

dotkniętych inwazją. Nicienia są dobrze widoczne gołym okiem, usadawiają się w samym mięszu wątroby tuż pod jej torebką. Niekiedy przebijają ją i częścią swego ciała wystają na zewnątrz. W mięszu najczęściej ulegają zwinięciu, a otaczająca tkanka zabarwia się na kolor zielonkawo-brunatny.

Z płatów wątroby łatwo dają się usunąć pincetą, wykazując wyraźnie zwięzłą konsystencję w porównaniu z kruchym mięszem narządu. Miejsce po wyjęciu pasożyta usadowionego w mięszu wątroby ma charakter drobnych torbieli wypełnionych zielonkawym płynem. Nie zauważono innych zmian morfologicznych w porównaniu z płatami wątroby nie dotkniętej inwazją.

Opierając się na danych z literatury, dotyczących parazytofauny dorszy bałtyckich (1, 2, 3, 4, 5,) omawiane nicienie należą przypuszczalnie do rodzaju *Contracaecum*. Długość tych pasożytów wynosi 10—40 mm. Oprócz wątroby mogą one występować i w mięśniach, jamie ciała i na otrzewnej badanych ryb.

Wątroba dorszy jest cennym surowcem dla produkcji różnych olejów rybnych (m. in. Ol. Jecoris Aselli) jak i dla właściwego przetwórstwa rybnego. Sporządza się z niej dwa niezwykle cenne pod względem wartości odżywczej produkty konserwowe:

a) wątroba dorsza w sosie własnym, lub pomidorowym (po Kaukasku względnie po Katalońsku) oraz b) pasztet witaminowy.

Przy nikłej inwazji spora ilość wątroby trafia do produkcji. Homogenizacja wątroby na młynkach koloidalnych powoduje całkowite rozdrobnienie mięszu i dlatego przy wytwarzaniu pasztetu witaminowego (Cod Liver Paste) zostają one zupełnie rozarte.

Przy produkcji konserwy „wątroby w sosie własnym” umieszcza się w puszcze kawał płata wątroby, przeparuje, uzupełnia zalewą, zamyka i poddaje

sterylizacji. Śledząc cykl produkcji tej ostatniej pobierano próby wątroby przygotowanej do napełniania puszek oraz gotowe konserwy. Mimo poprzednio prowadzonej selekcji około 10% płatów wątroby zawierały pojedyncze nicienie. Ich obecność stwierdzono również w produkcie końcowym.

Podobnie jak to ma miejsce w szeregu krajach o silnie rozwiniętym przemyśle rybnym (np. Norwegia) należałoby i u nas wprowadzić wstępną ocenę parazytologiczną ryb, szczególnie w tych porach roku, kiedy nasilenie robaczyczy wzrasta. W Kanadzie przy produkcji filetów rybnych jako zasadę przyjęto przeświecanie płatów mięsa na stołach roboczych posiadających okienka szklane ze silnym strumieniem światła od dołu. Sposób ten umożliwia szybkie oraz dokładne wykrycie i usunięcie nicieni z mięsa (6). Chociaż nicienie pasyżujące w wątrobie dorsza nie stanowią niebezpieczeństwa inwazji dla człowieka, to jednak z higienicznego punktu widzenia nie można się zgodzić z obecnie przyjętą zasadą uzależniania oceny przydatności ryb do spożycia jedynie od ilości stwierdzonych pasożytów, to jest od stopnia inwazji. Niezależnie od nasilenia inwazji narządy ryb zawierające nicienie powinny być usunięte z dalszego przerobu na cele spożywcze.

Piśmiennictwo

1. Markowski S.: Archives d'Hydrobiologie et d'Ichthyologie 7, 1933.
2. Schneider G.: Arb. Naturforscher-Vereins zu Riga 13, 1911.
3. Schönberg F.: Die Untersuchung von Tieren Stammender Lebensmittel. Hannover, 1959.
4. Sulman S. S.: Rybn. Choz. 4, 1948.
5. Studnicka M.: Acta Parasitol. Polon. 13, 28, 1965.
6. Power H. E.: J. Fish. Res. Bd. Canada, 4, 537, 1958.

Adres autora: dr Zenon Ganowiak, Gdynia, ul. Partyzan-tów 34/29.

