

25. Haber F., Weiss J.: Proc. R. Soc. Ser. A. A 147, 332, 1934.
 26. Hanke M. E., Bailey J. H.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 59, 163, 1945.
 27. Hanke M. E., Katz Y. J.: Archs Biochem. Biophys. 2, 183, 1943.
 28. Heikkilä R. E., Cohen G.: Science 161, 456, 1973.
 29. Hentges D. J., Maier B. R.: Am. J. clin. Nutr. 25, 1299, 1972.
 30. Hodgson E. K., Fridovich I.: Biochem., Easton 13, 3811, 1974.
 31. Hungate R. E.: Bact. Rev. 14, 1, 1950.
 32. Hungate R. E.: A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. (In) *Methods in Microbiology* 39, 117, 1969, ed. Norris J. R., Ribbons D. W., Academic Press, London, New York.
 33. Jones C. W., Brice J. M., Wright V., Ackrell B. A. C.: FEBS Letters 29, 77, 1973.
 34. Keele B. B., McCord J. M., Fridovich I.: J. biol. Chem. 245, 6176, 1970.
 35. Knaysi G., Dutky S. R.: J. Bact. 31, 137, 1936.
 36. Knight B. C. J. G., Fildes P.: Biochem. J. 24, 1496, 1930.
 37. Loesche W. J.: Appl. Microbiol. 18, 723, 1969.
 38. Marklund S., Marklund G.: Europ. J. Biochem. 47, 469, 1974.
 39. Massey V., Strickland S., Mayhew S. G., Howell L. G., Engel P. C., Matthews R. G., Schuman M., Sullivan P. A.: Biochem. biophys. Res. Commun. 36, 891, 1969.
 40. Mayeda E. A., Bard A. J.: J. Am. chem. Soc. 96, 4023, 1974.
 41. McCord J. M., Fridovich I.: Fedn Proc. 28, 346, 1969.
 42. McCord J. M., Fridovich I.: J. biol. Chem. 243, 5735, 1968.
 43. McCord J. M., Fridovich I.: J. biol. Chem. 244, 6049, 1969.
 44. McCord J. M., Fridovich I.: J. biol. Chem. 245, 1374, 1970.
 45. McCord J. M., Keele B. B., Fridovich I.: Proc. natn. Acad. Sci. USA 68, 1024, 1971.
 46. McLeod J. W., Gordon J.: J. Path. Bact. 26, 326, 1923.
 47. Misra H. P.: J. biol. Chem. 249, 2151, 1974.
 48. Misra H. P., Fridovich I.: J. biol. Chem. 243, 3170, 1972.
 49. Misra H. P., Fridovich I.: J. biol. Chem. 247, 188, 1972.
 50. Moore W. E. C., Cato E. P., Holdeman L. V.: J. infect. Dis. 119, 641, 1969.
 51. Morris J. G.: J. appl. Bact. 40, 229, 1976.
 52. O'Brien R. W., Morris J. G.: J. gen. Microbiol. 68, 307, 1971.
 53. Onderdonk A. B., Johnston J., Mayhew J. W., Gorbach S. L.: Appl. Environ. Microbiol. 31, 168, 1976.
 54. Orme-Johnson W. H., Beinert H.: Biochem. biophys. Res. Commun. 36, 905, 1969.
 55. Paschen W., Weser U.: Biochim. biophys. Acta 327, 217, 1973.
 56. Proom H., Woitwod A. J., Barnes M., Orbell W. G.: J. gen. Microbiol. 4, 270, 1950.
 57. Rizza V., Sinclair P. R., White D. C., Cuorant P. R.: J. Bact. 96, 665, 1968.
 58. Rywosch D., Rywosch M.: cyt. wg poz. 45.
 59. Salin M. L., McCord J. M.: J. clin. Invest. 54, 1005, 1974.
 60. Schonbaum G. R., Chance B.: Catalase. (In) *The Enzymes* 13, 363, 1976, ed. Boyer P., Academic Press, New York.
 61. Schwartz A. C.: Z. allg. Mikrobiol. 13, 681, 1973.
 62. Schwartz A. C.: Z. allg. Mikrobiol. 15, 465, 1975.
 63. Smith L. D.S.: Les bacteries anaerobies. Ed. Fredette V., Montreal 1967.
 64. Smith L. D.S.: Mem. Inst. Oswaldo Cruz 71, 323, 1973.
 65. Smith L. D.S.: The pathogenic anaerobic bacteria. Ed. Thomas Ch. C., USA 1975.
 66. Smith P. H., Hungate R. E.: J. Bact. 75, 713, 1958.
 67. Sonnawirth A. C.: Am. J. clin. Nutr. 25, 1295, 1972.
 68. Sperry J. F., Wilkins T. D.: J. Bact. 125, 905, 1976.
 69. Tabatabai L. B., Walker H. W.: Appl. Microbiol. 20, 441, 1970.
 70. Twigg R. S.: Nature, Lond. 31, 401, 1945.
 71. Vries W., Wijck-Keptijn W. M. C., Stouthamer A. H.: J. gen. Microbiol. 71, 515, 1972.
 72. White D. C., Bryant M. P., Caldwell D. R.: J. Bact. 84, 822, 1960.
 73. Willis A. T.: Methods in Microbiology 3B, 79, 1969. Ed. Norris J. R., Ribbons D. W., Academic Press, London.
 74. Yousten A. A., Johnson J. L., Salin M.: J. Bact. 123, 242, 1975.

