

WANDA BORZEMSKA

Donosowe uodpornianie piskląt przeciw chorobie Newcastle za pomocą szczepów NDV LaSota i F*)

Z Zakładu Chorób Drobiu SGGW w Warszawie
Kierownik: doc. dr KAZIMIERZ MAREK

Szerokie rozpowszechnienie na całym świecie szczepionek przeciw rzekomemu pomorowi ptaków opartych na szczepach lentogenicznych, stworzyło konieczność opracowania najkorzystniejszej drogi wprowadzenia ich do organizmu.

W produkcji szczepionek różne kraje posługują się rozmaitymi szczepami. W wyborze drogi wprowadzenia aspekt praktyczny na ogół odgrywa decydującą rolę. Najszerzej rozpowszechniły się szczepienia przez przewód pokarmowy (doustne), oraz do układu oddechowego (donosowe, pyłowe, mgły).

W Polsce znalazły zastosowanie dwa szczepy NDV, F-Asplina (1) na którym wyprodukowano donosową szczepionkę F oraz szczep LaSota, który służy do produkcji doustnej szczepionki L. Obydwa wymienione wprowadził Marek (3, 4, 5).

Szczep F znalazł szerokie zastosowanie we wschodniej Europie i Azji. Również we Włoszech Baldelli (2) wprowadził ten szczep do uodpornienia kurcząt metoda doustną. W krajach zachodnich najczęściej używa się do produkcji tego rodzaju szczepionek szczepu B-Hichnera, chociaż ostatnio zastosowano i szczep LaSota. Winterfield, Goldman, Seadale (7) używali wszystkich trzech szczepów do uodpornienia doustnego.

Brak w literaturze danych o wartości szczepu LaSota do uodporniania drogą układu oddechowego uwarunkował podjęcie tego tematu. Celem pracy było oznaczenie stopnia wartości szczepu LaSota do szczepień donosowych przez porównanie go z opracowanym już szczepem F.

Materiał i metody

Szczepy: Do produkcji doświadczalnej szczepionki użyto szczepów lentogenicznych NDV LaSota i F. Szczepionkę wyprodukowano na 10-dniowych zarodkach jaj kurzych pochodzących od ptaków uodpornionych przeciwko pomorowi rzekomemu. Szczepionkę po wstępnej kontroli poddano liofilizacji. Z kolei oznaczono miano HA (hemaglutynacji) i ID_{50} (dawka infekcyjna dla 50% zarodków kurzych) oraz wykonano domózgowy test na pisklętach nie posiadających odporności biernej celem oznaczenia mózgowego współczynnika śmiertelności charakterystycznego dla szczepów lentogenicznych. Współczynnik dla tych szczepów winien kształtować się poniżej 0,25.

Szczepionkę w niewielkich seriach przechowywano w próżni, w temperaturze chłodni. Na krótko przed użyciem liofilizat restytuowano wodą destylowaną. Ze względu na różnicę o 1 log. ID_{50} obu szczepionek, szczepionkę opartą na szczepie LaSota zadawano w stanie nierozcieńczonym, a szczepionkę zrobioną na szczepie F rozcieńczano 50% glicerolem. Tym samym każdy ptak otrzymał równą ilość aktywnych cząstek wirusowych.

Pisklęta szczepiono do układu oddechowego metodą zakraplania do nosa.

Do zakażeń domięśniowych użyto terenowy szczep NDV-Cz w ilości 10^9 dawek letalnych na ptaka.

Dane doświadczalnych szczepów ilustruje tabela 1.

Zwierzęta doświadczalne: Do badań użyto piskląt jednodniowych rasy zielononózka pochodzących od matek nieuodpornionych przeciwko rzekomemu pomorowi ptaków. Miano HI w chwili rozpoczęcia

Tab. 1.

L. p.	Szczep	ID_{50}	Ha	Mózgowy współcz. śmiert. piskląt
1	LaSota	$3/3 \cdot 10^{-9}$	1280	0
2	F	$3/3 \cdot 10^{-10}$	5120	0,05

prób wynosiło 5 i 0. Krew do badań pobierano przez skrwawienie lub z żyły skrzydłowej ptaka i natychmiast po oddzieleniu się surowicy wykonywano HI od każdego osobnika oddzielnie. Zakażenie wirusem zjadliwym wykonywano w bateriach z przedziałami na 3—4 sztuki, do których rozdzielono losowo ptaki z obydwóch grup. Kontrolę zarazka zjadliwego stanowiło 5 kurcząt w wieku 12 tygodni wrażliwych na pomór.

