

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZYGMUNT CYGAN

Beztlenowe „maczugowce” *Propionibacterium* jako immunostymulatory i czynniki przeciwnowotworowe

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Poszukiwania różnych biologicznych aktywatorów układu odpornościowego są prowadzone już od dawna. Ostatnio badania takie podejmuje się w związku z chorobami nowotworowymi, uznawanymi przez niektórych badaczy za defekty w nadzorze immunologicznym spowodowane niedoczynnością limfocytów i makrofagów (40, 45). W rezultacie prac wykonanych w latach 1954—1960 stwierdzono właściwości immunostymulacyjne u prątków BCG (7), *Myc. graminis* (11), *Bordetella pertussis* (32) i *Salm. typhi* (8). Później tj. w latach 1963—1964 Prevot i Tran Van Phi (42) oraz Halpern i wsp. (24), a w 1972 r. Raynaud i wsp. (44) wykazali, że również beztlenowy maczugowiec *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) jest bardzo silnym stymulatorem układu siateczkowo-śródbłonkowego (RE). Z kolei w 1973 r. Adlam i Scott (3) oraz Wilkinson i wsp. (56), a w 1974 r. Milas i wsp. (37) dowiedli, że powyższe cechy immunostymulacyjne posiadają wszystkie beztlenowe „maczugowce” rodzaju *Propionibacterium*, a mianowicie *P. acnes*, *P. granulosum*, *P. avidum* i *P. lymphophilum*. Natomiast tlenowe maczugowce są pod tym względem mało aktywne (3, 39).

Powszechnie uważa się beztlenowe „maczugowce” za najsilniejsze bakteryjne stymulatory układu RE oraz bardzo aktywne adjuwanty (22, 24, 28, 38, 44, 48, 49, 50, 55, 56). Ponadto jak wykazano wywierają one też potężne działanie przeciwnowotworowe (2, 13, 14, 16, 19, 20, 23, 33, 43, 51, 57, 58), przeciwbakteryjne (2, 16), a także indukują nadwrażliwość typu późnego na różne antygeny (38) i histaminę (1, 3). Przedstawienie tej problematyki, dotychczas nie omawianej w piśmiennictwie krajowym, jest celem niniejszego artykułu.

Stymulacja układu RE

Wprowadzenie dożylnie *P. acnes* myszom, w jednorazowej dawce 2,4 mg, wywołuje po 10—14 dniach znaczny wzrost ciężaru śledziony i wątroby, a w mniejszym stopniu płuc i węzłów chłonnych (3). Jednocześnie stwierdza się przy tym wyraźne zmniejszenie wagi grasicy (13). Przeprowadzone badania histologiczne wyjaśniły, że wzrost ciężaru tych narządów zależał od proliferacji makrofagów. W pewnych przypadkach proliferujące makrofagi niszczyły ko-

mórki mięsne u myszy. Powodowało to u tych zwierząt utratę zdolności detoksykowania wprowadzanego nembutolu. Natomiast spadek ciężaru grasicy wiązał się zawsze z obniżeniem bezwzględnej liczby limfocytów T. Działanie supresyjne „maczugowców” *Propionibacterium* na limfocyty T wyrażało się w przedłużeniu przeżywalności przeszczepów skóry u zwierząt otrzymujących te bakterie (13). Wiadomo bowiem, że odrzucenie przeszczepu jest procesem immunizacyjnym, w którym ważną rolę spełniają limfocyty T.

Beztlenowe „maczugowce” *Propionibacterium*, oprócz wykazywanego wpływu stymulującego proliferację makrofagów, wzmagają także ich aktywność fagocytarną. W przypadku tych bakterii Halpern i wsp. (24) stwierdzili wzrost indeksu fagocytarnego (if) o 770—950%. Natomiast porównawczo szczep BCG podwyższał if o 500% (24). Podobne wyniki uzyskali Raynaud i wsp. (44) wykazując, że indeks if w przypadku *P. acnes* i *P. granulosum* jest 2—3 krotnie wyższy niż dla szczepu BCG.