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

JACEK ROSZKOWSKI, JAN ZADURA, WOJCIECH KOZACZYŃSKI,
 MICHAŁ BARTOSZCZE, STANISŁAW KARPIŃSKI

Zastosowanie metody immunoenzymatycznej w laboratoryjnej diagnostyce zakaźnego zapalenia żołądka i jelit świń (TGE)

Z Zakładu Anatomii Patologicznej i Zakładu Badania Chorób Świń
 Instytutu Weterynarii w Puławach
 Z Ośrodka Naukowo-Badawczego Służby Weterynaryjnej w Puławach

Technika immunofluorescencyjna stanowi obecnie podstawową metodę wykrywania wirusa zakaźnego zapalenia żołądka i jelit u świń (TGE). Metoda ta posiada jednak pewne wady, które ograniczają stosowanie jej w badaniach diagnostycznych. Wprowadzenie w ostatnich latach enzymów do znakowania przeciwciał pozwoliło na znaczne zmniejszenie, a nawet wyeliminowanie ograniczeń występujących w technice immunofluorescencyjnej. Głównymi zaletami metod immunoenzymatycznych są: trwałość otrzymanywanych preparatów, możliwość oglądania ich w mikroskopie świetlnym, stosunkowo silna reakcja barwna i co najważniejsze duża swoistość i czułość. Zasady metody oraz przykłady zastosowania jej w badaniach wirusologicznych zostały przedstawione w opracowaniu Bartoszcze i Roszkowskiego (2).

Niniejsze doniesienie dotyczy próby wykorzystania techniki immunoenzymatycznej do wykrywania wirusa TGE w hodowli komórkowej.

Materiał i metody

W badaniach posługiwano się hodowlą komórek linii ciągłej nerki świni (IBRS-2) zakażoną zawiesiną wirusa TGE, szczep *Purdue*. Zawiesinę, o mianie wyjściowym 10^6 TCID₅₀, stosowano w rozcieńczeniu 1:10 i w ilości stanowiącej 10% płynu utrzymującego hodowlę.

Swoistą surowicę otrzymano od świń hiperimmunizowanych szczepionką przeciw TGE. Z surowicy wytrącano frakcję gammaglobulinową, którą następnie sprzęgano z peroksydazą wg metody Avrameasa (1). Antygen wirusowy wykrywano w 18, 24 i 35 godzinie po zakażeniu. Do wykrywania antygeny zastosowano metodę bezpośrednią podaną przez Roszkowskiego i wsp. (4).

Wyniki i omówienie

W hodowlach badanych w 18 godzinie po zakażeniu stwierdzono obecność ognisk zawierających zaokrąglone komórki, w cytoplazmie których występował ciemnobrązowy, dyfuzyjny strąk, wskazujący na obecność w tych miejscach antygeny wirusowej. Szczególnie intensywnie

wybarwiała się cytoplazma znajdująca się w sąsiedztwie jądra. Natężenie reakcji barwnej wykazywało także zróżnicowanie w obrębie poszczególnych komórek. Najsilniej zabarwione były komórki z miejsc o wyraźnym efekcie cytopatycznym.

W późniejszych stadiach zakażenia, a więc po 24 i 36 godzinach, liczba komórek wybarwiających się na brązowo znacznie wzrosła. Komórki te wypełniały prawie cały preparat, leżąc luźno lub skupiając się w większe lub mniejsze konglomeraty.

Swoistość reakcji barwnej potwierdzona została w badaniu hodowli nie zakażonej, która wykazywała jedynie jasnobrązowe zabarwienie tła, spotykane zwykle przy tego rodzaju barwieniu histochemicznym.

Uzyskane wyniki, zarówno co do rozmieszczenia antygeny wirusowego w komórce, jak i dynamiki rozwoju zakażenia w hodowli komórkowej, były podobne do obserwacji Beckera i wsp. (3) którzy wykrywali wirus TGE metodą immunoenzymatyczną w hodowli tarczycy świni.

Piśmiennictwo

1. Avrameas S.: *Immunochemistry* 6, 43, 1969.
2. Bartoszcze M., Roszkowski J.: *Medycyna Wet.* 31, 635, 1975.
3. Becker W., Teufel P., Mielde W.: *Zentbl. VetMed.* 21, 59, 1974.
4. Roszkowski J., Bartoszcze M., Zadura J., Świątek Z.: *Vet. Rec.* 102, 462, 1978.

Adres autora: dr Jacek Roszkowski, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.

Розшковский Я., Задура Я., Козачинский В., Бартоще М., Карпинский С. — **Применение иммуноэнзиматического метода в лабораторной диагностике**

не инфекционного воспаления желудка и кишок свиней (TGE).

