

MIECZYŚLAW CHAJKOWSKI

Poziom aglutynin we krwi cieląt uodpornianych aerosolowo przeciw salmonelozie

Ośrodek Badawczy Służby Weterynaryjnej w Puławach

Zainteresowanie dotyczące stosowania aerosolowego uodporniania zwierząt wynika zarówno z możliwości przeprowadzenia szczepień dużej liczby zwierząt w krótkim okresie czasu, jak również ze względu na nieznaczną odczynowość poszczepienną. Praktyczne rozwiązanie tego zagadnienia pozwoliłoby na bardziej nowoczesny sposób przeprowadzania masowych zabiegów profilaktycznych w hodowlach zwierząt oraz być może umożliwiło zamianę uodpornienia indywidualnego na grupowe — przy niewielkim nakładzie pracy i zestawie potrzebnych środków (1, 4).

Zagadnieniem uodpornienia aerosolowego przeciw salmonelozie zwierząt zajmował się *Pritulin* (5), który swoje badania przeprowadził na owcach, cielętach, świniach, koniach i kozach. Zwierzęta uodporniane były w pomieszczeniach, w których rozpylano szczepionkę w ilości 30—40 mln bakterii w 1 l powietrza. Średnia dawka aerosolowa wynosiła 100—200 mln drobnoustrojów na 1 kg wagi zwierzęcia w czasie 15—30 minutowej ekspozycji. U badanych zwierząt uzyskano odporność po 8—10 dniach, na 10—11 miesięcy.

W przedstawionej pracy przeprowadzono badania nad powstawaniem i utrzymywaniem się aglutynin we krwi cieląt uodpornianych aerosolowo przeciw salmonelozie.

Materiał i metody

Doświadczenia przeprowadzono z płynną szczepionką przeciw salmonelozie cieląt (*Salm. enteritidis dublin*) sporządzoną przez Gorzowskie Zakłady Przemysłu Bioweterynaryjnego*). Rozpylanie szczepionki przeprowadzano za pomocą 2 atomizatorów szklanych (model francuski), które wytwarzały cząsteczki wielkości 7—77 μ , w tym o wymiarach 7—10 μ — 21% cząsteczek. Wydajność aerosolowa obu rozpylaczy wynosiła 0,37 g/min. Uodpornianie cieląt w komorze drewnianej objętości 3,46 m³ trwało 60 min. W tym czasie zwierzęta otrzymywały w zależności od ciężaru ciała dawkę aerosolową (6) szczepionki równą 1,43—3,33 g.

Doświadczenia przeprowadzono na 8 cielętach, rasy czerwonej polskiej, płci różnej, wieku 5—6 tygodni, wagi 34,1—54,5 kg. Zwierzęta te przed użyciem do badań były przebadane klinicznie mikrobiologicznie na obecność we krwi i kale pałeczek salmonelozy, serologicznie na występowanie w surowicy aglutynin salmonelozowych i brucelozowych oraz parazytologicznie na robaki płucne i pasożyty przewodu pokarmowego. Poza dodatnim odczynem aglutynacyjnym na salmonelozę u 1 cielęcia wszystkie te badania dały wynik ujemny.

Zwierzęta podzielono na 2 grupy po 4 szt., jedną grupę uodporniano aerosolowo, a drugą podskórnie. Cielęta obu grup otrzymywały taką samą ilość szcze-

pionki na kg żywej wagi. W ciągu miesiąca co 3 dni pobierano krew od zwierząt uodpornianych oraz nastawiano z surowicą próbki odczyn aglutynacyjny na salmonelozę metodą podaną przez Grycza (3). Antygen używany do odczynu sporządzony został w Zakładzie Rozpoznawczym Instytutu Wet. w Puławach. Jako kontrolę nastawiano aglutynację z surowicą dodatnią produkcji Instytutu Medycyny Morskiej w Gdańsku.

Wyniki

Pierwszą grupę cieląt uodporniano przeciw salmonelozie aerosolowo, a drugą podskórnie i przeprowadzono u nich badania serologiczne na obecność aglutynin w surowicy. Uzyskane wyniki przedstawia tabela 1.