PRAKTYKA LABORATORYJNA

CZESŁAWA GÓRSKA

Namnażanie wirusa nosówki w hodowli komórek

Puławskie Zakłady Przemysłu Bioweterynaryjnego
Konsultant naukowy: prof. dr T. JASTRZĘBSKI

Pierwsze próby namnażania wirusa nosówki na HK przeprowadzili Cabasso i Cox (4) jednak zmian cytopatycznych nie uzyskali. Dopiero w 1958 r. Rockborn (14) doniósł o wyosobieniu szczepu, który w hodowli komórek nerki psa (HKNP) namnażał się wytwarzając wyraźne zmiany cytopatyczne. Użyty szczep wirusa pochodził z ostrego przypadku nosówki psa. Źródłem wirusa były migdałki i wymaz z jamy ustnej. Materiał wysiewano na HKNP i inkubowano 42 dni. Po tym okresie w hodowli zakażonej wystąpiły liczne komórki wielojądrowe, natomiast kontrole pozostały niezmiennione. W następnych pasażach czas inkubacji, koniecznej do wystąpienia zmian

cytopatycznych w HKNP, uległ skróceniu do 2 dni. W rok później Vantsis (16) doniósł o pozytywnych rezultatach namnażania w HKNP wirusa nosówki przepasażowanego uprzednio w HK nerki fretki. Wirus pochodził z krwi psów wykazujących ostre objawy choroby.

Badania Cabasso, Kisera i Stebbinsa (5) wskazały na możliwość zastosowania do namnażania wirusa nosówki hodowli komórek embrionu kurczęcia (HKEK). Użyty przez nich szczep Lederle Encephalitis (48 pasaż na 8-dniowych embrionach kurzych) namnażał się początkowo bez efektu cytopatycznego. Obecność wirusa była wykazywana drogą wstecznych pasażów na embrionach kurzych. Efekt

cytopatyczny w HK pojawił się dopiero po 15 pasażach. Miano wirusa wynosiło $10^{3,0-4,5}$ HKJD₅₀.

Użyty przez Karzona i Bussella (11) szczep Onderstepoort (pasaż 208 na embrionach) namnażał się w HKEK z wyraźnym wystąpieniem zmian cytopatycznych i łysinek (plaque) już w 2-gim pasażu. Namnażany równoległe przez tych autorów Lederle Enceph. dał efekt cytopatyczny dopiero po 35 pasażach, przy czym pojawienie się zmian uzależnione było od składu podłoża utrzymującego. Dalsze prace Busseila i Karzona (2, 3) wykazały, że awianizowane szczepy nosówki mogą być po zaadaptowaniu namnażane i działają cytopatycznie nie tylko w HK nerek psów, bydła, frotek, ale również w liniach ciągłych komórek ludzi i małp.

W piśmiennictwie krajowym, dotychczas nie było doniesienia o uzyskaniu namnażania wirusa nosówki w hodowli komórek. Jednak zagadnienie to ma poważne znaczenie, gdyż nowoczesna metodyka produkcji i kontroli szczepionek, oraz nowoczesna diagnostyka serologiczna nosówki, opierają się w znacznej mierze na hodowli wirusa w HK. Hodowla wirusa nosówki na HK jest, w porównaniu do hodowli na zwierzętach lub zarodkach kurzych, wielokrotnie tańsza i łatwiejsza. W Polsce nosówka psów i zwierząt futerkowych stanowi ciągle jeszcze poważny problem (8, 9, 12, 15, 17) i dlatego opanowanie hodowli wirusa nosówki na HK jest sprawą pilną.

Materiał i metody

Szczepy

Użyto następujących szczepów:

1. Wzorcowy szczep nosówki Onderstepoort* pas. 221, namnażany na błonach 8-dniowych embrionów kurzych, o mianie $10^{3,0}$ EID₅₀.

2. Awianizowany szczep Lederle Encephalitis* pas. 51, namnażany na błonach 8-dniowych embrionów kurzych o mianie $10^{4,5}$ EID₅₀.

Przygotowanie hodowli komórek

Hodowlę komórek zakładano z użyciem 10–11 dniowych embrionów kurzych (HKEK) metodą trypsynizacji. Monolayer osiągnano w ciągu 16–32 godz. Podłoże wzrostowe stanowił płyn Hanksa z dodatkiem 0,5% enzymatycznego hydrolizatu laktoalbuminy i 4% surowicy cielęcej. Jako podłoża utrzymującego używano płynu 199 z dodatkiem 1–2% surowicy cielęcej inaktywowanej.

