

## Piśmiennictwo

1. Annison E. F.: Physiology of digestion in the ruminant. Butterworths, London, 1965.
2. Juhasz B., Padvi P.: Prakt. Tierarzt. 9. 1979.
3. Payn J. M., Dew S. M., Manston R., Faulks M.: Vet. Rec. 87, 150, 1970.
4. Payn J. M., Rowlands G. J., Manston R., Dew S. M.: Br. vet. J. 129, 370, 1973.
5. Sommer H.: Vet-med. Nachr. 41, 1975.
6. Szentimihály S.: Állatorvosi zsebkönyv. Phylaxia, 1978.

Adres autora: lek. wet. Stanisław Latos, Bimbó ul. 146, Budapest II, H-1026.

# CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZYGMUNT CYGAN, IRENA BARCZ, DOROTA DEPTUŁA, JAN KOZIK

## Badania nad działaniem ochronnym szczepionek „przeciwkulawkowych”

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Ograniczenie na drodze immunoprofilaktyki tzw. „kulawki” owiec stanowi złożone i nadal nie opracowane zagadnienie. Wynika to z odmiennej w poszczególnych krajach etiologii tych bakteryjnych infekcji (13, 14, 18), klasyfikowanych przez niektórych badaczy jako zankocica zakaźna owiec ZZO („foot rot” — 2, 3, 9, 20, 27), nekrotyczne zapalenie opuszki IBN („Infective Bulbar Necrosis” — 5, 11, 21) oraz nekrotyczne zapalenie skóry w szparze międzypalcowej OID („Ovine Interdigitalis Disease” — 17). Poza tym zasięg powyższych procesów chorobowych, ograniczony w przypadku ZZO i OID tylko do powierzchniowych warstw naskórka, stwarza dodatkowo trudności w docieraniu do tych miejsc — przeciwciał — indukowanych przez szczepionki.

Przeprowadzone badania własne potwierdziły opinię o złożonej etiologii zakażeń racic owiec (13, 14, 18). Na szczególną uwagę zasługuje, że wyisobione szczepy *C. pyogenes* posiadały aktywność proteolityczną wobec elastyny, fibrynogenu i kazeiny, a zatem spełniały kryteria względnej chorobotwórczości, postulowane w kontekście „kulawki” owiec przez Egertona i Parsonsona (8) oraz Stewarta (26). Jednak maczugowce te, prawdopodobnie jak i ostatnio stwierdzone beztlenowce *P. acnes*, nie były dotychczas uwzględniane w szczepionkach jako immunogenne komponenty. Również mało znana, w warunkach krajowych, jest wartość ochronna importowanych szczepionek, opartych o antygen *B. nodosus* tj. beztlenowców powszechnie uznanych za główną przyczynę „kulawek” w formie ZZO (2, 9, 20, 27).

W związku z powyższym, zadaniem badań własnych było sprawdzenie, w warunkach terenowych, właściwości ochronnej 5 szczepionek, tj.: francuskiej „Ristellan” (Biomerieux—Tuluza), angielskiej „Clovax” (Wellcome—Weybridge), a ponadto 3 własnych szczepionek, a mianowicie tzw. „CBD—1” zawierającej antygeny *P. acnes* (szczep BB2), oraz „CBD—2” i „CBD—3” przygotowanych z hodowli maczugowców *C. pyogenes* S (szczep TB1).

### Materiał i metody

Przygotowanie szczepionek własnych. Namnożone w ciągu 3—5 dni w podłożu Wrzóska bakterie wirowano przez 45 minut przy 3000 obrotów/minutę, a uzyskany osad, po zawieszeniu w 0,85% NaCl z dodatkiem 0,4% formaliny, był przetrzymywany w 37°C przez 18 godzin. Następnie komórki bakteryjne odwirowywano i ponownie zawieszano w płynie fizjologicznym dla uzyskania gęstości odpowiadającej 9 próbówce skali Mac Farlanda. Szczepionka „CBD—1” była stosowana bez adiuwantów. Natomiast szczepionka „CBD—2” zawierała dodatek 10% wodorotlenku glinu, a „CBD—3” niekompletny adiuwant-Freunda (proporcja 1:1).

