

JERZY WIŚNIEWSKI, JANINA JANKOWSKA,
STEFAN SZKILNIK, TADEUSZ KOBUSIEWICZ

Określenie czasokresu odporności na podstawie poziomu przeciwciał zobojętniających i doświadczalnego zakażenia po zastosowaniu u bydła trójwalentnej szczepionki przeciwpryszczycowej

Zakład Badania Pryszczycy — Instytutu Weterynarii w Zduńskiej Woli
Kierownik: prof. dr T. KOBUSIEWICZ

Postęp obserwowany w produkcji szczepionek przeciwpryszczycowych w znacznym stopniu dokonuje się dzięki usprawnieniu metod kontroli. Podstawowe badania jakościowe jakim jest doświadczalne zakażenie uodpornionych zwierząt (5, 7, 12, 20), zostało uzupełnione badaniem ilościowym przeciwciał zobojętniających. Pionierskie prace podjęte w tym zakresie przez Brooksby na bydło, Skinnera na osekach mysich, Wesslena i Dintera w hodowli komórek nerkowych (cyt. wg 3) doprowadziły do standaryzacji metody (10, 12) i powszechnego zastosowania jej w kontroli szczepionek przeciwpryszczycowych (1, 3, 4, 9, 10, 14, 18, 20).

Celem niniejszej pracy było określenie długości odporności u bydła po jednokrotnym zastosowaniu trójwalentnej szczepionki p/pryszczycowej typu A, C i O na podstawie wyników doświadczalnego zakażenia oraz poziomu przeciwciał zobojętniających.

Materiał i metody

Zwierzęta. Do doświadczenia użyto 48 sztuk bydła w wieku 1 do 2 lat, wagi 250—350 kg, średniej kondycji, przebywającego na opasie w Tuczarni Zakładów Mięśnych w Mierzynie. Do uodpornienia zwierząt użyto trójwalentnej, formolowej szczepionki przeciwpryszczycowej A, C, O, zastosowanej w dawce 15 ml, to jest po 5 ml każdego typu.

Surowica. Przed uodpornieniem pobrano od zwierząt krew w celu stwierdzenia czy są w pełni wrażliwe. Po uodpornieniu, próbki krwi pobierano po 1, 2 i 3 miesiącach od daty zastosowania szczepionki. Surowice przetrzymywano w stanie zamrożonym, a przed badaniem inaktywowano je w 56°C przez 30 minut. Poziom przeciwciał zobojętniających sprawdzano także u zwierząt kontrolnych.

Seroneutralizacja. Odczyn zobojętniający wykonano według techniki opisanej uprzednio (23). Miana wyrażają 50% dawkę zobojętniającą i podane są w log 10.

Hodowle komórek nerkowych. Odczyn seroneutralizacji był wykonany przy użyciu 4—7 dniowych hodowli komórek nerki cielęcia.

Doświadczalne zakażenia. Po 2 i 3 miesiącach od chwili zastosowania szczepionki, wybierano losowo z grupy uodpornionego bydła po 5 zwierząt dla każdego typu, w celu sprawdzenia stopnia nabytej odporności. Zwierzęta uodpornione oraz kontrolne zakażono przez iniekcję 10 000 IDB₅₀ homologicznego wirusa w błonę śluzową języka. Czas obserwacji po zakażeniu wynosił 7 dni.

Wyniki

Na podstawie indywidualnych wyników ilościowych uzyskanych w odczynie seroneu-

tralizacji dla trzech typów wirusa w różnych okresach po uodpornieniu, obliczono wskaźnik SN przedstawiony w tab. 1.

Tab. 1

Czas pobrania krwi	Log miana SN ₅₀		
	A	C	O
Przed uodpornieniem	0,03	0,02	0,02
1 miesiąc po uodpornieniu	1,69	1,12	1,44
2 miesiące „ „	1,64	1,23	1,28
3 „ „ „	1,45	0,92	1,22

Badania przeciwciał zobojętniających w surowicy zwierząt przed uodpornieniem wykazały u znacznej większości całkowity brak przeciwciał dla trzech typów wirusa. W kilku surowicach stwierdzono znikomą ich ilość dla jednego z trzech typów wynoszącą od 0,08 do 0,3 log, przy której zwierzęta są jeszcze w pełni wrażliwe na zakażenie wirusem pryszczycy (9, 12). Porównując zbiorowe wyniki wskaźników SN całej grupy badanych zwierząt, najwyższy poziom przeciwciał zobojętniających stwierdzono dla wirusa A, najniższy dla wirusa typu C.

