

służbą leśną i rolną. Z praktycznego jednak punktu widzenia ewentualne przypadki wtargnięcia lisów do osiedli uważane będą w dalszym ciągu za wskaźnik podejrzenia zwierząt o zachorowanie. Akcja uodporniania lisów nie wyklucza zatem traktowania tych zwierząt w dalszym ciągu jako potencjalnych nosicieli wirusa wścieklizny w środowisku.

Z powyższego wynika, iż pomimo stosowania od wielu lat właściwego postępowania profilaktycznego i sanitarno-weterynaryjnego, wścieklizna stanowi w dalszym ciągu poważny problem epizootologiczny, epidemiologiczny i ekonomiczny. Od okresu powojennego problem wścieklizny jest przedmiotem okresowo organizowanych międzynarodowych konferencji lub konsultacji naukowych oraz liczy-

nych publikacji wydawanych periodycznie w formie raportów lub biuletynów przez Światową Organizację Zdrowia w Genewie. Publikacje te informują o aktualnej sytuacji epizootycznej wścieklizny w świecie oraz o najnowszych wynikach badań, zmierzających do udoskonalenia metod diagnostyki, profilaktyki i zwalczania wścieklizny, ze szczególnym uwzględnieniem zwierząt wolno żyjących. W zakresie tych badań obserwuje się znaczny postęp techniczny i organizacyjny, dzięki aktywnemu zaangażowaniu się równocześnie rabiologów z całego świata do prac badawczych, ukierunkowywanych przez ekspertów ds. wścieklizny, działających przy Światowej Organizacji Zdrowia w Genewie.

Adres autora: prof. dr hab. Zbigniew Baczyński, ul. Krajszewskiego 10, 24-100 Puławy.

KRYSTYNA WAWRZKIEWICZ, JANUSZ WIERCIŃSKI*, GRAŻYNA ZIÓLKOWSKA

Inhibicyjne działanie *Candida pseudotropicalis* na wzrost *Trichophyton verrucosum*

Institut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin
* Centralne Laboratorium Aparaturowe AR, ul. Akademicka 13, 20-934 Lublin

Antagonizm występujący między niektórymi bakteriami lub bakteriami i pleśniami zaobserwowano już pod koniec XIX wieku, ale dopiero wieloletnie badania Fleminga wykazały, że zjawisko to wiąże się bezpośrednio z wydzielanymi do podłoża substancjami antybiotycznymi.

Podobny fenomen hamowania wzrostu dermatofitów przez grzyb *Candida albicans* opisali Dostrowsky i wsp. (5), Nickerson i wsp. (11), Heidenblauth (7), a ostatnio King i wsp. (8). Jednakże w tym przypadku inhibicja nie wydawała się być wynikiem działania biologicznie czynnej substancji produkowanej przez drożdżak. Supresję, zdaniem Kinga, wywoływał dwutlenek węgla, wytwarzany przez *C. albicans* podczas fermentacji cukru.

Zagadnienie to nie zostało jednak do końca wyjaśnione, ponieważ podobne zjawisko hamowania wzrostu uzyskano zastępując dwutlenek węgla innymi gazami, m.in. helem oraz metanem (8). Poza tym mało prawdopodobne wydawało się, aby dwutlenek węgla działał bezpośrednio na dermatofity w tak drastyczny sposób. Wiadomo np., że *T. mentagrophytes* jest mikroaerofilem (6) i dobrze rośnie *in vitro* przy zwiększonym stężeniu CO₂, a odpowiednią jego na tak zmienione warunki środowiska jest jedynie artrosporulacja (3, 6, 8). Również *in vivo* dermatofity mają kontakt ze znacznym stężeniem CO₂ emitowanym przez skórę, zwłaszcza uszkodzoną podczas infekcji (9).

