

PAWEŁ SYSA, KONSTANTY ROMANIUK

Własności opsonizujące i ochronne surowicy świń uodpornionych przeciw różycy adsorbowaną szczepionką inaktywowaną lub niezjadliwą kulturą różycową Stauba

Katedra Epizootologii Wydziału Weterynarii SGGW w Warszawie
Kierownik: prof. dr A. STRYSZAK

Mechanizm odporności przeciw różycy nie jest dokładnie znany. Frei, Weidlich i Godglück (4) są zdania, iż główną rolę w obronie przeciw włoskowcom pełnią monocyty krwi, komórki śródbłonna naczyń i retikulocyty śledziony, przy znacznie mniejszym udziale wielojądrazstych leukocytów.

Według Dedie'go (1) szczepionki zawierające żywe włoskowce pobudzają organizm do wytworzenia przeciwciał skierowanych przeciwko antygenowi wielocukrowemu, które neutralizują jego działanie antyfagocytarne i umożliwiają fagocytozę zarazków. W szczepionkach adsorbowanych antygenowi wielocukrowego przeważnie nie ma, gdyż nie ulega on adsorpcji przez wodorotlenek glinu. Szczepionki te zawierają tylko antygeny białkowe, które mają inny mechanizm uodparniający.

Praca niniejsza obejmuje badania własności opsonizujących i ochronnych surowicy świń po uodpornieniu niezjadliwą kulturą różycową wg Stauba i adsorbowaną szczepionką inaktywowaną.

Materiał i metody

Część I. Badanie własności opsonizujących surowicy świń uodpornionych szczepionkami przeciwróżycowymi.

Do doświadczenia użyto świń wagi około 50 kg, dotychczas nie uodpornionych przeciw różycy. Badania wykonano w dwu seriach. W pierwszej użyto 9 świń, w drugiej — 4. Część zwierząt z każdej serii zaszczepiono adsorbowaną szczepionką inaktywowaną (a.s.z.i.), pozostałe niezjadliwą kulturą różycową wg Stauba (n.k.r. Stauba).

Właściwości opsonizujące surowicy badano za pomocą odczynu opsono-fagocyтарnego metodą próbówką wg techniki opisanej przez Maciak (3). Składnikami użytymi w tym odczynie były: surowica świń, leukocyty pochodzące z krwi końskiej, zawiesina włoskowców różycy (18-godzinna hodowla zjadliwego szczepu R-203). W obu seriach doświadczeń używano zawiesiny leukocytów tego samego konia.

Indeks opsono-fagocyтарny obliczano:

1) ze stosunku liczby bakterii sfagocytowanych w obecności surowicy zwierząt uodpornionych do liczby sfagocytowanych w obecności normalnej surowicy.

2) ze stosunku odsetka leukocytów fagocytujących po uodpornieniu do odsetka leukocytów fagocytujących świń przed uodpornieniem.

W celu sprawdzenia czy otrzymane różnice w działaniu dwóch stosowanych szczepionek są istotne, zastosowano analizę statystyczną przy pomocy testu Studenta.

Przed przystąpieniem do doświadczenia u zwierząt serii I odczyn opsono-fagocyтарny wykonano dwukrotnie, tj. w ciągu dwóch kolejnych dni, natomiast w mniej licznej serii II trzykrotnie, tj. w ciągu trzech kolejnych dni. Następnie zaszczepiono 5 świń serii I a.s.z.i. w ilości 5 ml na sztukę pod-

skórtwie; pozostałe 4 świnię — taką samą dawką n.k.r. Stauba. W serii II zaszczepiono 2 sztuki a.s.z.i. oraz 2 sztuki n.k.r. Stauba również dawką 5 ml wprowadzoną podskórnie. Szczepienie powtórzone następnego dnia wstrzykując świńcom po 10 ml, a w tydzień później jeszcze raz po 10 ml odpowiedniej szczepionki.

Zachowanie odczynu opsono-fagocyтарnego badano w 14 dni po pierwszym szczepieniu zwierząt. W serii I badanie odczynu opsono-fagocyтарnego przeprowadzono jednorazowo, w serii II — trzykrotnie, tj. w ciągu trzech kolejnych dni.

Część II. Badanie ochronnego działania surowicy świń uodpornionych przeciwko różycy a.s.z.i. lub też n.k.r. Stauba.

