

17. Nachreiner R. F., Ginther O. J.: Am. J. vet. Res. 35, 619, 1974.
18. Nachreiner R. F., Ginther O. J., Ribelin W. E., Carlson I. H.: Am. J. vet. Res. 32, 1065, 1971.
19. Nachreiner R. F., Garcia M. C., Ginther O. J.: Am. J. vet. Res. 33, 2489, 1972.
20. Nachreiner R. F., Ginther O. J.: J. Anim. Sci. 37, 322, 1973.
21. Pejsak Z., Tarasiuk K.: Bull. vet. Inst. Puławy 1986 (w druku).
22. Ringarp N.: Acta Agric. Scand. 7, 1, 1960.
23. Ross R. F., Zimmerman B. J., Wagner W. C., Cox D. F.: J. Am. vet. med. Ass. 187, 231, 1975.
24. Ross R. F., Harmon R. L., Zimmerman B. J.: Proc. IPVS. Congress, Mexico 1982.
25. Smith B., Wagner W. C.: Science 222, 605, 1984.
26. Smith B., Wagner W. C.: Am. J. vet. Res. 46, 175, 1985.
27. Stebodziński A.: Zarys endokrynologii zwierząt użytkowych. PWN Warszawa 1979.
28. Wandurski A.: Medycyna Wet. 29, 628, 1973.
29. Westphal O., Lüderitz O., Bister F.: Z. Naturforsch. 76, 148, 1952.

Adres autora: doc. dr hab. Zygmunt Pejsak, ul. Kościuszki 12/9, 24-100 Puławy

Тарасюк К., Пейсак З. — Участие эндотоксина *E. coli* в этиологии послеродовой алактагии у свиноматок

Цель работы состояла в определении влияния пути ввода эндотоксина и его дозы на течение послеродового периода у свиноматок. Для исследований использовали 16 супоросных свиноматок, разделенных на 3 группы: I — 6 самок, каждая 2 из которых получили эндотоксин внутривенно в дозах 6,6 мг/100 кг м.т., 4,4 мг/100 кг м.т. или 3,3 мг/100 кг м.т.; II — в которой каждая 2 самки получили эндотоксин в вымя в дозах 88 мг/100 кг м.т., 66 мг/100 кг м.т. или 44 мг/100 кг м.т.; III — 4 контрольные свиноматки.

Каждый раз эндотоксин вводили не позднее чем в течение 24 ч после родов. У всех подопытных самок в течение 24 ч после ввода эндотоксина на-

блюдали симптомы, характерные для развития coli — форм мастита — м.пр. рост внутренней теплоты, увеличение числа дыханий, ослабление материнского инстинкта и гипогалактию. В качестве показателя развития лактации приняли формирование привесов поросят через 24 и 48 ч после ввода самкам эндотоксина. Отметили, что в течение первых 24 ч эксперимента последовало понижение массы поросят от свиноматок I и II групп. Разница в привесах этих сосунов была статистически существенной относительно группы контрольных поросят.

Tarasiuk K., Pejsak Z. — The role of *Escherichia coli* endotoxin in aethiology of post-partum agalactia in sows

The aim of the studies was to determine the influence of the route of *E. coli* endotoxin application and their dose on the course of post-partum agalactia in sows. The examinations were performed on 16 pregnant sows in three experimental groups: I (6 animals) in which *E. coli* endotoxin was given intravenously at a dose of 6.6, 4.4 or 3.3 mg/100 kg, II (6 animals) in which endotoxin of *E. coli* was applied intramammary at a dose of 88, 66 or 44 mg/100 kg, III (4 sows) served as a control. In the first two groups *E. coli* endotoxin was applied during the first 24 h after parturition. In all experimental animals during 24 h since the application of *E. coli* endotoxin appeared clinical signs characteristic for coliform mastitis: increase of internal body temperature, respiration rate, debility of maternal instinct, hypogalactia. As the index of the course of lactation were accepted body weight gains in piglets after 24 and 48 h since the application of *E. coli* endotoxin. In the first 24 h of the experiment body weight gains decreased in piglets from sows of the I and II group. Differences were statistically significant in comparison to controls.