Pasaże wirusów

Inoculum przy 1 pasażu przez HKEK stanowiły rozbite w emulgatorze błony kosmówkowo-omocznio-we z namnożonym wirusem. Dawka na 1 próbkę wynosiła 0,2 ml 20% zawiesiny błon w płynie Hanksa. Zakażone hodowle inkubowano w temp. 37°C i co 2–3 dni przeglądano pod mikroskopem przy powiększeniu ok. 100x. Po upływie 4–5 dni, gdy zmiany obejmowały ok. 80–90% komórek hodowli inkubację przerywano. Próbkę z namnożonym wirusem umieszczano w zamrażarce (–25°C) do czasu wykonania następnego pasażu. Czas przechowywania

w zamrażarce wynosił 1–42 dni. Przed przystąpieniem do kolejnego pasażu próbki dodatkowo jednorazowo mrożono.

Kontrola żywotności wirusów

Żywotność pasażowanego w HK wirusa sprawdzano na błonach kosmówkowo-omocznio-owych 7–8 dniowych zarodków. Zakażanie wykonywano metodą Gorbama (6) stosując inoculum 0,2 ml płynu wirusowego z hodowli komórek EK.

Badanie serologiczne. Badanie wykonano metodą seroneutralizacji (SN) w HKEK sposobem β (stała dawka wirusa ok. log 2,0 HKI D₅₀ + wzrastające rozcieńczenia surowicy badanej). Przedział rozcieńczeń = 0,7 log. Technika wykonania i kryteria oceny wg Jastrzębskiego (10). W badaniach użyto surowic psów, świń morskich, lisów, kur oraz p. nosówkowych surowic handlowych.

Obliczanie wyników. Miana wirusów uzyskane w HKEK i na zarodkach podano w log. HKID₅₀ lub EID₅₀/ml. Wyniki serologiczne podano w log. SM₅₀/0,1. W obliczeniach stosowano metodę Reeda i Muencha (13).

Wyniki

Szczep Onderstepoort.

Przeprowadzone badania wykazały, że szczep Onderstepoort już w 1 pasażu powodował niewielkie zmiany w wyglądzie komórek hodowli. Po 4 dniach inkubacji, komórki przyjmowały kształt lekko zaokrąglony, wykazując jednocześnie ziarnistości w cytoplazmie. W 2 pasażu zmiany te nasiliły się. Zaobserwowano pojawianie się komórek większych od normalnych, lub zlewanie się pojedynczych komórek w skupiska. Powstawały ogniska komórek silnie łamiące światło — syncytia. Pustych przestrzeni między komórkami do 12 pasażu nie obserwowano. Od 13 pasażu szczep Onderstepoort już 2–3 dniach inkubacji powodował powstawanie w zakażonej hodowli, komórek zaokrąglonych, z widocznymi w cytoplazmie ziarnistościami, a po 5 dniach także pustych przestrzeni między komórkami. Co 2 pasaż z HKEK był mianowany na błonach kosmówkowo-omocznio-owych 7–8 dniowych zarodków kurzych. Wartości (w log HKID₅₀ lub EID₅₀) uzyskane przy miareczkowaniu wirusa podaje tab. 1

Tab. 1. Przebieg adaptacji do HKEK szczepów Onderstepoort i Lederle Encephalitis

Nr	Przerwa między pasażami w dniach	Onderstepoort pas. 221 na embrionach log miana płynu wirusowego		Lederle Encephalitis pas. 51 na embrionach log miana płynu wirusowego
		HKI D ₅₀ /ml	EID ₅₀ /ml	EID ₅₀ /ml*
0	—	2,75	5,0	4,5
1	8	5,7	4,5	2,2
2	3	5,7	nb	nb
3	4	5,5	5,0	4,7
4	10	≥ 5,2	nb	nb
5	2	5,5	5,7	4,3
6	2	≥ 4,7	nb	nb
7	3	≥ 4,5	6,0	≥ 3,0
8	1	≥ 4,5	nb	nb
9	4	≥ 5,0	5,3	≥ 2,5
10	4	5,5	nb	≥ 2,5
11	2	5,5	≥ 4,2	≥ 2,5
12	31	4,8	nb	2,4
13	3	4,0	5,0	2,6
14	42	4,5	nb	≥ 2,5
15	9	4,1	5,4	≥ 2,5
16	14	4,3	nb	nb
17	21	5,7	5,3	nb

Ojaśnienie: * — zmiany w HK nie wystąpiły, nb — nie badano.

