

ZBIGNIEW BACZYŃSKI, ELŻBIETA ZDUN

Właściwości immunogenne 10% szczepionki przeciw wścieklicznie „Rabiesvac”

Zakład Wirusologii Instytutu Weterynarii, Al. Partyzanów 57, 24-100 Puławy
Zakłady Przemysłu Bioweterynaryjnego, 24-100 Puławy — Michałowka

W związku z wprowadzeniem do produkcji w 1976 r. nowej wersji technologicznej 10% szczepionki przeciw wścieklicznie Rabiesvac postanowiono przebadać dynamikę procesu immunologicznego u psów w okresie utrzymywania się odporności poszczepiennej, tj. do 1 roku po uodpornieniu zwierząt.

Celem badań była ocena właściwości immunogennej szczepionki w różnym okresie po uodpornieniu psów, w zależności od poziomu przeciwciał zobojętniających w surowicy krwi zwierząt przed ich szczepieniem oraz wielkości miana rezydualnego wirusa zawartego w szczepionce.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 25 psach rasy mieszananej, w wieku 2—6 miesięcy, nie szczepionych przeciw wścieklicznie i pochodzących od matek nie szczepionych. Zwierzęta uodporniono 10% szczepionką, w ilości 1—3 ml podskórnie, w zależności od wagi zwierzęcia. Szczepionkę stanowiła 10% zawiesina w płynie fenolowo-glicerynowym tkanki mózgowo-rdzeniowej owiec zakażonych podoponowo wirusem fixe. Różni się ona pod względem technologicznym od poprzedniej 20% zmniejszoną do połowy zawartością masy tkanki nerwowej.

Surowice krwi psów uodpornionych badano w kierunku obecności swoistych dla wirusa przeciwciał zobojętniających w odstępach 3 i 6 tygodni oraz 6, 9 i 12 miesięcy po szczepieniu. Odczyn seroneutralizacji (OSN) wykonano metodą beta z użyciem 10-krotnych rozcieńczeń surowic, zmieszanych w równej objętości ze stałą dawką wirusa CVS o mianie $-\log 7.00$. Analizę wzrostu poziomu przeciwciał wykonano w wymienionych okresach poszczepiennych w zależności od fizjologicznego poziomu przeciwciał u psów nie szczepionych oraz wysokości miana rezydualnego wirusa zawartego w szczepionce.

W 12 miesięcy po szczepieniu wybrano spośród 25 psów doświadczalnych 3 grupy po 3—4 psy, o niskim, średnim i wysokim poziomie przeciwciał naturalnych. Zwierzęta poddano zakażeniu ulicznym wirusem wściekliczny, dawką 10 LD_{50} , o mianie $-\log 2.40$, w ilości 2 ml domięśniowo w mięśnie żuchwy. Zakażone psy obserwowano 9 tygodni, na równi z 4 psami kontrolnymi, nie szczepionymi, zakażonymi taką samą dawką wirusa.

Wyniki i omówienie

Badania serologiczne

Różnice w mianach przeciwciał zobojętniających, w surowicy krwi psów po szczepieniu różnymi seriami szczepionki, w stosunku do analogicznych mian u zwierząt przed uodpornieniem czyli przyrosty mian, określone w różnym okresie poszczepiennym w skali jednego roku, przedstawia tab. 1. Miana przeciwciał u 25 psów, badane przed szczepieniem, wahały

się od $-\log 1.70$ do $-\log 3.21$ i osiągały wartość średnią $-\log 2.57$. Oznacza to, że psy nie szczepione przeciw wścieklicznie i pochodzące od matek nie szczepionych posiadały swoiste dla wirusa wściekliczny przeciwciała zobojętniające. Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze obserwacje Tierkela (6), Baczyńskiego (1—4) i Majdana (5).