Nawiązując do badań Kinga i wsp. (8), a zwłaszcza do jego uwagi, że inhibicyjne działanie *C. albicans* dotyczy nie tylko *T. mentagrophytes*, ale również innych dermatofitów, takich jak: *T. rubrum*, *M. canis*, *M. gypseum* i *E. floccosum*, interesujące wydawało się sprawdzenie:

- czy efekt ten zachodzi również w stosunku do zoofilnego grzyba *T. verrucosum*,
- czy inhibicyjne działanie wywiera tylko *C. albicans*,
- jak na hamowanie wzrostu oprócz CO₂ wpływa skład podłoża, na którym rośnie *T. verrucosum*.

Materiał i metody

Szczepy. Do badań wstępnych wykorzystano następujące szczepy dermatofitów: *Trichophyton verrucosum* nr 208, nr 44 i nr 41 oraz *Trichophyton mentagrophytes* nr 16, przy czym szczepy nr 41 i nr 6 świeżo izolowano z przypadku grzybicy bydła. Równocześnie zastosowano 9 szczepów rodzaju *Candida*: *Candida albicans* nr 303 i nr 306 wyizolowane z moczu pacjentów z infekcją dróg moczowych oraz *Candida albicans* A, *C. pseudotropicalis*, *C. tropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. krusei*, *C. quilliermondii* i *C. parapsilosis*, pochodzące z kolekcji szczepów Katedry Mikologii Akademii Medycznej w Poznaniu. We wszystkich przeprowadzonych doświadczeniach używano stałego inokulum badanych szczepów o gęstości odpowiadającej 6 wg skali McFarlanda. W wyniku wstępnych prób do zasadniczych badań wytypowano szczepy *T. verrucosum* nr 43 i *C. pseudotropicalis* nr 2223.

Podłoża. W pracy zastosowano następujące podłoża:

- stałe podłoże Sabourauda z dodatkiem 4%, 3%, 2%, 0,5% i 0,1% glukozy,
- stałe podłoże Sabourauda, w którym 4% glukozy zastąpiono analogiczną ilością maltozy, laktozy, galaktozy, sacharozy i mannitolu,
- stałe podłoże Sabourauda bez dodatku cukru,
- płynne podłoże Sabourauda z dodatkiem 4% glukozy.

Węglowodany dodawane do podłoża jałowiono droga filtracji przez sączek Seitza.

Inhibycyjny efekt drożdżaków. Hamujący wpływ drożdżaków na wzrost dermatofitów określano dwoma różnymi metodami.

W metodzie pierwszej obydwa badane drobnoustroje hodowano równocześnie na tej samej płytce z podłożem odżywczym. Zawieszinę dermatofita wysiewano w ilości 0,2 ml metodą dwuwarstwową (12) na podłoże Sabourauda. Następnie na podsuszonych lekko podłożach w odległości około 1 cm od brzegów płytki odciskano rowek, który napełniano 0,2 ml zawiesziny badanego drożdżaka. Tak posiane płytki inkubowano w temp. 37°C przez okres trzech dni. Kontrolę stanowiły podłoża, na których badane szczepy grzybów hodowano oddzielnie.

W metodzie drugiej hodowlę grzybów prowadzono w eksykatorze w ściśle wystandaryzowanych warunkach. W górnej części aparatu umieszczano płytki z dermatofitem (posiew metodą dwuwarstwową), w dolnej zaś, w odległości około 8 cm, pożywki zasiane badanym drożdżakiem (posiew metodą tradycyjną). Otwarte płytki ustawiano naprzeciw siebie zasianymi powierzchniami i inkubowano w 37°C przez okres 3 dni. Wielkości inokulumu pozostały te same jak w poprzedniej metodzie. Równoległe jako kontrole prowadzono hodowlę ww. rodzajów grzybów w normalnych warunkach tlenowych.

Oznaczenie CO₂. Wytwarzanie CO₂ przez badane szczepy grzybów drożdżopodobnych określano pośrednio przez zmianę pH podłoża oraz metodą bezpośredniego pomiaru ilości wydzielanego gazu.