Провели исследования по применению иммуноэнзиматического метода для обнаруживания вируса TGE в клеточной культуре. В исследованиях использовали культуру клеток сплошной линии почки свиньи (IBRS-2), инфицированной вирусом TGE, штамм Purdue. Специфическую сыворотку получили от свиней, гипериммунизированных вакциной против TGE. Из сыворотки осаждали гамма-глобулиновую фракцию, меченую затем хреновой пероксидазой. Показали, что во всех инфицированных вирусом культурах появлялись клетки, положительно реагирующие на пероксидазу. Продукт цветной реакции в виде темно-коричневого диффузионного осадка присутствовал в цитоплазме, что свидетельствовало о появлении в ней вирусного антигена. Сверх того заметили, что число положительно реагирующих клеток росло с углублением цитопатического эффекта.

Roszkowski J., Zadura J., Kozaczyński W., Bartoszcze M., Karpiński S. — **The use of immunoenzymatic technique in the laboratory diagnostics of TGE in pigs.**

The examinations were carried out on continuous pig kidney cell line (IBRS 2) infected with TGE virus strain Purdue. Specific antiserum was obtained from pigs hyperimmunized with the vaccine against TGE. The gamma-globulin fraction of antiserum was labelled with horse-redish peroxidase. It was found that in all infected tissue cultures one could observe cells reacting positively against peroxidase. The product of the colour reaction in the form of dark-brown precipitate was present in the cytoplasm confirming the occurrence of viral antigen in the cells. Along with the progressive process of cytopathic effect there increased the number of positively reacting cells.

MATSUMOTO M., MC Kercher P. D., Nusbaum K. E.: Odpowiedź immunologiczna przeciwciał wydzielnicznych u krów zakażonych wirusem przyszczy. (Secretary antibody responses in cattle infested with Foot-and-Mouth disease virus). *Amer. J. vet. Res.* 39, 1081—1078, 1978 (7).

W oparciu o metodę immunodyfuzji radialnej oraz odczyn seroneutralizacji na myszkach prześledzono odpowiedź humoralną u jałówek zakażonych 10 000 ID₅₀ wirusa przyszczy. Jałowki zakażone jednorazowo lub dwukrotnie w odstępie 160 dni (zakażenie śródjęzykowe i donosowe). Po zakażeniu typem O₁ wirusa w surowicy pojawiły się swoiste przeciwciała w wysokim mianie. Przeciwciała w ślinie występowały po 30 dniach po zakażeniu. Osiągały one maksymalne miano 90 dnia po zakażeniu. Niewielkie ilości przeciwciał występowały w ślinie po 6 miesiącach po zakażeniu. Przeciwciał nie stwierdzono natomiast w popłuczynie z jamy gardzielowej. W wydzielinie jamy nosowej i ślinie przeważały immunoglobuliny klasy SIgA. Stosunek SIgA do IgG wynosił w wydzielinie jamy nosowej 6,6, w ślinie 20,7.

G

WATSON A. D. J., MIDDLETON D. J.: Zatrucie kotów chloramfenikolem. (Chloramphenicol toxicosis in cats). *Amer. J. vet. Res.* 39, 1199—1203, 1978 (7).

Badania przeprowadzone na 6 kotach SPF, które otrzymały chloramfenikol doustnie w dawce dziennej 120 mg/kg przez okres 14 dni, oraz 5 kotów które otrzymywały doustnie chloramfenikol w dawce 60 mg/kg wagi ciała przez 21 dni. Na czoło objawów klinicznych zatrucia wysuwała się depresja ośrodko-

wego układu nerwowego, utrata łaknienia, spadek wagi ciała, wymioty i sporadycznie występujące biegunki. Duże dawki antybiotyku prowadziły do zniknięcia szpiku kostnego, zahamowania dojrzewania komórek erytroidalnych, wakuolizacji limfocytów, młodych komórek myeloidalnych i erytroidalnych. Po 2 tygodniach stosowania antybiotyku we krwi obwodowej występowała neutropenia, limfopenia, retikulocytopenia i spadek liczby płytek krwi.

G.

HAMDY A. H.: Działanie lecznicze różnych stężeń linkomycyny stosowanej w wodzie do picia w przypadkach doświadczalnej dysenterii u prosiąt. (Therapeutic effects of various concentrations of lincosamycin in drinking water on experimentally transmitted swine dysentery). *Amer. J. vet. Res.* 39, 1175—1180, 1978 (7).

Efektywność terapeutyczną różnych dawek linkomycyny podawanej z wodą do picia w leczeniu dysenterii prosiąt przebadano na 232 prosiątach w wieku 8 i 12 tygodni które zakażono doustnie 20% zawiesiną mesocolon uzyskaną od prosiąt chorych na dysenterię. Linkomycynę stosowano w dawkach 132, 66, 33, 16,5 mg/l wody. Leczenie rozpoczynano 7—10 dnia po zakażeniu i kontynuowano przez 6—10 dni.

Zarówno po zakażeniu doustnym jak i zakażeniu kontaktowym rozwijała się choroba. Linkomycyna we wszystkich badanych stężeniach przyczyniła się do likwidacji choroby. Najlepsze efekty uzyskiwano jednakże po dawce 33 mg/l wody pitnej.

G.