Testy serologiczne HA (hemaglutynacji) i HI (hamowania hemaglutynacji) wykonano metodą alfa wg FAO. Do oznaczeń serologicznych użyto szczepu F.

Przebieg badań

Doświadczenie I. Użyto piskląt jednodniowych, którym podano donosową szczepionkę opartą na szczepie LaSota. Miano HI oznaczono w 3 tygodniu oraz w przeddzień zakażenia zarazkiem zjadliwym, w 19 tygodniu po szczepieniu.

Doświadczenie II. Użyto 15 piskląt jednodniowych, które zaszczepiono szczepionką opartą na szczepie F. Jego własności uodporniające dla kurcząt i kur zostały już opisane. (2,3,4,5). Miano HI oraz challenge ptaków wykonano w tych samych terminach jak w doświadczeniu poprzednim.

Kontrola. Użyto tutaj również 15 kurcząt jednodniowych, które nie otrzymały szczepionki w ogóle. Doświadczenie to stanowiło kontrolę pomieszczenia ze względu na możliwość rozsiewania się szczepu LaSota. Pisklęta tej grupy obserwowano przez okres 3 tygodni od chwili założenia doświadczeń, po czym oznaczono ich miano HI i wyłączone z doświadczenia.

Wszystkie trzy grupy nie miały ze sobą bezpośredniego kontaktu przez okres 6 tygodni, odchowano je w osobnych bateriach.

Po upływie 6 tygodni korzystały ze wspólnego wybiegu, gdzie przebywały do końca doświadczenia.

Kształtowanie się mian serologicznych w 3 i 19 tygodniu po szczepieniu ilustruje tabela 2.

Po upływie 19 tygodni u wszystkich ptaków doświadczalnych oznaczono miano HI (tabela 2). Następnie zakażono je letalną dawką terenowego wirusa ND. Zakażone ptaki obserwowano przez okres 17 dni, notując zachowanie się każdego ptaka oddzielnie. Przebieg zakażenia ilustruje wykres.

Wyniki i omówienie

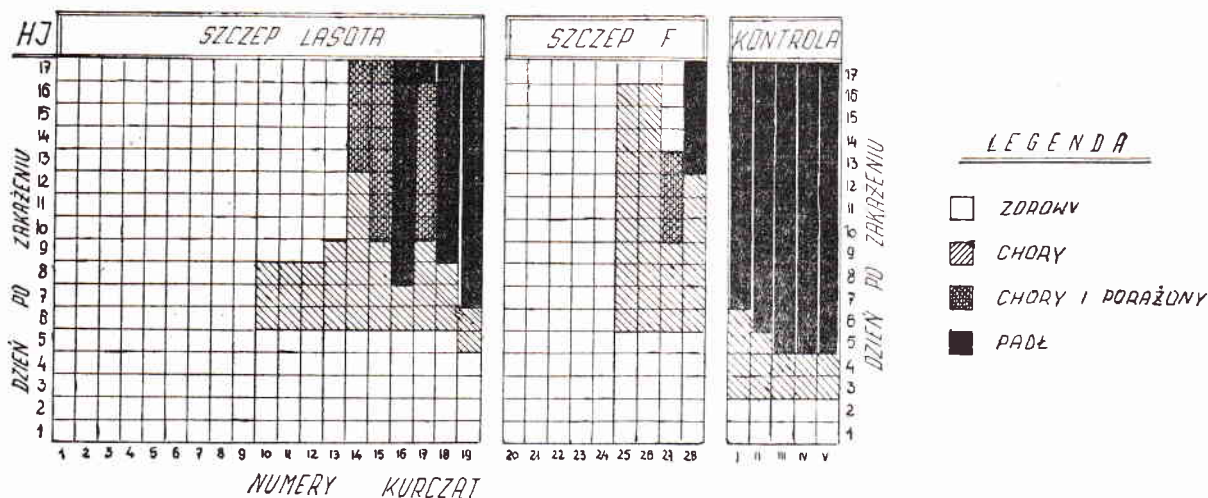
Celem pracy było porównanie dwu lentogenicznych szczepów NDV LaSota i F przy uodpornieniu piskląt jednodniowych metodą donosową. Uważa się, że szczep LaSota wywołuje silniejszą odporność i wydziela się przez dłuższy okres czasu z ustroju zakażonego ptaka. Dane te jednak odnoszą się do doświadczeń z kurczętami uodpornionymi metodą doustną.

*) Praca została wykonana na materiale udostępnionym przez Branżowe Laboratorium Badawcze ZPJD w Poznaniu. Za okazaną pomoc autorka wyraża podziękowanie.