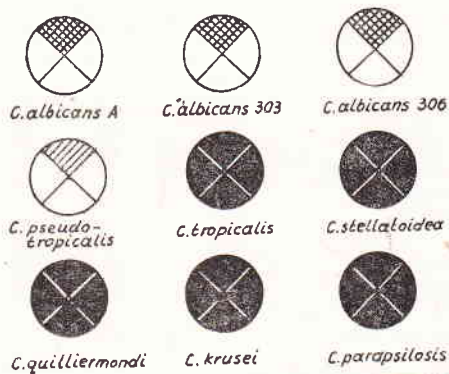
W metodzie pośredniej stałe inokulum grzyba wysiewano na 15 ml płynnego podłoża Sabourauda o wyjściowym pH=6,0. Wartość pH hodowli podczas wzrostu grzybów określano przy pomocy pehametru.

Bezpośrednio ilość wytworzonego CO₂ określano przy pomocy zestawu (ryc. 1) umożliwiającego jego absorpcję w wodorotlenku baru. Zawieszinę badanego drożdżaka w ilości 0,7 ml wlewano do stożkowej kolby, zawierającej 50 ml płynnego podłoża Sabourauda z dodatkiem 4% badanego cukru. Zamykano kran (1), a odbieralnik (5) napełniano 100 cm³ 0,32 M

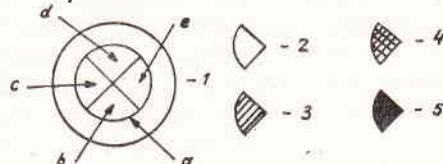
(nasycony) klarownego roztworu Ba(OH)₂. Zestaw szczelnie łączono rurką (4), otwierano kran odbieralnika (2) i umieszczano w cieplarni w 37°C na okres 24 godz. Po zakończonej inkubacji pozostałości CO₂ w atmosferze kolby z hodowlą grzyba wypierano do odbieralnika przez powolne wkraplanie wody (rurką z kranem 1) do całkowitego wypełnienia kolby. Wytrącony w odbieralniku BaCO₃ odwirowywano, a 25 cm³ wymieszanego nadsącza miareczkowano przy pomocy 0,1 n HCl. Na podstawie ilości zużytego kwasu obliczano zawartość związanego wodorotlenku baru, a stąd ilość wydzielonego dwutlenku węgla.

Wyniki i omówienie

W badaniach wstępnych dotyczących inhiacyjnego działania drożdżaków na wzrost dermatofitów zastosowano z jednej strony 9 różnych szczepów rodzaju *Candida*, z drugiej zaś trzy szczepy *T. verrucosum* oraz dla porównania jeden szczep *T. mentagrophytes*. Drobnoustroje wysiewano równocześnie na stałe podłoże Sabourauda z dodatkiem 4% glukozy, przy czym badania powtarzano 4-krotnie w różnym okresie czasu. Stwierdzono, że drożdżaki działają supresyjnie na wzrost dermatofitów, przy czym efekt ten zależy od gatunku *Candida* (ryc. 2).



Objaśnienia:



Ryc. 2. Oddziaływanie szczepów rodzaju *Candida* na wzrost dermatofitów (stałe podłoże Sabourauda z glukozą)

Objaśnienia: 1. Schemat badania: a. *Candida pseudotropicalis*, b. *T. verrucosum* nr 41, c. *T. verrucosum* nr 203, d. *T. mentagrophytes* nr 16, e. *T. verrucosum* nr 43, 2-5 Intensywność wzrostu dermatofitów: 2 — wzrost całkowicie zahamowany, 3 — wzrost silnie przyhamowany, 4 — wzrost słabo przyhamowany, 5 — brak hamowania wzrostu.

Najsilniejszy wpływ wywierał szczep *C. pseudotropicalis*, wywołując całkowite zahamowanie wzrostu *T. verrucosum* i znacznie przyhamowując namnażanie się *T. mentagrophytes*. Nieco słabsze oddziaływanie obserwowano w przypadku badanych szczepów *C. albicans*. Zahamowanie wzrostu *T. verrucosum* utrzymało się na płytkach przez okres 2 miesięcy, tj. do końca obserwacji. Jednakże prze-

Ryc. 1. Zestaw do oznaczania ilości wydzielanego dwutlenku węgla

Objaśnienia: 1, 2 — krany, 3 — kolba stożkowa z hodowlą grzyba, 4 — rurka łącząca, 5 — odbieralnik.

niesienie fragmentu takiego podłoża do płynnej pożywki Sabourauda dawało typowy wzrost grzyba, co wskazuje jedynie na hamującą, a nie bójczy wpływ drożdżaka.

