.

Piśmiennictwo

1. Bhasin J. L., Biberstein E. B.: Avian Dis. 12, 159, 1968.
2. Bierer B. W., Eleazer T. H.: Poult. Sci. 47, 1258, 1968.
3. Bierer B. W., Scott W. F.: Poult. Sci. 48, 520, 1969.
4. Bierer B. W., Derieux W. T.: Poult. Sci. 51, 408, 1972.
5. Gołębiowski S.: Medycyna Wet. 12, 707, 1961.
6. Heddleston K. L., Hall W. J.: Avian Dis. 2, 322, 1958.
7. Heddleston K. L., Reisinger R. C.: Avian Dis. 3, 397, 1959.
8. Heddleston K. L.: Avian Dis. 6, 315, 1962.
9. Heddleston K. L., Watko L. P.: Avian Dis. 9, 367, 1965.
10. Heddleston K. L., Gallagher J. E., Rebers P. A.: Avian Dis. 14, 626, 1970.
11. Maheswaran S. K., Mc Dowell I. R., Pomeroy B. S.: Avian Dis. 17, 396, 1973.
12. Samól S.: Medycyna Wet. 4, 204, 1960.
13. Tereszczukowa M.: Dysertacja doktorska, Puławy, 1974.
14. Tereszczuk S.: Medycyna Wet. 3, 156, 1965.

Adres autora: prof. dr Marian Truszczyński, ul. XX-lecia PRL 6 m. 18, 24-100 Puławy.

Трущинский М., Тэрэцукова М., Рутковска-Юрга И. — Предварительные исследования по активной иммунизации домашней птицы против пастереллеза.

Исследованиям подвергли экспериментальные вакцины против пастереллеза птиц: инактивированную термически (70° — 30 мин.), или формалином и живую приготовленную из штамма *Pasteurella multocida* обладающего минимальной вирулентией для домашней птицы. Установили, что обе инактивированные вакцины применяемые у цыплят (2 × 1 мл подкожно) вызывают у них иммунитет к 10—100 DLM вирулентных штаммов *Past. multocida*. Термовакцина впрыснутая гусям (2 × 2,5 мл) предохраняла их от экспериментального заражения минимум: 1000 DLM гомологического штамма *Past. multocida*. Живая вакцина впрыснутая 14 дневным цыплятам в дозе 0,25 мл иммунизировала их в отношении к 100—1000 DLM вирулентных штаммов *Past. multocida*. Гуси привитые живой вакциной (0,5 или 1 мл) оказались иммунными к минимум 1000 DLM вирулентного штамма *Past. multocida*. Результаты работы указывают на возможность приготовления вакцины против пастереллеза домашних птиц обладающей обнаруживаемой биологически иммунизирующей активностью.

Truszczyński M., Tereszczukowa M., Rutkowska-Jurga I. — Preliminary examination on the active immunization of poultry against pasteurellosis.

The purpose of the work was to prepare and examine the efficacy of the vaccine against pasteurellosis. The vaccine used was inactivated with formaldehyde or thermically, and alive one contained the strain displaying virulence in minimal degree to

poultry. It was found that the vaccine inactivated with formaldehyde or heat at 70°C for 30 minutes applied in chickens subcutaneously twice at the dose of 1 ml. caused an immunity state to 10–100 DLM of a virulent strain of *P. multocida*. The vaccine inactivated with heat given geese twice at the dose of 2.5 ml. protected them from infection at least 1000 DLM of homological strain of *P. multocida*. The

living vaccine applied in chickens aged 14 weeks at the dose of 0.25 ml. immunized them against 100–1000 DLM of a virulent strain of *P. multocida*. Geese immunized with this vaccine at the dose of 0.5 or 1 ml appeared to be resistant at least to 1000 DLM of a virulent strain of *P. multocida*. The findings indicate to the possibility to obtain the vaccine against pasteurellosis of determined immunological properties.