CEZARIUSZ ŻÓRAWSKI, PELAGIA SKWAREK, RYSZARD WOZIKOWSKI*, MIECZYSLAW MAJEK**

Aktywność biologiczna przeterminowanych tuberkulin PPD produkcji krajowej

Pracownia Immunologii Gruźlicy Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

* Zakład Higieny Weterynaryjnej, Pl. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

** Wojewódzki Zakład Weterynarii, ul. Ślemiradzkiego 18, 64-920 Pila

Zawartość w tuberkulinach PPD środków konserwujących w postaci 10% glicerolu oraz 0,5% fenolu sprawia, że preparaty te są stosunkowo trwałe. Okres ważności sporządzonej przez Brilla i Polityńską (1) tuberkuliny PPD dla ssaków wynosił dla półfabrykatu (tuberkulina skoncentrowana) 5 lat, a dla tuberkuliny rozcieńczonej *ad usum* 1 rok. W wyniku badań przeprowadzonych w 1965 r. przez Spryszaka i Żórawskiego (7) przedłużono okres ważności produkowanej przez Biowet tuberkuliny dla ssaków (Bovituberculin) o zawartości 1 mg PPD/ml na 18 mies. Badania te nie objęły tuberkuliny ptasiej zawierającej 0,25 mg PPD/ml i jej okres ważności wynosił nadal 1 rok. Z uwagi na częste przypadki przeterminowania tuberkulin będących w posiadaniu terenowych placówek służby weterynaryjnej lub Centrowetu i związanymi z tymi stratami, Ministerstwo Rolnictwa dopuściło w r. 1971 (6) możliwość

przedłużenia terminu obu tuberkulin o 6 mies., po uprzednim przeprowadzeniu przez Instytut Weterynarii odpowiednich badań. Tak więc po dodatkowym badaniu okres ważności tuberkuliny ssaków mógł być przedłużony do 24 mies., a tuberkuliny ptasiej do 18 mies.

Badania nad określeniem aktywności biologicznej tuberkuliny są pracochłonne i dość kosztowne. Przeprowadza się je na świnkach morskich albinosach sztucznie uczulonych prątkami gruźlicy. Niekiedy koszt badań przekracza wartość przeterminowanej tuberkuliny będącej w posiadaniu określonej placówki służby weterynaryjnej. Wyniki przeprowadzonych przez Pracownię Immunologii Gruźlicy Instytutu Weterynarii w Puławach badań dotyczące wartości diagnostycznej nadesłanych z terenu próbek przeterminowanych tuberkulin oraz materiały Komisji Wet. RWPG (5) zalecające 2 letni okres ważności dla tuberkuliny PPD bydłowej skłoniły

nas do opracowania już posiadanych materiałów oraz do wykonania dodatkowych badań mających na celu określenie aktywności biologicznej tuberkuliny produkcji krajowej w różnym okresie po sporządzeniu i wystandaryzowaniu, a także ustalenie, czy preparaty te zachowują pełną wartość diagnostyczną przez okres dłuższy, niż obowiązujący obecnie okres ich ważności.

Materiał i metody

W latach 1968—85 zbadano próbki 10 partii (z 7 serii) tuberkuliny ssaków, 1 partii tuberkuliny bydłowej AN₅ oraz 21 partii (z 15 serii) tuberkuliny ptasiej, które nadesłano do Instytutu Weterynarii w Puławach przez Oddziały terenowe WZWet. lub placówki Centrowetu, z różnych stron kraju, w celu przedłużenia terminu ich ważności. Numery badanych serii i partii podano w tabelach.

Ocenę aktywności biologicznej przeterminowanych, bądź też będących w ostatnim miesiącu ważności preparatów, przeprowadzono na świnkach morskich-albinosach sztucznie uczulonych *Myc. tuberculosis* C, DT, PN, *Myc. bovis* AN₅ lub *Myc. avium* D₄ER, według obowiązujących zasad (8). Każdą próbę wykonywano na 8—10 zwierzętach. Jako preparatów odniesienia dla tuberkulin ssaków i ptasiej użyto odpowiednich standardów krajowych (9, 10), a w odniesieniu do tuberkuliny bydłowej — standardu tuberkuliny bydłowej otrzymanego z Central Veterinary Laboratory, Weybridge.

Podobnymi badaniami objęto ponadto próbki 3 serii tuberkuliny ssaków i 3 serii tuberkuliny ptasiej, które utraciły ważność przed 4—8 laty. Preparaty te przechowywane były w chłodni Instytutu, w temp. około 4°.