Z kolei zaistniało pytanie, co jest przyczyną zróżnicowanego oddziaływania na dermatofity badanych grzybów drożdżopodobnych. Zgodnie z sugestią Kinga i wsp. (8) czynnikiem odpowiedzialnym za inhibicję wzrostu dermatofitów miał być CO₂, dlatego też słusze wydawało się porównanie badanych szczepów *Candida* pod kątem ich zdolności do wytwarzania dwutlenku węgla. Ocenę taką przeprowadzono w sposób pośredni oznaczając zmiany odczynu podłoża w czasie wzrostu drożdżaków (tab. 1). Wszystkie szczepy powodowały obniżenie pH środowiska, co należy wiązać z zakwaszającym wpływem CO₂ wydzielanego podczas rozkładu glukozy. Najaktywniejsze jednakże okazały się szczepy *C. albicans* i *C. pseudotropicalis*, co mogło sugerować, że wytwarzały one najwyższe ilości gazu.

Tab. 1. Zmiana odczynu środowiska w czasie wzrostu różnych szczepów rodzaju *Candida* (płynne podłoże Sabourauda z glukozą)

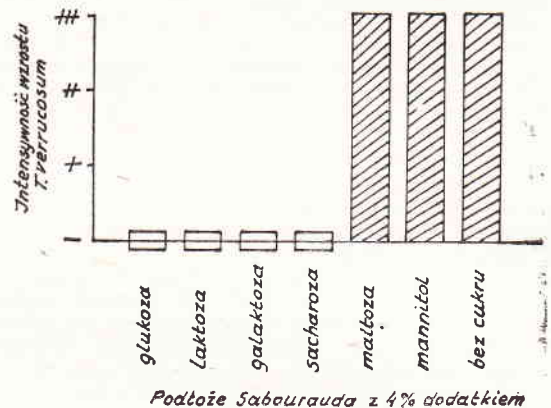
Szczep drożdżaka	Czas inkubacji			
	24 godz.	48 godz.	4 dni	7 dni
<i>C. alb. A</i>	4,2*	3,6	3,6	3,7
<i>C. alb. 303</i>	4,1	3,4	3,5	3,5
<i>C. alb. 306</i>	4,1	3,4	3,7	
<i>C. pseudotropicalis</i>	4,9	4,1	4,4	4,8
<i>C. tropicalis</i>	5,7	5,5	5,2	
<i>C. stellatoidea</i>	5,9	5,6	5,3	5,8
<i>C. krusei</i>	5,9	5,5	5,2	5,7
<i>C. quilliermondii</i>	5,7	5,5	5,2	
<i>C. parapsilosis</i>	5,5	5,4	5,1	
Kontrola: podłoże nie zasiane pH=6,0	6,0	6,0	6,0	6,0

Objaśnienie: * wartość pH.

W dalszym etapie badań dokonano bezpośredniego pomiaru ilości CO₂ produkowanego przez wybrane szczepy *Candida*. Stwierdzono, że w wystandaryzowanych warunkach doświadczenia najwięcej dwutlenku węgla wytwarza szczep *C. pseudotropicalis* (370 mg), mniej *Candida albicans* (239 mg), a zdecydowanie najmniej szczep *C. quilliermondii* (17,6 mg). Uzyskane wyniki potwierdziły więc poprzednią sugestię, że aktywność inhibicyjna szczepów *Candida* pozostaje w ścisłym związku z ilością wytwarzanego przez nie CO₂. Wobec tego do dalszych badań wytypowano szczep *C. pseudotropicalis* (najlepszy producent CO₂), a jako testowy dermatofit — szczep *T. verrucosum* nr 43.