JANUSZ WAWRZKIEWICZ

Aktywność wybranych środków dezynfekcyjnych i ich kompozycji w stosunku do wirusa choroby pęcherzykowej świń

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

W ostatnich kilku latach zanotowano szereg enzootii choroby pęcherzykowej świń (SVD) na terenie wielu państw europejskich, co było bezpośrednią przyczyną dużego zainteresowania tą nową jednostką chorobową i samym czynnikiem etiologicznym. Wkrótce okazało się, że wirus ten należący do Picornawirus (4, 5) jest znacznie bardziej wytrzymały na czynniki fizyko-chemiczne w porównaniu do innych wirusów tej grupy. Szczególnie istotnym i ważnym dla praktyki jest wykazanie po jakim czasie i w jakich warunkach zarazek ulega inaktywacji w wyniku działania znanych środków dezynfekcyjnych. Przeprowadzone przez autora badania wstępne (6) nad oceną preparatów dezynfekcyjnych (stosowanych od dawna lub ostatnio wyprodukowanych przez przemysł krajowy) pod względem ich właściwości wirusobójczych wykazały, że spośród 13 różnych preparatów jedynie trzy działały silnie inaktywująco, tj. roztwory formaldehydu (w koncentracji nie niższej niż 0,92%), 3–5% roztwory chloraminy i Polleny — Jod K. Natomiast 1–2–3% roztwory ługu sodowego niszczyły wirus tylko częściowo i to dopiero w ciągu 30 minut. Pozostałe środki dezynfekcyjne niezależnie od użytych stężeń w ogóle nie wykazywały właściwości wirusobójczych, lub też ich aktywność była bardzo niska. Biorąc pod uwagę znane zjawisko, że szereg preparatów traci znacznie swą aktywność bakteriobójczą czy wirusobójczą w obecności substancji organicznych, szczególnie w niskiej temperaturze, przebadano działanie wybranych preparatów (silnie inaktywujących wirus SVD) oraz ich kompozycji na wirus zawarty w płynie Parkera (199) z dodatkiem 20% inaktywowanej surowicy cielęcej i zmieszany z kałem świni.

Materiał i metody

Wirus. Do badań użyto szczepu G wirusa SVD, wyizolowanego przez dr Wiśniewskiego ze Zduńskiej Woli i zaadoptowanego do hodowli komórek nerek świń oraz do linii stałej IB-RS-2 (1). Płyn Parkera z zakażonej hodowli IB-RS-2 wirusem SVD z dodatkiem 20% inaktywowanej surowicy mieszało z rozdrobnionym kałem świni w stosunku 2 : 1 (2 części zawiesiny wirusowej plus 1 część kału) i płyn z nad osadu wykorzystywano do badań jako źródło wirusa. Miano wirusa określano drogą 10-krotnego rozcieńczenia zawiesiny wirusowej, zakażenia 4 hodowli IB-RS-2 dawką 0,1 ml i obliczenia $TCID_{50}$. Każdy preparat badany na właściwości inaktywujące rozcieńczano wodą kranową i dodawano do zawiesiny wirusowej w tej samej objętości. Jedyne w przypadku oceny działania alkoholu zastosowano go w stosunku 1 : 10 (1 część wirusa plus 9 części alkoholu). Po określonym czasie ekspozycji proces unieczynniania przerywano przez rozcieńczenie preparatu inaktywującego buforem Tris-HCl o pH 7,6 i o sile jonowej 4. Z kolei wykonywano 10-krotne rozcieńczenia wirusa, stosując jako rozcieńczalnik płyn Parkera (199) z dodatkiem 1% inaktywowanej surowicy cielęcej.

W przypadku użycia do badań roztworów formaldehydu lub preparatów zawierających formaldehyd, zubożniano dodatkowo działanie formaliny ekwiwalentną ilością 10% $NaHSO_3$. W przypadku gdy pH zubożnianej zawiesiny było zbyt kwaśne, wówczas alkalizowano ją 2% roztworem ługu sodowego. Po 2 godzinach adsorpcji wirusa w 37°C hodowle komórek przemywano i przetrzymywano w płynie utrzymującym, tj. płynie Parkera (199) z dodatkiem 1–2% inaktywowanej surowicy cielęcej i antybiotyków (penicyliny 100 j/ml; streptomycyny 100 mcg/ml; amfoterycyny B 2 mcg/ml). Kontrolne hodowle komórek bez środka dezynfekcyjnego traktowano identycznie, a stopień inaktywacji wirusa obliczano w ten sposób, że od miana wirusa kontrolnego odejmowano miano wirusa inaktywowanego badanym preparatem. Ilość środka dezynfekcyjnego lub preparatu inaktywującego wyrażano w postaci jego stężenia końcowego w mieszaninie.

Wyniki

Stopień inaktywacji wirusa SVD w wyniku działania środków dezynfekcyjnych w temperaturze około