Ogólny czas trwania wywołanego pobudzenia fagocytarnego jest podobny u beztlenowych „maczugowców” oraz prątków BCG i w przybliżeniu wynosi 40—50 dni. Na podkreślenie przy tym zasługuje, że „maczugowce” wykazują odnośne cechy immunostymulacyjne nawet w stanie zabitym (60°C — 1 godz. i 1% formaldehydu), podczas gdy bakterie szczepu BCG są aktywne tylko przy zachowaniu pełnej żywotności.

Pośród innych niebakteryjnych stymulatorów fagocytozy, dekstran podwyższał if o 70% (9), a zymosan nawet o 330%, ale czas trwania pobudzenia makrofagów był krótki i zwykle nie przekraczał 4—5 dni.

Wzbudzana przez beztlenowe „maczugowce” aktywność fagocytarna makrofagów koreluje ze zdolnością tych bakterii do produkowania czynnika chemotaktycznego. Czynniki takie zostały zidentyfikowane w 1973 r. przez Wilkinsona i wsp. (56) w hodowlach pałeczek *P. acnes*, *P. granulosum* i *P. avidum*. Natomiast tzw. „szczerpy klasyczne” *Propionibacterium* nie posiadają tych właściwości.

Omawiany czynnik cechuje specyficzna chemotaksja jedynie w stosunku do makrofagów z wysięku otrzewnowego świnek morskich i my-

szy. Natomiast jest całkowicie nieaktywny wobec neutrofili z krwi człowieka i z wysięku otrzewnowego od świnek morskich. Jak wykazano przedstawia on substancję wysokocząsteczkową, stabilną w ciągu 30 min. w temp. 56°C, a niszczoną w 100°C. Jego aktywność jest niezależna od surowicy. Pod tym względem różni się od czynnika wykazanego przez Symona i wsp. (52) u szczepu BCG oddziałującego przez aktywowanie dopełniacza lub niektórych enzymów plazmy.

Aktywność adjuwancyjna i przeciwbakteryjna

Ogólnie przyjmuje się, że działanie adjuwantów polega na stymulacji i zmianie odpowiedzi immunologicznej organizmu na podany antygen. Beztlenowce „maczugowce” bardzo silnie wzmacniają reakcję odpornościową na antygeny grasiczo-zależne (3, 31, 38, 41, 55) i grasiczo-niezależne (28, 31, 55). Jako antygeny grasiczo-zależne najczęściej badano erytrocyty owcze (EO) i albuminę surowicy (12, 31, 38, 40), a jako antygeny grasiczo-niezależne wielocukier pneumokoków typu III-WPIII (28, 31, 55).

Wykazano, że *P. acnes* w zależności od czasu jego podania myszom, a także od dawki użytego antygeny tj. erytrocytów owczych (EO) lub haptenu wielocukrowego pneumokoków typu III (WPIII), może wzmacniać lub obniżać odpowiedź immunologiczną. Warr i Sljivic (55) stwierdzili, że *P. acnes* podany na 4 dni przed wprowadzeniem antygeny EO i na 1 dzień po wprowadzeniu EO (w dawce 10⁶ komórek) działał depresyjnie na komórki śledziony tworzące przeciwciała tzw. „Plaque — Forming — Cell” (PFC). Natomiast przy większej dawce EO wynoszącej 10⁸ komórek, drobnoustrój ten (w okresie 7 dni przed i 1 dzień po wprowadzeniu EO) stymulował powstawanie PFC w śledzionie. Howard i wsp. (28) donieśli, że grasiczo-niezależny haptenu WPIII wzmacniał reakcję tworzenia PFC w śledzionie myszy, którym 4 dni wcześniej wprowadzano zabite komórki *P. acnes* w dawce 1 mg. Należy podkreślić, że w tych warunkach uzyskiwano silniejszą odpowiedź immunologiczną tylko przy dawce wielocukru 2—50 µg. Natomiast dawki WPIII 0,1—0,5 µg nie powodowały tego efektu.