Przyrost miana przeciwciał zobojętniających u psów zachowywał się zmiennie w ciągu 12-miesięcznego okresu po szczepieniu. Znamienne przyrosty miana w granicach 1—2 logarytmów kształtowały się w poszczególnych okresach poszczepiennych następująco (porównanie pionowe):

w 3 tygodnie po szczepieniu znamienne przyrosty miana SN w stosunku do miana przed szczepieniem obserwowano u 19 psów na 25 badanych, czyli w 76%; w 6 tygodniu po szczepieniu u 22 psów (88%); w 3 miesiące u 19 (76%); w 6 miesięcy u 21 (84%); w 9 miesięcy u 17 (68%) oraz w 12 miesięcy po szczepieniu u 10 psów czyli u 40% uodpornionych zwierząt. Ogółem znamienne przyrosty miana poszczepiennego obserwowano u 24 psów, czyli u 96%.

W porównaniu wyników uszeregowanych w odniesieniu do 3 grup zwierząt o zróżnicowanym średnim poziomie przeciwciał przed szczepieniem (porównanie poziome), wystąpiły pewne różnice w wielkości przyrostów miana poszczepiennego, w zależności od jego wartości u psów przed uodpornieniem. W I grupie psów, o niskim średnim mianie SN przed szczepieniem $-\log 1.80$, znamienne przyrosty miana poszczepiennego, w granicach 1—2 logarytmów obserwowano u wszystkich zwierząt (100%) i w 23 przypadkach na 24 badanych, czyli w 95,8%.

W II grupie psów, o średnim mianie SN przed szczepieniem $-\log 2.41$, przyrosty miana obserwowano u 10 psów czyli w 90,9% oraz w 51 przypadkach na 66 badanych, czyli w 77,2%. Analiza częstotliwości przypadków przyrostów miana w wartościach znamienych wskazuje, że: w 3—6 tygodni po szczepieniu takie przyrosty mian stwierdzono u 10 psów (90,9%); w 3 miesiące u 8 (72,7%); w 6 miesięcy u 9 (81,8%); w 9 miesięcy u 8 (72,7%), zaś w 12 miesięcy po szczepieniu u 6 psów, czyli w 54,5%.

W III grupie psów, o wysokim średnim mianie przed szczepieniem $-\log 3.06$, przyrosty mian obserwowano u 9 psów, czyli w 90% oraz w 34 przypadkach na 60 badanych, czyli w 56,6%. Częstotliwość znamienych przyrostów mian w tej grupie kształtowała się następująco: w 3 tygodnie po szczepieniu przyrosty mian obserwowano u 5 psów (50,0%); w 6 tygodni u 8 (80,0%); w 3 miesiące u 7 (70,0%); w 6 miesięcy u 8 (80,0%); w 9 miesięcy u 5 (50,0%) oraz w 12 miesięcy po szczepieniu u 1 psa (10,0%).

Ogółem przyrosty mian poszczepiennych stwierdzono w ciągu jednorocznej obserwacji w 108 przypadkach na 150 badanych, czyli w 72%. Największe wartości uzyskano każdorazowo w 6 tygodni po szczepieniu psów ($-\log 1.62$). Począwszy od tego okresu poziom przeciwciał ulegał stopniowo obniżeniu do wartości najniższej w 12 miesięcy po szczepieniu ($-\log 0.88$).

Tab. 1. Przyrosty miana seroneutralizującego (SN) u psów uodpornionych różnymi seriami produkcyjnymi szczepionki Rabiesvac, w zależności od miana serologicznego u psów przed szczepieniem (-log)