Omówienie

U wszystkich 4 cieląt uodpornionych aerosolowo szczepionką przeciwsalmonelozową (*Salm. enteritidis dublin*) stwierdzono reakcję immunobiologiczną, która wyrażała się występowaniem aglutynin we krwi (tab. 1). Obecność ich stwierdzono u 2 cieląt już 3 dnia od chwili zaszczepienia. Począwszy od 6 dnia wystąpiły one u wszystkich cieląt i utrzymywały się do 30 dnia badania. Surowica cielęcia nr 101 dawała dodatni odczyn aglutynacyjny w rozcieńczeniu 1:40 od 6 dnia po szczepieniu, utrzymywał się on do 12 dnia, następnie miano obniżyło się do 1:20. Również u cieląt nr 3726 obserwowano dodatni odczyn w rozcieńczeniu 1:40, ale dopiero 15 i 18 dnia, zaś 27 i 30 dnia miano aglutynacyjne spadło do 1:10. Reakcja immunobiologiczna wyraźniej wystąpiła u pozostałych 2 cieląt nr nr 100, 7230 szczepionych aerosolowo, u których stwierdzono dodatni odczyn z surowicą krwi w rozcieńczeniu 1:160, przy czym w końcowej fazie obserwacji miano spadło do 1:20.

W grupie zwierząt szczepionych podskórnie stwierdzano wyraźniejszą reakcję immunobiologiczną, w wyniku której u 3 cieląt (nr nr 117, 3454, 3701) dodatni odczyn aglutynacyjny występował w rozcieńczeniu 1:640, a u jednego (nr 7353) osiągnął miano 1:1280. W końcowej fazie badań surowicy tych zwierząt miano to zmniejszyło się u cieląt nr nr 3454, 3701 do 1:160, a u pozostałych (nr nr 117, 7353) do 1:320.

Z uzyskanych danych wynika, że cielęta doświadczalne szczepione zarówno metodą aerosolową, jak podskórnie przeciw salmonelozie reagowały pojawieniem się we krwi aglutynin, jednak miano u zwierząt uodpornionych aerosolowo było w porównaniu do grupy zwierząt

*) Składam podziękowanie Dyrekcji Zakładów Biowet Gorzów jak również dr Chwalibógowi za szczepionkę używaną do badań.

Tab. 1. Miano aglutynacyjne u cieląt uodparnianych przeciw *Salm. enteritidis dublin*

Metoda uodparniania	Nr cielęcia	Miano aglutynacyjne												
		intensywność	przed	dzień po szczepieniu										
				3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	
Aerosolowa	100	+++	—	—	—	5	5	—	—	—	—	—	—	—
		++	—	—	10	20	20	20	20	20	20	20	20	20
		+	—	—	40	160	80	80	40	40	40	40	40	—
	101	+++	—	—	—	5	5	—	—	—	—	—	—	—
		++	—	—	20	20	20	10	10	10	10	10	10	10
		+	—	—	40	40	40	20	20	20	20	20	20	20
	3726	+++	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—
		++	—	—	5	5	5	10	10	10	10	10	5	5
		+	—	5	10	10	20	40	40	20	—	—	10	10
	7230	+++	—	—	—	—	—	—	10	—	—	—	—	—
		++	—	—	10	80	40	40	80	40	10	10	10	10
		+	—	5	20	—	—	—	—	160	80	40	20	20
Podskórna	117	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		++	—	—	40	160	160	160	160	160	160	160	160	
		+	—	—	160	320	320	640	320	320	320	320	320	
	3454	+++	—	—	5	5	5	5	5	5	5	—	—	—
		++	—	—	80	80	80	80	80	80	80	80	80	40
		+	—	—	160	320	640	320	320	320	320	160	160	160
	3701	+++	—	—	—	—	10	5	10	10	10	10	10	10
		++	—	10	20	40	80	80	160	160	160	160	40	40
		+	—	20	160	160	160	160	640	320	—	160	160	
	7353	+++	—	—	5	10	20	10	10	10	5	—	—	—
		++	5	5	160	160	640	320	160	160	80	80	80	80
		+	10	10	—	1280	1280	1280	640	640	640	320	320	

szczepionych podskórnie znacznie niższe, co przedstawia tab. 2.

Tab. 2. Średnie miano aglutynacyjne cieląt uodpornionych przeciw *Salm. enteritidis dublin*

Metoda uodparniania	Dzień po uodparnianiu										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Aerosolowa	—	5	27,5	72,5	45	45	65	40	27,5	22,5	17,5
Podskórna	2,5	15	160	470	575	575	430	310	295	190	190
Stosunek miana A:P	2,5	3	5,8	6,4	12,7	12,7	6,6	7,7	10,9	8,4	10,8

Średnio miano pierwszej grupy zwierząt w porównaniu do ujemnego stanu wyjściowego wzrosło do 65, zaś w grupie cieląt uodpornionych podskórnie powiększyło się 230 razy. Poziom aglutynin we krwi zwierząt szczepionych aerosolowo zmniejszył się 30 dnia w stosunku do najwyższej wartości prawie 4-krotnie, a w drugiej grupie zwierząt około 3-krotnie.