Z kolei starano się wyjaśnić, czy supresyjne działanie na wzrost *T. verrucosum* zależy wyłącznie od obecności CO₂ w środowisku, czy też na zjawisko to ma wpływ skład podłoża. Jako podłoże podstawowe zastosowano pożywkę Sabourauda, której zmiennym składnikiem była glukoza. Cukier ten albo całko-

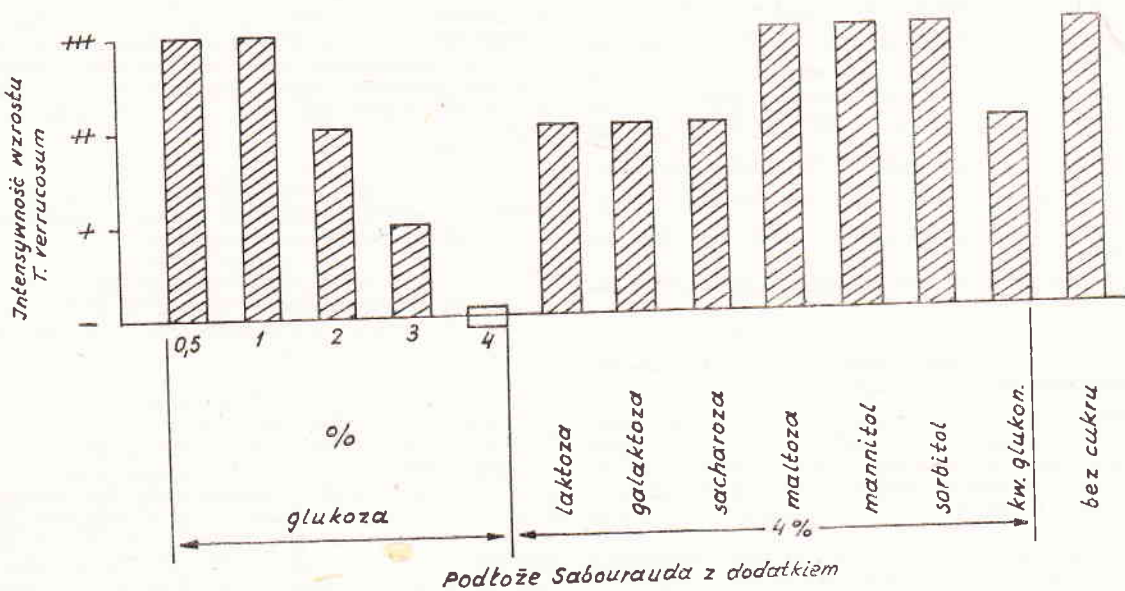
wicie usuwano z pożywki, albo zastępowano go kolejno analogicznym stężeniem (4%) laktozy, galaktozy, sacharozy, maltozy i mannitolu. Całkowite zahamowanie wzrostu *T. verrucosum* w obecności *C. pseudotropicalis* miało miejsce na podłożach z dodatkiem glukozy, laktozy, galaktozy i sacharozy, a więc cukrów, z których podczas rozkładu wytwarzany był w znacznych ilościach CO₂ (od 186 do 370 mg). Na pożywkach z maltozą, mannitolem lub też bez dodatku jakiegokolwiek węglowodanu dermatofit wyrastał podobnie jak w próbkach kontrolnych (ryc. 3). W doświadczeniach tych jakkolwiek decydujące znaczenie supresyjne wydawał się mieć CO₂, to jednak nie można było wykluczyć udziału pewnych metabolicznych, czy też enzymatycznych substancji wydzielanych przez *C. pseudotropicalis* do podłoża. Stąd w dalszych badaniach metodyka postępowania uległa modyfikacji w takim kierunku, aby inhibicyjne oddziaływanie *C. pseudotropicalis* na *T. verrucosum* ograniczyć jedynie do jednego czynnika tj. CO₂.