*) — Szczepy otrzymano dzięki uprzejmości Dr L. E. Carmichaela z Veterinary Virus Research Inst. New York jako Onderstepoort pas. 220 i Lederle Enceph. pas. 50.

Jak wynika z tab. 1 log miana szczepu Onderstepoort przesianego z błon na HKEK wynosił 2,75 HKID₅₀. Jednak już od następnego pasażu wzrósł do ok. 5,5. W dalszych pasażach miano wynosiło ok. 5,0 (w granicach 4,1—5,7). Log miana na zarodkach kurzych (EID₅₀) utrzymywał się przez cały czas pasażowania na mniej więcej jednakowym poziomie ok. 5,0 (w granicach od 4,5—6,0).

W celu identyfikacji pasażowanego czynnika cytotycznego wykonano następujące doświadczenia:

1. Próba ogrzewania w temp. 100°C. Zatopione cienkościenne ampulki zawierające po ok. 1,0 ml płynu wirusowego z 5 pasażu na EK (o mianie 4,0 HKID₅₀) umieszczano na 30, 60, 90, 120, 150 sekund we wrzącej wodzie. Po upływie określonego czasu ampulki wyjmowano, ochładzano pod strumieniem zimnej wody i natychmiast wysiewano na HKEK. W żadnym przypadku pomimo wykonania 2 ślepych pasażów, nie wykazano w komórkach hodowli wystąpienia żadnych zmian morfologicznych.

2. Badanie jałowości bakteriologicznej. Zebrany z 5 pasażu w HK płyn wirusowy posiewano po 0,2 ml na podłoża bakteriologiczne (agar, agar z surowicą, bulion, bulion z surowicą i bulion Wrzaska). W ciągu 7 dni inkubacji nie obserwowano wzrostu żadnych drobnoustrojów.

3. Badanie nieszkodliwości dla zwierząt laboratoryjnych. Płyn wirusowy zebrany z 5 pasażu w HK podano 13 dorosłym myszkom po 1,0 ml (6 szt. i.p., 6 szt. i.m., 6 szt. s.c.), oraz 6 świnkom morskim po 2,0—4,0 ml (2 szt. i.p., 2 szt.

i.m., 2 szt. s.c.+i.p.). Wszystkie zwierzęta pozostały zdrowe przez 30 dni obserwacji.

4. Identyfikacja serologiczna. W badaniach użyto surowic p. nosówkowych psów, lisów i świnek morskich. Surowice uzyskano drogą immunizacji zwierząt szczepami nosówki: WS — 66, Lederle Enceph. i Onderstepoort. Jako kontrole zastosowano handlowe surowice p. nosówkowe Canisanin F i FH (Biowet — Puławy) oraz SHL-Serum (Behringwerke). Ponadto dla wykluczenia obecności wirusa pomoru drobiu (gdyż podłożem namnażającym przy pasażach były fibroblasty zarodka kury), użyto surowic kur, uprzednio immunizowanych inaktywowaną szczepionką p-ko ND sporządzoną na szczepie Roakin**. Rezultaty uwidoczniiono w tab. 2.

Z tab. 2 wynika, że surowice psów uodpornionych p-ko nosówce (125, 126, 127) i lisów (Ia, IIa) pobranej w 21—28 dni po immunizacji neutralizują pasażowany wirus nosówki w mianie 2,4—≥3,15, przy mianie tzw. zerowym „O” (tj. przed szczepieniem) ≤0,35. Surowica psa (nr 102) który przechorował zakażenie sztuczne szczepem zjadliwym WS-66 (Górski i Górski — 8) neutralizowała w HK badany szczep w mianie ≥3,15 (przy mianie „O” — ≤0,35). Również surowice psa (nr 120), uprzednio uodpornionego pasażowanym w HK szczepem Lederle Enceph. posiadała właściwości neutralizujące w mianie 1,9 (przy mianie „O” = 0,9). Pies kontrolny (nr 122) nie-szczepiony, który przebywał w tym samym pomie-

** — Surowice kur uzyskano dzięki uprzejmości Dr J. Kozickiego, Biowet — Puławy.

Tab. 2. Identyfikacja serologiczna adaptowanego do hodowli komórek szczepu Onderstepoort

