

du na konieczność użycia do uodparniania wszystkich serotypów zarazka, krótki czas odporności i możliwość przeniesienia z surowicą chorób pasożytniczych.

### Leczenie

Leczenia swoistego nie ma. Zalecane jest jednak leczenie objawowe (spokój, środki nasercowe itp.).

#### Piśmiennictwo

- Alexander R. A.: Onderstepoort J. Vet. Sci. anim. Husb., 4, 291, 1935.
- Alexander R. A.: Onderstepoort J. Vet. Sci. and An. Ind. 11, 9, 1938.
- Alexander R. A., Neitz W. O., Du Toit: Onderstepoort J. Vet. Sci. and an. Ind., 7, 17, 1936.
- Aleksandrow B. A.: Veterinarija (Moskwa) 46, 8, 111, 1969.
- Animal Health Yearbook FAO 1967.
- Bevan L. L.: Vet. J., 67, 402, 1911.
- Botija C. S., Ordas A., Ovejero I. J.: Bull. Off. int. Epiz., 68, 695, 1967.

- Couturier J. P.: La peste equine. These de doct. vet. Alfort, 1966.
- Du Toit R. M.: Onderstepoort J. vet. Res., 19, 7, 1944.
- Erasmus B. J.: Nature 200, 1716, 1963.
- Fourgi M. E.: Bull. Off. int. Epizoot., 68, 1, 715, 1967.
- Hovell P. G.: Onderstepoort J. vet. Res., 2, 29, 139, 1962.
- Hovell P. G.: in Röhler's Handbuch d. Virusinfektionen bei Tieren III, 591, 1969.
- Ivanovskij E. V., Nazarov V. P.: Veterinarija (Moskwa) 40, 70, 1963.
- McIntosh B. M.: J. S. Afr. Vet. Med. Ass., 26, 249, 1955.
- Mirchamsy H., Jashimi H.: Nature 198, 304, 1963.
- Montilla R. D., Marti P.: Bull. Off. int. Epizoot., 68, I, 705, 1967.
- Moulé L.: Histoire de la Medecine Veterinaire Paris 1896.
- Poison A.: Onderstepoort J. vet. Sci. an. Ind., 16, 33, 1941.
- Poison A., Madsen T.: Biochim., Biophys. Acta 14, 366, 1954.
- Schuberg A., Kuhn P.: Arb. Kaiserl. Gesundheits Amt 40, 209, 1912.
- Sevs J. L.: La peste equine en Algerie. These de doct. vet. Alfort, 1967.
- Sieber M.: Zeitschr. f. Infektkrh. d. Haustiere 10, 81, 1911.
- Theller A.: 1901—1930 — wg Hovell 1969 (13).
- Oellermann R. A., Els H. J., Erasmus B. J.: Arch. ges. Virusforsch. 29, 163, 1970.
- Ozawa Y., Dardini A. H.: Arch. ges. Virusforsch., 29, 331, 1970.

Adres autora: prof. dr Tadeusz Jastrzębski, Lublin, ul. Akademicka 12.

ZBIGNIEW BACZYŃSKI

## Cyodiagnostyka zakażeń enterowirusami bydła.

### I. Zastosowanie kultur komórek różnych narządów

Zakład Wirusologii, Instytutu Weterynarii w Puławach  
Kierownik: doc. dr L. ŻEBROWSKI

Wzrost zakażeń u bydła wywołanych przez entero- i pneumotropowe wirusy wyłonił konieczność opracowania prostej i dostępnej do stosowania w rutynowej praktyce laboratoryjnej metody diagnostycznej. Rozpoznawanie zakażeń enterowirusami bydła postanowiono przeprowadzić, ze względów praktycznych i oszczędnościowych, w oparciu o technikę mikrokultur, która ułatwia znacznie szybką ocenę efektu zakażenia komórek. Aczkolwiek badania nad tymi wirusami wykonywane są powszechnie na komórkach nerki cieląt względnie płodu krów (5, 6, 8), to wydaje się jednak wskazanym, wykorzystując szerokie spektrum infekcyjności enterowirusów (7), użycie innego poza nerką modelu komórek dla badań patogenności tych wirusów *in vitro*.

Celem pracy było przebadanie przydatności kultur komórek różnych narządów bydła do badań cyodiagnostycznych w oparciu o prototypowe szczepy wirusów grupy ECBO.

#### Materiał i metody

Hodowle komórek różnych narządów płodu krów: nerka, skóra, płuco, jelito cienkie, śledziona oraz węzłów chłonnych dorosłego bydła zdrowego i dotkniętego białaczką inkubowano w mikrokulturach na szkiełkach przedmiotowych o wymiarach 2,5 × 0,5 cm, umieszczonych w probówkach typu Leighton (ryc. 1) wg techniki podanej przez Lepine (3).

