

ANNA KRASNOŁĘBSKA-DEPTA, IRENA JANOWSKA

Właściwości immunogenne niektórych szczepów włoskowca różycy dla indyków

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR-T w Olsztynie

Ze względu na duże straty gospodarcze wywoływane u indyków przez różycę — z powodu licznych padnięć oraz obniżenia ich produktywności i wartości hodowlanej, podjęto w wielu krajach próby systematycznego zwalczania tej choroby.

W próbach nad uodpornianiem indyków stosowano metodę czynno-biorną według Lorenza (11) oraz metodę wakcynacji autenuowanymi szczepami włoskowca różycy (10). Podejmowane były także liczne badania nad uodpornianiem indyków przeciw różycy szczepionkami inaktywowanymi z zastosowaniem różnych dróg wprowadzenia (1, 2, 3, 8). W wyniku tych badań w krajach o wysoko rozwiniętej hodowli indyków wprowadzono do profilaktyki szczepionki inaktywowane (12). Jednak w dostępnym piśmiennictwie brak jest dokładnych danych o wpływie budowy antygenowej i innych właściwości szczepów włoskowca różycy używanych do uodporniania na stopień odporności poszczepiennej u tych ptaków. W Polsce badań w tym kierunku nie prowadzono ze względu na słabo rozwiniętą jak dotychczas hodowlę indyków.

Niedobór wiedzy w tych zagadnieniach jest tym większy, że, jak podają Rosenvald i Corstvet (12), właściwości immunogenne włoskowca kontrolowane na myszach i świniach nie znajdują często potwierdzenia u tak odmiennego fizjologicznie gatunku, jaki stanowią indyki, u których zresztą immunogeneza przy różycy może być zgoła inna niż u ssaków.

Biorąc powyższe pod uwagę podjęto badania, które zmierzały do poznania właściwości uodporniających dla indyków szczepów StFr i VR₂ włoskowca różycy, użytych w postaci hodowli: a) żywych, b) inaktywowanych oraz c) krajowej niezjadliwej szczepionki przeciwróżycowej dla świń, produkowanej przy użyciu szczepu VR₂.

Materiał i metody

Szczepy bakteryjne: 1. szczepy atenuowane włoskowca różycy — StFr (ok. 226 mln włoskowców w 1 ml) i VR₂ (ok. 282 mln włoskowców w 1 ml) w postaci hodowli żywych oraz inaktywowanych formaliną i zagęszczanych przez wirowanie do gęstości ok. 600 mln bakterii w 1 ml płynu fizjologicznego wg wzorca skali nefelometrycznej McFarlanda, 2. Krajowa szczepionka przeciwróżycowa VR₂, używana do masowych szczepień świń w terenie, 3. szczep zjadliwy włoskowca różycy

R-203 (ok. 160 mln włoskowców w 1 ml). Przed przystąpieniem do doświadczeń szczepy te były zregenerowane i przepasazowane przez indyki.

Badania przeprowadzono na 96 indykach rasy białej szerokopierśnej, typu mini, w wieku 7 mies. W czasie trwania doświadczenia indyki przebywały w warunkach terenowych w fermie B, żywione były według przyjętych norm oraz poddane obowiązującym szczepiom profilaktycznym.

Przed przystąpieniem do doświadczenia nie stwierdzono w surowicy badanych indyków swoistych przeciwciał przeciwróżycowych.

Użyte do doświadczenia indyki podzielono na 6 grup liczących po 16 ptaków — w tym po 8 samic i po 8 samców. Indyki zaszczepiono dawką 4 ml hodowli bułionowej 24-godz. szczepów StFr i VR₂ — w stanie żywym i inaktywowanym oraz szczepionką VR₂ wstrzykując je podskórnie tuż za atlasem. Szczepienia wykonywano wg następującego schematu: grupa I — otrzymała hodowlę szczepu StFr żywą, grupa II — hodowlę StFr inaktywowaną, grupa III — hodowlę szczepu VR₂ żywą, grupa IV — hodowlę szczepu VR₂ inaktywowaną, grupa V — szczepionkę VR₂, grupa VI — stanowiła kontrolę.