Dodatkowo wartość diagnostyczną przeterminowanych tuberkulin zbadano na bydło w stadach zakażonych *Myc. bovis* oraz w stadach, w których występowały nieswoiste uczulenia. Po jednej stronie szyi zwierzęcia wykonywano porównawczy test tuberkulinowy z użyciem tuberkulin bydłowej i ptasiej, aktualnie ważnych, a po drugiej stronie podobny test stosując tuberkuliny przeterminowane. Po 72 godz. dokonywano pomiarów zgrubienia fałdu skóry według obowiązujących przepisów i porównywano wielkość odczynów na analogiczne preparaty. W badaniach tych użyto tuberkuliny bydłowej s. 20781 i ptasiej s. 180682 przeterminowanych ponad 1 rok oraz tuberkulin bydłowej s. 10880 i ptasiej s. 171180, których termin ważności minął przed 3 laty. Preparaty te były przechowywane w chłodni. Łączna liczba bydła zbadanego przy użyciu tych preparatów wynosiła 509 zwierząt.

Wyniki i omówienie

Wyniki zestawione w tab. 1 i 2 wskazują, że aktywność biologiczna wszystkich tuberkulin przeterminowanych lub będących w końcowej fazie ich ważności, nadesłanych do badań przez terenowe placówki służby wet., była podobna do aktywności tych preparatów przed ich dopuszczeniem do obrotu i stosowania. Pewne różnice w wielkości wskaźnika aktywności in plus i in minus mieszczą się w granicach błędów próby. Można więc przyjąć, że preparaty te, po upływie terminu ważności posiadały pełną wartość diagnostyczną. Na podstawie przeprowadzonych badań przedłużono ich ważność na dalsze 6 mies. Dane zawarte w tabeli 3 świadczą, że aktywność tuberkulin przeterminowanych, przechowywanych w chłodni przez okres 4—8 lat

Tab. 1. Aktywność biologiczna tuberkuliny ssaków i bydłowej określona na świnkach morskich

Lp.	Nr serii i partii	Wskaźnik aktywności w stosunku do standardu	
		przed dopuszczeniem do obrotu	w chwili upływu terminu ważności
1	220 674 p. 1	100,0	99,4
2	231 174 p. 2	98,5	95,3
3	231 174 p. 2	96,5	100,4
4	241 075 p. 1	101,4	100,0
5	241 075 p. 2	100,0	97,3
6	270 678 p. 1	98,6	100,0
7	281 079 p. 1	101,9	99,5
8	281 079 p. 2	101,0	100,0
9	290 381 p. 1	102,0	100,0
10	290 381 p. 2	101,0	101,0
11	20 781 p. 2 (AN ₅)	94,3	95,9

obniża się tylko nieznacznie i dotyczyło to głównie tuberkuliny ptasiej, która zawiera dwukrotnie mniejszą koncentrację białka tuberkulinowego (0,25 mg PPD/ml), niż tuberkulina bydłowa (0,5 mg PPD/ml). Lesslie i Hebert (4) wykazali, że adsorpcja PPD na szkle fiołki i wiążące się z tym obniżenie aktywności biologicznej tuberkuliny zachodzi szybciej w preparatach rozcieńczonych, niż o dużej koncentracji białka tuberkulinowego.

Dane zawarte w tab. 4, dotyczące badań na bydło świadczą, że aktywność tuberkuliny bydłowej i ptasiej przechowywanych w chłodni przez okres 1—3 lat po upływie daty ich ważności, była podobna do aktywności tuberkulin aktualnie ważnych. Pewne różnice w średnich wielkości odczynów obliczonych dla całego stada, mogą wynikać częściowo z różnic aktywności wyjściowej poszczególnych serii, czy partii, użytych tuberkulin. Dopuszcza się bowiem

Tab. 2. Aktywność biologiczna tuberkuliny ptasiej określona na świnkach morskich

Lp.	Nr serii i partii	Wskaźnik aktywności	
		przed dopuszczeniem do stosowania	w chwili utraty terminu ważności
1	87 072 p. 2	97,2	97,2
2	90 374 p. 1	100,0	103,9
3	90 374 p. 2	107,0	107,6
4	100 175 p. 1	98,2	93,2
5	110 575 p. 2	99,3	100,0
6	120 575 p. 1	100,0	98,0
7	120 575 p. 3	105,0	99,0
8	140 578 p. 2	103,0	100,0
9	151 178 p. 1	98,5	97,3
10	151 178 p. 2	100,0	100,0
11	151 178 p. 3	100,0	96,5
12	160 280 p. 1	95,0	95,0
13	160 280 p. 2	98,3	98,9
14	171 180 p. 1	91,7	93,0
15	171 180 p. 2	98,3	98,9
16	171 180 p. 3	98,0	98,9
17	171 180 p. 4	100,0	95,7
18	180 682 p. 1	98,5	100,0
19	180 682 p. 2	93,9	97,0
20	180 682 p. 3	100,0	98,6
21	180 682 p. 4	103,0	100,0

Tab. 3. Aktywność biologiczna przeterminowanych tuberkulin określona na świnkach morskich

Preparat i seria	Wskaźnik aktywności wyjściowej	Okres przeterminowania w latach	Wskaźnik aktywności po przeterminowaniu
Bovituberculin s. 270 678	104,0	4	101,8
s. 250 876	105,0	6	98,3
s. 220 674	102,5	8	100,0
Avituberculin s. 140 578	103,0	4	88,7
s. 120 576	100,0	6	90,7
s. 90 374	100,0	8	90,8

Tab. 4. Aktywność biologiczna tuberkulin bydłowej i ptasiej w okresie ich ważności oraz po 1—3 letnim przeterminowaniu, w badaniach na bydło

Nazwa gospodarstwa	Średnie odczyny (w mm) na:				Liczba zwierząt
	tub. ważne		tub. przeterminowane		
	byd.	pt.	byd.	pt.	
St. Lubiana	0,29	0,38	0,20	0,42	103
Bystra	1,50	1,91	1,40	2,02	90
Skic	0,73	1,40	0,61	1,41	90
Janikowo I	2,11	4,78	2,05	4,29	49
Janikowo II	1,33	3,85	1,87	3,39	77
Bukowiec	0,33	0,63	0,23	0,45	100

Tab. 5. Liczba zwierząt zakażonych *Myc. bovis* lub nieswoiście uczulonych reagujących silniej, podobnie lub słabiej na tuberkulinę w okresie ich ważności (W) i przeterminowanej (P)

Tuberkulina	W > P	W = P	W < P
bydła	18	172	11
ptasia	25	147	21

Objaśnienia: W > P odczyn większy na tub. ważną, niż przeterminowaną, ponad 1 mm, W = P różnica wielkości odczynów nie przekraczała 1 mm, W < P odczyn na tub. ważną mniejszy niż na przeterminowaną o ponad 1 mm.

10% odchylenie w górę i dół wskaźnika aktywności biologicznej standaryzowanej tuberkuliny w stosunku do aktywności standardu (8).

Wyniki zestawione w tab. 5 wskazują, że u bydła zakażonego *Myc. bovis* lub nieswoiście uczulonego, tuberkulina bydłowa „ważna” dała u 18 zwierząt silniejsze odczyny niż przeterminowana, u 172 zwierząt stwierdzono reakcje podobne, a w 11 przypadkach reakcje na tuberkulinę przeterminowaną były silniejsze, niż na ważną. Podobne wyniki uzyskano z tuberkulinami ptasimi, z tym, że nawet więcej silniejszych reakcji stwierdzono na tuberkulinę przeterminowaną, niż ważną (25 : 25). Różnice w wielkości odczynów na porównywane tuberkuliny u poszczególnych zwierząt mogą być wynikiem zarówno błędu technicznego (niekiedy część preparatu wypływa po iniekcji, lub dostaje się pod skórę), jak i niejednakowego uczulenia skóry w różnych miejscach szyi zwierzęcia. Odgrywa tu rolę także grubość skóry oraz ilość

tkanki podskórnej w miejscu wykonywania próby. Ogólnie można powiedzieć, że aktywność przeterminowanych tuberkulin, będących przedmiotem badań, była podobna do aktywności odpowiednich preparatów z aktualną datą ważności.

Zakładając, że w niektórych terenowych placówkach służby weterynaryjnej tuberkuliny są przez pewien czas przechowywane w temperaturze pokojowej, można przyjąć, że preparaty te przez okres co najmniej 6—12 mies. po obecnie obowiązującym okresie ważności zachowują wymaganą aktywność biologiczną i pełną wartość diagnostyczną. Według Haagsma i wsp. (2) bowiem minimalna dawka diagnostyczna tuberkuliny bydłowej wynosi 2 tys. jedn. tuberk. W Polsce tuberkulinę tę stosuje się w dawce 5—7,5 tys. jedn. tuberk. (3, 11).

Wniosek

Wyniki badań tuberkulin nadesłanych z terenu w latach 1968—85 w celu przedłużenia terminu ich ważności oraz przeterminowanych tuberkulin przetrzymywanych w warunkach chłodni wskazują, że tuberkuliny PPD bydłowa i ptasia produkowane przez Puławskie Zakłady „Biowet” są preparatami trwałymi, ich aktywność biologiczna i wartość diagnostyczna nie zmienia się praktycznie w ciągu co najmniej 2 lat i przez ten okres mogą być używane do rozpoznawania gruźlicy zwierząt, bez konieczności wykonywania dodatkowych badań.

Piśmiennictwo

- Brill J., Polityńska E.: Tuberkulina PPD, PWRiL, Warszawa 1960.
- Haagsma J., O'Reilly L. M., Dolbelaer R., Murphy T. M.: J. Biol. Stand. 10, 273, 1932.
- Instrukcja w sprawie postępowania służby weterynaryjnej w zakresie rozpoznawania oraz zwalczania i zapobiegania gruźlicy bydłowej. Min. Rol. Dep. Wet. 1961.
- Lesslie I. W., Hebert N. C.: Proc. VII Intern. Congr. Microbiol. Stand. London. 247, 1961.
- Metod izgotowienia i kontrolia tuberkulina (PPD). Materiały RWPG, Moskwa 1980.
- Pismo Min. Rol. Dep. Wet. Nr. WET-L-003/970 z dn. 5 sierpnia 1971.
- Spryszak A., Zórawski C.: Badania nad wartością diagnostyczną przeterminowanej tuberkuliny PPD ssaków. PZPE, Puławy. 1965.
- Spryszak A., Zórawski C.: Metody kontroli tuberkuliny PPD ssaków. Inst. Wet. Puławy 1970.
- Snovszak A., Zórawski C., Wiśniewski Z.: Medycyna wet. 25, 481, 1969.
- Spryszak A., Zórawski C., Wiśniewski Z.: Medycyna wet. 26, 598, 1970.
- Zórawski C., Karpiński T., Wiśniewski Z.: Medycyna wet. 37, 915, 1983.

Adres autora: prof. dr hab. Cezariusz Zórawski, ul. 29-lecia PRL 6 m. 16, 24-160 Puławy

Журавский Ц., Скварек П., Возиковский Р., Маек М. — Биологическая активность просроченных туберкулинов PPD отечественного производства

Исследования проводили на морских свинках, искусственно сенсибилизированных *Myc. tuberculosis* C. DT, PN, *Myc. bovis* AN₅ и *Myc. avium* D₅ER, и крупном рогатом скоту, зараженном *Myc. bovis* и неспецифически сенсибилизированном. Констатировали, что туберкулины PPD крупного рогатого скота и птиц производства Biowet сохраняют требуемую биологическую активность и диагностическую ценность не менее чем 2 года после их изготовления ad usum.

Zórawski C., Skwarek P., Wozikowski R., Majek M. — **Biological activity of PPD tuberculins produced in Poland**

The studies were carried out on guinea-pigs sensitized with *Mycobacterium tuberculosis* C, DT and PN, *Myc. bovis* AN₅, and *Myc. avium* D₄ER, and also on

cattle naturally infected with *Myc. bovis* or sensitized nonspecifically. It was shown that bovine and avian PPD tuberculins produced by Biological Laboratories „Biowet” preserved their biological activity and diagnostic value for at least two years after preparation „ad usum”.

ZBIGNIEW BACZYŃSKI, DANUTA SKULMOWSKA-KRYSZKOWSKA

Ocena wstępna nieszkodliwości i właściwości immunogennych krajowej szczepionki przeciwko grypie koni

Zakład Wirusologii Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Grypa u koni jest zakaźną i zaraźliwą chorobą wywołaną przez dwa podtypy wirusa A-equi (1) Praha/56 i A-equi (2) Miami (63). Podtyp A-equi (1) wyizolowany został przez Sowinową i wsp. w CSRS w 1956 r. (6), zaś podtyp A-equi (2) przez Waddela i wsp. w USA w 1963 r. (9). Zakażenie tymi dwoma podtypami wirusa przebiega wśród ostrego zapalenia płuc i oskrzeli.

Grypa koni w Polsce ma przebieg enzootyczny, występuje okresowo, najczęściej w okresie wiosennym i jesienno-zimowym. Z chwilą wybuchu enzootii choroba rozprzestrzenia się szybko i obejmuje stopniowo coraz większą liczbę zwierząt (2, 3, 10, 11, 12). Enzootie powodują padnięcia zwierząt w granicach od 0,02 do 4,0% oraz straty ekonomiczne związane z okresowym wstrzymaniem eksportu koni oraz koniecznością wyłączenia zwierząt z pracy na okres kilku tygodni (4, 5, 13, 14).

Obydwa podtypy wirusa, aczkolwiek spokrewnione antygenowo, wykazują różnicowane właściwości chorobotwórcze. Dotyczą one zarówno nasilenia objawów klinicznych i zmian histopatologicznych w płucach i oskrzelach, jak i wysokości miana infekcyjnego względnie hemaglutynacyjnego oraz miana przeciwciał hamujących hemaglutynację. Podtyp A-equi 2 jest bardziej patogenny, aniżeli podtyp A-equi 1, w stosunku do którego przeciwciała odpornościowe posiadają prawie wszystkie konie dorosłe. Jest on szczególnie chorobotwórczy dla zwierząt młodych, natomiast podtyp A-equi 2 wywołuje zachorowania u koni w różnym wieku, ponieważ nie jest jeszcze szeroko rozpowszechniony u zwierząt (4).

Aktualnie w Polsce konie z gospodarstw indywidualnych nie są uodporniane przeciw grypie. Natomiast konie w państwowych stadniach, w stadach ogierów lub w stajniach treningowych szczepione są nieregularnie i często niezgodnie z przyjętym normogramem szczepień. Do uodporniania tych koni stosowane są szczepionki importowane Prevacun lub Resequin produkcji Behringwerke RFN oraz Gripif-1 produkcji francuskiej firmy Merieux.

Brak dotychczas krajowej szczepionki powo-

duje, że większość koni nie jest uodporniana, co ze względu na sezonowy i cykliczny przebieg epizootii grypy — staje się przyczyną dużych strat. Opracowanie zatem krajowej szczepionki przeciw grypie koni wydaje się celowe, a jej wdrożenie do praktyki weterynaryjnej jak najbardziej uzasadnione i konieczne.

Celem opracowania było:

— przygotowanie inaktywowanej szczepionki biwalentnej przeciw grypie koni, w oparciu o dwa podtypy wirusa oraz

— wstępna ocena jej nieszkodliwości i właściwości immunogennych w badaniach laboratoryjnych.

Materiał i metody

Do sporządzenia szczepionki użyto 2 podtypów wirusa grupy A-equi 1 i A-equi 2, izolowanych od koni naturalnie zakażonych w przebiegu enzootii grypy. Wirusy pasażowano 10-krotnie przez 9–10-dniowe zarodki kurze, zakażane doomocznio w ilości 0,2 ml płynów omocznioowych zarodków poprzedniego pasażu wirusa A-1 i A-2. Do zakażenia zarodków przeznaczonych do sporządzenia szczepionki użyto 100 LD₅₀ dla zarodków wirusa A-1 i A-2, zawartych w 0,2 ml mieszaniny płynów omocznioowych zarodków zakażonych 10. pasażem wirusa obydwu podtypów. Materiał wirusowy stanowiły płyny omocznioowe zebrane oddzielnie z zarodków zakażonych wirusem A-1 i A-2.

Płyny omocznioowe, pochodzące z zarodków zakażonych oddzielnie obydwoma podtypami wirusa, podzielono następnie na 2 części. Jedną część poddano wirowaniu przy 4500 g w ciągu 20 minut; uzyskany z nad osadu płyn stanowił materiał wirusowy niezagęszczony. Drugą zaś partię płynu poddano wirowaniu jak poprzednio; uzyskany z nad osadu płyn zagęszczano 100-krotnie przez wirowanie przy 170.000 g przez 2 godziny, przy użyciu wirówki MSE-65 (7, 8). Uzyskany po odwirowaniu osad, stanowiący materiał wirusowy zagęszczony, zawieszano w 2 ml jałowej wody redestylowanej. Obydwie partie wirusa A-1 i A-2, niezagęszczonego i zagęszczonego, mianowano w celu określenia jego właściwości infekcyjnych i hemaglutynacyjnych. Zawiesiny te — podane królikom domięśniowo, dwukrotnie w odstępie 4 tygodni, w ilości po 2 ml dawki dla konia — użyte zostały do uodporniania 20 zwierząt, w celu określenia w ich surowicy poziomu przeciwciał hamujących hemaglutynację (HI), seroneutralizujących (SN) oraz wiążących dopełniacz (WD). Poziom przeciwciał określano według ogólnej przyjętej techniki, 6-krotnie w odstępie 2 tygodni, w ciągu 12 tygodni po pierwszym uodpornieniu.

Właściwości immunogenne określano dodatkowo na 6 koniach doświadczalnych, uodpornianych dawką