Doświadczenie przeprowadzono na białych myszkach, niecierząnych wagi około 17 gramów. Surowicę świń pobierano w 14 dni po szczepieniu. Surowicę świń uodpornionych a.s.z.i. łączono razem, podobnie postępowano z surowicą zwierząt uodpornionych n.k.r. Stauba. Mieszaniną tak przygotowanych surowic zaszczepiono odpowiednio grupy białych myszek. Do zakażenia myszek używano 24 godzinnej hodowli bulionowej włoskowca różycy R-203. Dawka 0,01 użytej kultury różycowej (0,3 ml rozcieńczenie 1:30) powodowała śmierć myszki w ciągu 3—4 dni (2).

Stawkę myszek liczącą 40 sztuk podzielono na 8 grup po 5 myszek każda. Grupy 1, 2, 3 zaszczepiono ochronnie odpowiednio 0,2, 0,3, 0,5 ml dawką surowicy świń uodpornionych uprzednio n.k.r. Stauba. Grupy 4, 5, 6 — odpowiednią ilością 0,2, 0,3, 0,5 ml dawką surowicy świń uodpornionych a.s.z.i. Grupa 7 i 8 stanowiły kontrolę. Myszki grupy 7 zaszczepiono ochronnie ilością 0,5 ml surowicy przeciwróżycowej o znanym mianie 75 jedn. Myszki grupy 8 nie były uodpornione. Surowicę wstrzykiwano podskórnie.

Po upływie 1 godziny wszystkie myszki zakażano dootrzewnowo po 0,01 ml zjadliwego zarazka różycy R-203.

Materiał z padłych myszek wysiewano na agar z krwią i podłoże stałe wg Brilla — Szykiewicza. Stwierdzane różnice w długości życia poszczególnych myszek badano testem Studenta.

Wyniki

Część I.

Otrzymane wartości liczbowe, w postaci średnich arytmetycznych przedstawiają tabele 1—4. Wyniki doświadczeń serii I i II ze względu na brak zasadniczych różnic liczbowych w obrębie tych dwóch serii połączono ze sobą.

W obu grupach doświadczalnych stwierdzono wzrost wskaźnika opsono-fagocyтарnego (tab. 2). W grupie świń uodpornionych a.s.z.i. wskaźnik opsono-fagocyтарny surowic poszczególnych zwierząt zawarty był w granicach 1,74—3,56 i w czasie kolejnych badań utrzymywał się u poszczególnych świń na zbliżonym poziomie. W grupie świń uodpornionych n. k.r. Stauba wskaźnik opsono-fagocyтарny był znacznie wyższy; wartość jego wynosiła 10,76—23,41 (tab.2) wykazując nieznaczną tendencję wzrostową

Tab. 1. Średnie arytmetyczne liczb fagocytarnych

Czas badania	Adsorb. szczepionka inakt.							N. k. r. Stauba					
	nr świni							nr świni					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Przed uodpornieniem	0,48	0,38	0,23	0,50	0,47	0,33	0,25	0,29	0,35	0,32	0,17	0,26	0,36
Po uodpornieniu	1,06	1,16	0,78	0,98	0,82	1,01	0,90	4,57	5,03	4,55	3,98	3,98	3,87

Tab. 2. Średni arytmetyczny wskaźnik opsono-fagocytarny

Czas badania	Adsorb. szczepionka inakt.							N. k. r. Stauba					
	nr świni							nr świni					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Przed uodpornieniem	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Po uodpornieniu	2,41	3,05	3,39	1,96	1,74	3,07	3,56	15,76	14,37	14,21	23,41	17,03	10,76

Tab. 3. Średnie arytmetyczne odsetki leukocytów fagocytujących

Czas badania	Adsorb. szczepionka inakt.							N. k. r. Stauba					
	nr świni							nr świni					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Przed uodpornieniem	6	8	9	13	11	13	8	14	12	7	5	10	13
Po uodpornieniu	34	40	30	36	41	38	34	49	54	50	47	51	58

Tab. 4. Średni arytmetyczny wskaźnik opsono-fagocytarny obliczony na podstawie odsetka leukocytów fagocytujących

Czas badania	Adsorb. szczepionka inakt.							N. k. r. Stauba					
	nr świni							nr świni					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Przed uodpornieniem	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Po uodpornieniu	5,66	5,00	3,33	2,77	3,73	2,88	4,08	3,64	4,50	7,14	9,40	5,29	4,50

w czasie kolejnych badań. Wyniki sprawdzone metodą statystyczną wykazują znamienne różnice dla dwóch grup surowic przy $p > 0,001$.