Indyki zaszczepiono dwukrotnie — pierwszy raz w 28 tygodniu, drugi raz w 30 tygodniu życia. Po szczepieniu pierwszym oraz przez 8 tygodni po szczepieniu drugim indyki poddano obserwacji klinicznej. Ponadto w okresie tym badano w ich surowicy poziom swoistych przeciwciał próbą wzrostową według Wellmana-Heunera (5) oraz odczynem aglutynacji według Glińskiego (4). W tym celu pobierano krew od 3 losowo wybranych samic i od 3 samców tygodni po pierwszym szczepieniu (1_I), w dniu drugiego szczepienia (2_I) jeden (1_{II}), trzy (2_{II}), pięć (3_{II}), osiem tygodni (4_{II}) po drugim szczepieniu.

Dla dokładniejszego poznania właściwości antygenowych badanych szczepów oraz stopnia wywołanej przez nie odporności u indyków — posłużono się również odczynem seroneutralizacji, którym przebadano na myszach właściwości ochronne surowicy indyków grup doświadczalnych i grupy kontrolnej. Krew pobierano 7 dnia po szczepieniu drugim, a od indyków zakażonych szczepem R203 — 4 dnia po zakażeniu. Do badań użyto 24 myszki białe, które podzielono na 8 grup. Myszkom wstrzykiwano podskórnie po 1 ml odpowiedniej surowicy z dodatkiem 0,2 ml hodowli szczepu R 203 rozcieńczonej 1:20. Badanie przeprowadzono według następującego schematu: grupy od 1—5 otrzymywały surowice indyków szczepionych według schematu podanego wyżej, grupa 6 — surowice indyków zakażonych szczepem R 203, grupa 7 surowice indyków nieszczepionych, a grupa 8 — stanowiła kontrolę.

Stan odporności indyków szczepionych kontrolowano również próbą zakażenia ich szczepem zjadliwym. W tym celu po okresie obserwacji wybrano losowo po 6 indyków z każdej grupy doświadczalnej oraz kontrolnej i zakażono je wstrzykując dożylnie po 2 ml hodowli szczepu zjadliwego R 203. Następnie ptaki poddano obserwacji klinicznej przez okres 3 tygodni.

Wyniki i omówienie

Wyniki badania metodą próby wzrostowej i odczynem aglutynacji surowicy indyków szczepionych przedstawiono w tab. 1 i 2. Poziom przeciwciał w surowicy indyków szczepionych we wszystkich grupach, badany metodą próby wzrostowej i odczynem aglutynacji, przy badaniu 2_I był niższy niż przy badaniu 1_I. Po drugim wstrzyknięciu poziom przeciwciał uległ ponownemu podwyższeniu, jednak nie przekraczał na ogół poziomu stwierdzonego po szczepieniu pierwszym. W kolejnych badaniach poziom przeciwciał ulegał stopniowemu obniżeniu i w dwa miesiące po szczepieniu drugim był już bardzo niski. Nie stwierdzono istotnych różnic w wysokości miana przeciwciał u samic i samców. Natomiast były one z reguły wyższe po zastosowaniu wszystkich szczepionek żywych w porównaniu z inaktywowanymi. Spośród użytych w badaniach najwyższe miano przeciwciał stwierdzono po podaniu żywej szczepionki VR₂. Silniejszą reakcję immunologiczną indyków w tym przypadku można tłumaczyć większą ilością wprowadzonego antygeny, gdyż liczba włoskowców w 1 ml tej szczepionki była niemal dwukrotnie wyższa niż w hodowlach bulionowych szczepów StFr i VR₂. Tłumaczyć to można odmienną technologią produkcji szczepionki VR₂.

Tab. 1. Wyniki badania poziomu przeciwciał w surowicy indyków próbą wzrostową wg Wellmanna

Szczepienie	Badanie surowicy	Płeć indyków	Wyniki próby wzrostowej w %				Szczepionka VR ₂
			szczep StFr		szczep VR ₂		
			żywy	inakt.	żywy	inakt.	
I	1 _I	♀	2,3	5,0	4,5	6,5	2,3
		♂	2,3	3,6	3,6	6,6	2,3
	2 _I	♀	7,5	9,1	9,1	10,0	8,3
		♂	8,3	8,3	8,3	10,0	6,6
II	1 _{II}	♀	1,0	2,3	3,6	5,5	0,93
		♂	1,0	3,6	2,3	5,0	0,66
	2 _{II}	♀	6,6	8,3	8,3	9,3	3,6
		♂	5,0	7,5	9,1	9,1	3,6
	3 _{II}	♀	13,3	16,3	13,3	16,3	8,3
		♂	12,5	13,3	16,6	20,0	9,1
	4 _{II}	♀	26,6	33,6	33,3	40,0	20,0
		♂	33,6	40,0	26,6	40,0	20,0

Objaśnienie: liczby oznaczają średni wynik uzyskany od 3 indyków

Tab. 2. Wyniki badania miana przeciwciał aglutynacyjnych w surowicy indyków szczepionych

Szczepienie	Badanie surowicy	Płeć indyków	Średnie geometryczne miano aglutynin				
			szczep StFr		szczep VR ₂		szczepionka VR ₂
			żywy	inakt.	żywy	inakt.	
I	1 _I	♀	202,0	202,0	254,0	160,0	254,0
		♂	254,0	160,0	202,0	127,0	320,0
	2 _I	♀	127,0	127,0	127,0	101,0	202,0
		♂	127,0	127,0	160,0	101,0	254,0
II	1 _{II}	♀	320,0	202,0	320,0	202,0	320,0
		♂	320,0	254,0	320,0	202,0	403,0
	2 _{II}	♀	160,0	160,0	127,0	101,0	202,0
		♂	202,0	127,0	160,0	101,0	254,0
	3 _{II}	♀	101,0	101,0	101,0	50,4	160,0
		♂	127,0	80,0	80,0	50,4	160,0
	4 _{II}	♀	50,4	50,4	50,4	25,2	80,0
		♂	66,6	50,4	50,4	25,2	80,0

Spośród szczepionek inaktywowanych wyższe miano przeciwciał stwierdzono po uodpornieniu szczepem StFr niż VR₂. Fakt ten ma niewątpliwie związek z budową antygenową tego szczepu. Wiadomo bowiem z innych badań

krajowych (cyt. 7), że szczep ten należy do serotypu B oraz posiada większą liczbę frakcji nukleoproteinowych, dających się wytrącać w punkcie izoelektrycznym kwasem trójchloro-oetowym. Podczas gdy inne o słabszych właściwościach immunogennych szczepy miały tylko frakcję N_{p1} lub niekiedy jeszcze N_{p2}, to szczep StFr miał trzy frakcje — oprócz frakcji N_{p1}, także frakcje N_{p2} i N_{p3}.

W badaniach własnych stwierdzono brak współzależności między poziomem przeciwciał w surowicy indyków szczepionych a ich odpornością na zakażenie eksperymentalne szczepem zjadliwym. Po 2 miesiącach po drugim szczepieniu wszystkie indyki badane — mimo niskiego już miana przeciwciał — okazały się odporne na zakażenie szczepem zjadliwym, w odróżnieniu od grupy kontrolnej, w której zachorowały wszystkie, a 50% ptaków padło. Analogiczne zjawisko stwierdzali także inni autorzy (6, 9) w badaniach nad różycą u świń. Z badań tych autorów wynika, że niektóre świny — u których stwierdzili wysoki poziom przeciwciał — były wrażliwe na doświadczalne zakażenie włoskowcem różycy, inne zaś — u których poziom przeciwciał w surowicy był niski — były na takie samo zakażenie niewrażliwe.

Na szczególne podkreślenie w badaniach własnych zasługuje również fakt, że surowice indyków szczepionych — z których każda badana była odczynem seroneutralizacji — nie chroniły myszek przed zakażeniem ich szczepem zjadliwym R 203. Jedynie surowice indyków zakażonych szczepem R 203 powodowały nieznaczne przedłużenie okresu inkubacji choroby u myszek.

Analizując uzyskane wyniki można przyjąć, że u indyków szczepionych przeciw różycy, podobnie jak u świń, powstaje odporność głównie typu komórkowego, której mechanizm polega na wzmożeniu właściwości fagocytarnych kompetentnych komórek, prawdopodobnie limfocytów T i powstających z nich przez transformację blastyczną — limfoblastów.