Podłoże wzrostowe komórek składało się z płynu Parkera zmieszanego w równych częściach z płynem Hanksa z dodatkiem 10% surowicy cielęcej.



Ryc. 1. Probówka Leighton oglądana w położeniu poziomym. Wyżej widoczne szkiełko z mikrokulturą komórek.

Po uzyskaniu pełnego pokrycia szkiełek jednowarstwową hodowlą komórek zakażano je enterowirusami z grupy ECBO: H-786 Mayr (1), 100-B Luginbuhla (4) i LCR<sub>4</sub> Kunina (2) oraz szczepem węgierskim D-61. Komórki zakażano metodą bezpośrednią do płynu utrzymującego, w ilości 0,2 ml zawiesiny pochodzącej z zakażonej hodowli komórek na 2 ml płynnego podłoża w probówce.

Zakażone komórki inkubowano stacjonarną metodą w temperaturze 37°C przez okres 7—10 dni i obserwowano pojawianie się efektu cytopatycznego (CPE) na szkiełkach. W przypadku stwierdzenia efektu cytopatycznego, w postaci zniszczenia przynajmniej połowy powierzchni warstwy komórek (CPE-50%), szkiełka przedmiotowe wyjmowano z probówek a znajdujące się na nich komórki barwiono metodą Pappenheima.

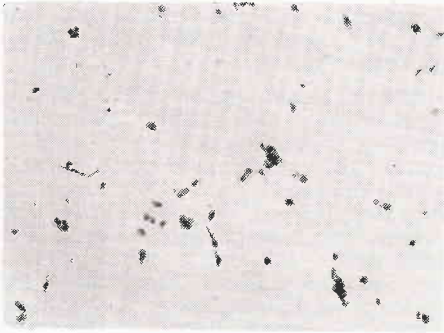
W celu sprawdzenia swoistości efektu użyto specyficznych surowic odpornościowych, wyprodukowanych uprzednio na królikach, które mieszano w równych częściach ze 100 TCID<sub>50</sub>% wymienionych szczepów wirusowych, podanych, bezpośrednio przed zakażeniem komórek, działaniu neutralizującemu surowicy w temperaturze 37°C przez okres 1 godz.

#### Wyniki i dyskusja

Próby rozpoznawania zakażenia mikrokultur komórek różnych narządów badanymi enterowirusami wypadły dodatnio, gdyż we wszyst-

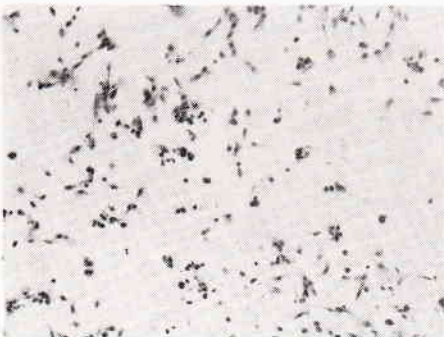
kich przypadkach uzyskano swoisty efekt cytopatyczny, hamowany przez swoiste surowice odpornościowe.

Działanie cytopatogenne poszczególnych wirusów charakteryzowało się pojawianiem się początkowo komórek zaokrąglonych a następnie rozluźnieniem jednolitego utkania komórkowego. Efekt cytopatyczny obserwowano w zależności od użytych do zakażenia komórek i wirusów w okresie od 12 do 72 godzin po zakażeniu. Efekt przybierał na nasileniu w miarę trwania procesu infekcyjnego w hodowli i objawiał się stopniowym odklejaniem warstwy komórek od powierzchni szkła i powstawaniem, różnej wielkości i kształtów, ubytków w warstwie komórek (ryc. 2, 3, 4). Zjawisko



Ryc. 2. Mikrokultura komórek nerki cielęcia — zakażona szczepem wirusa grupy ECBO H-786; rozc.  $10^{-110}$   
Fot. J. Pacewicz

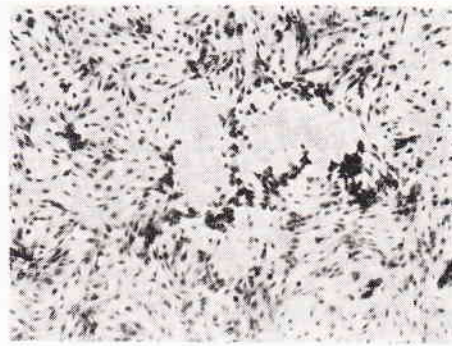
odklejania się komórek poprzedzane było powstawaniem drobnych ubytków w ciągłości warstwy w postaci t.zw. łysinek, które w miarę postępującego procesu infekcji zlewały się ze sobą tworząc coraz większe ubytki w utkaniu jednowarstwowej hodowli. Na tle zniszczonej warstwy komórek można było zauwa-



Ryc. 3. Mikrokultura komórek nerki cielęcia — zakażona szczepem wirusa grupy ECBO H-786; rozc.  $10^{-3.0}$   
Fot. J. Pacewicz

żyć, niekiedy nawet liczne, luźno rozrzucone skupiska jąder komórkowych jako pozostałości komórek uszkodzonych pod wpływem wirusa.