P. acnes wydaje się być aktywniejszym adjuwantem niż szczep BCG w stymulowaniu odpowiedzi immunologicznej na antygen EO. Z badań Raynauda i wsp. (44) wynika, że miano hemaglutynacyjne w przypadku stosowania *P. acnes* wzrastało po 3 tyg. do 1/1280 i po 35 dniach wynosiło jeszcze 1/320, podczas gdy użycie BCG powodowało w tym czasie podwyższenie miana do 1/320.

Mechanizm aktywacji przez *P. acnes* limfocytów B, wyrażany wzrostem reaktywności immunologicznej na antygen grasiczo-niezależny WPIII jest niejasny. Unanue i wsp. (54) dowiedli przy niektórych adjuwantach ważnej roli makrofagów. Askonas i Jarskova (4) podali,

że pewne adjuwanty labilizując błony komórkowe makrofagów powodują wzrost koncentracji antygeny na ich powierzchni, co stymuluje limfocyty B i T. W odniesieniu do beztlenowców *P. acnes* uważa się, że drobnoustroje te aktywują makrofagi i limfocyty B, a hamują limfocyty T (13, 24, 29, 48). Zauważono przy tym, że silne pobudzenie makrofagów może powodować wtórną inhibicję limfocytów B (18).

Działanie przeciwbakteryjne i uczulające

Beztlenowce „maczugowce” stymulując układ siateczkowo-śródbłonkowy wywołują u myszy wzrost niewrażliwości na infekcje bakteryjne (2, 16). Collins i Scott (16) wykazali, że podanie dożylnie myszom 700 µg zabitych komórek *P. acnes* wyraźnie hamuje rozwój wprowadzonych pałeczek *Salm. enteritidis* w dawce „challenge” wynoszącej 10⁴ komórek. Według tych badań wskaźnik zahamowania rozwoju salmonel dla myszy poddanych działaniu *P. acnes* wyniósł 99%, a dla myszy kontrolnych 80%. Natomiast myszy, pierwotnie zakażone bakteriami *Salm. enteritidis*, zareagowały na wprowadzony antygen tych beztlenowców — wzmożeniem procesu infekcyjnego. Powyższe wyniki Collins i Scott (16) tłumaczą stymulacją układu makrofagów, oraz supresją komórek limfocytów T.

Podobnie jak inne bakteryjne immunostymulatory pałeczki *Propionibacterium* wywołują nadwrażliwość histaminową (1, 3). Ważną rolę w tej reakcji przypisuje się uwalnianym enzymom lizosomalnym. Zgodnie z Adlamem i Scottem (3) najwyższą efektywność uczulająca występuje na 7 dzień po podaniu beztlenowych „maczugowców”. Komórki tych drobnoustrojów ogrzewane w 80°C przez 30 min. nadal zachowują powyższą aktywność. Również alkalizacja zawiesiny komórek *P. acnes* do pH 11,1 nie znosi tych właściwości uczulających, a zakwaszenie do pH 1,6 tylko częściowo je osłabia.

Aktywność przeciwnowotworowa

Poczynione w 1966 r. przez Halperna i wsp. (23) obserwacje, że beztlenowce *P. acnes* posiadają właściwość indukowania u myszy silnej odporności przeciwko mięsakowi J Betza wywołały wyjątkowo duże zainteresowanie badaczy tym drobnoustrojem. W wyniku przeprowadzonych badań okazało się, że podobną aktywność przeciwnowotworową posiadają szczepy różnych gatunków tzw. „maczugowców” z rodzaju *Propionibacterium* (22, 37). Dowiedziono, że odnośne drobnoustroje stymulują odporność skierowaną przeciwko różnym co do etiologii przeszczepialnym nowotworom jak np. rak Levisa (46), rak Ehrlicha w formie wysiękowej i guzowatej (14, 23), mięsaki (47), włókniako-mięsaki (17, 37, 50) oraz gruczolako-raki (34, 43) w przeszczepach allogenicznym (35) i syngenicznym (3, 37, 46, 53). Ponadto stwier-

dzono, że beztlenowce *Propionibacterium* wywołują hamowanie wzrostu nowotworów powstałych zarówno pierwotnie jak i wtórnie w następstwie ich przerzutów (23, 37, 46). Na podkreślenie zasługuje, że indukowana odporność nie jest znoszona przez naświetlenie dawką 200—400 radów dla myszy (37).