Gatunek zwierzęcia	Nr	Surowica Użyty do immunizacji antygen	log miana SN ₅₀ wobec			
			Wirusa nosówki szczep Onderstepoort		Wirusa Rubartha szczep (h) Hep	
			o	u	o	u
pies	102*	Nosówka — szczep WS-66 (krew lisa); 2 ml i. p.	≤ 0,35	≥ 3,15	≤ 0,35	≤ 0,35
„	120	Nosówka — szczep Lederle Enceph. (pas. 3 HKEK), 1,0 ml s. c.	0,9	1,9	nb	≤ 0,35
„	125	Nosówka — szczep Lederle Enceph. (pas. 53 na błonach kosmówkowo-omocznionych) 1,0 ml s. c.	≤ 0,35	2,8	nb	≤ 0,35
„	126)	Nosówka — szczep Lederle Enceph. (pas 53 na błonach kosmówkowo-omocznionych) liofilizowana 1,6 ml s. c.	≤ 0,35	≥ 3,15	nb	≤ 0,35
„	127)		≤ 0,35			
lis	Ia	Nosówka — Lederle Enceph. (pas. 54 na błonach kosmówkowo-omocznionych) liofilizowana, 1,6 ml s. c.	≤ 0,35	2,6	nb	nb
„	IIa	j. w. 0,64 ml s. c.	≤ 0,35	2,4	nb	nb
pies	122	kontrola (nieszczepiony)	≤ 0,35	≤ 0,35	nb	≤ 0,35
świnka morska	31	Nosówka — szczep Onderstepoort (pas 5 HKEK) 2 ml i. p.	≤ 0,35	0,7	nb	nb
„	32	j. w. 2 ml i. p.	≤ 0,35	1,05	nb	nb
„	33	j. w. 2 ml i. p. + 2 ml s. c.	≤ 0,35	1,6	nb	nb
„	34	j. w. 2 ml i. p. + 2 ml s. c.	≤ 0,35	1,7	nb	nb
„	35	j. w. 2 ml i. m.	≤ 0,35	1,4	nb	nb
„	36	j. w. 2 ml i. m.	≤ 0,35	1,05	nb	nb
kura	326**	Pomór drobiu — szczep Roakin	≤ 0,35	≤ 0,35	nb	nb
„	340**	j. w.	≤ 0,35	≤ 0,35	nb	nb
koń		Canisanin F s. 4 — Biowet	≤ 0,35	1,9	nb	nb
„		Canisanin FH s. dośw. 1 — Biowet ***)	≤ 0,35	2,6	nb	2,3
pies		SHL — Behringwerke	nb	2,5	nb	2,8

Objaśnienia:

* — SN₅₀ na embrionach wobec Onderstepoort pas 221 = 3,0/2,6 EID₅₀, przy mianie „0” = 0,35;

** — Miano HI przed uodpornieniem = 1:10 po uodpornieniu 1:320 — 1:640;

*** — SN₅₀ na embrionach wobec Lederle Enceph. pas 55 = 2,05/3,0, przy mianie „0” = 0,5;

nb — nie badano.

szczeniu co psy uodparniane (nr nr 120, 125, 126, 127) nie wykazywał obecności przeciwciał w surowicy (miano $\leq 0,35$). Na uwagę zasługują wyniki badania surowic świnek morskich immunizowanych szczepem Onderstepoort pasażowanym w HKEK. W 3 tygodnie po uodpornieniu miano seroneutralizacyjne (SN₅₀) podniosło się z $\leq 0,35$ do 0,7—1,7, przy czym, uzyskane wyniki sugerują zależność między dawką wirusa a wysokością uzyskanego miana SN.

Użyte dla kontroli surowice handlowe Canisanin F i FH oraz SHL-Serum wykazywały wyraźny wpływ zobojętniający na pasażowany wirus. Stosowane również jako kontrole surowice p. wirusowi pomoru drobiu nie wykazywały nawet śladów właściwości neutralizacyjnych wobec szczepu Onderstepoort (miano surowic $\leq 0,35$). Badania wobec surowic przeciw pomorowi drobiu zostały wykonane z wirusem na poziomie 3 pasażu i powtórzone dla pasażu 15. Jako dodatkową kontrolę zastosowano odczyn seroneutralizacji w hodowli komórek nerki psa wobec szczepu (h) Hep wirusa choroby Rubarth'a (Górski — 7). Badanie wykazało, że surowice psów (nr nr 102, 120, 125, 126, 127) nie neutralizowały wirusa HCC. Natomiast log SN₅₀ surowic Canisanin FH i SHL w tych samych warunkach badania, wynosił 2,3 i 2,8.