Tab. 2

L. p.	Grupa	Data szczep.	Szczep.	Ilość ptaków	Miano HI przed dośw.	Po 3 tyg.	Przed zakażeniem		
							wiek	ilość	miano HI
1	I	8.VI	LaSota	30	0, 0, 5	1280 160 160	19 tyg.	19	40, 40 10, 10 20, 20 20, 10 10,160 80,640 160,160 40,320
2	II	8.VI	F	15	0, 0, 5	1380 1280 40	19 tyg.	9	40,20 20,80 80,10 320,80 640
3	kontrola	nie szczep.		15	0, 0, 5	0, 0 0, 10			
4	kontrola szczepu zjadliwego						12 tyg.	5	0,10 0,10

PRZEBIEG ZAKAŻENIA W 19 TYGODNI PO ZASZCZEPIENIU



Wskaźnikiem porównawczym wywołanej odporności jest obserwacja przebiegu zakażenia w 19 tygodniu po zaszczepieniu, tj. w okresie kiedy rozpoczął się spadek mian HI i połowa doświadczalnych ptaków z obydwóch grup posiadała już miano ujemne. (Przy HI wykonywanym metodą alfa miano poniżej 80 przyjmuje się za ujemne). Jak wynika z doświadczeń w grupie szczepionej szczepem LaSota pierwsze objawy chorobowe zauważono 5 dnia, a u nielicznych ptaków nieznaczną osowiałość 6 dnia po zakażeniu. Nie obserwowano objawów chorobowych u 9 kurcząt (nr 1 do 9). Nieznaczne objawy chorobowe wystąpiły u 4 kurcząt (nr 10 do 13), które jednak po trzech lub czterech dniach ustąpiły. Trzy sztuki padły po krótkim okresie choroby (nr 16, 18 i 19).

Na sekcji stwierdzono zmiany anatomo-patologiczne typowe dla pomoru rzekomego ptaków. Jedno kurczę padło po dłuższym okresie choroby (nr 17), jednak bezpośrednią przyczyną

śmierci był uraz. Na sekcji stwierdzono charakterstwo.

W grupie szczepione szczepem F objawy chorobowe wystąpiły 6 dnia po zakażeniu. Nie obserwowano objawów chorobowych u pięciu kurcząt (nr 20 do 24). Chorowały 3 kurczęta (nr 25 do 27), które wróciły do zdrowia. Jedno zaś padło po dłuższym okresie choroby (nr 29). Na sekcji stwierdzono zmiany typowe dla pomoru rzekomego.

U ptaków użytych do kontroli szczepu zjadliwego wystąpiły pierwsze objawy chorobowe. Z grupy tej 5 dnia padły trzy kurczęta, 6 dnia jedno kurczę a 7 dnia ostatnie. Na sekcji stwierdzono zmiany typowe dla pomoru rzekomego. Z doświadczeń wynika, że tak z wysokości miana HI, jak i przebiegu zakażenia nie zauważono znamiennych różnic między szczepami LaSota i F w wartości uodporniającej przy metodzie podania do nosa. Nieznaczne różnice w wysokości miana HI stwierdzone

przed zakażeniem na korzyść szczepu F oraz wyższy procent śmiertelności po zakażeniu wirusem zjadliwym ptaków szczepionych szczepem LaSota nie daje podstaw do przypuszczenia, że szczep F przy szczepieniu do układu oddechowego daje lepsze rezultaty. O tym, że obydwie grupy doświadczalne szczepionych ptaków były dobrze odizolowane i nie doszło do wzajemnego przenikania zarazków szczepionkowych świadczy brak reakcji u kontrolnej grupy, która jeszcze po trzech tygodniach od chwili założenia doświadczenia wykazywała ujemne HI.

Jednakowa koncentracja wirusa w szczepionce zapewniała dokładną skalę porównawczą siły uodporniającej obydwóch szczepów.

1. Szczep NDV La Sota i F nadają się do uodporniania drogą układu oddechowego.

2. Nie zauważono znamienych różnic między tymi dwoma szczepami w odczynie hamowania hemaglutynacji.

3. Zauważono wyższy procent śmiertelności po zakażeniu szczepem zjadliwym u ptaków szczepionych szczepem LaSota.

4. Objawy chorobowe utrzymywały się dłużej u ptaków szczepionych szczepem F.

Piśmiennictwo

1. Asplin F. D.: Immunisation against Newcastle Disease with of low virulence (strain F) and observations on subclinical infection in partially resistant fowls. *Vet. Record* 1952, 17 t., str. 245—249.
2. Baldelli B.: Studio della immunita net polli vaccinati contra la pseudopeste con virus attenuato introdotto per via orale. *Atti della Societa Italiana delle Scienze Veterinarie* Volume, 1956.
3. Marek K.: Studies on Lentogenic B₁, F and La Sota Strains of Newcastle Disease Virus (NDV). *Bulletin de L'Institut Veterinaire de Pulawy*. Nr. 1—2 I—VI, 1960, str. 12—14.