Ryc. 3. Oddziaływanie szczepu *Candida pseudotropicalis* na wzrost *T. verrucosum* w zależności od podłoża (wzrost szczepów na wspólnej płytce)

W tym celu obydwa badane gatunki grzybów inkubowano na oddzielnych płytkach w zamkniętym eksykatorze. Źródłem stałej ilości biologicznego CO₂ był szczep *C. pseudotropicalis* hodowany na podłożu Sabourauda z glukozą. Natomiast dermatofit wysiewano kolejno na modyfikowane, jak w poprzednim badaniu, podłoża Sabourauda. Uzyskane wyniki ilustruje ryc. 4. Całkowite zahamowanie wzrostu uzyskano tylko na podłożu z zawartością 4% glukozy. Laktoza, galaktoza, sacharoza i kwas glukonowy powodowały częściową inhibicję namnażania dermatofita, natomiast normalny rozwój grzyba obserwowano na podłożach z maltozą, mannitolem, sorbitolem oraz na pożywce bezcukrowej.

Stwierdzono więc, że supresyjnie na wzrost *T. verrucosum* oddziałuje CO₂, ale tylko przy obecności w podłożu określonego cukru. W związku z tym, że najsilniejszy efekt wywierała glukoza, interesujące wydawało się



Ryc. 4. Oddziaływanie szczepu *Candida pseudotropicalis* na wzrost *T. verrucosum* w zależności od podłoża (wzrost szczepów na oddzielnych płytkach)

sprawdzenie, czy istnieje współzależność między stężeniem cukru w środowisku a stopniem hamowania wzrostu grzyba. Całkowite zahamowanie rozwoju *T. verrucosum* miało miejsce tylko w obecności 4% glukozy; wraz z obniżaniem zawartości cukru w podłożu obserwowano sukcesywne nasilenie intensywności namnażania się grzyba (ryc. 4).

Reasumując wydaje się, że supresyjne działanie CO_2 nie ma charakteru swoistego, ponieważ podobny efekt stwierdzono, gdy dwutlenek węgla zastąpiono helem czy metanem (8).

Dane te dowodzą więc, że nie chodzi tu o bezpośrednie działanie tych gazów na dermatofity, ale o zmianę w ciśnieniu parcjnym tlenu. Jednakże nawet tak zmienione warunki nie oddziałują hamująco na grzyby, jeżeli podłoże, na którym rośnie *T. verrucosum* nie zawiera określonego stężenia glukozy, ewentualnie niektórych innych cukrów.

Jakkolwiek informacje dotyczące drogi katabolizmu glukozy przez dermatofity nie są wyczerpujące, to jednak większość autorów (1, 2) przyjmuje, że głównym kanałem dysymilacji glukozy jest ścieżka biochemiczna EMP. W początkowej fazie tego cyklu udział bierze między innymi izomeraza glukozofosforanowa, która wg Chin i Knight (4) ulega w środowisku zwiększonego stężenia CO_2 silnej aktywacji. W tych samych warunkach heksokinaza, fosfoglukomutaza i dehydrogenaza 6-fosfoglukonianowa nie są w ogóle stymulowane lub tylko w nieznacznym stopniu. Należy więc sądzić, że CO_2 bezpośrednio lub poprzez zmianę w ciśnieniu parcjnym tlenu, wywiera wpływ na cykl przemian glukozy, m.in. poprzez aktywację lub inhibicję odpowiednich enzymów. Ponadto w przypadku, gdy stężenie CO_2 jest dostatecznie wysokie, a tym

samym ciśnienie parcjale tlenu odpowiednio niższe, następuje gwałtowny spadek wykorzystania glukozy np. przez *T. mentagrophytes* z 90,5% do 57% (1). Niewykluczone, że podobne zjawisko może mieć miejsce również u *T. verrucosum*.

W ogóle glukoza wydaje się odgrywać szczególne znaczenie w procesach życiowych dermatofitów. Egzogenna glukoza działa bowiem supresyjnie na produkcję proteaz (10) stanowiąc przyczynę mylnej niekiedy interpretacji aktywności proteolitycznej szczepów. Obecność glukozy w podłożu jest również niezbędnym warunkiem indukującym tworzenie przez *T. mentagrophytes* artrospor (8) i zwiększonej ilości makrokonidiów (3, 4) w środowisku o podwyższonej zawartości CO_2 .