Szczep Lederle Encephalitis. W toku wykonanych 17 pasażów tego szczepu nie udało się wykazać zmian w zakażonej hodowli komórek. Jednak szczep ten namnażał się, gdyż obecność jego stała się stwierdzana drogą wstecznych pasażów na zarodkach (na których dawał podobne zmiany jak materiał wyjściowy). Miano tego szczepu było jednak niższe od szczepu Onderstepoort średnio o ok. 2,0 log. Posiewy bakteriologiczne wykonane w toku pasażowania oraz szczepienie zwierząt (myszki, świnki morskie, tchórzofretki, psy, lisy, i norki) nie wykazały obecności pozawirusowego czynnika przeszczepialnego. Osiągnięte w tych badaniach wyniki będą podane w oddzielnej publikacji.

Omówienie i wnioski

Przeprowadzone badania potwierdziły podatność HKEK do namnażania wirusa nosówki. Szczep Onderstepoort adaptował się łatwo, gdyż już w 1 pasażu powodował charakterystyczne zmiany komórek. Zmiany początkowo były typu przerostowego (syncytia) a następnie, w miarę dalszych pasażów, typu destrukcyjnego. Wyraźne zmiany destrukcyjne pojawiły się jednak dopiero począwszy od 13 pasażu, kiedy zaznaczało się dostrzegalne zniszczenie tkanki, a między komórkami pojawiały się puste przestrzenie. Jeśli chodzi o intensywność namnażania w HKEK to stwierdzono, że szczep ten namnaża się stosunkowo dobrze. Miano infekcyjne wirusa wyrażone w log HKID₅₀ wynosiło ok. 5,0 z wahaniami od 4,1—5,7. Wykonane dla kontroli badania żywotności i miana na embrionach, dały wyniki podobne (log miana EID₅₀ ok. 5,0 z wahaniami od 4,2—6,0). Badania wrażliwości czynnika cytopatycznego na ogrzewanie w 100°C wykazały, że ginie on już po 30 sek. Dowodzi to białkowej natury pasażowanego czynnika. Posiewy bakteriologiczne nie wykazały obecności drobnoustrojów rosnących na zwykłych podłożach. Pasażowany czynnik okazał się ponadto niepatogenny dla myszek i świnek morskich oraz dla tchórzofrettek. Odczynem SN w HK

wykazano, że surowice przeciw nosówkowe wyprodukowane przy użyciu szczepów Lederle Enceph. i WS-66 oraz surowice handlowe przeciwko nosówce neutralizują pasażowany w HKEK szczep Onderstepoort podobnie jak oryginalne szczepy nosówkowe. Natomiast surowice p. pomorowi drobiu nie posiadały zdolności neutralizacyjnych dla pasażowanego w HK szczepu Onderstepoort. Na specjalne podkreślenie zasługują obserwacje nad produkcją przeciwciał p. nosówkowych przez immunizowane świnki morskie. Wskazywałoby to na możliwość wykorzystania tych zwierząt w badaniach nad immunologią nosówki. W dostępnej literaturze zagadnienie to nie było opisane. Jeśli chodzi o szczep Lederle Enceph. to w ciągu 17 pasażów nie otrzymano efektu cytopatycznego, jednak wirus ten namnażał się, gdyż obecność jego w kolejnych pasażach była wykazywana drogą wstecznych pasażów na embrionach. Wprawdzie Cabasso, Kiser i Stebbins (5) już po 15 pasażach uzyskali zmiany cytopatyczne tego szczepu, ale stosowali oni inny skład podłoża wzrostowego i utrzymującego. Na różnicę cytopatogenności tego szczepu związane ze składem podłoża zwrócili uwagę Bussel i Karzon (1).

Powyższe badania wobec niemożności uzyskania z zewnątrz adaptowanego do hodowli komórek cytopatycznych szczepu wirusa nosówki, były niezbędne do dalszych badań, a zwłaszcza do prac związanych z unowocześnieniem technologii produkcji i kontroli p. nosówkowych preparatów immuno-biologicznych.