Pies nr	Grupa	Miano SN przed szczep.	Seria nr	Przyrosty miana SN w okresie poszczepiennym						
				3 tyg.	6 tyg.	3 mies.	6 mies.	9 mies.	12 mies.	\bar{x}
4	I	1,85	37	2,60	2,64	1,76	1,82	1,63	1,34	1,97
3		1,70	36	1,54	2,41	1,72	1,75	1,95	1,92	1,88
11		1,70	39	1,83	2,57	1,92	1,99	2,04	0,90	1,87
20		1,94	44	1,38	1,55	1,83	1,40	1,30	1,06	1,20
\bar{x}		1,80		1,83	2,30	2,00	1,80	1,73	1,31	1,82
5	II	2,30	37	1,63	2,21	1,70	2,14	2,15	1,70	1,92
12		2,28	39	1,72	2,07	1,21	1,86	1,67	1,37	1,65
2		2,30	36	1,07	2,20	0,76	2,03	1,75	2,00	1,63
17		2,35	41	0,80	2,27	2,20	1,56	1,61	0,93	1,56
9		2,28	38	1,28	1,53	1,14	1,41	1,46	1,11	1,48
13		2,30	40	1,81	1,57	1,59	1,61	1,05	1,22	1,47
10		2,50	39	1,14	1,00	0,27	0,78	0,85	0,86	1,32
18		2,50	41	1,50	1,21	1,08	1,64	1,13	1,01	1,26
23		2,50	45	1,00	1,32	1,39	1,26	1,14	0,83	1,15
16		2,30	41	1,65	1,28	1,50	1,46	0,65	0,21	1,12
19		2,94	44	1,38	0,87	0,77	0,80	0,57	0,53	0,82
\bar{x}		2,41		1,36	1,59	1,23	1,50	1,27	1,07	1,33
15	III	3,04	40	1,49	1,83	1,68	1,46	1,44	0,77	1,44
6		3,00	37	1,63	1,64	1,29	1,34	1,68	0,50	1,34
8		3,00	38	1,37	1,87	1,29	1,24	1,45	0,73	1,32
22		3,10	45	1,39	1,61	1,62	1,29	0,95	0,83	1,28
14		3,05	40	0,51	1,46	1,45	1,39	1,60	1,08	1,24
7		3,10	38	1,39	1,78	0,84	1,40	0,75	0,50	1,11
24		3,00	45	0,91	1,40	1,00	1,14	0,74	0,83	1,00
21		3,03	44	0,59	1,08	1,01	1,00	0,92	0,56	0,86
1		3,05	36	0,55	0,53	0,84	0,98	1,19	0,82	0,81
25		3,21	45	0,37	0,77	0,73	0,82	0,74	0,56	0,66
\bar{x}		3,06		1,02	1,39	1,17	1,20	1,14	0,71	1,10
ogólna \bar{x}		2,57		1,30	1,62	1,30	1,42	1,29	0,88	1,30

Uzyskane wyniki wskazują, że wielkości znamiennej przyrostów miana uwarunkowane były poziomem mian SN zawartych w surowicy krwi zwierząt przed szczepieniem. Najwięcej bowiem przypadków przyrostów znamiennej miana poszczepiennego obserwowano w grupie I psów (95,8%) o niskim mianie SN (-log 1,80). Odpowiednio mniejsze wartości wykrywano w II grupie psów (77,2%), o średnim poziomie przeciwciał (-log 2,41). Najniższą stosunkowo wielkość przyrostów miana poszczepiennego (56,6%) uzyskano w III grupie zwierząt, wykazujących najwyższy poziom przeciwciał przed szczepieniem (-log 3,06). Podobnie kształtują się średnie wartości przyrostów miana w skali jednego roku, w odniesieniu do poszczególnych zwierząt. Wartości te wahały się od -log 1,97 w grupie I do wartości -log 0,66 w grupie III.

Uzyskane wyniki, dotyczące przyrostów miana poszczepiennego u psów, zdają się wskazywać, że ich wielkość uwarunkowana była wysokością miana u psów przed uodpornieniem. Oznaczałoby to, że stan immunologiczny zwierząt podlegających szczepieniu ma zasadniczy wpływ na kształtowanie się poziomu przeciwciał zobojętniających po szczepie-

niu. W miarę bowiem wzrastania wartości miana przeciwciał u zwierząt przed szczepieniem, uznawanego umownie za naturalne, obniżała się zdolność organizmu do odpowiedzi serologicznej na zawarty w szczepionce antygen wirusa wścieklizny i to niezależnie od wielkości infekcyjnego miana rezydualnego, zawartego w szczepionce wirusa. Można zatem sądzić, że wysoki poziom naturalnych przeciwciał obniża na drodze zobojętniania miana wirusa rezydualnego, co prowadzi do obniżenia właściwości immunogennych szczepionki. Zmniejszenie zatem częstotliwości odpowiedzi immunologicznej — z 95,8% zwierząt w grupie I, do 77,2% w grupie II oraz do 56,6% w grupie III, jak i odpowiednich wartości średnich przyrostów, w odniesieniu do poszczególnych grup, z -log 1,82 dla grupy I do -log 1,33 dla grupy II, oraz -log 1,10 dla grupy III — zdają się wskazywać wyraźnie na wpływ zobojętniający w stosunku do wirusa szczepionkowego. Im wyższa była wielkość miana u zwierząt przed szczepieniem tym mniejsza była średnia wielkość przeciwciał poszczepiennych.

Ponieważ otrzymane wyniki sugerują zależność przyrostów miana przeciwciał zobo-

Tab. 2. Przyrosty miana SN u psów uodpornionych różnymi seriami produkcyjnymi szczepionki w zależności od miana rezydualnego wirusa (-log)

Pies nr	Miano SN przed szczep.	Seria nr	Miano rezyd. wirusa	Przyrosty miana SN w okresie poszczepiennym						
				3 tyg.	6 tyg.	3 mies.	6 mies.	9 mies.	12 mies.	%
6	3,00	37	1,70	1,63	1,64	1,29	1,34	1,68	0,50	83,3
5	2,30	37	1,70	1,63	2,21	1,70	2,14	2,15	1,70	100,0
4	1,85	37	1,70	2,60	2,64	1,76	1,82	1,73	1,31	100,0
\bar{x}	2,38	37	1,70	1,95	2,16	1,58	1,76	1,85	1,17	94,4
14	3,05	40	1,60	0,51	1,46	1,45	1,39	1,60	1,08	83,3
15	3,04	40	1,60	1,49	1,83	1,68	1,46	1,44	0,77	83,3
13	2,30	40	1,60	1,81	1,57	1,59	1,61	1,05	1,22	100,0
\bar{x}	2,79	40	1,60	1,27	1,62	1,57	1,48	1,36	1,02	88,8
18	2,50	41	1,50	1,50	1,21	1,08	1,64	1,13	0,93	100,0
17	2,35	41	1,50	0,80	2,27	2,20	1,56	1,61	0,21	66,6
16	2,30	41	1,50	1,65	1,28	1,50	1,46	0,65	1,22	83,3
\bar{x}	2,38	41	1,50	1,31	1,58	1,60	1,55	1,13	0,78	83,3
1	3,05	36	1,60	0,55	0,53	0,84	0,98	1,19	0,82	33,3
2	2,30	36	1,60	1,07	2,20	0,76	2,03	1,75	2,00	83,3
3	1,70	36	1,60	1,54	2,41	1,72	1,75	1,95	1,92	100,0
\bar{x}	2,35	36	1,60	1,05	1,71	1,10	1,58	1,63	1,58	72,2
7	3,10	38	1,40	1,39	1,78	0,84	1,40	0,75	0,50	50,0
8	3,00	38	1,40	1,37	1,87	1,29	1,24	1,45	0,73	83,3
9	2,28	38	1,40	1,28	1,53	1,14	1,41	1,46	1,11	100,0
\bar{x}	2,79	38	1,40	1,34	1,72	1,09	1,35	1,22	0,78	77,7
10	2,50	39	1,60	1,14	1,00	0,27	0,78	0,85	0,86	33,3
12	2,28	39	1,60	1,72	2,07	1,21	1,86	1,67	1,37	100,0
11	1,70	39	1,60	1,83	2,57	1,92	1,99	2,04	0,90	100,0
\bar{x}	2,16	39	1,60	1,56	1,88	1,13	1,48	1,52	1,04	77,7
21	3,03	44	1,00	0,59	1,08	1,01	1,00	0,92	0,56	66,6
19	2,94	44	1,00	1,38	0,87	0,77	0,80	0,57	0,53	16,6
20	1,94	44	1,00	1,38	1,55	1,83	1,40	1,30	1,06	100,0
\bar{x}	2,63	44	1,00	1,11	1,16	1,20	1,06	0,93	0,71	61,2
25	3,21	45	0,90	0,37	0,77	0,73	0,82	0,74	0,56	0,0
22	3,10	45	0,90	1,39	1,61	1,62	1,29	0,95	0,83	83,3
24	3,00	45	0,90	0,91	1,40	1,00	1,14	0,74	0,83	66,6
23	2,50	45	0,90	1,00	1,32	1,39	1,26	1,14	0,83	83,3
\bar{x}	2,95	45	0,90	0,91	1,27	1,18	1,12	0,89	0,76	58,3