Ponieważ wszystkie użyte do zakażenia komórki okazały się wrażliwe na działanie cytopatogenne wybranych enterowirusów, można uważać, że zarówno komórki narządów płodu krów jak i węzłów chłonnych krów zdrowych i białaczkowych mogą stanowić odpowiedni



Ryc. 4. Mikrokultura komórek nerki cielęcia — zakażona szczepem wirusa grupy ECBO H-786; rozc.  $10^{-370}$   
Fot. J. Pacewicz

model do wykonywania badań cytodiagnostycznych z zakresu zakażeń wirusowych przewodu pokarmowego bydła oraz okazać się przydatne do badań wirusologicznych w rutynowej praktyce laboratoryjnej.

### Wnioski

1. Kultury komórek pochodzących z różnych narządów płodu krów oraz bydła dorosłego okazały się przydatne do hodowli enterotropowych wirusów bydła.

2. Użyte do doświadczeń komórki okazały się dogodnym modelem do wykonywania badań cytodiagnostycznych z zakresu zakażeń wirusami przewodu pokarmowego bydła.

3. Zastosowanie techniki mikrokultur czyni metodę cytodiagnostyczną prostą, praktyczną i wygodną do użycia, ułatwiającą szybką ocenę efektu cytopatycznego.

4. Opisana metoda cytodiagnostyczna nadaje się do wykonywania prób izolacji i identyfikacji wirusów jelitowych oraz rozpoznawania zakażeń wirusowych przewodu pokarmowego w rutynowej praktyce laboratoryjnej.

### Piśmiennictwo

1. Bögel K., Mayr A., Mussgay L., Klingler L.: Zentbl. Veil. Med. 8, 908, 1960.
2. Kunin C. M., Minuse E.: Conf. Publ. Health Vet., 1963.
3. Lépine P.: Technique de laboratoire et virologie humaine. Masson Edit., Paris, 1964.
4. Luginbuhl R. E.: Thesis graduate School Yale University 1958.
5. Madin S. G., Darby N. B.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 98, 574, 1958.
6. Petty R. E.: Amer. J. vet. Res. 26, 112, 787, 1965.
7. Röhrer H.: Handbuch der Virusinfektionen bei Tieren, Bd. V/2, Gustav Fischer Verlag, Jena, 1969.
8. Toma B.: Recl. Méd. vét. 142, 12, 1127, 1966.

Adres autora: dr Zbigniew Baczyński, Puławy, Al. Partyzantów 55, Instytut Weterynarii.

Бачиньски З. — Цитодиагностика энтеровирусных инфекций крупного рогатого скота.

Описали цитодиагностику вирусных инфекций пищеварительного тракта крупного рогатого скота при помощи микрокультур клеток из разных органов плодов и взрослых животных — с использованием в качестве модели штаммов-прототипов энтеровирусов крупного рогатого скота. Установили наличие специфического цитопатического эффекта энтеровирусов, что указывает на практическую возможность применения микрокультур разных клеток в исследованиях процесса инфекции in vitro

и для выделения и идентификации энтеровирусов крупного рогатого скота в рутинной вирусологической диагностике.

Baczyński Z. — **Cyodiagnosics of enterovirus infection in cattle. I. The application of cell cultures of different organs.**

The application of cytodagnostic method for the detection of viral infections of alimentary tract by

the use of microculture technique of cells, derived from various organs of bovine foetus and adult cattle, has been described. The examinations were carried out on the prototypic strains of cattle enteroviruses. There was observed a specific cytopathic effect of enteroviruses. This result points to the usefulness of microcultures of different cells to study the infection process *in vitro*, and for the isolation and identification of bovine enteroviruses for routine virological diagnostics.

BRONISŁAW SURMIAK

## Wpływ glikokortykoidów na śródskórny odczyn tuberkulinowy u bydła

Katedra Epizootiologii Wydziału Weterynarii WSR we Wrocławiu  
Kierownik: prof. dr T. SOBIECH

Hormony kory nadnerczy, których głównym działaniem jest regulacja objętości i składu cieczy ustrojowych oraz podstawowej przemiany materii odznaczają się także, zwłaszcza glikokortykoidy, wybitnymi właściwościami przeciwzapalnymi i przeciwuczulenowymi. Wykazano również hamujące działanie tych hormonów na limfocyty, które odgrywają decydującą rolę w powstawaniu i rozwoju późnych odczynów alergicznych, a więc także odczynu tuberkulinowego (5, 14, 19, 22—25, 29, 30).