Piśmiennictwo

1. Bussel R. H., Karzon D. T.: Virology 18, 589, 1962.
2. Bussel R. H., Karzon D. T.: Arch. ges. Virusforsch. 17, 163, 1965.
3. Bussell R. H., Karzon D. T.: Arch. ges. Virusforsch. 17, 183, 1965.
4. Cabasso V. J., Cor H. R.: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 71, 246, 1949.
5. Cabasso V. J., Kiser K., Stebbins M. R.: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 100, 551, 1959.
6. Gorham J. R.: Am. J. Vet. Res. 18, 691, 1957.
7. Górski J.: Medycyna Wet. 21, 652, 1965.
8. Górski J., Górka C.: Medycyna Wet. 23, 725, 1967.
9. Górski J., Kozicki J., Zarzecki J.: Biul. III Zjazd PTNW, Lublin, 295, 1966.
10. Jastrzębski T.: Ann. UMCS, Lublin, Sect. DD 17, 171, 1962.
11. Karzon D. T., Bussell R. H.: Science 130, 1708, 1959.
12. Oyrzanowska-Poplewska J.: Pol. Arch. Wet. 9, 1, 1965.
13. Reed L. J., Muench H. A.: Am. J. Hyg. 27, 493, 1938.
14. Rockborn G.: Arch. ges. Virusforsch. 8, 485, 1958.
15. Steffen J., Wachowicz-Sander R.: Biul. III Zjazd PTNW, Lublin 295: 1966.
16. Vantsis J. T.: Vet. Rec. 71, 99, 1959.
17. Jastrzębski T.: Biul. III Zjazd PTNW Lublin, 297, 1966.

Adres autora: mgr Czesława Górka, Puławy, Michałowka 5/4.

Гурска Ч. — Культивирование вируса чумы плотоядных в культуре клеток.

Провели 17 пассажей штаммов Onderstepoort и Lederle Encephalitis через культуры фибробластов эмбриона курицы адаптация штамма Onderstepoort проявилась сокращением времени инкубации (с 4—5

do 2—3 суток) и интенсификацией цитопатогенного эффекта (ц.п.э.). С 13 пассажа ц.п.э. имел уже не пролиферативный и деструктивный характер. Идентификация адаптированного вируса проверили методами серонейтрализации. Пассажи штамма Lederle Encephalitis не привели к появлению ц.п.э. Установили только размножение вируса. Титр установленный путем заражения эмбрионов цыплят равнялся в 15 пассаже ок. 2,5 EID₅₀.

Górska C. — **The multiplication of Distemper virus in tissue culture.**

Seventeen passages of Distemper virus were made by fibroblasts tissue culture of hen embryo with the use of Onderstepoort and Lederle Encephalitis strains.

Onderstepoort strain. The strain adapted itself comparatively easily to HK fibroblasts of hens embryo. The adaptation appeared above all in the de-

crease of incubation time, necessary for the occurrence of cytopathic changes from 4—5 to 2—3 days, and in the intensification and character of cytopathic changes while in the first period their character was mostly hypertropic, in 13-th passage they manifested themselves in tissue destruction and the appearance of empty spaces. In order to check whether the transplanting cytopathic factor agrees antigenically with Distemper virus, the sequence of serological investigations was made. It was pointed out that the serums of dogs and foxes immunized by Lederle Encephalitis and WS-66 Distemper strains neutralize in high titre the virus in HK.

Lederle Encephalitis strain. That strain, passaged in the same conditions during 17 passages did not cause the appearance of cytopathic changes in tissue culture. Still the virus multiplied. Its titre asserted to 15 passages by way of hen embryos infection was rather low, namely about 2,5 EID₅₀.

ZAGADNIENIA SPOŁECZNO-ZAWODOWE

WŁADYSŁAW LUTYŃSKI

Warszawa

Organy zwalczające zaraźliwe choroby zwierzęce w Polsce

Stosowanie do art. 2 rozporządzenia z dnia 22 sierpnia 1927 r. o zwalczaniu zaraźliwych chorób zwierzęcych zwalczanie tych chorób należy do Ministra Rolnictwa, wojewodów i starostów we właściwym im zakresie działania, z tym, że przez wyraz starosta rozporządzenie rozumie w ogóle władze administracyjne I instancji, a przez wyraz wojewoda w ogóle władze administracyjne II instancji. We wprowadzonym po wojnie systemie rad narodowych:

1) ustawa z dnia 20 marca 1950 r. o terenowych organach jednolitej władzy państwowej (Dz. U. Nr 14, poz. 130 z późniejszymi zmianami) znosząc wojewódzkie i powiatowe władze administracji ogólnej zakres działania tych władz przekazała radom narodowym odpowiedniego stopnia i ich organom, w wyniku czego dotychczasowe uprawnienia z zakresu administracji państwowej starostów i wojewodów zostały przejęte przez prezydium rad narodowych odpowiedniego stopnia jako organy wykonawcze i zarządzające rad. Wydaną na podstawie art. 41 tej ustawy uchwałą Rady Ministrów z dnia 17 kwietnia 1950 r. — Instrukcja nr 2 w sprawie składu, podziału pracy i trybu działania prezydiów rad narodowych (Mon. Pol. Nr A — 57, poz. 654 z późniejszymi zmianami) kompetencje w zakresie wydawania decyzji należące według dotychczasowych przepisów do wojewodów i starostów przejęte zostały przez przewodniczących prezydiów rad narodowych odpowiedniego stopnia;

2) ustawa z dnia 25 stycznia 1958 r. o radach narodowych (art. 81 tekstu jednolitego Dz. U. z 1963 r. Nr 29, poz. 172) określiła, że w sprawach przekazanych przez obowiązujące dotychczas przepisy do właściwości prezydiów rad narodowych właściwe są odpowiednie wydziały, chyba że sprawy te zostały zastrzeżone do kolegialnej właściwości prezydiów rad. To ostatnie zastrzeżenie znalazło m. in. swój wyraz z art. 3 i 16 ustawy z dnia 25 lutego 1964 r. o wydawaniu przepisów prawnych przez rady narodowe (Dz. U. Nr 8, poz. 47), z których wynika, że prezydium rad narodowych wydają w formie zarządzeń przepisy prawne powszechnie obowiązujące na podstawie upoważnienia udzielonego prezydiom w odrębnych ustawach, albo w przypadku, gdy dotychczasowe przepisy szczególnie upoważniły do tego organy administracji prezydiów rad narodowych.

Niejako uzupełnieniem tych ostatnich przepisów jest art. 59 pkt. 3 ustawy o radach narodowych określający, że w przypadkach niecierpiących zwłoki przewodniczący prezydium rady narodowej wydaje zarządzenie należące do właściwości prezydium pod warunkiem przedłożenia ich na najbliższym posiedzeniu prezydium do zatwierdzenia.

Na tle powyższych przepisów należy stwierdzić, że właściwymi organami terenowymi do zwalczania zaraźliwych chorób zwierzęcych są obecnie:

1) wydziały rolnictwa i leśnictwa prezydiów wojewódzkich bądź powiatowych rad narodowych w przypadku, gdy chodzi o kierowanie sprawami zwalczania chorób zaraźliwych, a zwłaszcza o postępowanie administracyjne zmierzające do wydania aktu administracyjnego — decyzji administracyjnej, jako objawu woli organu administracji skierowanego do konkretnego adresata i mającego na celu wywołanie określonego skutku prawnego np. izolacji lub zabicia zwierzęcia należącego do konkretnej osoby, poddania go zbadaniu lub zaszczepieniu itp.

2) prezydium wojewódzkich bądź powiatowych rad narodowych w razie konieczności wydania aktu normatywnego w zakresie zwalczania chorób zaraźliwych tj. aktu zawierającego ogólnie obowiązujące normy prawne, jak np. zarządzenia w sprawach przewidzianych w art. 16 rozporządzenia z 1927 r. (oczyszczanie i odkażanie ramp i wagonów kolejowych w danym województwie itp), albo w art. 25 i 26 w związku z określonymi przepisami zawartymi w rozporządzeniach wykonawczych — wydanie zakazu spédów, lub szczepienie zwierząt na określonym terenie (powiecie, w okręgu zagrożonym itp.). W związku z tym, że sprawy związane ze zwalczaniem zaraźliwych chorób zwierzęcych są zazwyczaj sprawami niecierpiącymi zwłoki, to, jak podano wyżej, odpowiedni akt normatywny w tym zakresie przygotowany przez wydział rolnictwa i leśnictwa może wydać za prezydium jego przewodniczący. Akt taki podlega ogłoszeniu w dzienniku urzędowym wojewódzkiej rady narodowej, a w razie konieczności natychmiastowego wprowadzenia go w życie niezależnie od ogłoszenia w dzienniku podlega on ogłoszeniu w sposób zwyczajowo przyjęty w danej miejscowości.