Wnioski

1. Spośród badanych grzybów rodzaju *Candida*, działanie hamujące na wzrost *T. verrucosum* wywierały szczepy *C. pseudotropicalis* i *C. albicans* wytwarzające największą ilość dwutlenku węgla.

2. Inhibycyjny efekt CO_2 uwarunkowany był w widoczny sposób składem podłoża, na którym namnażano *T. verrucosum*.

3. W atmosferze CO_2 całkowite zahamowanie wzrostu *T. verrucosum* miało miejsce tylko na podłożu Sabourauda z dodatkiem 4% glukozy; obecność w pożywce niższych stężeń glukozy, ewentualnie innych badanych cukrów, nie odgrywała istotniejszej roli.

Piśmiennictwo

1. Basak S. K., Samajpati N.: Acta microbiol. pol. 28, 325, 1979.
2. Chandra A. K., Benerjee A. B.: Acta microbiol. pol. A, 21, 197, 1972.
3. Chin B., Knight S. G.: J. gen. Microbiol. 16, 642, 1957.
4. Chin B., Knight S. G.: J. gen. Microbiol. 30, 121, 1963.

5. Dostrovsky A., Raubitschek F.: *Dermatologia* (Basel) 92, 231, 1947.
6. Emyaniloff R. G., Hashimoto T.: *Can. J. Microbiol.* 25, 362, 1979.
7. Heidenblauth J.: *Arch. Klin. Exp. Dermatol.* 220, 382, 1964.
8. King R., Dillavou C. L., Greenberg H., Jeppsen J. C., Jaeger J. S.: *Can. J. Microbiol.* 22, 1720, 1976.
9. Malten K. E., Thiele F. A. J.: *Br. J. Dermatol.* 89, 565, 1973.
10. Meevootism V., Niederpruem D. J.: *Sabouraudia* 17, 91, 1979.
11. Nickerson W. J., Jillson O. F.: *Mycopathologia* 4, 279, 1948.
12. Wawrzkiwicz K., Ziolkowska G.: *Medycyna Wet.* 39, 539, 1983.

Adres autora: prof. dr hab. Krystyna Wawrzkiwicz, ul. Chrobrego 1/19, 20-611 Lublin

Вавжкевич К., Верцинский Я., Зюлковская Г. — Ингибиционное действие *Candida pseudotropicalis* на рост *Trichophyton verrucosum*

В исследованиях использовали 4 штамма рода *Trichophyton*, а также 9 штаммов рода *Candida*. Среди исследуемых первично сумчатых грибов рост *T. verrucosum* тормозили штаммы *C. pseudotropicalis* и *C. albicans*, образующие наибольшее количество углекислого газа. Ингибиционный эффект CO_2 обуславливался наглядным образом составом питательной среды, на которой размноживали *T. verrucosum*. В атмосфере CO_2 полное заторможение роста *T. verrucosum* отмечалось только на среде Сабуро с добавкой 4% глюкозы; с понижением содержания сахара в среде наблюдалась интенсификация на-

множения гриба. Лактоза, галактоза, сахароза и глюконовая кислота в этих условиях вызывали частичную ингибицию роста дерматофита, нормальное же развитие гриба отмечалось на средах с мальтозой, маннитом, сорбитом и на среде без сахара.

Wawrzkiwicz K., Wierciński J., Ziolkowska G. — Inhibitory effect of *Candida pseudotropicalis* on the growth of *Trichophyton verrucosum*

The examinations were carried out using four strains of *Trichophyton* sp. and nine of *Candida* sp. Out of the yeasts under study the inhibitory action on the growth of *T. verrucosum* displayed *C. pseudotropicalis* and *C. albicans* producing the highest amounts of CO_2 . The restraining effect of CO_2 was associated with the composition of medium used to multiply *T. verrucosum*. In the atmosphere of CO_2 an entire inhibition of *T. verrucosum* growth took place on Sabouraud's medium with the addition of 4 per cent glucose; along with a decrease of the content of sugar in the medium there was observed the higher intensity of the fungus growth. Lactose, galactose, sucrose, and gluconic acid brought about a partial inhibition of the dermatophite growth, while a normal growth of the fungus appeared on the media with maltose, mannitol, sorbitol, and on the medium without sugar.