Tab. 2 przedstawia szczegółowe wyniki obrazujące stopień nabytej odporności w 2 i 3 miesiące po zastosowaniu szczepionki na podstawie odczynu zobojętniającego i doświadczalnego zakażenia.

Doświadczalne zakażenie przeprowadzone w 2 miesiące po uodpornieniu wykazało brak odporności u jednego z 5 zwierząt dla wirusa typu O. W surowicy tego zwierzęcia (nr 14) log SN wynosił 0,85.

W badaniu wykonanym po trzech miesiącach od uodpornienia stwierdzono uogólniony proces chorobowy bydła zakażonego wirusem A oraz wirusem C (po jednym przypadku). Miano SN u tych zwierząt dla wirusa A wynosiło 1,0; dla wirusa C \leq 0,6 log.

Zwierzęta nieuodpornione stanowiące kontrolę zjadliwości wirusa użytego w doświadczalnym zakażeniu reagowały uogólnionym procesem chorobowym. W surowicy tych zwierząt stwierdzono brak przeciwciał zobojętniających.

Mimo że harmonogram badań przewidywał dłuższą obserwację czasokresu poszczepiennej odporności, z przyczyn od nas niezależnych

Tab. 2

Typ wirusa	Nr zwierz.	Log SN ₅₀	Zakażenie w 2 mies. po uodpor.			Nr zwierz.	Log SN ₅₀	Zakażenie w 3 mies. po uodpor.		
			Brak zmian	Zmiany lok.	Generalizacja			Brak zmian	Zmiany lok.	Generalizacja
A	10	1,85		+		9	1,81			
	21	1,42		+		32	1,0		+	+
	34	1,44	+			11	1,8	+		+
	39	1,96				8	2,06	+		
	31	1,89				15	1,75	+		
	Kontrola	0				Kontrola	0			
	„	0				„	0			
C	47	0,79	+			42	0,95		+	
	26	1,09	+			16	1,05		+	
	35	0,99	+			18	≤ 0,6			+
	27	1,35		+		37	—		+	
	33	0,95	+			46	1,0		+	
	Kontrola	0				Kontrola	0			
	„	0			„	0				
O	4	1,25	+			7	1,43		+	
	12	1,31	+			17	1,45			
	23	1,57	+			20	1,45	+		
	14	0,85			+	22	1,40	+		
	28	1,73	+			25	1,08	+		
	Kontrola	0				Kontrola	0			
	„	0			„	0				

Objaśnienia:

- (1) = pęcherze w szparze racicowej 1 kończyny,
 (2) = pęcherze w szparze racicowej 2 kończyn,
 (3) = pęcherze w szparze racicowej 4 kończyn.

byliśmy zmuszeni zakończyć badania po 3 miesiącach.

Tab. 3 przedstawia wyniki seroneutralizacji pozostałej grupy zwierząt, które w 3 miesiące po uodpornieniu nie były poddane doświadczalnemu zakażeniu.

Tab. 3

Nr zwierzęcia	Log miana SN ₅₀		
	A	C	O
1	0,53	0,98	0,45
2	0,68	0,68	0,45
5	1,95	1,24	> 1,8
6	1,75	0,53	1,43
13	1,87	0,53	1,55
24	1,28	0,9	0,68
29	1,28	0,83	0,75
30	1,13	1,05	< 0,53
38	> 2,1	0,83	> 1,8
40	1,28	0,9	0,75
41	1,35	1,28	1,05
44	1,2	0,75	1,2
45	1,58	1,28	0,98
48	1,65	1,35	1,35

Omówienie

Z ogólnej analizy wskaźników seroneutralizacji wynika, że najlepsze właściwości uodparniające posiadała szczepionka typu A. Maksymalny poziom przeciwciał dla tego typu był już ustalony w 1 miesiąc po jej zastosowaniu. Zbliżone — chociaż nieco słabsze właściwości uodparniające cechowały szczepionkę typu O. Zdecydowanie najslabszą okazała się szczepionka typu C. Miano przeciwciał dla wirusa tego typu osiągnęło najwyższy poziom

dopiero w 2 miesiące po szczepieniu, wykazując następnie najszybszy spadek. Lucam i Fedida (22) stwierdzili, że moment pojawienia się odporności jest tym wcześniejszy im szczepionka jest bardziej skuteczna.