Wskaźnik opsono-fagocytarny obliczony ze stosunku odsetka leukocytów fagocytujących świń uodpornionych do odsetka leukocytów fagocytujących tych świń przed uodpornieniem wynosi: w grupie świń uodpornionych a.s.z.i 2,77—5,66 (utrzymując się u poszczególnych zwierząt na zbliżonym poziomie w czasie kolejnych badań), w grupie świń uodpornionych n.k.r. Stauba — 3,64—9,40 wykazując również w pewnym stopniu stałość poziomu (tab. 4).

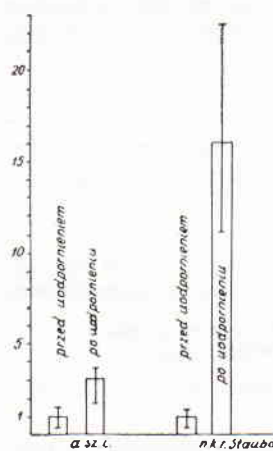
Wskaźniki opsono-fagocytarne obliczone na podstawie liczby sfagocytowanych włoskowców i odsetka leukocytów fagocytujących przedstawiono graficznie w postaci wykresów nr 1 i 2. Wartości przedstawione w wykresach stanowią średnią wartość dla całej grupy świń uodpornionych a.s.z.i. bądź n.k.r. Stauba.

Część II.

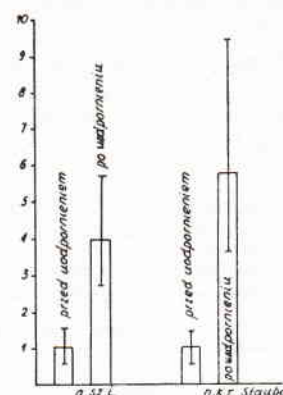
Wyniki badania własności ochronnych surowicy krwi świń uodpornionych przedstawia tabela 5.

W grupie myszek uodpornionych surowicą świń szczepionych n.k.r. Stauba długość utrzymywania się ich przy życiu przedstawiała się następująco: przy 0,2 ml surowicy — średnio

6 dni, 0,3 ml — 5,6 dnia, 0,5 ml — 7,4 dnia, uodpornionych a.s.z.i.: dawką 0,2 ml — 4,4 dnia, 0,3 ml — 4,2 dnia, 0,5 ml — 5,4 dnia.



Wykres 1



Wykres 2

Wykres 1.

Wskaźnik opsono-fagocytarny na podstawie liczby sfagocytowanych włoskowców.

Wykres 2.

Wskaźnik opsono-fagocytarny na podstawie odsetka leukocytów fagocytujących.

Z przedstawionych danych wynika, że myszki uodpornione surowicą świń szczepionych n.k.r. Stauba żyły nieco dłużej niż myszki,

Tab. 5. Czas utrzymywania się przy życiu myszek uodpornionych surowicą świń po szczepieniu n.k.r. Stauba lub adsorbowaną szczepionką inaktywowaną, a następnie zakażonych zjadliwymi włoskowcami szczepu R-203

Ilość myszek	Surowice świń uodpor.	Dawka zakażaj.		Długość życia myszek (w dniach)							Uwagi
		ml	ml	4	5	6	7	8	9	10	
5	n. k. r. Stnuba	0,2	0,01	—	2	1	2	—	—	—	padły wszystkie szt.
5		0,3	0,01	1	1	2	1	—	—	—	
5		0,5	0,01	—	1	1	1	1	1	—	
5	a. sz. i.	0,2	0,01	3	2	—	—	—	—	—	"
5		0,3	0,01	4	1	—	—	—	—	—	
5		0,5	0,01	1	2	1	1	—	—	—	
5	Sur. 75 j.	0,5	0,01	—	—	1	—	—	—	—	4 myszki przeżyły
5	—	—	0,01	5	—	—	—	—	—	—	padły wszystkie

które otrzymały surowicę świń uodpornionych a.sz.i. Różnice mieszczą się w przedziale ufności $p > 0,001$ i są zatem istotne.

Z krwi i narządów padłych myszek wychodowano włoskowce różycy.

Spośród myszek uodpornionych przed zakażeniem włoskowcami znaną surowicą o mianie 75 jedn. padła tylko 1 myszka — 6 dnia. Z krwi i narządów padłej myszki nie udało się jednak wychodować włoskowców.

Wszystkie myszki nieuodpornione, zakażone tylko szczepem R-203 ginęły w ciągu 4 dni.

Wnioski

1. Wskaźnik opsono-fagocytarny u świń uodpornionych n.k.r. Stauba jest znacznie wyższy niż u świń szczepionych a.sz.i.

2. Wskaźnik opsono-fagocytarny obliczony na podstawie odsetka leukocytów fagocytujących jest również wyższy u świń uodpornionych n.k.r. Stauba niż u świń szczepionych a.sz.i.; różnice te jednak nie są tak wyraźne jak przy obliczaniu wskaźnika na podstawie liczb fagocytarnych.

3. Surowica świń uodpornionych n.k.r. Stauba, 2 tygodnie po uodpornieniu, skuteczniej chroni myszki przed zakażeniem włoskowcem niż surowica świń uodpornionych a.sz.i.

Piśmiennictwo

1. Dedié K.: Zentrallb. f. Bakt. (Orig.) 170, t. 158, 3/5, 1952.
2. Instrukcja określania miana surowicy przeciw różycowej, BioWet.
3. Maciak T.: Pol. Arch. Wet. 213, t. 8, z. 2, 1963.
4. Stryszak A.: Choroby świń, PWRiL, 1964.

Adres autora: lek. wet. Paweł Sysa, Warszawa, ul. Grochowska 272.

Сыса П., Романюк К. — Опсонизирующие и предохранительные свойства сывороток свиней привитых против рожи инактивированной вакциной или авирулентной культурой Штоба.

Свойства сывороток крови свиней исследовали в 2 недели после прививки. Результаты анализировали статистически с учетом теста по Student'у.

Установили, что у свиней привитых авирулентной культурой Штоба опсонофагоцитарный индекс значительно выше (10,76—23,41) чем у свиней привитых адсорбированной вакциной (1,74—3,56).

Установленное на мышках предохранительное действие сыворотки свиней тоже было лучше у животных привитых авирулентной культурой Штоба чем привитых адсорбированной.

Sysa P., Romaniuk K. — The opsonic and protective features of serum of swine immunized against Swine erysipelas with adsorbed inactivated vaccine or non-virulent culture of Erysipelothrix according to Staub.

The opsonic features of swine serum were investigated with the use of opsonic index 2 weeks after vaccination. The protective features of the serum were checked on mice. The results were statistically analysed by Student's test.

The opsonic index indicator in swine immunized with nonvirulent culture of Erysipelothrix according to Staub was evidently higher (10.76—23.41) than in swine vaccinated with adsorbed inactivated vaccine (1.74—3.56).

Also the protective activity of serum of swine immunized with nonvirulent culture of Erysipelothrix was higher than in swine immunized with adsorbed inactivated vaccine.

Sysa P., Romaniuk K. — Opsonierende und Schutzeigenschaften des gegen Rotlauf mit adsorbiertem inaktiviertem Impfstoff oder avirulenter Rotlaufkultur Staub immunisiertem Schweineserum.

Opsonierende Eigenschaften des Schweineserum wurden mittels der opsono-phagocytären Reaktion zwei Wochen nach der Impfung geprüft. Schutzeigenschaften des Serum sind auf Mäusen erforscht worden. Die Ergebnisse analysierte man statistisch mit Hilfe des Studenttestes. Der opsono-phagocytäre Index von mit avirulenter Rotlaufkultur immunisierten Schweine gestaltete sich bedeutend höher (10,76 bis 23,41) als bei mit adsorbiertem inaktiviertem Impfstoff geimpften (1,74 bis 3,56). Auch die Schutzwirkung des Serum der mit avirulenter Rotlaufkultur geimpften Individuen war höher wie bei denen, welche der Impfung mit adsorbiertem inaktiviertem Vakzin unterzogen wurden.

SZNIEJDIER M. A.: Hodowanie wirusa erythroblastozy w hodowlach tkankowych (Kultiwirowanie wirusa erythroblastozy w tkankowych kulturach). Wietierinaria, Moskwa, 44, 1, 34—37 (1968).

Erythroblastozy kur jest jedną z form leukoz drobiu. Badania przeprowadzono przy użyciu bułgarskiego szczepu R (dra Todorowa). Stwierdzono, że szczep ten może być namnażany na hodowli fibroblastów zarodków kury, nie wywołując jednak zmian cytopatycznych. Namnażony w ten sposób wirus wstrzyknięty kurczętom (iv. 3—7-dniowym lub do szpiku kostnego 3—6-tygodniowym) wywołał u części z nich objawy erythroblastozy (niedokrwiłość, żółtaczka, depresja, ogólne osłabienie).

T. J.