Ogólnie przyjmuje się, że działanie przeciwnowotworowe beztlenowych „maczugowców” wiąże się przed wszystkim z bardzo silną stymulacją makrofagów z równoczesnym pobudzeniem ich podstawowych funkcji cytotoksycznych i fagocytarnych (15, 21). Powyższe działanie najsilniej zaznacza się przy niskich dawkach komórek nowotworowych ($3,5 \times 10^3$), a uzyskana niewrażliwość trwa 25—50 dni (14). Towarzyszy temu na ogół silna depresja swoistej odporności komórkowej.

Tymektomia i splenektomia nie zmniejszają wpływu ochronnego wzbudzonej przez te drobnoustroje odporności. Tymektomia przy podaniu *P. acnes* myszom zakażonych mięsakiem (po wprowadzeniu metylocholantrenu) tylko nieznacznie obniża przeżywalność tych zwierząt tj. do 84% w okresie 40 dniowej obserwacji (14). W tym czasie myszy kontrolne (nie poddane tymektomii) przeżywały w 100%. Castro (14) tłumaczy to faktem, że niektóre populacje komórek grasicy (żyjących ponad 3 tyg.) są niezbędne dla wywołania immunostymulacyjnego efektu odnośnych beztlenowców.

Zastosowanie surowicy antylimfocytarnej (SA), u zakażonych mięsakiem myszy, nie hamuje wywołanej przez *P. acnes* aktywności przeciwnowotworowej. Wskaźnik przeżywalności tych myszy przy podaniu SA i *P. acnes* wynosił po 40 dniach 83% i po 50 dniach 75%, a myszy nieuodpornianych tym drobnoustrojem odpowiednio 8% i 0% (14). Przedstawione powyżej wyniki dowodzą, że indukowana odporność nie koreluje z aktywnością limfocytów.

Przeprowadzone w oparciu o analizę ściany komórkowej próby wyjaśnienia związku pomiędzy strukturą immunochemiczną pałeczek *Propionibacterium*, a ich funkcją immunostymulacyjną, pozwoliły ustalić szereg zupełnie nowych faktów (5, 6, 47). Jak wykazano, w ścianie komórkowej występują przede wszystkim cukry (glukoza, galaktoza i mannoza), mukopeptyd (alanina, kwas glutaminowy, α , ϵ kwas dwuaminopimelinowy, glicyna, kwas muraminowy i glukozamina w stosunkach molarnych 4 : 2 : 2 : 2 : 1 : 1) oraz kwasy tłuszczowe (izo — C_{15} , n — C_{15} , n — C_{16} , izo — C_{17} , n — C_{17} i n — C_{18}). Głównym kwasem tłuszczowym stwierdzanym u wszystkich gatunków *Propionibacterium* jest kwas izo-pentadekanowy (izo — C_{15}), a u *P. acnes* dodatkowo — kwas palmitynowy (n — C_{16}). Ściany komórkowe beztlenowych „maczugowców” w dawce 100 mcg posiadają właściwości wzbudzania mitogenezy komórek T i B oraz komórek śledziony traktowanych surowicą anty T (6). Azuma i wsp. (6) wiążą właściwości mitogenne tych drobnoustrojów z działaniem

całej frakcji mukopeptydowej. Natomiast przypuszczalną podjednostkę molekularną, odpowiadającą za aktywność jako adjuwantu, ma stanowić N-actylo-muramyl-dwupeptyd.