4. Marek K., Raszevska H.: Doustne uodparnianie kur przeciw pomorowi rzekomemu ptaków szczepem NDV F-107. *Roczniki Nauk Rolniczych* T. 68-E-4, 1958.
5. Marek K., Raszevska H., Borzemska W.: Badania nad wartością uodparniającą szczepionki F wprowadzonej do układu oddechowego (w druku).
6. Winterfield R. W., Goldman C. L., Seadale: Newcastle Disease Immunisation Studies. 4. Vaccination of chickens with B₁, F and LaSota strains of Newcastle Disease Virus administered through the drinking Water. *Poultry Science* 1957, t. 36, str. 1076—1088.

Adres autora: Wanda Borzemska, Zabki k. Warszawy, Czewnica Nadleśnictwo, ul. Jelenia 2.

Божемска В. — ИММУНИЗАЦИЯ ЦЫПЛЯТ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ ПУТЕМ ВВЕДЕНИЯ ШТАММОВ NDV И F В ДЫХАТЕЛЬНЫЙ ТРАКТ.

Автор сравнил иммунизирующую пригодность двух лентогенических штаммов NDV и F LaSota вводимых в носовое отверстие однодневных цыплятам.

Птицам вводили одинаковую концентрацию вируса в вакцине. Сравнительным показателем пригодности штаммов было заражение безвредным вирусом в моменте обнаружения у 50% испытуемых птиц отрицательного титра HI (19 недель). Не обнаружено существенных различий в иммуногенной способности штаммов LaSota и F при их введении в дыхательный тракт птиц.

Borzemska W. — Intranasal immunization of chicks against Newcastle disease using the strains NDV LaSota and F.

Comparative studies were conducted on the suitability for the immunization of one-day old chicks using the intranasal method of infection with two lentogenic strains of NDV LaSota and F. The birds received an uniform concentration of the virus in the vaccine. As the comparative scale of the value of the strains was the infection with the virulent virus at the moment when one half of the total number of the birds had a negative HI titre (19 weeks). No significant differences were demonstrated in the immunizing power between the strains LaSota and F when they were introduced into the respiratory system.

LEOPOLD UGORSKI

Uwagi nad serodiagnostyką brucelozy u owiec

Z Wojewódzkiego Zakładu Higieny Weterynaryjnej we Wrocławiu
Kierownik: dr L. UGORSKI

Sugestie Wiśniowskiego proponujące rozpoczęcie dyskusji nad nowelizacją dotychczasowej instrukcji poświęconej serodiagnostyce brucelozy wydają się słuszne i uzasadnione. Są one wynikiem obecnego stanu prac teoretycznych i praktycznych z tego zakresu, ogłaszanych w piśmiennictwie krajowym i zagranicznym.

Fakt wydzielenia po raz pierwszy w Polsce w 1960 r. przez WZHW we Wrocławiu pałeczki maltańskiej (*Br. melitensis*) z poronionych płodów owczych podkreślił konieczność wzmożenia kontroli nad stadami owiec (zwłaszcza roniącymi).

Kontroli, która w pierwszym rządzie została oparta na masowych badaniach serologicznych krwi, podobnie jak to wykonuje się przy brucelozie u bydła, gdzie sposób prowadzenia czynności diagnostycznych i interpretację

otrzymanych wyników normuje ustawa z dnia 9.III.1951 (Dz. Urz. Mm. Roln. i RR nr 6, poz. 43). Brak podobnych wytycznych przy serodiagnostyce brucelozy u innych zwierząt powoduje (często niesłusznie) uciekanie się do wskazań i zaleceń cytowanego zarządzenia.

Badania własne

Dysponując dwoma owczarniami, z których w jednej bruceloza została stwierdzona bakteriologicznie (owczarnia „K”), w drugiej, ze względu na bezpośredni ścisły kontakt ludzi i zwierząt z ośrodkiem zainfekowanym, istniało uzasadnione podejrzenie o zakażenie się brucelozą (owczarnia „B”), wykonano trzykrotnie w odstępach 1—3-miesięcznych równoległe badania serologiczne w dwóch następujących wariantach: