

MARIA MONCIK, WANDA BORZEMSKA

Badania nad siewstwem szczepu 022 WT NDV przy uodpornianiu kurcząt per os

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Kielcach

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR w Warszawie

Z powszechnie stosowanych w profilaktyce choroby Newcastle lentogenicznych szczepów ND najwyższą wartość immunogenną udowodniono dla szczepu LaSota (10).

Zaletą, która zadecydowała o wprowadzeniu tego szczepu do powszechnej immunizacji drobiu w kraju było dłuższe niż po szczepach B₁ — Hitchnera i F — Asplina siewstwo wirusa (7). W warunkach chowu wielkostatnego część ptaków, która nie wypła dostatecznej dawki szczepionki miała szansę zaszczepić się dzięki transmisji kontaktowej.

W ostatnich latach pojawiają się nowe propozycje do programów profilaktycznych (1), szczególnie kombinacje szczepów lentogenicznych (3, 4) lub wprowadzanie nowych szczepów łatwiej namnażających się na tkankach homo- i heterologicznych (2, 5, 6, 9).

Wartość immunogenna nowo izolowanego szczepu lentogenicznego 022 WT NDV Gołnika została w znacznej mierze sprawdzona w warunkach laboratoryjnych i terenowych (8). Z badań własnych wynika, że szczep ten posiada nieco odmienne właściwości od znanych szczepów lentogenicznych.

Celem pracy była kontrola transmisji kontaktowej wirusa w stadzie.

Materiał i metody

Kurczęta. Do doświadczeń użyto 61 kurcząt 4 tygodniowych rasy White Rock × Cornish pochodzących od matek uodpornianych, które utraciły odporność bierną z wiekiem. W chwili rozpoczęcia badań średnia arytmetyczna logarytmu mian HI wynosiła 0,60. Ptaki odchowywano w izolatorach i żywiono standardowymi mieszankami z dodatkiem premiksów.

Zarodki. Do reizolacji wirusa z narządów ptaków po zakażeniu kontrolnym oraz oznaczeniu EID₅₀ szczepów użyto 213 dziewięciodniowych zarodków kurzych. Embryony zakażano do jamy omocznikowej 10% zawiesiną narządów w PBS z dodatkiem antybiotyków. Do każdej próby lub rozcieńczenia użyto 3 zarodków.

Wirusy. Do uodpornienia kurcząt użyto lentogenicznego szczepu 022 WT NDV w formie płynu owo-dniowo-omocznikowego o mianie EID₅₀ 10^{8,5}/cm³, HA 1:640, jako III pasaż zarodkowy izolatu z wymazu tchawicy indyków (2). Szczep ten podano z wodą do picia w dawce 10 000 EID₅₀ na ptaka.

Do zakażeń kontrolnych (challenge) zastosowano welenogeniczny szczep Radom NDV o mianie EID₅₀ 10^{6,5}/cm³ i HA 1:640 podany domięśniowo w dawce 100 000 EID₅₀ na kurczę.

Narządy. Po zakażeniu kontrolnym szczepem Radom NDV wybrano trzeciego, piątego i siódmego dnia po challenge'u następujące narządy do reizolacji wirusa: 1. mózg i mózdzek, 2. środkowy odcinek tchawicy i prawe płuco, 3. środkową część żołądka gruczołowego. Materiał pobierano w równych ilościach każdorazowo od 5 ptaków, a badanie na zarodkach wykonywano z prób łączonych od 2 i 3 kurcząt. Z grupy kontrolnej wybierano i badano łącznie 3 kurczęta. Narządy składowano w jałowej folii aluminiowej w temp. — 30°C.

Surowice. Do oznaczenia poziomu przeciwciał HI użyto 73 surowic, z czego 12 służyło do określenia poziomu przeciwciał biernych, pozostałe do oznaczenia przeciwciał po immunizacji *per os* i od kurcząt dołączonych.

Próbę HI wykonywano odczynem beta z użyciem 4 jednostek hemaglutynacyjnych wirusa. Do statystycznego wyrównania EID₅₀ zastosowano metodę Reeda i Muencha.

Opis doświadczenia

Grupa I. 26 kurcząt immunizowano przeciw rzekome-mu pomorowi drobiu szczepem 022 WT ND *per os*. Po wypiciu szczepionki każde kurczę odkażono przez zanurzenie nieopierzonych części nóg w 5% Biovalu oraz 1 minutowe naświetlenie ptaków lampą kwarcową. Następnie kurczęta dołączono do ptaków grupy 2 znajdujących się w oddzielnym pomieszczeniu.

Tab. 1. Przebieg doświadczenia

Grupa	Poziom przeciwciał biernych Miano HI	Szczepienie p-ko NDV	3 tygodnie po immunizacji		Challenge	Reizolacja wirusa zjadliwego z narządów			Obserwacja kliniczna kurcząt żywych	
			Poziom przeciwciał czynnych			Ilość dni po zakażeniu				
			Miano HI	Śr. arytm. log mian		3	5	7	1-7	8-17
I 26 kurcząt 4 tyg.	0:1:5 śr. arytm. log 0,60	szczepem 022 WT ND z wodą do picia w dawce 10000 ELD ₅₀ na ptaka	od 1:80 do 1:320	2,07	szczepem Radom NDV domięśniowo w dawce 100000 ELD ₅₀ na ptaka	0/5 ^{*)}	0/5	0,5	brak objawów	brak objawów
II j.w.	j.w.	przez kontakt z grupą I	od 1:40 do 1:320	1,98	j.w.	0/5	0/5	0/5	j.w.	j.w.
III kontrola 9 kurcząt 4 tyg.	j.w.	nie szczepiono			j.w.	3/3	3/3	3/3	2 padły pozostałe chore	

Objaśnienia: *) = licznik — ilość kurcząt od których reizolowano wirus; mianownik — ilość kurcząt badanych.

Grupa II. 26 kurcząt nie szczepionych przebywało we wspólnym pomieszczeniu z ptakami grupy I dołączonymi 4 godziny po wypiciu preparatu. Przez cały okres trwania doświadczeń kurczęta korzystały ze wspólnych karmideł i poideł.

Grupa III. 9 kurcząt wrażliwych na zakażenie wirusem ND wychowywano oddzielnie w osobnym izolatorze.

Po upływie 3 tygodni od immunizacji wszystkim kurczętom doświadczalnym i kontrolnym pobrano krew w celu oznaczenia poziomu przeciwciał HI. Następnie zakażono je domięśniowo wirusem zjadliwym, używając szczepu Radom ND.

Za kryterium odporności uznano brak izolacji wirusa zjadliwego w narządach szczególnie wrażliwych na zakażenie szczepem Radom. Pozostałe przy życiu kurczęta w ilości po 11 sztuk z grupy I i II obserwowano przez dalsze 10 dni, następnie wyłączono z doświadczeń.

Omówienie wyników

Przebieg doświadczenia oraz wyniki badań ilustruje tab. 1. Z przytoczonych obserwacji wynika, że poziom przeciwciał typu HI mierzony 3 tyg. po immunizacji kurcząt szczepem 022 WT ND kształtował się od 1:80 do 1:320 (średnia arytmetyczna log. mian HI wynosiła 2,07). U ptaków dołączonych poziom mian HI był nieco niższy i przedstawiał się od 1:40 do 1:320 (średnia arytmetyczna log. mian HI wynosiła 1,98). Wszystkie kurczęta szczepione i dołączone przeżyły challenge 3 tygodnie po immunizacji i nie wykazywały objawów chorobowych przez 17 dni obserwacji. Z płuc i tchawicy, żołądka gruczołowego oraz mózgu nie reizolowano wirusa 3, 5 i 7 dni po zakażeniu.

Jedynie kurczęta nie szczepione, posiadające przed challenge'm ślady odporności biernej (miano HI wynosiło od 0 do 1:5 a średnia arytmetyczna log. mian HI 0,56) zachorowały i 2 padły. Z narządów tych kurcząt izolowano wirus 3, 5 i 7 dnia po zakażeniu.

Obserwacje powyższe wskazują, że, szczep 022 WT NDV podany *per os* wykazuje siewstwo, podobnie jak szczep LaSota (7) i może przy nierównomiernym wypijaniu preparatu uodporniać dodatkowo drogą transmisji kontaktowej.

Piśmiennictwo

1. Bondarenko I. M., Burczew V. I., Czernyszew V. V., Łagutkin N. A., Kuszniur A. T.: Veterinarija, Moskwa 52, 61, 1975.
2. Golnik W., Borzemska W.: Biul. V Zjazdu PTNW, Olsztyn 1974.
3. Landgraf H., Vielitz E.: Dt. tierärztl. Wschr. 77, 393, 1970.
4. Larski Z.: Medycyna Wet. 31, 517, 1975.
5. Malik B. S., Bhatnagar S. A., Verma N. D.: Br. vet. J. 125, 26, 1969.
6. Malik B., Dhawedkar R.: Avian Dis. 14, 400, 1970.
7. Marek K.: Bull. Inst. Puławski 4, 12, 1960.
8. Moncik M.: Porównawcza ocena wartości immunogennej lentogenicznego szczepu 022 WT NDV. Praca doktorska 1976.
9. Ruika J.: Medycyna Wet. 29, 150, 1973.
10. Winterfield R. W., Goldman G. L., Seadale E. H.: Poult. Sci. 36, 1076, 1957.

Adres autora: dr wet. Maria Moncik, Zakład Higieny Weterynaryjnej, 25-390 Kielce.

Мончик М., Божемска В. — Исследование выделения штамма 022 WT NDV при иммунизации цыплят *per os*.

Исследовалось выделение новоизолированного лентогенического штамма 022 WT NDV в лабораторных условиях. Группу 4 тыс. цыплят, которым дела-

ли прививку с питьевой водой, присоединили к группе птиц, чувствительных к инфекции вирусом ND. Цыплята в течение 3 недель пользовались общими кормушками и поилками. Затем определили уровень противотел HI обеих групп (среднее арифметическое лог. титров HI составляло 2,07 и 1,98), который развивался не в пользу группы присоединенных цыплят. В этот период провели challenge штаммом Radom. Все цыплята: с прививкой и присоединенные, пережили инфекцию вирулентным вирусом. Штамм 022 WT NDV, введенный *per os*, может при неравномерном испитии вакцины иммунизировать дополнительным образом посредством контактной трансмиссии.

Moncik M., Borzemska W.: Studies on the dissemination of 022 WT NDV strain in oral immunization of chickens.

There was studied a dissemination of the newly isolated lentogenic strain of 022 WT NDV in laboratory conditions. A group of chickens 4 weeks old vaccinated orally with the virus applied in drinking water was joined with a group of birds sensitive to NDV infection. Chickens of the both groups used the same troughs and drinkers for 3 weeks. Then the level of HI antibodies was estimated. A mean arithmetical value of a log for HI titer was lower in a nonvaccinated group (1.98, in vaccinated 2.07). All birds survived the challenge with the virulent Radom strain of NDV. 022 WT NDV strain applied orally in a case of unequal drinking of the vaccine may additionally immunize by a contact route.

BUTLER E. J., CURTIS M. J.: Wpływ endotoksyny *Escherichia coli* na aktywność histaminazy plazmy u kur i udział ceruloplazminy. (The effect of *Escherichia coli* endotoxin on plasma histaminase activity in the domestic fowl and the involvement of ceruloplasmin). Res. vet. Sci. 22, 267—270, 1977 (3).

U kurcząt w wieku 4—9 tygodni po dożylniej iniekcji wyciągu fenolowo-wodnego endotoksyny *Escherichia coli*, serotyp O11:B4 w dawce 0,1 lub 1,0 mg/kg wagi ciała, aktywność histaminazy w płazmie po 24 godz. po podaniu wzrastała czterokrotnie. W większości przypadków ten wzrost utrzymywał się przez 24 godziny. Wzrostowi aktywności histaminazy w płazmie towarzyszył wzrost aktywności oksydazy p-fenylendiaminy, który wiązał się z wydzielaniem ceruloplazminy. Rozdział elektroforetyczny ceruloplazminy na żelu poliakrylamidowym (7,5%) przy pH 8,6 (0,01 M bufor tris, 0,077 M bufor glicynowy) wykazał, że ceruloplazmina wykazuje aktywność histaminazową i putrescynazową. Wzrost aktywności enzymatycznej plazmy jest więc następstwem uwalniania ceruloplazminy z komórek wątroby do krwi pod wpływem endotoksyny pałeczek okrężnicy.

G.

TURNER A. J., SPALATIN J., HANSON R. P.: Immunogenność australijskich lentogenicznych szczepów wirusa choroby Newcastle. (Immunogenicity of Australian lentogenic strains of Newcastle disease virus). Aust. vet. J. 58, 32—35, 1977 (1).

Właściwości immunogenne lentogenicznych szczepów wirusa choroby Newcastle, wyizolowanych od kur w Australii nie zostały dokładnie określone. Autorzy przebadali zdolności uodporniające szczepów V4 i CT. Badania przeprowadzono na 7 tygodniowych kurczętach. Wysokość miana swoistych przeciwciał określono w odczynie HI ze szczepem LaSota. Kurczęta zakażone równocześnie donosowo i doustnie szczepem V4 w dawce $10^{7,05}$ EID₅₀ lub szczepem CT w dawce $10^{4,25}$ EID₅₀ były odporne 18 dnia po szczepieniu na zakażenie szczepem pełnozjadliwym wirusa choroby Newcastle (Herts 33, Texas GB). Miano przeciwciał w odczynie HI wahało się w granicach 109—270. Kurczęta szczepione w wieku 1 lub 3 tygodni szczepem V4 donosowo-doustnie, do worka spojówkowego lub szczepionką podaną w wodzie pitnej były odporne na zakażenie pełnozjadliwym szczepem Fontana 1083.

G.