Podobnie poprzednie badania *Chajkowskiego* (2) nad możliwością uodparniania aerosolowego świnek morskich przeciw wąglikowi wykazały mniejszą skuteczność tej metody, niż szczepienie śródskórne.

Badania *Pritulina* (5) obejmujące 12 cieląt uodparnianych aerosolowo i 4 cielęta szczepione podskórnie przeciw salmonelozie wykazały obecność aglutynin we krwi jeszcze po 8 miesiącach u zwierząt pierwszej grupy i po 6 miesiącach u cieląt grupy drugiej.

Wnioski

1. Uodparnianie aerosolowe cieląt przeciw salmonelozie wywołało reakcję immunologiczną, której wyrazem było powstanie aglutynin we krwi szczepionych zwierząt.

2. U zwierząt szczepionych podskórnie tą samą dawką szczepionki stwierdzono w porównaniu do grupy cieląt uodpornionych aerosolowo wyższe miano aglutynacyjne.

Piśmiennictwo

1. *Aleksandrow N. J., Gefen N. J.*: Zur. Mikr. Epid. Imm. 6, 7, 1960.
2. *Chajkowski M.*: Medycyna Wet. 11, 652, 1964.
3. *Grycz E.*: Konsultacje ustne.
4. *Jarnych W. S.*: Primenienije aerorozlej w wietierinarii. Moskwa, 1962.
5. *Pritulin P. J.*: Wiet. 11, 19, 1961.
6. *Rosebury T. E.*: Experimental Air-borne Infection. Baltimore, 1947.

Adres autora: dr Mieczysław Chajkowski, Puławy, ul. Dzierżyńskiego 3 m. 8.

Хайковский М. — Уровень агглютининов в крови телят иммунизированных аэрозолем против сальмонеллеза.

Жидкую противсальмонеллезную вакцину распыляли в деревянной аэрозольной камере, в которой содержали телята. Контрольных телят прививали той же вакциной подкожно. Обе группы исследовали методом пробирочной агглютинации.

В результате проведенных исследований установили более низкие титры агглютининов у телят привитых аэрозолем.

Chajkowski M. — The level of agglutinin in the blood of calves immunized by aerosol against salmonellosis.

The experiments were carried out with a liquid anti-salmonellosis vaccine. It was sprayed in the wooden aerosol hut in which the animals lived, or

else the calves were immunized subcutaneously. The level of agglutinin in the animals immunized by each method was checked by a test-tube agglutination reaction.

As a result of these experiments, a lower agglutination titre was found in calves immunized by the aerosol than in the calves which received subcutaneous immunization.

ALOJZY RAMISZ, JÓZEF LAMINA, GERARD SCHOOP

Wpływ Tiguvonu (Bayer) na aktywność cholinesterazy oraz acetylocholinesterazy u eksperymentalnie zarażonych włośniami myszy*)

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej w Krakowie
Kierownik: dr A. RAMISZ

Institut für Zoonosenforschung an der J. W. Goethe
Universität, Frankfurt a. M.
Kierownik: prof. dr G. SCHOOP

W 1959 r. Schoop i Lamina po raz pierwszy wykazali możliwość wykorzystania estru kwasu fosforowego — Trichlorfon (Neguvon, Bayer) w zwalczaniu włośnicy. W dalszych badaniach (1962) wymienieni autorzy potwierdzili wcześniej uzyskane wyniki oraz wykazali, że Neguvon podawany pod osłoną PAM i atropiny powoduje prawie całkowite usunięcie włośni jelitowych. Wymieniony preparat był również skuteczny przeciwko larwom wędrującym oraz otorbionym. Ujemną cechą Neguvonu była jego wysoka toksyczność oraz szybkie wydalanie (po kilku godzinach) z organizmu żywiciela. Warunkiem uzyskania dobrych wyników przy Neguvonie było częste podawanie oraz stosowanie związków zmniejszających jego toksyczność.

Ostatnio Lamina, Meilinger oraz Schoop (1966) przeprowadzili badania z 0,0-Dimethyl-0-(4-methylmercapto-3-methylphenyl) thionophosphat (nazwa handlowa Tiguvon, Bayer), stwierdzając dużą skuteczność wymienionego leku przy trichinozie myszy.