jętniających w okresie poszczepiennym od poziomu przeciwciał u psów przed szczepieniem, postanowiono przeanalizować analogicznie dynamikę procesu immunologicznego, w odniesieniu do różnych serii produkcyjnych szczepionki i różnego infekcyjnego miana rezydualnego, zawartego w szczepionce wirusa (tab. 2).

Znamiennie przyrosty miana pojawiały się po uodpornieniu 8 różnymi seriami szczepionki, ze zmienną częstotliwością, w zależności

od rodzaju serii produkcyjnej. Nasuwa to przypuszczenie, że na częstość pojawiania się przypadków wzrostu miana poszczepiennego, przewyższającego znamienne wyjściowe miano u zwierząt przed szczepieniem, może mieć również wpływ wielkość infekcyjnego miana rezydualnego wirusa szczepionkowego. Przy użyciu serii szczepionki nr 37, o wysokim mianie rezydualnym wirusa (-log 1.70), częstość pojawiania się znamienych przyrostów miana zaobserwowano w 17 przypadkach na

18 badanych, czyli w 94,4%. Odpowiednio przy użyciu serii nr 40 — 88,8%, przy serii 41 — 77,7%, przy serii 36 — 66,6%, przy seriach 38 i 39 odpowiednio 77,7% i 72,2%. Natomiast po zastosowaniu serii 44 i 45, o niskich stosunkowo mianach wirusa, $-\log 1.00$ i $-\log 0.90$, częstotliwość występowania wzrostu miana poszczepiennego wynosiło odpowiednio 55,5% i 50,0%. Ogółem znamienne przyrosty pojawiły się w 108 przypadkach na 150 badanych, czyli w 72,0%. Również i w tym zestawieniu daje się zauważyć pewien gradient częstotliwości wzrostu miana, w zależności od rodzaju użytej do szczepienia serii produkcyjnej szczepionki i wielkości zawartego w niej miana rezydualnego wirusa wścieklizny.

Z przeprowadzonych badań wynika, że na wielkość przyrostów miana zubożniającego przeciwciał poszczepiennych wpływał poziom przeciwciał w surowicy krwi zwierząt przed szczepieniem. Natomiast na częstość ich występowania w okresie 1 roku po szczepieniu wpływała wysokość miana rezydualnego wirusa szczepionkowego. Oznaczałoby to, że zarówno miano rezydualne wirusa, jak i poziom przeciwciał u psów przed szczepieniem mają zasadniczy wpływ na pojawianie się odporności humoralnej u zwierząt uodpornianych. Obydwa te wskaźniki determinują w pewnym stopniu dynamikę procesu immunologicznego u szczepionych zwierząt, u których wytworzona odporność jest wynikiem wypadkowej działania zubożniającego ze strony naturalnych przeciwciał oraz działania antygenowego wirusa szczepionkowego.

Badanie odporności w próbie „challenge”

Losowo wybrane psy — 3 z grupy I (nr: 3, 11 i 20), 4 z grupy II (nr: 2, 5, 18, 23) oraz 3 z grupy III (nr: ewid. 8, 14, 22), zakażone wirusem ulicznym wścieklizny okazały się odporne i nie wykazały objawów choroby w ciągu 2,5-miesięcznej obserwacji klinicznej. Natomiast w grupie 4 psów kontrolnych, nie szczepionych i poddanych eksperymentalnemu zakażeniu wirusem zjadliwym, zaobserwowano zachorowania z objawami klinicznymi w ciągu 6—7 tygodni po zakażeniu.