Porównując poziom przeciwciał zobojętniających z wynikami doświadczalnego zakażenia stwierdzono, że w grupie zwierząt, u których log SN wynosił 1,0 lub poniżej nie można przewidzieć jaki procent zwierząt pozostanie ochroniony przed sztucznym zakażeniem. W naszym doświadczeniu u 3 uodpornionych zwierząt u których log SN wynosił 1,0; 0,85 oraz 0,6, jak również u wszystkich sztuk kontrolnych, nie posiadających przeciwciał, doszło do uogólnionego procesu chorobowego.

U bydła, którego log przeciwciał był wyższy od 1,0 stwierdzono zmiany miejscowe, bądź w ogóle brak zmian chorobowych.

Powyższe wyniki są zgodne z obserwacjami innych autorów, którzy stwierdzili istnienie zgodności między poziomem przeciwciał zobojętniających a stopniem odporności na doświadczalne zakażenie (9, 11, 12, 14, 18, 20, 23).

Z przeprowadzonego doświadczenia widać, że okres odporności po jednokrotnym zastosowaniu trójwartentnej szczepionki p/pryszczycowej jest stosunkowo krótki. Porównując uzyskane wyniki z osiągnięciami innych laboratoriów produkcyjnych (2, 6, 11, 13, 15, 17), stwierdza się, że lepsze właściwości uodparniające dają szczepionki zawierające dodatek saponiny. Potwierdziły to także nasze wstępne obserwacje dotyczące doświadczalnej szcze-

panionki saponinowej przygotowanej z wirusa typu C namnożonego w hodowli Frenkla.

Wnioski

1. Badanie okresu nabytej odporności po jednorazowym zastosowaniu formolowej, trój-walentnej szczepionki p/pryszczycowej kontrolowanej przez zakażenie oraz metodą seroneutralizacji wykazało przełamanie odporności u 3 zwierząt (15%) w trzy miesiące po uodpornieniu.

2. Stwierdzono znaczne różnice w ilości przeciwciał zobojętniających, wynikające z indywidualnej reakcji zwierząt na podaną szczepionkę.

3. W następstwie doświadczalnego zakażenia stwierdzono przełamanie odporności u zwierząt, których log SN wynosił 1,0; 0,85 oraz $\leq 0,6$.

4. Stwierdzono potrzebę wprowadzenia saponiny jako środka wzmacniającego właściwości uodparniające szczepionki.

Piśmiennictwo

1. Van Bekkum J., Fish R., Dale C.: Amer. J. Vet. Res. 24, 77, 1963.
2. Van Bekkum J.: Bull. Off. Int. Epiz. 54, 372, 1960.
3. Dinter Z., Wesslen T.: Zbl. Orig. I 173, 157, 1958.
4. Głusko B.: Wietierinaria 11, 30, 1963.
5. Institut Français de la Fièvre Aphteuse Lyon 1949.
6. Jivoiu P., Popovici I.: Arch. Vet. Romania 1, 3, 1966.
7. Kobusiewicz T.: Medycyna Wet. 2, 71, 1956.
8. Lang R., Maćkowiak C., Petermann H., Fontaine J.: Publications IFFA Lyon 119, 1956—1960.
9. Lucam F., Fedida M., Dannacher G.: Symposium International de Virologie Vet. O. I. E. — A. I. S. M. Lyon 1962.
10. Lucam F., Fedida M., Dannacher G.: Bull. Acad. Vet. France 37, 175, 1964.
11. Maćkowiak C., Peterman H., Camand R., Fontaine J.: Publications IFFA Lyon 65, 1963—1964.
12. Maćkowiak C., Lang R., Fontaine J., Camand R., Petermann H.: Rapport sur le Controle du vaccin antiaphteux IFFA Lyon.
13. Maćkowiak C., Lang R., Fontaine J., Petermann H.: Ann. Inst. Pasteur 97, 571, 1959.
14. Maćkowiak C., Lang R., Fontaine J., Camand R., Petermann H.: Publications IFFA Lyon 47, 1961—1962.
15. Muntiu N., Dohotaru V., Bercan A., Sava I., Marinescu I., Eojoi P., Tomescu A.: Lucr. Inst. Cerc. Vet. Biopr. Pasteur 2, 23, 1963.
16. Nardelli L., Prato A., Panina G., Santero G.: Veterinaria Italiana 6, 696, 1962.
17. Schneider B., Jaeger O., Bengelsdorff H.: Bull. Off. Int. Epiz. 61, 1013, 1964.
18. Strobbe R., Leunen J., Mammerickx M., Debecq J.: Bull. Off. Int. Epiz. 65, 361, 1966.