Należy też dodać, że użyte w badaniach własnych szczepy StFr i VR₂, tak w postaci hodowli żywych, jak i inaktywowanych, okazały się nieszkodliwe dla indyków, gdyż nie wywoływały u nich klinicznych odczynów poszczepiennych w postaci zachorowań lub odczynów miejscowych.

Wnioski

1. Po podskórnym podaniu szczepionek żywych i inaktywowanych przygotowanych ze szczepów StFr i VR₂ stwierdzono próbą wzrostową i odczynem aglutynacji swoiste przeciwciała w surowicy indyków.

2. Dwa miesiące po szczepieniu dwukrotnym dawką 4 ml zarówno hodowli żywej, jak i inaktywowanej szczepów StFr, VR₂ oraz szczepionki VR₂ stwierdzono pełną odporność indy-

ków na dożylnie zakażenie zjadliwym szczepem mimo, że poziom przeciwciał aglutynacyjnych był już niski.

3. Szczepy StFr i VR₂ w postaci hodowli żywych i inaktywowanych oraz szczepionka VR₂ były nieszkodliwe dla indyków, gdyż nie powodowały ani miejscowych ani ogólnych klinicznych odczynów poszczepiennych.

Piśmiennictwo

1. Adler H. E., Spencer G. R.: Cornell Vet. 42, 238, 1952.
2. Cooper M. S., Personeus G. R., Chomen B. R.: Can. J. comp. Med. 18, 83, 1954.
3. Cooper M. S., Personeus G. R., Percival R. C.: Poult. Sci. 36, 266, 1957.
4. Gliniski Z.: Annls. Univ. Marie Curie-Skłodowska Sect. DD. 19, 83, 1964.
5. Heuner F.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 70, 341, 1957.
6. Hubrig T. H., Kielstein P., Maas A., Meese M.: Arch. exp. Vet. Med. 16, 929, 1962.
7. Janowski H.: Zesz. probl. Nauki pol. 23, 209, 1961.
8. Jerstad A. C., Johns E. E.: J. Am. vet. med. Ass. 125, 288, 1954.
9. Kurek Cz.: Pol. Arch. wet. 8, 535, 1965.
10. Osebold J. W., Dickinson E. M., Babcock W. E.: Cornell Vet. 40, 387, 1950.
11. Peterson E. H., Hymas T. A.: Poult. Sci. 31, 94, 1952.
12. Rosenwald A. S., Corstvet R. E.: Diseases of poultry. Iowa State Univ. Press, Ames, 1972.

Adres autora: dr Anna Krasnodębska-Depta, Pana Tadeusza 4 m 16, 10-461 Olsztyn.

Краснодембская-Депта А., Яновская И. — Иммуногенные свойства некоторых штаммов возбудителя рожи для индеек.

Wakcinowali podkożno indykie na 28 tygodniu życia, a następnie na 30 tygodniu życia dawką 4 ml

бульонной 24-часовой культуры штаммов StFr и VR₂ возбудителя рожи — в состоянии живом и инактивированном формалином, а также вакциной VR₂.

Через две недели после первой вакцинации и 4-кратно после второй исследовали уровень специфических противотел ростовой пробой по Веллманну-Гейнеру и реакцией агглютинации. Наивысший титр противотел обнаружили после введения вакцины VR₂. В два месяца после 2-кратной вакцинации индейки были иммунизированы против внутривенной инфекции вирулентным штаммом R 203 помимо низкого уровня агглютинационных противотел.

Krasnodębska-Depta A., Janowska I. — Immunogenic properties of some strains of *Erysipelothrix rhusiopathiae* for turkeys.

Turkeys were vaccinated twice, 28—30 weeks of age, subcutaneously with 4 ml of 24 hour old culture of *E. rhusiopathiae*. The vaccines used were prepared from live or inactivated strains of StFr and VR₂ and VR₂ vaccine. Two weeks after the first injection and four times after the second one the level of specific antibodies was determined by means of Wellmann-Heuner's technique and agglutination test. The highest titer of antibodies was found after the vaccination with VR₂ vaccine. Two months following two injections the turkeys were resistant to challenge with virulent strain R 203 though the level of agglutinins was low.