Próba zakażenia psów o zróżnicowanym poziomie naturalnych przeciwciał, uodpornionych wszystkimi używanymi w doświadczeniu seriami produkcyjnymi szczepionki, wypadła negatywnie. Nie zaobserwowano bowiem klinicznie uchwytanych odchyłań od normy u szczepionych i zakażonych następnie psów doświadczalnych.

Wnioski

1. Najwyższe wartości mian SN stwierdzono każdorazowo we wszystkich grupach w 6 tygodni po szczepieniu. Począwszy od tego okresu poziom przeciwciał ulegał stopniowo

obniżeniu do wartości najniższej w 12 miesięcy po szczepieniu.

2. Wielkość miana przeciwciał zależna jest od wielkości analogicznego miana u zwierząt przed ich szczepieniem.

3. Częstotliwość przypadków znamiennego przyrostu miana w okresie poszczepiennym okazała się zależna od wielkości miana rezydualnego, zawartego w szczepionce wirusa.

Piśmiennictwo

1. Baczyński Z.: Pol. Arch. wet. 8, 437, 1964.
2. Baczyński Z., Zebrowski L.: Pol. Arch. wet. 9, 461, 1966.
3. Baczyński Z., Zadura J., Szymanowska H., Kryszkowska D.: Bull. vet. Inst., Puławy 20, 21, 1976.
4. Baczyński Z., Kryszkowska D.: Medycyna Wet. 35, 42, 1979.
5. Majdan S., Baczyński Z., Rulka J.: Medycyna Wet. 36, 275, 1980.
6. Tierkel E. S.: Adv. vet. Sci. 5, 183, 1959.

Adres autora: prof. dr Zbigniew Baczyński, ul. Kraszewskiego 10, 24-100 Puławy

Бачинский З., Эдунь Э. — Иммуногенные свойства 10% вакцины против бешенства „Rabiesvac”.

Выполнили серологические исследования собак, иммунизируемых разными производственными сериями вакцины, на присутствие нейтрализующих противотел. Определили уровень противотел в период 1 года после вакцинации животных в зависимости от уровня противотел у собак до вакцинации и величины резидуального титра, содержащегося в вакцине вируса. Исследования показали, что на величину существенных приростов титра противотел влияет уровень противотел в сыворотке крови животных перед вакцинацией. На частоту же появления титра, существенно превышающего уровень натуральных противотел, влияет величина резидуального титра, содержащегося в вакцине вируса.

Baczyński Z., Zdun E. — Immune properties of Rabiesvac.

The level of neutralizing antibodies in sera of dogs vaccinated with different batches of Rabiesvac — a vaccine against rabies — was determined. The concentration of antibodies following the vaccination in the course of one year and the concentration of the virus contained in the vaccine were assessed. It was found that a significant increase in the concentration of antibodies was related with the level of the antibodies before vaccination. While the presence and the frequency of positive titers surpassing the level of natural antibodies were dependent on the concentration of residual particles in the vaccine.

SATO K., INABA Y., SHINOZAKI T., MATUMOTO M.: Przeciwciała zubożniające rotawirus bydła u różnych gatunków zwierząt. (Neutralizing antibody to bovine rotavirus in various animal species). Vet. Microbiol. 6, 259—261, 1981 (3).

Badania nad występowaniem przeciwciał dla rotawirusów bydła przeprowadzono w Japonii w latach 1975—1977 z surowicami koni, krów, kóz, owiec, świń, psów, królików, świnek morskich, szczurów, myszy, kurcząt i ludzi. Występowanie swoistych przeciwciał dla szczepu Lincoln rotawirusa bydła wahało się w surowicach badanych gatunków zwierząt od 31 do 100%. Dodatnie wyniki uzyskano ze wszystkimi surowicami owiec, 96% surowic świń, 89% surowic psów, 95% surowic ludzi, 88% surowic koni, 85% surowic krów, 74% surowic królików, 57% surowic kóz i 56% surowic kurcząt. Najwyższe miana przeciwciał neutralizujących wirus stwierdzono u koni, krów, owiec i świń.

G.