19. Stobbe R., Leunen J., Mammerickx M., Debecq J.: Bull. Off. Int. Epiz. 61 (9—10), 1964.
20. Ubertini B., Nardelli L., Dal Prato A., Panina G., Santero G.: Bull. Off. Int. Epiz. 53, 1307, 1960.
21. Willems R.: Bull. Off. Int. Epiz. 65, 119, 1966.
22. Wiśniewski J.: Medycyna Wet. 21, 471, 1965.
23. Wiśniewski J., Jankowska J.: Medycyna Wet. 24, 529, 1968.

Adres autora: dr Jerzy Wiśniewski, Zduńska Wola, ul. Wodna 7.

Висневски Е., Янковска Я., Кобусевич Т., Шкиль-ник С. — **Определение продолжительности иммунитета у крупного рогатого скота после применения трехвалентной противифтозной вакцины на основании уровня титра нейтрализующих антител (SN) и контрольного заражения.**

Установили, что иммунитет после однократной вакцинации трехвалентной противифтозной вакцины типа А, С и О удерживается относительно коротко. В 3 месяца после вакцинации в лабораторном испытании установили чувствительность у 15% животных против всем 3 типам вируса. Log SN в сыворотках крови животных с симптомами генерализации болезненного процесса равнялся 1,0, 0,85 и $\leq 0,6$.

Wiśniewski J., Jankowska J., Kobusiewicz T., Szkilnik S. — **The determination of the immunity period on the basis of the level of neutralizing antibodies and experimental infection following the application of tri-valent vaccine against Foot-and-Mouth disease.**

On the basis of artificial infection and the level of antibodies it was found that the period of immunity following the single vaccination of cattle with tri-valent vaccine against A, C and O types the FMD virus was relatively short. The laboratory investigations showed that in 15 per cent of animals the breakdown of immunity against these three types of the virus took place. Log SN in the sera of the animals with the symptoms of generalization of the disease was: 1.0; 0.85 and ≤ 0.6 .

Wiśniewski J., Jankowska J., Kobusiewicz T., Szkilnik S. — **Détermination de la durée de l'immunité au moyen de taux des anticorps neutralisants et d'une épreuve virulente, après la vaccination des bovins par le vaccin antiaphteux trivalent.**

On a constaté au moyen de l'infection expérimentale, que la durée de l'immunité révélée par la suite de la vaccination à l'aide du vaccin trivalent A, C, O, était relativement courte. Trois mois après l'immunisation, on a constaté au moyen d'une épreuve virulente chez 15% des animaux la rupture de l'immunité envers les trois types de virus aphteux, dans le sérum des animaux qui ont présenté la maladie généralisée log SN était égal à 1,0; 0,85 et $\leq 0,6$.

STEFAN TARCZYŃSKI, KAZIMIERZ MARKIEWICZ,
KONSTANTY ROMANIUK, ZYGMUNT KULETA

Studia terapeutyczne nad chorobą motyliczą przeżuwaczy.

I. Badania nad przydatnością preparatu Zanil w zwalczaniu fasciolozy

Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Weterynarii WSR w Olsztynie
Kierownik: prof. dr S. TARCZYŃSKI

Katedra Chorób Wewnętrznych Wydziału Weterynarii WSR w Olsztynie
Kierownik: doc. dr K. MARKIEWICZ

Choroba motylicza-fascioloza przeżuwaczy, stanowiąca stale jeszcze poważny problem sanitarno-weterynaryjny i ekonomiczny, ma szczególne znaczenie dla północnych regionów hodowlanych Polski. Dlatego też zwalczanie tej choroby znalazło się w kręgu szczególnych

zainteresowań Katedry Parazytologii i Chorób Inwazyjnych i Katedry Chorób Wewnętrznych Wydziału Weterynarii WSR w Olsztynie.

Stosowane powszechnie do niedawna w leczeniu fasciolozy była i owiec leki, w których podstawą były wyciągi z paprotki samczej