Wymienieni autorzy stwierdzili, że dwukrotne, doustne lub podskórne zastosowanie 2% roztworu Tiguvonu wykazuje silne działanie na wszystkie stadia rozwojowe włośni. Po drugiej dawce, którą podano w piątym dniu po pierwszej, średnio 90% larw zostało zabitych. Ponieważ droga podania leku (doustna, podskórna i dootrzewnowa) nie posiadała większego znaczenia na skuteczność działania, nasunęło się przypuszczenie, że preparat ma działanie układowe. Mechanizm działania Tiguvonu na włośnię pozostał jednak niewyjaśniony.

Ogólnie wiadomo, że organiczne połączenia fosforu działają hamująco na specyficzne esterazy. W związku z tym badano jakie działanie posiada Tiguvon na cholinesterazę oraz acetylocholinesterazę u myszy eksperymentalnie zarażonych włośniami. Równocześnie interesowało nas czy podanie wymienionego preparatu może posiadać wpływ na aktywność cholinesterazy u pasożyta. Należy zaznaczyć, że Baldwin i Moyle (1949), Bueding (1952), Mellanby (1955), Krotow (1957), Rohde (1960), Lee (1962) oraz

Ramisiz (1965) wykazali aktywną cholinesterazę (lub acetylocholinesterazę) u różnych gatunków nicieni.

Materiali i metoda

Do pierwszej serii badań użyto myszy z otorbionymi włośniami, które przed trzema miesiącami zarażono 100 larwami. Tiguvon podano doustnie sondą w dawce 0,2 ml, co odpowiadało 4 mg aktywnej substancji. Zwierzęta doświadczalne (każda seria składała się z dwóch myszy, którym podano lek oraz jednej kontrolnej) były zabijane po 24, 48, 72, 96 oraz 120 godzinach. Drugą dawkę Tiguvonu podano po 6 dniach od momentu zaaplikowania pierwszej dawki. Zwierzęta badano również w seriach po 3 sztuki w takich samych odstępach czasu jak po pierwszej dawce. Przedstawiony cykl badania został powtórzony na 30 myszach.

Drugą serię doświadczeń przeprowadzono na myszach po 14 dniach od chwili zarażenia, czyli w okresie wędrowki larw włośni. Badania przeprowadzono również na 30 zwierzętach, które zostały zarażone 250 larwami. Dawka Tiguvonu, ilość zwierząt użytych w każdej serii oraz czas badania po zarażeniu był taki sam jak w pierwszym doświadczeniu (z larwami otorbionymi). Po 6 dniach od chwili rozpoczęcia badania zastosowano drugą dawkę leku. Całość badania z larwami wędrującymi została powtórzona.

Jako materiału testowego ze zwierząt doświadczalnych użyto przepony, którą po wypreparowaniu płukano dwukrotnie w roztworze fizjologicznym soli kuchennej. Następnie była ona utrwalona przez 10 minut w 10% formalinie. Po utrwaleniu przepona była trzykrotnie płukana (15 minut każde płukanie) w wodzie destylowanej.

Aktywną acetylocholinesterazę oznaczano przy pomocy metody Koell'go w modyfikacji Gomori (Pearse, 1960). Każdą przeponę dzielono na dwie części, przy czym w stosunku do jednej połowy zastosowano substrat butyrylothiocholiny, a w stosunku do drugiej acetylothioliny. Intensywność reakcji oceniano w płytkach nerwowych mięśni przepony żywiciela, jak również w torebce pasożyta.

Wyniki

1. Doświadczenie z włośniami otorbionymi. Wstępne badania wykazały różne oddziaływanie Tiguvonu na cholinesterazę oraz acetylocholinesterazę, w związku z tym postanowiono przeprowadzić badania oddzielnie dla każdego enzymu.

Po 24 godzinach aktywna cholinesteraza (substrat butyrylothiocholiny) została prawie w 100% zahamowana w płytkach nerwowych przepony zwierząt, którym podano lek, w stosunku do zwierząt kontrolnych. Również w torebkach pasożytniczych zwierząt leczonych nie wykazano pozytywnej reakcji. W preparacie kontrolnym natomiast stwierdzono dodatnią reakcję w około 60—70% otorbionych włośni pod

*) Niższe badania zostały wykonane w Instytucie Badań Zoonoz w Frankfurt nad Menem, gdzie dr A. Ramisz, przebywał w ramach stypendium Niemieckiego Urzędu Wymiany Akademickiej (DAAD).