Kończąc ogólne omawianie właściwości „maczugowców” *Propionibacterium* jako immunostymulatorów należy też wspomnieć o zachęcających próbach wykorzystania tych bakterii, łącznie z cystotatykami, w terapii przeszczepialnych nowotworów zwierzęcych (17, 20). W świetle tych badań bardzo ciekawie zapowiadają się próby praktycznej implikacji tych drobnoustrojów przy immunoterapii nowotworów człowieka (27, 30, 36). Ponadto niezwykle interesujące wyniki dały ostatnio przeprowadzone badania w Japonii, wykazujące stałe występowanie beztlenowców *Propionibacterium* w szpiku kostnym zdrowych ludzi i zanikanie przy raku żołądka (25, 26). W związku z powyższym powstaje przypuszczenie, że beztlenowe „maczugowce” mogą spełniać w organizmie rolę naturalnych immunostymulatorów przeciwnowotworowych.

Piśmiennictwo

1. Adlam C.: J. med. Microbiol. 6, 527, 1973.
2. Adlam C., Broughton C. E., Scott M. T.: Nature, Lond. (New Biol.) 235, 219, 1972.
3. Adlam C., Scott M. T.: J. med. Microbiol. 6, 261, 1973.
4. Askonas B. A., Jaroskova L.: Developmental Aspects of Antibody Formation and Structure, Acad. Press, New York 1970.
5. Azuma I., Sugimura K., Taniyama T., Aldin A. A., Yamamura Y.: Jap. J. Microbiol. 19, 265, 1975.
6. Azuma I., Taniyama T., Sugimura K., Aldin A. A., Yamamura Y.: Jap. J. Microbiol. 20, 263, 1976.
7. Benacerraf B., Sebastyen M.: Fedn. Proc. 16, 860, 1957.
8. Biozzi G., Benacerraf B., Grumbach F., Halpern B. N., Lenzetti J., Rist N.: Annls Inst. Pasteur, Paryż 87, 281, 1954.
9. Biozzi G., Benacerraf B., Halpern B. N.: Br. J. exp. Path. 36, 226, 1955.
10. Biozzi G., Halpern B. N., Benacerraf B., Stiffel C., Mouton D.: C. r. Seanc. Soc. Biol., Paryż 150, 317, 1956.
11. Biozzi G., Stiffel C., Halpern B. N., Mouton D.: Rev. franc. etud. Clin. Biol. 5, 876, 1960.
12. Biozzi G., Stiffel C., Mouton D., Bouthillier Y., Decreusefond C.: Immunology 14, 7, 1968.
13. Castro J. E.: Europ. J. Cancer 10, 115, 1974.
14. Castro J. E.: Europ. J. Cancer 10, 121, 1974.
15. Christie G. H., Bomford R.: Cell. Immunol. 17, 141, 1975.
16. Collins F. M., Scott M. T.: Infect. Immun. 9, 863, 1974.
17. Currie G. A., Bagshaw K. D.: Br. med. J. 1, 541, 1970.
18. Dreser D. W.: Europ. J. Immun. 2, 50, 1972.
19. Fisher J. C., Grace W. R., Mannick J. A.: Cancer, Philad. 26, 1379, 1970.
20. Fisher B., Wolmark N.: Cancer Res. 36, 2241, 1976.
21. Ghaffar A., Cullen R. T., Woodruff M. F. A.: Cancer 31, 15, 1975.
22. Giambianco V., Armani G., Falcone G.: Annali Sclavo 8, 821, 1966.
23. Halpern B. N., Biozzi G., Stiffel C., Mouton D.: Nature, Lond. 212, 853, 1966.
24. Halpern B. N., Prevot A. R., Biozzi G., Stiffel C., Mouton D., Morard J. C., Bouthillier Y., Decreusefond C.: J. Reticuloendothel. Soc. 1, 77, 1964.
25. Hattori T., Mori A.: Gann 64, 7, 1973.
26. Hattori T., Mori A.: Gann 64, 15, 1973.
27. Hirschaut Y., Pinsky C. M., Wanebo H. J., Oettingen H. F.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 277, 252, 1976.
28. Howard J. G., Christie G. H., Scott M. T.: Cell. Immunol.
29. Howard J. G., Scott M. T., Christie G. H.: Immunopotential, Associated Scientific Publishers, Amsterdam 1973.
30. James K., Clunie G. J. A., Woodruff M. F. A., McBride W. H., Stimson W. H., Drew R., Catty D.: Br. J. Cancer 32, 31, 1974.
31. James K., Ghaffar A., Milne I.: Br. J. Cancer 29, 11, 1974.
32. Kind L. S.: J. Immun. 82, 32, 1959.
33. Leikhtite V.: J. natl. Cancer Inst. 55, 985, 1976.
34. Leikhtite V., Halpern B.: Cancer Res. 34, 341, 1974.
35. McIntosh I. H., Thyne G. S., Bejrati P., Greening W. P.: Lancet 9, 803, 1976.
36. Mantovani A., Tagliabene A., Vecchi A., Spreafico F.: Europ. J. Cancer 12, 113, 1976.
37. Milas L., Hunter N., Withers H. R.: Cancer Res. 34, 613, 1974.
38. Neveu T., Branellec A., Biopzi G.: Annls Inst. Pasteur, Paryż 106, 771, 1964.

