

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. Satno 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.

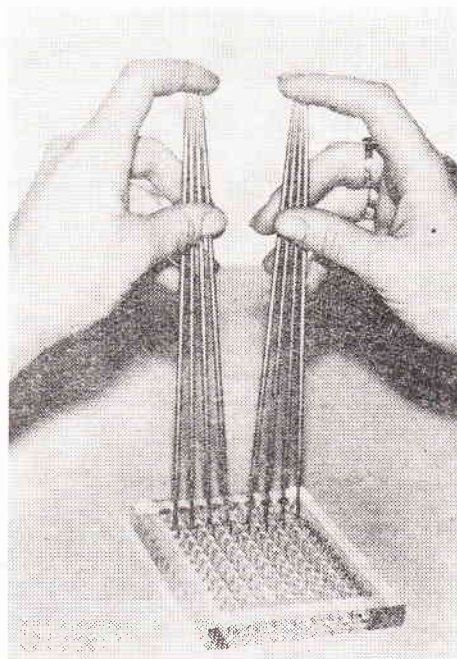
Materiał i metody

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 — bivalentna 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 ludzkich — 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

Absorpcję nieswoistych inhibitorów 25% kaolinem prowadzono wg Antoniadis (2). Izoaglutyniny usuwano przez całkowitą absorpcję z 1,0% krwinkami, w temp. +4°.

Próbę HI wykonano wg przyjętych zasad w układzie „mikro” używanym do badań o charakterze przeglądowym dla wirusów PI3 i REO (1, 5). Oznaczanie mian HA przeprowadzono w płytach WHO na dzień przed właściwą próbą HI. Hemaglutyniny stosowano w objętości 4 jedn. HA. Sposób wykonywania rozcieńczeń mikromieszalnikami przedstawiono na zdjęciu (ryc. 1).

Płytki inkubowano w temperaturze pokojowej. Wyniki odczytywano w godzinę po dodaniu krwinek. Za wiążące dla oceny uważano 100% zahamowanie hemaglutynacji.

Miana ujemne w próbie HI (0—1:2) wykazano przy wirusie PI3 dla 24% surowic, wirusie REO1 dla 5%. Miana niskie (1:4—1:32) otrzymano przy wirusie PI3 dla 63% surowic, wirusie REO1 — 76%. Miana średnie i wysokie (ponad 1:64) przy wirusie PI3 uzyskano dla 13% surowic, przy wirusie REO1 dla 19%.

Wyniki w mikrometodzie były zgodne z równoległe prowadzonymi kontrolami na płytach WHO. Uzyskano powtarzalność wyników.

Opisana mikrometoda w zastosowaniu do badań serologicznych zasługuje na wprowadzenie w krajowej diagnostyce laboratoryjnej. Prze-

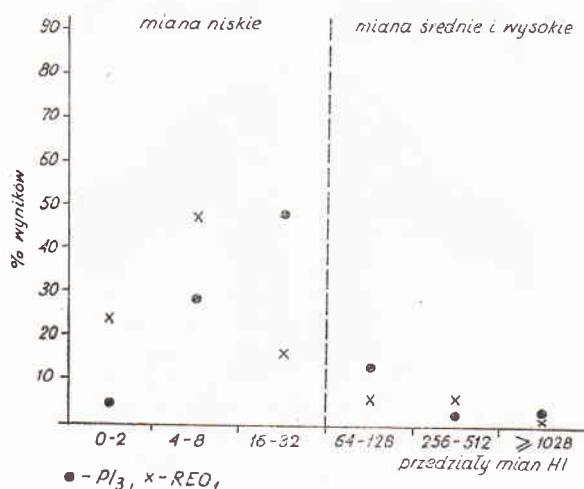
Tab. 1. Porównanie zużycia materiałów dla przeprowadzania prób hemaglutynacyjnych (HA i HI) w układach „makro” i „mikro”

Rodzaj testu	Szkło lub inny materiał stanowiący ramy dla wykonywanego testu	Objętość poszczególnych komponent w próbie (ml)	Użycie pipet	Współczynnik zużycia materiałów
Probówkowy	Probówki serologiczne	0,25	tak	100
Płytkowy	Płyty serologiczne z pleksiglasu zalecane przez WHO	0,2	tak	80
Mikrometoda	Zestaw Takátsy'ego (płyty pleksiglasowe i inne wyposażenie)	0,050 0,025	nie	20 10
Mikrometoda	Płyty z nietoksycznego tworzywa szt. — do jednorazowego użytku („disposables”)	0,050 0,025	nie	20 10

Wyniki i omówienie

W przypadku wirusa REO1 zbiór z hodowli komórkowej nadawał się do próby jedynie po absorpcji z arctonem. Uzyskiwane w ten sposób miana rzędu 1:32 umożliwiały nastawienie próby HI z 4 jednostkami HA.