Uodpornianie owiec. Ogółem w 3 owczarniach tj. „B”, „P” i „Z” przebadano 674 owiec, w tym 470 immunizowanych, a mianowicie szczepionką „Clovax” — 105 szt., „Ristellan” — 116, „CBD — 1” — 116, „CBD—2” — 48 i „CBD—3” — 85 zwierząt. Grupę kontrolną (owce nieuodporniane) stanowiło 204 szt. Powyższe szczepionki (wyjątek „Clovax”) stosowano wyłącznie u zdrowych owiec, nie wykazujących objawów kulawizny. Również zwierzęta grupy kontrolnej, w okresie rozpoczynania szczepień, były zdrowe. Jako źródło zakażenia — używano owiec z „kulawką” — wprowadzane do poszczególnych stad w ilości około 10%.

Immunizacja owiec polegała na 4-krotnym podaniu szczepionek, w odstępach 2 miesięcznych, przy jednorazowej dawce 2 ml antygeny podskórnie. Jedynie w przypadku szczepionki „Clovax” całkowity cykl immunizacyjny obejmował z konieczności tylko 2-krotne podanie tego biopreparatu.

Ocena szczepień. W miesiąc po każdorazowym podaniu szczepionki przeprowadzano okresowe przeglądy kliniczne zwierząt. W poszczególnych grupach rejestrowano liczbę owiec kulejących i nie wykazujących objawów choroby. Łącznie dokonano 4 przeglądów zwierząt immunizowanych szczepionkami „CBD—1”, „CBD—2”, „CBD—3”, „Ristellanem” i grupy kontrolnej oraz 2 przeglądy w grupie „Clovax”.

### Wyniki i omówienie

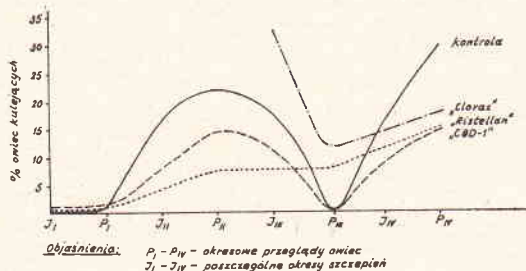
Rezultaty przeprowadzonych badań, odnoszących się do owiec uodpornianych i nie uodpornianych, przedstawiają tab. 1 oraz ryc. 1—3. Z powyższych danych wynika, że żadna spośród stosowanych szczepionek nie dała, w warunkach doświadczenia, wyraźnego efektu ochronnego. Wskaźnik kulawizny, po zakończonym cyklu uodporniania owiec w gospodarstwach „B”, „P” i „Z”, wynosił w przypadku

Tab. 1. Występowanie kulawek u owiec uodpornianych i nie szczepionych

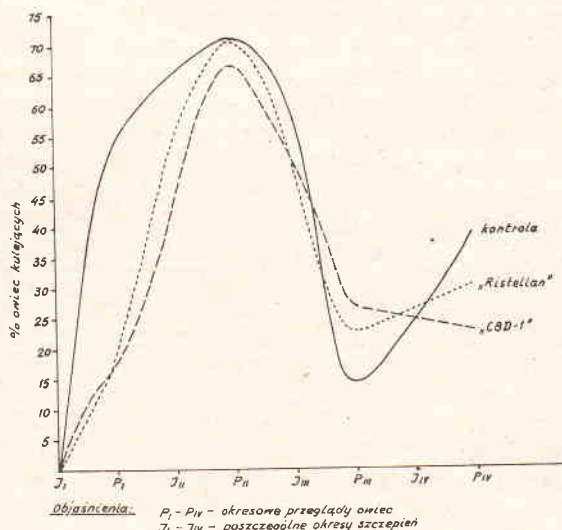
Rodzaj szczepionki	Liczba badanych owiec w gospodarstwach				% owiec z objawami kulawizny w owczarniach „B”, „Z” i „P” w czasie poszczególnych przeglądów (I-IV)															
	„B”	„Z”	„P”	ogółem	I				II				III				IV			
					„B”	„Z”	„P”	ogółem	„B”	„Z”	„P”	ogółem	„B”	„Z”	„P”	ogółem	„B”	„Z”	„P”	ogółem
„Ristellan”	46	56	14	116	19,6	16,1	0	16,5	39,4	71,4	7,1	47,4	17,1	23,2	7,1	19,1	32,6	30,4	14,2	29,3
„Clovax”	-	-	105	105	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11,4	11,4	-	-	-	17,1	17,1
„CBD-1”	46	56	14	116	26,1	16,1	0	18,1	19,6	67,8	14,2	42,2	10,9	26,8	0	17,2	17,3	23,2	14,2	19,8
„CBD-2”	48	-	-	48	16,6	-	-	16,6	16,6	-	-	16,6	6,2	-	-	6,2	24,8	-	-	20,8
„CBD-3”	85	-	-	85	9,4	-	-	9,4	17,6	-	-	17,6	9,4	-	-	9,4	20,0	-	-	20,0
owce nieszczep.	133	57	14	204	17,3	54,4	0	26,6	24,1	71,9	21,4	37,2	9,0	14,0	0	9,8	15,7	38,6	28,5	23,0