JACEK WÓJCIK, ZYGMUNT PEJSAK

Isolacja parwowirusa świń w Polsce

Zakład Badania Chorób Świń Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Zakażenia parwowirusowe świń (PPV) uznane zostały powszechnie (9) za jedną z istotnych przyczyn zaburzeń w rozrodzie trzody chlewnej, stanowiąc przy tym poważny problem ekonomiczny i epizootologiczny. Zakażenia PPV są szczególnie niebezpieczne dla dużych stad świń, charakteryzujących się znaczną rotacją loch stada podstawowego. W takich stadach, w przypadku naturalnej infekcji, następuje łatwe szerzenie się wirusa i w krótkim czasie zakażeniu ulega znaczna liczba zwierząt. Największe straty ponosi się wówczas, gdy zakażeniu ulegną samice będące w pierwszym trymestrze ciąży. Liczba prosiąt w miocie urodzonych żywo przez takie samice może zmniejszyć się z 8,1 do 3,6 (5).

W Polsce brak jest dotychczas publikacji dotyczących zakażeń świń PPV. Z tego względu uznano za celowe podjęcie wielokierunkowych badań, zmierzających do ewentualnego stwierdzenia występowania wymienionych zakażeń.

Materiał i metody

Do badań użyto tkanek martwo urodzonych płodów pochodzących od lochy, u której miano przeciwciał w odczynie zahamowania hemaglutynacji (HI) na 2 tyg. przed porodem wynosiło 2048. Użyto nerek i płuc płodu zмумifikowanego (IW₁) oraz płuc płodu obumarłego w końcowym okresie ciąży (IW₂). Sporządzony z tkanek rozcier zawieszano w płynie

Eagle'a w stosunku 1 cm³ tkanki/10 ml płynu uzupełnionego penicyliną (1000 j.m./1 ml), streptomycyną (1000 g/1 ml) oraz fungizonem (2,5 mg/1 ml). Przygotowaną zawiesinę pozostawiono w temperaturze pokojowej na okres 1 h, następnie wirowano z szybkością 3000 obr./min przez 30 min. Uzyskany supernatant używano do dalszych badań.

Do izolacji wirusa użyto pierwotnej hodowli nerki świni PPK (primary porcine kidney) przygotowanej z nerek 3 tyg. prosiąt według ogólnie przyjętych zasad. Jako płynu wzrostowego użyto płynu Hanksa z dodatkiem 15% płodowej surowicy bydlęcej, penicyliny (100 j.m./1 ml) i streptomycyny (100 ug/1 ml). Po 48 godz. inkubacji w 37°C zmieniono płyn Hanksa na Eagle'a (MEM), który uzupełniono surowicą płodową i antybiotykami w proporcjach podanych wyżej. Jednowarstwową hodowlę komórkową (PPK) w butelkach Legroux oraz próbkach Leightona uzyskano po następnych 24 godzinach. Hodowlę komórkową badano w kierunku endogennych zakażeń PPV metodą immunofluorescencji z zastosowaniem referencyjnej koniugaty anty PPV wyprodukowanej w NADL USA. W badaniach stosowano również hodowlę linii ciągłej nerki świni PK-15.

Isolację wirusa wykonano dwoma sposobami (I, II).

I. 72 godzinną hodowlę PPK w butelkach Legroux i próbkach Leightona zakażano supernatantem uzyskanym z płuc płodów IW₁ i IW₂ oraz nerki płodu IW₁. Adsorpcję badanego materiału przeprowadzono w temp. 37°C przez 1 godz. Jako płyn utrzymujący stosowano płyn Eagle'a z dodatkiem 1% płodowej surowicy bydlęcej oraz antybiotyków w ogólnie przyjętych ilościach. Do zakażenia hodowli PPK użyto 2 ml supernatantu na butelkę Legroux oraz 0,2 ml na próbkę Leightona. Kontrolę stanowiły nie zakażone hodowle PPK.

II. Wykonano pasaż 72-godzinnej hodowli PPK.