39. O'Neill G. J., Henderson D. C., White R. G.: Immunology 24, 977, 1973.
40. Pike M. C., Snyderman R.: J. Immun. 117, 1243, 1976.
41. Pinecard R. N., Weir D. M., McBride W. H.: Clin. exp. Immunol. 2, 343, 1967.
42. Prevot A. R., Tran Van Phi J.: C. r. hebdom. Seanc. Acad. Sci. 258, 461, 1964.
43. Purnell D. M., Otterstrom J. R., Bartlett G. L., Kreider J. W.: J. natn. Cancer Inst. 56, 1171, 1976.
44. Raynaud M., Kouznetsova B., Bizzini B., Chermann J. C.: Annis Inst. Pasteur, Paryż 122, 695, 1972.
45. Remacle — Bonnet M. M., Pommier G. J., Kaplanski S., Rance R. J., Depieds R. C.: J. Immun. 117, 1145, 1976.
46. Sadler T. E., Castro J. E.: Br. J. Cancer 34, 291, 1976.
47. Satoh Y., Eda J., Nagoya T., Yoshimura Y., Yamaguchi M., Kobayashi T.: Jap. J. Microbiol. 20, 17, 1976.
48. Scott M. T.: Cell. Immunol. 5, 459, 1972.
49. Scott M. T.: Cell. Immunol. 5, 469, 1972.
50. Scott M. T., Bomford R.: J. natn. Cancer Inst. 57, 555, 1976.
51. Smith S. E., Scott M. J.: Br. J. Cancer 26, 361, 1972.
52. Symon D. N. K., McKay I. C., Wilkinson P. C.: Immunology 22, 267, 1972.
53. Tuttle R. L., North R. J.: J. natn. Cancer Inst. 53, 1403, 1975.
54. Unanue E. R., Askonas B. A., Allison A. C.: J. Immun. 103, 71, 1969.
55. Warr G. W., Sljivic V. S.: Clin. exp. Immun. 17, 519, 1974.
56. Wilkinson P. C., O'Neill G. J., Wapshaw K. G.: Immunology 24, 997, 1973.
57. Woodruff M. F. A., Boak J. L.: Br. J. Cancer 20, 345, 1966.
58. Yuhás J. M., Ulrich R. L.: Cancer Res. 36, 161, 1976.

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

KRZYSZTOF J. WOJCIECHOWSKI, TADEUSZ KUBIŃSKI

Mikrometoda zahamowania hemaglutynacji (HI) w przeglądowych badaniach serologicznych bydła w kierunku wirusów: parainfluenzy 3 i REO

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Warszawie

Wprowadzenie na szerszą skalę przeglądowych badań serologicznych w diagnostyce wirusologicznej wymaga zastosowania tanich i szybkich testów. Do takich należą między innymi próby hemaglutynacyjne wykonywane uprzednio wystandaryzowanymi mikrometodami. Jest to szczególnie istotne w diagnostyce laboratoryjnej złożonego etiologicznie „zespołu oddechowego” bydła (6).