szczepionki: a) „Ristellan”: „B” — 33%, „Z” — 30%, „P” — 14%; b) „Clovax”: „P” — 17%; c) „CBD — 1”: „B” — 17%, „Z” — 23%, „P” — 14%; d) „CBD — 2”: „B” — 21%, oraz e) „CBD — 3”: „B” — 20%, przy wartościach dla grup kontrolnych: „B” — 16%, „P” — 29% i „Z” — 39%. Jedynie więc w owczarni „P”, w której stosowano szczepionki „Ristellan”, „Clovax” i „CBD-1” zanotowano prawie 2-krotny spadek owiec kulejących, w porównaniu z grupą zwierząt kontrolnych (ryc. 1). Jednak podkreślić należy, że w gospodarstwie „P” były też najlepsze warunki wychowu, tzn. zwierzęta korzystały z wyjątkowo suchych pomieszczeń, wybiegów i pastwisk. Natomiast w owczarni „Z”, gdzie warunki środowiskowe były najbardziej niekorzystne, wskaźnik zachorowalności owiec immunizowanych i kontrolnych był zbliżony i osiągnął 17—29% (tab. 1, ryc. 2). Pozorny spadek kulawizny w gospodarstwie „Z”, w 3 okresie immunizacji (III), był rezultatem zastosowanej z konieczności terapii, przy pomocy 10% formaliny oraz zasypek z siarczanu miedzi. Również w gospodarstwie „B” procent owiec z „kulawką” (pomimo szczepienia „Ristellanem”, „CBD-1”, „CBD-2” i „CBD-3”) był podobny, a nawet wyższy (np. w przypadku „Ristellanu”) niż w grupie zwierząt kontrolnych (ryc. 3).

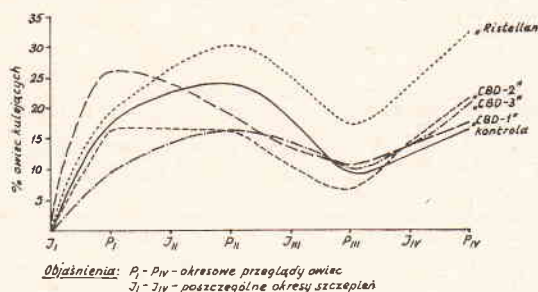
Wykazany — w warunkach przeprowadzonych doświadczeń — brak działania ochronnego szczepionki „Ristellan”, a częściowo także „Clovax (przy 2-krotnej iniekcji) nie potwierdza opinii autorów zagranicznych o wysokiej aktywności immunogennej tych preparatów (7, 15, 25). Natomiast wynik ten jest w zasadzie zgodny z obserwacjami Cąkały i Borkowskiego (3), którzy wskazali na niewielką efektywność szczepionki „Clovax” w zwalczaniu „kulawki” owiec w Polsce. Może to sugerować udział innych bakterii niż *B. nodosus* w etiologii tego schorzenia w gospodarstwach „B”, „Z” i „P”. Dotychczasowe, ale jeszcze nie zakończone badania własne, (4), obejmujące powyższe owczarnie, sugerują, że skład stwierdzonej mikroflory bakteryjnej odpowiada bardziej martwicowemu zapaleniu opuszki tj. tzw. IBN w terminologii Roberta i wsp. (21) niż ZZO w ujęciu Beveridge (2) oraz Thomasa (27). Za możliwością takiej interpretacji przemawia fakt występowania „kulawki” przez cały rok,



Ryc. 1. Dynamika zachorowalności owiec immunizowanych i kontrolnych w owczarni „P”



Ryc. 2. Dynamika zachorowalności owiec immunizowanych i kontrolnych w owczarni „Z”



Ryc. 3. Dynamika zachorowalności owiec immunizowanych i kontrolnych w owczarni „B”

nawet w zimie, w okresie niskich temperatur, które według Grahama i Egertona (10) sprzyjają rozwojowi przede wszystkim infekcji typu IBN. Natomiast mniej prawdopodobne jest przypuszczenie, żeby mogło tu chodzić o schorzenie o cechach ZZO, wywołane przez odmienne serotypy *B. nodosus*, nie uwzględnione w szczepionkach „Ristellan” i „Clovax”. Ostatecznie jednak nie można wykluczyć takiej interpretacji w zakończonych niepowodzeniem szczepieniach owiec. Bowiern liczbą opisywanych serotypów *B. nodosus* ciągle wzrasta (6, 24, 28).

Celowość podjętych prób sprawdzenia wartości własnych szczepionek tj. „CBD-1”, uwzględniającej antygeny *P. acnes* (szczep BB2), a ponadto preparatów „CBD-2” i „CBD-3”, opartych o maczugowce *C. pyogenes* (szczep TB1) — znajduje uzasadnienie w wynikach poprzednich badań własnych, wskazujących na powszechne występowanie tych bakterii w „kulawkach” owiec (4). Poza tym, w przypadku pałeczek *P. acnes*, dodatkową motywację stanowiły niezwykle silne właściwości immunostymulacyjne, przypisywane tym beztlenowcom (1, 12, 19, 22, 23, 29). Jednak odnośny sprawdzian wypadł negatywnie tj. w warunkach doświadczenia nie dowiódł aktywności ochronnej tych szczepionek.

Przyczyny powyższych niepowodzeń mogą być różne. Co się tyczy szczepionki „CBD-1” to wydaje się, że odgrywa tu rolę zdolność antygenów *P. acnes* do stymulowania tylko odporności nieswoistej (1, 12, 22, 23), która jak to wynika z badań Moriarty i wsp. (16) posiada niewielkie znaczenie w „kulawkach” owiec. Natomiast słabą immunogennością własnych szczepów *C. pyogenes* (4) można tłumaczyć nieskuteczność szczepionek „CBD-2” i „CBD-3”. Niewykluczone przy tym, że zastosowanie szczepień asocjacyjnych, tj. polegających na podaniu najpierw adiuwancyjnie aktywnej komponenty *P. acnes*, a dopiero potem szczepionki *C. pyogenes*, pozwoliłoby uzyskać lepsze efekty odpornościowe. Jednak pamiętać należy, że działanie immunomodulacyjne antygenów *P. acnes*, określane jako ich zdolność do wywoływania przeciwstawnych procesów stymulacji i supresji, wymaga ścisłego określenia warunków tej reaktywności. Wyniki prowadzonych w tym zakresie własnych badań będą przedstawione w późniejszym czasie.

#### Piśmiennictwo

1. Adlam C., Scott M. T.: J. med. Microbiol. 6, 261, 1973.
2. Beveridge W. I. B.: Bull. Count. Scient. Ind. Res. Melbourne 140, 56, 1941.
3. Cakala S., Borkowski T.: Obserwacje nad zwalczaniem kulawki u owiec za pomocą szczepionki „Clovax”, w Polsce. Sympozjum „The Wellcome Foundation”, Warszawa 1977.
4. Cygan Z., Wierciński J., Rubaj B., Barcz I.: Właściwości „maczugowców” *C. pyogenes* i *P. acnes* oraz ich występowanie w infekcjach racic owiec. Medycyna Wet. — w druku.
5. Dean H. M., Davis R. V., Epling G. P., Jensen A.: Am. J. vet. Res. 16, 197, 1955.
6. Egerton J. R.: J. comp. Path. 83, 151, 1973.
7. Egerton J. R., Morgan I. R., Burrell D. H.: Vet. Rec. 91, 447, 1972.
8. Egerton J. R., Parsonson I. M.: Aust. vet. J. 45, 345, 1969.

9. Egerton J. R., Roberts D. S., Parsonson I. M.: J. comp. Path. 79, 207, 1969.
10. Graham N. P. H., Egerton J. R.: Aust. vet. J. 44, 235, 1968.
11. Gregory T. S.: Aust. vet. J. 15, 160, 1939.
12. Halpern B., Prevot A. R., Biozzi G., Stiffel C., Mouton D., Morard J. C., Bouthillier Y.: J. Reticuloendothel. Soc. 1, 77, 1964.
13. Katitch R. V., Cvetkovič L., Voukitchevitch Z., Panjevič D., Iovanovič R.: Bull. Off. int. Epizoot. 67, 1603, 1967.
14. Katitch R. V., Matitch G.: Bull. Soc. Sci. vet. med. comp., Lyon 79, 189, 1977.
15. Kerry J. B., Craig G. R.: Vet. Rec. 98, 446, 1976.
16. Moriarty K. M., Cooper B. S., Ingram B. R.: N. Z. vet. J. 24, 9, 1976.
17. Parsonson I. M., Egerton J. R., Roberts D. S.: J. comp. Path. 77, 309, 1967.
18. Prevot A. R.: Bull. Off. int. Epizoot. 50, 1527, 1963.
19. Raynaud M., Kouznetzova B., Bizzini B., Chermann J. C.: Annls Inst. Pasteur, Paryż 122, 695, 1972.
20. Roberts D. S., Egerton J. R.: J. comp. Path. 79, 217, 1969.
21. Roberts D. S., Graham N. P. H., Egerton J. R.: J. comp. Path. 78, 1, 1968.
22. Scott M. T.: Cell. Immunol. 5, 459, 1972.
23. Scott M. T.: Cell. Immunol. 5, 469, 1972.
24. Short J. A., Thorley C. M., Walker P. D.: J. appl. Bact. 40, 311, 1976.
25. Skerman T., Cairney I. M.: N. Z. vet. J. 20, 205, 1972.
26. Stewart D. J.: Res. vet. Sci. 27, 99, 1979.
27. Thomas J. H.: Aust. vet. J. 33, 263, 1957.
28. Thorley C. M.: J. appl. Bact. 40, 301, 1976.
29. Wilkinson P. C., O'Neill G. J., Wapshaw K. G.: Immunology 24, 997, 1973.

Adres autora: doc. dr hab. Zygmunt Cygan, ul. Zelazowej Woli 6 m. 13, 20-854 Lublin.

Цыган З., Барч И., Дептула Д., Козик Я. — Исследования защитного действия вакцины против пиосептицемии.

На 470 овцах проверили защитные свойства 5 вакцин, т.е. французской „Ristellan” (Biomerieux—Тулуза), английской „Clovax” (Wellcome—Уэйбридж), а сверх того 3 собственных вакцин, а именно т. наз. „CBD — 1”, содержащей антигены *P. acnes* (штамм BB2), а также „CBD — 2” и „CBD — 3”, изготовленных из культуры коринебактерий *C. pyogenes* S (штамм TB1 — активный относительно эластина, фибриногена и казеина). Ни одна из этих вакцин не дала в условиях опыта отчетливого защитного эффекта. В работе проdiscутированы причины этих неудач и приведены предложения относительно дальнейших попыток улучшения иммуногенной активности собственных вакцин.

Cygan Z., Barcz I., Deptuła D., Kozik J. — Examinations on the protective effect of vaccines against „lameness” of sheep.

The examinations were carried out on the protective effect of five different vaccines, i. e. „Ristellan” (Biomerieux—Tuluza), Clovax (Wellcome—Weybridge) and three ones made by the authors, i. e. CBD—1 containing the antigens of Propionibacterium acnes (BB2 strain), and CBD-2 and CBD-3 prepared from the culture of Corynebacterium pyogenes S (TB1 strain) — active against elastine, fibrinogen and casein. None of these vaccines proved to be effective under their experimental conditions. The authors discussed the reasons of failure and gave some proposals as to further examinations to improve the immunogenic properties of their vaccines.

COLES G. C., BRISCOE M. G., EAKIN M. A. FORSYTH B. A.: Silny nowy salicylanilid aktywny w stosunku do Fasciola hepatica. (A potent new salicylanilide effective against Fasciola hepatica.) Res. vet. Sci. 28, 163, 1980 (2).

3-ter-butyl-4' 5 dicyano-6 metyl-2'-bromosalicylanilid podany w iniekcji podskórnej w dawce 0,1 mg/kg wagi ciała wykazywał dużą aktywność pasożytoobójczą u szczurów zarażonych Fasciola hepatica. U owiec maksymalna dawka efektywna tego preparatu wynosiła 0,2 mg/kg wagi ciała. Dawki 1,5 i 2,0 mg/kg wagi ciała powodują występowanie u owiec zatrucia, które objawia się występowaniem porażań.

G.