Rezultaty wykonanego przeglądu serologicznego przedstawiono w ryc. 2.



Ryc. 2. Procent wyników dodatnich mian HI surowic bydła ocenianych wobec antygenów PI3 i REO1 (612 surowic z 16 gospodarstw)

mawia za tym znacznie niższe zużycie reagentów, szkła, oraz koszty robocizny. Porównawcze zestawienie zużycia materiałów dla przeprowadzenia prób hemaglutynacyjnych w układzie „mikro” i „makro” zawarto w tab. 1.

Przy opanowaniu metody średnia wydajność pracownika laboratoryjnego w sensie możliwości wykonania prób HI mikrometodą wynosiłaby: 250—300 badań, przy zastosowaniu zaś importowanych rozlewarek i urządzeń do równoczesnego sporządzania rozcieńczeń mogłaby dochodzić do 1000—1500 prób dziennie. Pozwoliłoby to na znaczne rozszerzenie zakresu terenowych, wirusologicznych badań serologicznych.

Piśmiennictwo

1. Ackerman E.: Über das Vorkommen Hämagglutinations-Hemmender Antikörper gegen die Reovirus-Serotypen 1,2 und in Seren von Hae- und Wildtieren aus verschiedenen Gebieten Tanzanias. Praca doktorska. München 1974.
2. Antoniadis G.: Zentbl. Bakt. Parasitkde I. 214, 186, 1970.
3. Casals J.: Immunological Techniques for Animal Viruses. In Methods in Virology, t. III, Academic Press, New York — London, 1972.
4. Champman M. S.: The haemagglutinins of the reovirus family. Praca doktorska. London University, 1970.
5. Chapman M. S.: The examination of bovine sera for antibodies inhibiting haemagglutination by reovirus types 1 and 2 and parainfluenza type 3 antigens using microvolumes. Virology Department, Central Veterinary Laboratory, Weybridge, 1971.
6. Phillip J. I. H., Darbyshire J. H.: Adv. vet. Sci. comp. Med. 15, 15, 1971.

Adres autora: doc. dr habil. Krzysztof J. Wojciechowski, ul. Lechicka 21, 02-156 Warszawa.

Войцеховский К., Кубинский Т. — Микрометод заторможения гемагглютинации (HI) в сборных серологических исследованиях крупного рогатого скота относительно вирусов параинфлюэнцы 3 и REO.

Микрометод HI был использован для серологического осмотра крупного рогатого скота, не обнаруживающего симптомов т. наз. „дыхательного синдрома — бронхопневмонии” (612 проб из 16 хозяйств).

Титры HI выше 1:64 относительно вируса PI-3 получили для 13% сывороток, относительно вируса REO1 — для 19%. Низшие титры (1:32) нашли у 63% сывороток для PI3 и 76% — для REO1.

Рекомендуется использование стандартизованного микротеста HI для местных серологических осмотров.

Wojciechowski K. J., Kubiński T. — The micromethod of haemagglutination inhibition test for the serological surveys of cattle against parainfluenza-3 and REO viruses.

The micromethod of HI was applied for the serological survey of cattle showing no signs of respiratory diseases - bronchopneumonia complex (612 samples from 16 farms). HI titers over 64 were stated in 13 per cent and 19 per cent for PI-3 and REO-1 viruse respectively. The lower titers (32) were found in 63 per cent of sera for PI-3 and in 76 per cent for REO-1 viruses. The application of the standardized microtest for field serological survey was recommended.

JAN BUCZEK

Klasyfikacja i nomenklatura wirusów zwierząt kręgowych

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Opublikowany przez Fennera w 1976 r. (1) raport Międzynarodowego Komitetu Taksonomii Wirusów (International Committee on Taxonomy of Viruses — ICTV), jest następnym etapem prac nad stworzeniem systematyki tej grupy mikroorganizmów. Raport utrzymuje w mocy dotychczasowe założenia systematyki zaakceptowane na Międzynarodowych Kongresach w Moskwie (1966) i Meksyku (1970), a jednocześnie podaje nowe propozycje, które stają się obowiązującymi dla wszystkich wirusologów.