Odczyn tuberkulinowy, wyprysk kontaktowy oraz szereg uczuleń bakteryjnych należy do grupy odczynów, w których nasilenie reakcji występuje dopiero po 24 godzinach. W jej przebiegu biorą udział swoiste czynniki zawarte w limfocytach, które pozbawione własnego ruchu reagują wolniej niż mniejsze, krążące, przeciwciała związane z odczynami wczesnymi (9, 12, 20).

Z chwilą wprowadzenia glikokortykoidów do kliniki gruźlicy zaobserwowano ich hamujący wpływ na odczyn tuberkulinowy potwierdzany następnie doświadczeniami na ludziach, małych zwierzętach laboratoryjnych, a w jednym przypadku na bydło (2, 3, 6—8, 10, 11, 13, 15—18, 21, 26, 28). Otrzymane wyniki różniły się jednak znacznie od siebie, co należy odnieść prawdopodobnie do nieporównywalnych często ze sobą warunków doświadczeń.

Celem pracy było sprawdzenie wpływu preparatów glikokortykoidowych, produkcji Polfa, na test tuberkulinowy u bydła, w rozmaitych fazach jego rozwoju.

### Materiał i metody

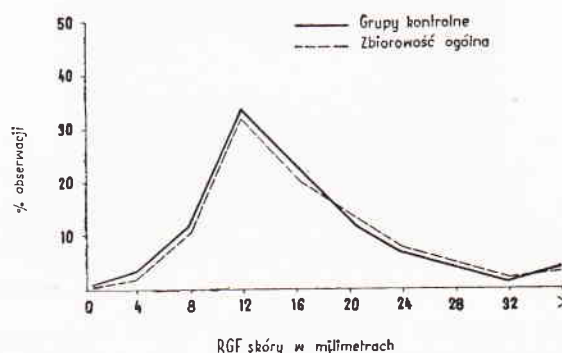
Jako materiał do badań użyto 1113 krów przebywających co najmniej od roku w izolatorach gruźliczych. W wystrzyżoną i odtłuszczoną skórę — na powierzchni około 30 cm wcierano; 1% maść hydrokortyzonową, 0,25% maść prednisolonową oraz maść Cortineff, w której skład wchodzi 0,1% 9-alfa-fluorokortyzonu. Maści te stosowano raz dziennie — przez 6 i 3 dni przed tuberkulinizacją, w dniu testu, a także przez następne dwie doby. W jednej serii doświadczeń stosowano maści w dniu testu, a także przez następne dwie doby, trzykrotnie w ciągu dnia. Zależnie od stę-

żenia preparatu wcierano jednorazowo 10 mg hydrokortyzonu, 2,5 mg dehydrokortyzonu, lub 1 mg octanu fluorohydrokortyzonu.

Sródskórnie stosowano octan lub hemibursztynian hydrokortyzonu. W jednej serii doświadczeń 5 mg hydrokortyzonu wstrzyknięto łącznie z tuberkuliną. W następnych, nastrzykiwano miejsce iniekcji tuberkuliny — w promieniu 2 cm — 24 mg bursztynianu, lub 50 mg hydrokortyzonu, w jednej dawce. Preparaty podawano bezpośrednio po tuberkulinizacji oraz po 24 i 48 godzinach.

Celem zorientowania się w ogólnej wrażliwości badanych krów na tuberkulinę w 5 oborach przeprowadzono wstępną tuberkulinizację 359 sztuk. Działac otrzymane wyniki na przedziały klasowe, obejmujące różnice grubości fałdu skóry (RGFs) w granicach 4 mm, otrzymano w przedziale 0—4 mm, obejmującym sztuki metrycznie ujemne lub wątpliwe, niecałe 1,5% obserwacji. Większość, bo prawie 70%, zawarta była w granicach 8—20 mm z wierzchołkiem liczącym 32,3% reakcji w przedziale 8—12 mm. Podobnie kształtował się później rozkład RGFs w 6 grupach kontrolnych serii doświadczeń z maściami, obejmujący 182 osobników (ryc. 1).

Ryc. 1. Wykres częstości rozkładu RGF skóry po tuberkulinizacji w 5-ciu izolatorach gruźliczych oraz w grupach kontrolnych.



### Omówienie i dyskusja

Przeprowadzona testem chi-kwadrat i testem Studenta analiza statystyczna materiału doświadczonego wykazała zależność odczynów tuberkulinowych od rodzaju użytego preparatu oraz czasu i sposobu jego podania.