JANUSZ STRYCZEK
Chełm

Spostrzeżenia nad zakaźnym keratoconjunctivitis owiec

Zakaźne zapalenie spojówek i rogówki owiec występuje sporadycznie we wszystkich krajach naszego kontynentu. Schorzenie to spotykane jest częściej i stanowi pewien problem w krajach nastawionych na hodowlę tego gatunku zwierząt, zwłaszcza jeśli trzymane są one w dużych stadach (1, 3, 5, 7). W Polsce *keratoconjunctivitis* owiec opisali po raz pierwszy Buczek i wsp. (2). Jak wynika z danych piśmiennictwa, jest to schorzenie o etiologii wieloczynnikowej. W wypływach i wymazach z oczu zwierząt chorych stwierdzono riketsję, mykoplazmy i bakterie, przy czym z tej ostatniej grupy najczęściej izolowano zarazki z rodzaju *Moraxella* oraz *Neisseria* (2, 5, 7, 8). W warunkach naturalnych chorują głównie jagnięta, a przebieg choroby zależy jest od wieku oraz warunków środowiskowych, a szczególnie zagęszczenia pomieszczeń.

Obserwacje własne

Przedmiotem doniesienia są spostrzeżenia nad przebiegiem i leczeniem *keratoconjunctivitis* poczynione zimą 1978 r. w 3 fermach owiec w woj. chełmskim. W fermach tych w okresie wykotów wystąpiły masowe zachorowania jagniąt w wieku od 2 do 8 dni z objawami obrzęku i przekrwienia spojówek, wpływu surowiczego-słuzowego z oczu oraz światłowstrętu. Z reguły najpierw atakowane było jedno oko, ale stosunkowo szybko, bo już w drugim lub trzecim dniu — proces chorobowy obejmował również drugie oko. Opisane symptomy sukcesywnie nasilały się, wpływ z oczu stawał się śluzowo-ropny, a stan zapalny rozszerzał się na rogówkę, która ulegała zmętnieniu, a na jej powierzchni pojawiały się białawe plamki. Jagnięta chore były mało ruchliwe, osowia-

łe, niechętnie lub w ogóle nie ssaly, co prowadziło do zahamowania ich rozwoju. Dalszy przebieg choroby zależny był od wieku i kondycji jagniąt oraz od czasu rozpoczęcia postępowania leczniczego. Jeśli zachorowywały jagnięta starsze (5—8-dniowe) w dobrej kondycji, to schorzenie miało przebieg łagodny i zwykle w drugim tygodniu u większości dochodziło do samoistnego ustępowania objawów. U jagniąt młodszych czy też słabiej rozwiniętych, objawy chorobowe utrzymywały się dłużej i były bardziej nasilone. W tych przypadkach, jeśli nie podjęto leczenia, dochodziło najczęściej w drugim tygodniu choroby do powstawania ubytków i owrzodzeń rogówki, a następnie zapalenia całej gałki ocznej, utraty wzroku i chłapactwa. W objętych obserwacją fermach, straty spowodowane schorzeniem wynosiły ok. 1% поголовья jagniąt.

Warto podkreślić, że chorowały wszystkie nowo narodzone jagnięta, natomiast nie stwierdzono żadnego przypadku u maciorek, tryków i jarek, mimo bezpośredniego kontaktu z chorymi. Wykoty owiec przebiegały bez zakłóceń, a jagnięta bezpośrednio po porodzie były żywotne i nie wykazywały żadnych klinicznie uchwytanych odchyśleń od normy. Próby przerwania łańcucha epizootycznego poprzez izolację jagniąt chorych wraz z matkami lub oddzielanie jagniąt po odessaniu siary od matek nie powiodły się.

W każdej fermie pobrano do badań bakteriologicznych wymazy z oczu od 3 chorych jagniąt i ich matek. Ponadto od maciorek pobrano próbki wydzieliny z gruczołu mlekowego. Badania te przeprowadzone były w Instytucie Chorób Zakaźnych i In-