Ponieważ podstawy systematyki opracowane przez Międzynarodowy Komitet Nomenklatury Wirusów były omawiane (2, 3, 4, 5, 6, 7), w niniejszej publikacji podano aktualnie obowiązujący układ taksonomiczny wirusów zwierząt kręgowych, opracowany przez ICTV i zaaprobowany przez Międzynarodowy Zjazd Mikrobiologów w Madrycie w 1975 r.

W zaproponowanej systematyce utworzono, biorąc (zgodnie z wolą większości) za podstawę rodzaj żywiciela, pięć grup taksonomicznych obejmujących: rodziny, podrodziny, rodzaje, gatunki, grupy i poszczególne wirusy.

A. Grupa taksonomiczna — gatunków, które namnażają się u więcej niż jednego z rodzajów żywicieli wymienionych od B do E.

B. Grupa taksonomiczna — gatunków, które namnażają się tylko u zwierząt kręgowych.

C. Grupa taksonomiczna — gatunków namnażających się tylko u roślin.

D. Grupa taksonomiczna — gatunków namnażających się tylko u bakterii.

E. Grupa taksonomiczna — gatunków namnażających się tylko u bezkręgowców.

W poszczególnych grupach, rodziny uszeregowano wg rodzaju kwasu nukleinowego (DNA, RNA) ilości nici (podwójna, pojedyncza) zgodnie z kryptogramem D/2, D/1, R/2, R/1, a następnie wg alfabetu.

W grupie A wyodrębniono 8 rodzin o następujących kryptogramach:

Iridoviridae — D/2:130—160/12—16:S lub Se/S:I,V/C, I, O, Ve/Ac)

Poxviridae — (D/2:130—240/5—7,5:X/*:I,V/O,R,Ve/Ac, Di,Si)

Parvoviridae — (D/1:1,5—2,2/19—32:S/S:I,V/C,I,O,R)

Reoviridae — (R/2:Σ12—Σ19/15—30:S lub So/S:I,S, V/I,O,Ve/Ac,Au,Di)

Bunyaviridae — (R/1:Σ6—Σ7/*:Se/E:I,V/C,Ve/Ac,Di)

Picornaviridae — (R/1:2,3—2,8/30:S/S:I,V/I,O,R)

Rhabdoviridae — (R/1:3,5—4,6/2—3:Ue/E:I,S,V/C,O, Ve/Ap,Au,Di)

Togaviridae — (R/1:3,5—4,5/5—8:Se/S:I,V/C,I,O,R, Ve/Ac/Di).

Rodzina *Iridoviridae* — (Iris, Iridis grecka bogini z symbolem tęczy — zakażone larwy owadów i odwirowane viriony świecą barwami tęczy).

Rodzaj *Iridovirus* — grupa wirusów choroby tęczy owadów licząca 19 typów. Do rodziny tej zostanie prawdopodobnie zaklasyfikowanych szereg wirusów chorobotwórczych dla zwierząt — domniemanym przedstawicielem jest np. wirus afrykańskiego pomoru świń, wirus limfocystozy ryb.

Rodzina *Poxviridae* — (nazwa od staroangielskiego słowa poc, poec — krosta; wrzód), obejmuje wirusy grupy ospy. W rodzinie tej wyodrębniono następujące rodzaje:

Rodzaj *Orthopoxvirus* — (nazwa od orthos grec. — prosty, poprawny), obejmuje podgrupę krowianki. Typowym gatunkiem jest wirus krowianki. Inne gatunki to: wirus ospy bawołów, wirus ospy wielbłądów, wirus ospy krów, wirus ospy myszy (ektromelii), wirus ospy małp, wirus ospy królików i wirus ospy człowieka.

Rodzaj *Avipoxvirus* — (nazwa od avis łac. — ptak), obejmuje podgrupę ospy ptaków. Typowym gatunkiem jest wirus ospy drobiu. Inne gatunki to: wirus ospy kanarków, wirus ospy Junco, wirus ospy przepiórek, wirus ospy wróbli, wirus ospy szpaków i wirus ospy indyków.

Rodzaj *Capripoxvirus* — (nazwa od caper, capri łac. — koza), obejmuje podgrupę wirusów ospy owiec. Typowym gatunkiem jest wirus ospy owiec; inne gatunki to: wirus ospy kóz, wirus guzowatej choroby skóry.