

PRAKTYKA LABORATORYJNA

MICHAŁ BARTOSZCZE, STANISŁAW PALEC

Puławy

Zastosowanie płynów odżywczych i surowicy w postaci liofilizatów do hodowli tkanek

Duże wahania w jakości różnych partii produkowanych płynów odżywczych do hodowli tkanek, na co zwracają uwagę Hayflick i wsp. (2), związane są między innymi ze stopniem czystości chemicznej składników, techniką ich przygotowywania, wahaniami pH itp.

Badania nad opracowaniem doskonalszych metod standaryzacji płynów odżywczych, eliminujących powyższe mankamenty podjęto już dawno (2), a ich efektem było wprowadzenie do produkcji przez niektóre firmy suchych preparatów-sproszkowanych (1, 3).

Wspomniane preparaty są jednak trudno dostępne w kraju, a ich przygotowanie do użycia jest dość kłopotliwe, m. in. w związku z koniecznością przeprowadzenia sterylizacji.

Powszechnie znane są w pracowniach wirusologicznych trudności z zapewnieniem ciągłej dostawy surowicy cielecej, której produkcja napotyka ostatnio na znaczne trudności. Próby jej zastąpienia innymi surowicami (np. końską) nie zawsze dają spodziewane rezultaty w pracach z hodowlami.

Do hodowli tkankowych można użyć dostępne na rynku krajowym gotowe płyny odżywcze (Earle'a, Eagle'a, Hanksa, Parkera) oraz płyny odżywcze skoncentrowane (Eagle'a, Hanksa, Parkera). Te ostatnie charakteryzują się znacznie dłuższym okresem ważności.

Biorąc pod uwagę przedstawione na wstępie aspekty oraz rozważając możliwość wykonania prób diagnostycznych w warunkach terenowych (autolaboratorium) przeprowadzono doświadczenia z zastosowaniem dla celów wirusologicznych jałowych koncentratów odżywczych oraz surowicy cielecej w postaci liofilizowanej.

Do badań użyto 10-krotnie skoncentrowane płyny Eagle'a 1959 i Parkera oraz surowicę cielecą produkcji Wytwórni Surowic i Szczepionek w Lublinie. Preparaty te w objętości po 5 ml na ampułkę poddawano liofilizacji, a otrzymane liofilizaty przechowywano w temperaturze 4°C przez okres 1 roku.

Płyn odżywczy wzrostowy sporządzano przez rozpuszczenie zawartości 1 ampułki w 50 ml wody redystrylowanej, zawierającej 10% liofilizowanej surowicy cielecej oraz antybiotyki. pH roztworu (7,2—7,4) regulowano przy użyciu 7,5% roztworu NaHCO₃.

Przydatność sporządzanych z liofilizatów płynów dla celów wirusologicznych oceniano biorąc pod uwagę:

- szybkość wzrostu komórek L (% pokrycia powierzchni hodowli w czasie obserwacji) po jednym pasażu;
- szybkość wzrostu komórek L w trakcie prowadzenia 20 pasażu;
- cechy morfologiczne pasażowanych komórek;
- wrażliwość pasażowanych hodowli na wirus VSV (TCID₅₀ wirusa);
- uzyskiwany zbiór wirusa VSV po zakażeniu hodowli.

Kontrolę stanowiły hodowle otrzymane przy użyciu płynów i surowicy stosowanych na bieżąco w pracowni oraz dodatkowo płynów odżywczych wzrostowych sporządzanych z wyjściowych koncentratów i surowicy (nie poddanych liofilizacji i przechowywanych w temperaturze 4°C).

Badania wykazały, że liofilizowany płyn Eagle'a oraz liofilizowana surowica cieleca, przechowywane przez okres 1 roku, wykazują pełną przydatność do otrzymywania jednowarstwowych hodowli komórek L oraz prowadzenie 20 pasażu komórek tej linii. Komórki hodowli nie wykazywały przy tym żadnych widocznych zmian cech morfologicznych w porównaniu do hodowli wzorcowych. Użycie liofilizowanego płynu Eagle'a i surowicy cielecej nie miało wpływu na stopień wrażliwości hodowli na zakażenie wirusem VSV i uzyskiwany zbiór wirusa.

Liofilizowany płyn Parkera oceniany według tych samych kryteriów wykazywał w okresie 9 miesięcy przechowywania właściwości analogiczne do płynu Parkera, stosowanego na bieżąco w pracowni. Po tym okresie wartość jego pod względem szybkości wzrostu komórek hodowli uległa znacznemu obniżeniu.

W świetle otrzymanych wyników zastosowanie płynów odżywczych i surowicy w postaci liofilizatów daje następujące korzyści:

- umożliwia otrzymanie jednolitej partii płynów do hodowli tkanek;
- wpływa na przedłużenie trwałości preparatów;
- upraszcza, w porównaniu z metodą konwencjonalną, technikę przygotowywania płynu do użycia; eliminuje konieczność przeprowadzenia sterylizacji, skracając czas niezbędny do rozpuszczenia preparatu;
- ułatwia przechowywanie preparatów (mała objętość liofilizatów);
- umożliwia stosowanie preparatów w warunkach terenowych (łatwe przechowywanie, długi termin ważności, sterylność, łatwe przygotowanie do użycia);
- ułatwia transport;
- uniezależnia pracownię na wypadek zakłóceń w ciągłej dostawie płynów odżywczych oraz surowicy.

Piśmiennictwo

1. BBL Manual of Products and Laboratory Procedures, 5, 55, 1968.
 2. Haufflick L., Jacobs P., Perkins F.: Nature. 204, 146, 1964.
 3. Serva Feinbiochemica GMBH & CO — ulotka informacyjna.
- Adres autora: dr Michał Bartoszcze, ul. Krańcowa 1/19, 24-100 Puławy.

PEDERSON K. B.: Porównanie serologii Bordatella bronchiseptica izolowanej od świń oraz szczepów izolowanych od innych gatunków zwierząt. (The serology of Bordatella bronchiseptica isolated from pigs compared with strains from other animal species). Acta pathol. microbiol. scand. B, 83, 590—594, 1975 (6).

W oparciu o odczyn aglutynacji z surowicami pełnymi i surowicami adsorbowanymi przebadano skład antygenowy szczepów Bordatella bronchiseptica izolowanych od prosiąt i królików. Badania oparto o określanie antygenów ciepłostalnych O i ciepłochwiejnych K. Wszystkie szczepy izolowane od prosiąt zawierały wspólny antygen O1, różniły się natomiast 3 dodatkowymi ciepłostalymi antygenami. Zawierały one również w swoim składzie słaby ciepłochwiejny antygen K1. U królików występował ten sam serotyp, który stwierdzono u prosiąt oraz serotyp O1, 3K1, 3, 4 zaś u kotów serotyp O, 1, 3K1, 3.

G.