Celem pracy było sprawdzenie możliwości przeglądowego badania surowic mikrometodą zahamowania hemaglutynacji w kierunku wirusów: parainfluenzy 3 i REO z zastosowaniem dostępnych zestawów i reagentów.

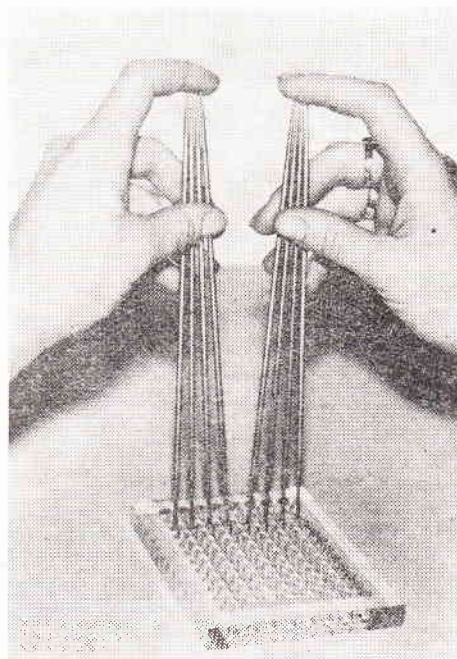
Materiał i metody

Surowice (ogółem 612 prób) od klinicznie zdrowego młodego bydła hodowlanego pobrane losowo z 16 gospodarstw na terenie województw: stołecznego-warszawskiego, ciechanowskiego, ostrołęckiego i siedleckiego w miesiącach listopad — kwiecień. Niezhemolizowane surowice przechowywano w zamrożeniu w temp. -40° . Surowica kontrolna dodatnia — biwalentna surowica cielęca p-w wirusom PI3 i IBR z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wyd. Wet. SGGW-AR; surowica kontrolna ujemna — od zdrowych cieląt ze stada LPH (Limited Pathogen Herd) z Centralnego Laboratorium Weterynaryjnego w Weybridge — Wlk. Brytania. Wirusy: liofilizowane szczepy wirusa PI3 — Izwar (z Inst. Ch. Zak. Inw. Wyd. Wet. SGGW-AR) oraz SF4, T1 i szczepy wirusa REO1 z CLW — Weybridge. Do absorpcji nieswoistych inhibitorów przy antygenie REO stosowano Arcton 113 (Cl_3-CF_3) prod. ICI, Mond Div. Runcorn Cheshire, Anglia, do absorpcji surowic — 25% kaolin. Krwinki konserwowano w płynie Alseversa, jako rozcieńczalnika używano płynu dekstrozo-żelatynowo-weronalowego — DGV (3). Do badań z wirusem PI3 stosowano 1,0% krwinki świnek morskich, z wirusem REO krwinki ludzkie — grupy „0” pochodzących od różnych dawców.

Badania prowadzono w zestawach do mikrometody Takátsego (wariant U) o 96 basenach pojemności ca

0,2 ml z mikromieszalnikami do przenoszenia płynu przy sporządzaniu rozcieńczeń o poj. 0,025 ml (prod. Labor Mim, Laboratórium Felszerélesek Gyára, Budapeszt, Węgry). Ponadto stosowano: strzykawki automatyczne, próbówki Durhama i pleksiglasowe płyty (wzór WHO) do badań serologicznych zawierające po 80 basenów o pojemności ca 1,5 ml. Przygotowywanie antygenów: szczepy wirusowe namnażano w dwóch kolejnych pasażach na hodowlach pierwotnych komórek embrionalnej nerki cielęcej. W przypadku wirusa REO1 zbiór wirusa uzyskany po dezintegracji hodowli był traktowany arctonem wg metody opisanej przez Chapmana (4) i odwirowany.

Przygotowywanie surowic: surowice do prób inaktywowano w próbówkach Durhama (56° — 30 min.).



Ryc. 1. Wykonywanie rozcieńczeń w mikrometodzie HI

Fot. J. Holly