Żórawski C., Skwarek P., Wozikowski R., Majek M. — **Biological activity of PPD tuberculins produced in Poland**

The studies were carried out on guinea-pigs sensitized with Mycobacterium tuberculosis C, DT and PN, Myc. bovis AN_5, and Myc. avium D_4ER, and also on cattle naturally infected with Myc. bovis or sensitized nonspecifically. It was shown that bovine and avian PPD tuberculins produced by Biological Laboratories „Biowet" preserved their biological activity and diagnostic value for at least two years after preparation „ad usum".

ZBIGNIEW BACZYŃSKI, DANUTA SKULMOWSKA-KRYSZKOWSKA

Ocena wstępna nieszkodliwości i właściwości immunogennych krajowej szczepionki przeciwko grypie koni

Zakład Wirusologii Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Grypa u koni jest zakaźną i zaraźliwą chorobą wywołaną przez dwa podtypy wirusa A-equi (1) Praha/56 i A-equi (2) Miami (63). Podtyp A-equi (1) wyizolowany został przez Sowinową i wsp. w CSRS w 1956 r. (6), zaś podtyp A-equi (2) przez Waddela i wsp. w USA w 1963 r. (9). Zakażenie tymi dwoma podtypami wirusa przebiega wśród ostrego zapalenia płuc i oskrzeli.

Grypa koni w Polsce ma przebieg enzootyczny, występuje okresowo, najczęściej w okresie wiosennym i jesienno-zimowym. Z chwilą wybuchu enzootii choroba rozprzestrzenia się szybko i obejmuje stopniowo coraz większą liczbę zwierząt (2, 3, 10, 11, 12). Enzootie powodują padnięcia zwierząt w granicach od 0,02 do 4,0% oraz straty ekonomiczne związane z okresowym wstrzymaniem eksportu koni oraz koniecznością wyłączenia zwierząt z pracy na okres kilku tygodni (4, 5, 13, 14).

Obydwa podtypy wirusa, aczkolwiek spokrewnione antygenowo, wykazują zróżnicowane właściwości chorobotwórcze. Dotyczą one zarówno nasilenia objawów klinicznych i zmian histopatologicznych w płucach i oskrzelach, jak i wysokości miana infekcyjnego względnie hemaglutynacyjnego oraz miana przeciwciał hamujących hemaglutynację. Podtyp A-equi 2 jest bardziej patogenny, aniżeli podtyp A-equi 1, w stosunku do którego przeciwciała odpornościowe posiadają prawie wszystkie konie dorosłe. Jest on szczególnie chorobotwórczy dla zwierząt młodych, natomiast podtyp A-equi 2 wywołuje zachorowania u koni w różnym wieku, ponieważ nie jest jeszcze szeroko rozpowszechniony u zwierząt (4).

Aktualnie w Polsce konie z gospodarstw indywidualnych nie są uodporniane przeciw grypie. Natomiast konie w państwowych stadninach, w stadach ogierów lub w stajniach treningowych szczepione są nieregularnie i często niezgodnie z przyjętym normogramem szczepień. Do uodporniania tych koni stosowane są szczepionki importowane Prevacun lub Resequin produkcji Behringwerke RFN oraz Gripiffa produkcji francuskiej firmy Merieux.

Brak dotychczas krajowej szczepionki powoduje, że większość koni nie jest uodporniana, co ze względu na sezonowy i cykliczny przebieg epizootii grypy — staje się przyczyną dużych strat. Opracowanie zatem krajowej szczepionki przeciw grypie koni wydaje się celowe, a jej wdrożenie do praktyki weterynaryjnej jak najbardziej uzasadnione i konieczne.

Celem opracowania było:

— przygotowanie inaktywowanej szczepionki biwalentnej przeciw grypie koni, w oparciu o dwa podtypy wirusa oraz

— wstępna ocena jej nieszkodliwości i właściwości immunogennych w badaniach laboratoryjnych.

Materiał i metody

Do sporządzenia szczepionki użyto 2 podtypów wirusa grupy A-equi 1 i A-equi 2, izolowanych od koni naturalnie zakażonych w przebiegu enzootii grypy. Wirusy pasażowano 10-krotnie przez 9—10-dniowe zarodki kurze, zakażane doomoczniowo w ilości 0,2 ml płynów omoczniowych zarodków poprzedniego pasażu wirusa A-1 i A-2. Do zakażenia zarodków przeznaczonych do sporządzenia szczepionki użyto 100 LD_{50} dla zarodków wirusa A-1 i A-2, zawartych w 0,2 ml mieszaniny płynów omoczniowych zarodków zakażonych 10. pasażem wirusa obydwu podtypów. Materiał wirusowy stanowiły płyny omoczniowe zebrane oddzielnie z zarodków zakażonych wirusem A-1 i A-2.

Płyny omoczniowe, pochodzące z zarodków zakażonych oddzielnie obydwoma podtypami wirusa, podzielono następnie na 2 części. Jedną część poddano wirowaniu przy 4500 g w ciągu 20 minut; uzyskany znad osadu płyn stanowił materiał wirusowy niezagęszczony. Drugą zaś partię płynu poddano wirowaniu jak poprzednio; uzyskany znad osadu płyn zagęszczano 100-krotnie przez wirowanie przy 170.000 g przez 2 godziny, przy użyciu wirówki MSE-65 (7, 8). Uzyskany po odwirowaniu osad, stanowiący materiał wirusowy zagęszczony, zawieszano w 2 ml jałowej wody redestylowanej. Obydwie partie wirusa A-1 i A-2, niezagęszczonego i zagęszczonego, mianowano w celu określenia jego właściwości infekcyjnych i hemaglutynacyjnych. Zawiesiny te — podane królikom domięśniowo, dwukrotnie w odstępie 4 tygodni, w ilości po 2 ml dawki dla konia — użyte zostały do uodporniania 20 zwierząt, w celu określenia w ich surowicy poziomu przeciwciał hamujących hemaglutynację (HI), seroneutralizujących (SN) oraz wiążących dopełniacz (WD). Poziom przeciwciał określano według ogólnie przyjętej techniki, 6-krotnie w odstępie 2 tygodni, w ciągu 12 tygodni po pierwszym uodpornieniu.

Właściwości immunogenne określano dodatkowo na 6 koniach doświadczalnych, uodparnianych dawką

2 ml domięśniowo w odstępach 6 tygodni. Miano przeciwciał hamujących hemaglutynację określano w odstępie 2 tygodni, w ciągu 19 tygodni po pierwszym uodpornieniu.

Toksyczność formaldehydu jako inaktywatora wirusa, określano na zarodkach kurzych, którym podawano różne dawki tego środka od 0,1 do 0,8 mg. Za dawkę nietoksyczną uznano najwyższą ilość 0,4 mg formaldehydu, przy której przeżywało 100% zarodków.

W celu zwiększenia efektu immunogennego szczepionki używano jako adiuwanta 8 mg wodorotlenku glinu w ilości 0,2 ml. Wartość liczbowa adiuwantu była proporcjonalna do objętości jednej dawki szczepionki i analogiczna do wartości przyjętych normą produkcyjną dla szczepionek przeciw grypie koni.

Szczepionkę sporządzano przez zmieszanie w równych objętościach, po 0,5 ml, 500 jHa podtypu A-1 i 1000 jHa podtypu A-2. Do zawiesiny dodano 0,4 mg formaldehydu, 8 mg wodorotlenku glinu oraz 0,4 ml jałowej wody redestylowanej. Łączna objętość jednej dawki uodporniającej szczepionki dla konia wynosiła 2 ml.

Moc antygenową szczepionki określano według testu Barthy na podstawie miana przeciwciał HI w surowicy królików, uodpornianych dwukrotnie jedną dawką szczepionki dla konia, w odstępie 21 dni; w 15 dniu po drugim uodpornieniu oznaczano poziom przeciwciał (1). Zgodnie z ustaloną przez Europejską Komisję Farmakopealną normą, miano przeciwciał HI winno być nie mniejsze niż −log 1,9.

Ponadto wykonano badania porównawcze wysokości mian przeciwciał hamujących hemaglutynację i seroneutralizacyjnych w surowicy krwi uodpornianych królików oraz określano miano infekcyjne i hemaglutynacyjne wirusów.

Badanie nieszkodliwości i stopnia inaktywacji szczepionki wykonywano równocześnie przy badaniu reakcji serologicznej zwierząt laboratoryjnych i koni doświadczalnych, którym podawano szczepionkę w celu sprawdzenia jej właściwości uodporniających.

Ponadto określano dodatkowo stopień inaktywacji szczepionki na zarodkach kurzych oraz na zwierzętach laboratoryjnych, zgodnie z ogólnie przyjętą normą produkcyjną PZPB. Badanie na jałowość szczepionki wykonywano kilkakrotnie, w różnych etapach jej produkcji, na podłożach bakteriologicznych, ustalonych normą produkcyjną PZPB.

Wyniki i omówienie

Właściwości immunogenne i patogenne obydwu podtypów wirusa zagęszczonego i niezagęszczonego (tab. 1). Przeprowadzone badanie wykazało, iż zagęszczenie wirusa powodowało znamienny wzrost miana infekcyjnego LD_{50} z −log 4,5 do −log 8,5 ze szczepem A-1 oraz z −log 6,5 do −log 9,5 ze szczepem A-2. Podobny wzrost uzyskano również w odczynie hemaglutynacji z miana 1 : 80 do 1 : 10 240 dla szczepu A-1 i z miana 1 : 640 do 1 : 20 480 dla szczepu A-2. Porównanie mian przeciwciał w surowicy krwi zwierząt uodpornianych zagęszczonym i niezagęszczonym wirusem A-1 i A-2 nie wykazało znamiennych różnic w odczynie HI, SN i WD. Równocześnie stwierdzono znamiennie wyższe miano infekcyjne niezagęszczonego wirusa A-2 z −log 6,5, w stosunku do szczepu niezagęszczonego A-1 −log 4,5. Podobnie również stwierdzono wzrost miana Ha dla niezagęszczonego szczepu A-2 1 : 640, w stosunku do szczepu niezagęszczonego A-1 1 : 80, co jest zgodne z naturą wirusa A-2. Na podstawie analizy wyników można stwierdzić, iż do produkcji szczepionki nadaje się bardziej wirus zagęszczony, wykazujący wyższe miano infekcyjne i hemaglutynacyjne, aniżeli wirus niezagęszczony.

Tab. 1. Charakterystyka właściwości patogennych i immunogennych podtypów wirusa grypy koni

Podtyp wirusa	LD_{50} dla zarodków kurzych − log_{10}	Ha	HI	OSN	OWD
		1:	1:	1:	1:
Niezagęszczony A_1	4,5	80	2560	40	80
Niezagęszczony A_2	6,5	640	1280	20	80
Zagęszczony A_1	8,5	10240	2560	40	20
Zagęszczony A_2	9,5	20480	1280	10	20

Wybór dawki formaldehydu, jako inaktywatora (tab. 2). Z danych tabeli wynika, iż dawki od 0,1 do 0,4 mg były tolerowane przez zarodki kurze, które przeżyły w 100%, podczas gdy dawka 0,6 mg powodowała już 100% obumieralność zarodków. Maksymalna zatem dawka 0,4 mg formaldehydu przyjęta została jako nieszkodliwa i nadająca się do inaktywacji wirusa w szczepionce. Wybrana dawka formaldehydu, zmieszana z 8 mg wodorotlenku glinu, nie wywołała działania toksycznego na zarodki kurze, które wykazały całkowitą tolerancję na wprowadzone substancje, objawiającą się 100% ich przeżywalnością.

Tab. 2. Charakterystyczne właściwości toksyczne formaldehydu dla zarodków kurzych

Żywotność zarodków kurzych w %	Dawka formaldehydu w mg				
	0,10	0,20	0,40	0,60	0,80
Obumieralność	0,0	0,0	0,0	100,0	100,0
Przeżywalność	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0

Badania na jałowość i nieszkodliwość szczepionki — wykonane zgodnie z obowiązującymi zasadami na podłożach bakteriologicznych i na zwierzętach laboratoryjnych — wykazały, iż preparat jest jałowy i nieszkodliwy dla zwierząt.

Właściwości immunogenne szczepionki (tab. 3), przebadane w odniesieniu do dwu jej komponentów na uodpornianych królikach, wyka-

Tab. 3. Miana przeciwciał HI w badaniu na uodpornianych królikach w $-log_{10}$

Lp.	2 tyg.		4 tyg.		6 tyg.		8 tyg.		10 tyg.		12 tyg.	
	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2
1	1,00	1,90	1,90	2,20	2,20	2,20	1,00	2,50	1,30	1,90	1,60	1,90
2	1,00	2,20	2,50	1,90	2,20	2,50	1,90	1,30	1,60	2,20	1,00	1,60
3	1,00	2,80	2,60	2,80	2,50	2,50	1,60	1,30	1,30	1,00	1,00	1,30
4	1,30	2,20	2,50	2,20	1,90	2,50	2,50	2,80	1,00	1,30	1,30	1,30
5	1,30	1,60	2,80	1,90	2,50	1,60	1,90	1,90	1,60	1,90	1,60	1,90
6	1,00	1,60	2,80	2,20	2,50	1,90	2,20	2,80	1,90	2,20	1,90	2,20
7	1,90	2,20	2,50	2,50	2,20	2,50	2,20	2,50	1,60	2,20	1,60	1,90
8	1,60	1,60	2,50	2,50	2,50	2,50	1,90	2,20	1,60	2,20	1,60	2,20
9	1,50	1,90	2,80	2,50	2,20	2,50	2,50	2,80	1,30	1,30	1,00	1,00
10	1,30	2,20	1,90	2,20	1,90	2,20	1,90	2,80	1,00	1,60	1,30	1,60
11	–	1,90	1,60	2,20	1,90	1,90	1,60	2,20	1,30	1,00	1,60	1,30
12	–	2,30	2,50	2,50	1,90	2,20	1,90	2,50	1,30	2,20	1,60	1,60
13	1,00	1,60	1,90	2,20	1,90	2,50	1,90	2,20	1,00	1,30	1,00	1,60
14	1,30	1,30	2,20	2,20	2,20	2,80	2,20	2,50	1,60	1,30	1,00	1,30
15	1,30	1,30	1,90	1,90	1,90	1,90	2,20	2,20	1,00	1,60	1,60	1,90
16	1,00	1,60	2,20	2,20	1,90	2,20	2,80	2,80	1,30	1,30	1,60	1,90
17	1,00	1,30	1,90	2,20	1,90	2,50	1,90	2,20	1,00	1,60	1,30	2,20
18	1,00	1,60	2,20	2,50	2,20	2,80	1,90	2,70	1,90	2,20	1,60	1,60
19	–	1,60	2,20	2,80	2,20	2,50	2,20	2,20	1,60	2,20	1,30	1,90
20	1,00	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	2,80	2,80	1,60	1,60	1,30	1,60
Średnie miana w −log	1,20	1,85	2,25	2,25	2,30	2,30	2,00	2,25	1,40	1,70	1,35	1,70
Rozrzut	1,00	1,30	1,60	1,90	1,40	1,60	1,00	1,30	1,00	1,00	1,00	1,00
	1,90	2,80	2,80	2,80	2,50	2,80	2,80	2,80	1,90	2,20	1,90	2,20

Tab. 4. Wstępne badania serologiczne koni uodpornianych szczepionką doświadczalną (odczyn HI w −log)

Lp	Przed szczep.		3 tyg. po szczep.		po I szczepieniu																	
					2 tyg.		4 tyg.		6 tyg.		8 tyg.		12 tyg.		15 tyg.		17 tyg.		19 tyg.		24 tyg.		32 tyg.	
	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2	A_1	A_2
1	1,3	1,3	1,0	1,6	1,0	1,3	1,3	1,6	2,2	2,5	2,2	2,2	1,9	2,2	1,0	2,2	1,0	1,0	1,3	1,0	1,0	–	1,6	2,2
2	–	–	1,9	2,2	1,0	1,3	1,3	1,0	1,0	1,0	1,3	1,9	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
3	1,3	1,3	1,6	2,2	1,6	1,9	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,2	2,2	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
4	1,0	1,3	–	1,3	1,3	1,3	1,0	1,6	2,2	2,2	1,9	2,2	1,9	2,2	n.b.	n.b.	1,9	1,0	1,6	1,0	1,6	1,3	2,2	1,9
5	–	1,0	1,0	1,3	1,0	1,3	1,3	1,6	1,9	2,2	2,2	1,9	2,2	2,2	–	2,5	1,9	1,9	1,9	1,6	1,6	1,6	1,9	2,2
6	n.b.	n.b.	1,0	1,6	1,0	1,6	1,0	1,6	2,2	2,5	2,2	2,2	2,2	2,5	1,3	2,8	1,6	1,9	1,6	1,9	1,6	1,0	1,6	1,9
Średnio	1,2	1,2	1,4	1,7	1,1	1,4	1,2	1,5	1,9	2,0	1,9	2,0	1,7	1,9	1,1	2,5	1,6	1,4	1,6	1,4	1,5	1,3	1,8	2,0

zały w okresie 12 tygodniowej obserwacji odpowiednie właściwości antygenowe obydwu szczepów wirusa. Z badań wynika, iż średnie miano HI dla szczepu A-1 wahało się od −log 1,2, w 2 tygodnie po uodpornieniu zwierząt, do −log 2,3, w 6 tygodni po szczepieniu. Średnie miano HI dla szczepu A-2 wahało się odpowiednio od −log 1,85 do −log 2,30. Najwyższy poziom średnich mian pojawił się w 4 do 8 tygodni po szczepieniu i począwszy od tego okresu zaznaczała się stopniwa tendencja spadkowa mian w granicach −log 1,0.

Właściwości immunogenne i nieszkodliwość szczepionki (tab. 4). Wstępne badania wymienionych właściwości, wykonane na 6 koniach doświadczalnych w różnym wieku, dwukrotnie uodpornianych w odstępie 6 tygodni, wykazały całkowitą nieszkodliwość szczepionki oraz swoistą reakcję serologiczną na działanie antygenowe ze strony obydwu podtypów wirusa. Szczepionka nie wywoływała żadnego odczynu poszczepiennego ogólnego lub miejscowego. W 3 tygodnie po pierwszym szczepieniu zaznaczył się wzrost mian HI, utrzymujący się przez 32 tygodnie obserwacji. Średnie miano HI osiągnęło w 6 do 8 tygodni po drugim szczepieniu wartość −log 1,9 dla szczepu A-1 i −log 2,0 dla szczepu A-2. W okresie od 6 do 32 tygodni po drugim szczepieniu miana wahały się od −log 1,1 do −log 1,9 dla szczepu A-1 i od −log 1,3 do −log 2,0 dla szczepu A-2.

Moc antygenowa szczepionki — badana na królikach według testu Barthy (tab. 5). Średnie miano przeciwciał HI u królików wynosiło w 21 dni po pierwszym uodpornieniu −log 1,6, przy wahaniach od −log 1,3 do −log 1,9, natomiast w 14 dniu po drugim uodpornieniu −log 1,9, przy wahaniach od −log 1,6 do −log 2,2. W porównaniu do średniej referencyjnej wartości miana HI, ustalonej przez Europejską Komisję Farmakopealną, wynoszącej −log 1,9, miana uzyskane wskazują, iż badana szczepionka wykazuje dostateczną moc antygenową.

Tab. 5. Określenie mocy antygenowej szczepionki

Gatunek zwierzęcia	Miano HI w $-\log_{10}$		
	przed szczepieniem	po 1 szczepieniu	po 2 szczepieniu
Króliki	0	1,8	2,2
	0	1,5	1,9
	0	1,3	2,2
	0	1,9	1,6
	0	1,6	1,9
Średnia wartość w −log	0	1,6	1,9
Rozrzut	0	1,3 1,9	1,6 2,2

Badania porównawcze miana infekcyjnego LD_{50} i hemaglutynacyjnego Ha obydwu podtypów wirusa (tab. 6). Badania nie wykazały istotnych różnic w zakresie obydwu wskaźników. Miano bowiem LD_{50} dla szczepu A-1 wynosiło −log 2,7, zaś Ha −log 2,2. Analogiczne wartości dla szczepu A-2 wynosiły odpowiednio

Tab. 6. Miana infekcyjne LD_{50} i hemaglutynacyjne podtypów wirusa grypy (−log)

Szczepy	LD_{50}	Ha
A_1	2,7	2,2
A_2	3,2	2,8

Tab. 7. Ocena porównawcza odczynu seroneutralizacji (SN) i odczynu hamowania hemaglutynacji surowic uodpornianych królików, wykonana z użyciem stałej dawki szczepu A_1 i A_2

Szczepy	SN	HI
A_1	2,1	2,1
A_2	2,4	2,3

−log 3,2 i −log 2,8. Badanie porównawcze wartości obydwu odczynów wykazało, iż te dwa testy mogą być stosowane równolegle do określania właściwości biologicznych wirusa.

Badania porównawcze odczynu seroneutralizacji (SN) i hamowania hemaglutynacji (HI) z surowicami królików uodpornianych obydwoma szczepami wirusa (tab. 7). Wyniki badań wskazują, iż miana SN dla szczepu A-1 wynosiły −log 2,1, zaś dla szczepu A-2 −log 2,4. Natomiast miana HI wynosiły odpowiednio −log 2,1 i −log 2,3. Miana SN i HI nie okazały się istotnie różne, co wskazuje że odczyn HI może być, zgodnie z zaleceniem Europejskiej Komisji Farmakopealnej, stosowany w miejsce SN jako mniej czaso- i pracochłonny i mniej kosztowny, a nadający się w równym stopniu co OSN do określania właściwości antygenowych szczepionki.

Wnioski

1. Biwalentna, inaktywowana szczepionka przeciw grypie koni jest całkowicie nieszkodliwa i dostatecznie immunogenna w odniesieniu do odbydwu podtypów wirusa.

2. Badania porównawcze właściwości infekcyjnych i hemaglutynacyjnych wirusa oraz miana seroneutralizacji i hamowania hemaglutynacji wskazują, że odczyn hemaglutynacji i jej hamowania może być stosowany w rutynowej praktyce laboratoryjnej w miejsce odczynu mianowania właściwości infekcyjnych wirusa i seroneutralizacyjnych.

3. Moc antygenową szczepionki przeciw grypie koni można określić badając miano HI w porównaniu do minimalnej wartości referencyjnej miana HI, ustalonej przez Europejską Komisję Farmakopealną.

Piśmiennictwo

1. *Barth R.*: Potency tests with equine influenza w International Symposium on influenza vaccines. red. S. Karger. Symposia Series in Immunobiological Standarization, t. 20, Basel, 1973.
2. *Beveridge W. I. B., Mahoffey L. W., Rose M. A.*: Vet. Rec. 77, 57, 1965.
3. *Jastrzębski T., Szczygielska J.*: Medycyna Wet. 27, 285, 1971.
4. *Rohrer H.*: Handbuch der Viruskrankheiten bei Tieren. Spec. Cz. 1, VEB G. Fischer, Jena 1967.
5. *Sobieih T., Nowacki J.*: Medycyna Wet. 27, 134, 1971.
6. *Siwinowa O., Tumowa B., Pouska F.*: Acta virol., Praga, (2), 52, 1958.
7. *Skulmowska-Kryszkowska D., Baczyński Z., Matusiewicz J.*: Bull. vet. Inst. Puławy 27, 54, 1964.
8. *Strandli O. K., Mortensson-Egmund K., Harboe A.*: Acta path. microbiol. scand. 60, 265, 1964.
9. *Waddel G. H., Teigland M. B., Sigel M. M.*: J. Am. vet. med. Ass. 143, 587, 1963.
10. *Weremowicz S., Parzych R., Malicki K.*: Medycyna Wet. 38, 48, 1982.
11. *Weremowicz S., Parzych R., Malicki K.*: Zentbl. VetMed. B., 30, 232, 1983.
12. *Wędrychowicz G.*: Medycyna Wet. 7, 660, 1951.
13. *Wołoszyn S., Pinkiewicz E., Pieńkowski M., Uchacz S.*: Medycyna Wet. 28, 582, 1972.
14. *Woyciechowska S., Kita J.*: Medycyna Wet. 28, 76, 1972.

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

Бачиньский З., Скульмовская-Крышковская Д. — **Вступительная оценка безвредности и иммуногенных свойств отечественной вакцины против гриппа лошадей**

Для изготовления отечественной, инактивированной вакцины против гриппа лошадей использовали 2 подтипа вируса A-equi 1 и A-equi 2, изолированных от натурально зараженных лошадей. Вакциной является сгущенная через центрифугирование суспензия аллантоидных жидкостей куриных зародышей, зараженных отдельно обоими подтипами вируса. Изготовленную вакцину исследовали вступительно относительно инфекционных, гемагглютинационных свойств и ее иммуногенности на подопытных кроликах и лошадях, а также определили антигенную мощность вакцины относительно референционной ценности, установленной Европейской фармакопеальной комиссией. Вакцина оказалась стерильной безвредной для лабораторных животных и лошадей. Вступительные лабораторные исследования показали достаточные иммуногенные свойства бакцины.

Baczyński Z., Skulmowska-Kryszkowska D. — **Preliminary evaluation of a vaccine against influenza in horses**

Two subtypes of influenza virus, A-equi 1 and A-equi 2 isolated from horses under natural conditions, were employed to prepare an inactivated vaccine. A concentrated liquid suspension of allantois of embryos infected separately with the two subtypes of influenza virus were use as a source of virus. The vaccine made was preliminary assessed toward infectivity, titre of haemagglutination and immune response in rabbits and horses. Antigenic value was compared with the data established by European Pharmacopeal Commission. The vaccine turned out to be sterile and harmless for laboratory animals and horses and its immunogenic properties proved to be satisfactory.

WANDA BORZEMSKA, ELŻBIETA MALICKA*, GRAŻYNA KOSOWSKA, PIOTR SZELESZCZUK

Wpływ zakażenia wirusem syndromu spadku nieśności (EDS'76) na lęgi kur

Zakład Chorób Drobiu Katedry Epizootiologii i *Katedra Patologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Syndrom spadku nieśności (Egg Drop Syndrome, EDS'76) został opisany w 1976 r. przez van Ecka i wsp. (10) i w ciągu kilku lat opanował wszystkie kontynenty. W ostatnich latach choroba ta została również rozpoznana w kraju (14, 20, 21).

Adenowirus wywołujący EDS'76 ma szczególny tropizm do narządu rozrodczego, co objawia się klinicznie spadkiem nieśności i uszkodzeniem jakości jaj. Przyjmuje się także, że wirus EDS'76 rozprzestrzenia się głównie drogą zakażenia pionowego (2, 8, 11, 18, 19). Brak jest natomiast ujednoliconych poglądów na wpływ naturalnej infekcji na przebieg lęgów. Obserwacje praktyczne Borna (3) wykazały zwiększenie się klujnikowego odpadu powylęgowego z 6—8% do 10—12%, co w konsekwencji obniżało liczbę piskląt o 4—6%. Więcej danych przytoczyli McFerran i wsp. (12), którzy także stwierdzili obniżenie wylęgu, lecz wyłącznie przy nakładach jaj z uszkodzoną skorupą.

Po eksperymentalnym zakażeniu kur lub jaj wirusem EDS'76 uzyskane informacje na temat uszkodzenia embriogenezy są również fragmentaryczne i zróżnicowane. Wg Zanelli i wsp. (22) najwrażliwsze na zakażenie są embriony w pierwszym tygodniu rozwoju. Po zakażeniu dożółtkowym 5—7 dniowych zarodków obserwowano zahamowanie w rozwoju, a także przedłużony i bardzo niski wylęg. W płynach płodowych obumarłych embrionów nie stwierdzono wirusa metodą HA, a specyficzne przeciwciała HI obserwowano u nielicznych piskląt.

Nie udała się jak dotąd izolacja wirusa z zarodków pochodzących od kur zakażonych naturalnie. Po infekcji eksperymentalnej Darbyshi-