

KONRAD WASIŃSKI

Badania nad aerosolowym uodpornianiem świń przeciw różycy

Z Zakładu Badania Chorób Świń Instytutu Weterynarii w Puławach

Intensywny rozwój produkcji trzody chlewnej w naszym kraju wymaga wprowadzenia i stosowania nowoczesnych, przemysłowych metod, ściśle związanych z tworzeniem dużych skupisk zwierząt, mechanizację czynności ich obsługi i zmniejszeniem liczebności personelu. Te nowe warunki hodowli stwarzają z kolei konieczność adaptacji i modernizacji dotychczasowych metod profilaktyki tak, aby pozwalały one skutecznie zabezpieczyć zdrowotność pogłowia i zapobiec stratom gospodarczym. Zagadnienie to jest tym bardziej istotne, że wg przyjętych dziś poglądów, w warunkach hodowli wielkotowarowej występują czynniki ułatwiające powstawanie i szerzenie się chorób zakaźnych (4).

W poprzednich latach przeprowadzono badania nad możliwością swoistego uodporniania świń *per os* przy użyciu szczepionek przeciw różycowych wytwarzanych w kraju (3, 7). W niniejszej publikacji przedstawione zostaną doświadczenia nad zastosowaniem hodowli atenuowanych szczepów włoskowca różycy A70 i VR2 do aerosolowego uodporniania przeciw różycy. Dane z piśmiennictwa wskazują, że w tej dziedzinie uzyskano w niektórych krajach zachęcające wyniki (1, 5, 6). Dotychczas brak jest jednak informacji o szerszym stosowaniu tej metody w praktyce.

Materiał i metody

Do doświadczeń użyto 54 klinicznie zdrowe świny rasy wbp o ciężarze ciała po 35–75 kg. Dla określenia poziomu odporności przeciwróżycowej przed rozpoczęciem doświadczeń, od zwierząt tych pobrano krew a uzyskane z niej surowice przebadano metodą próby wzrostowej wg Wellmanna-Hubriga (2), przy użyciu hodowli zjadliwych szczepów włoskowca różycy R203 i R2708. Do uodporniania świń doświadczalnych przygotowano hodowlę atenuowanego szczepu VR2 w bulionie z mięsa końskiego oraz hodowlę szczepu A70 w takim samym bulionie z dodatkiem 0,03% Tweenu 80.

Zabieg uodporniania aerosolowego wykonano w następujący sposób: w pomieszczeniu o wymiarach 292×115×295 cm i objętości około 9,91 m³ umieszczano grupę pięciu trwale oznakowanych i dobranych pod względem ciężaru ciała świń po czym pomieszczenie zamykano i uszczelniano. Przez specjalny otwór umieszczony na wysokości 130 cm wprowadzano wylot dyszy aparatu (model M1601 f-my Burgess Vibrocrafter Inc. Grayslake, Illinois), rozpylającego szczepionkę na mgłę o średnicy kropeł w przedziale 1–20 mikronów. Do uodporniania świń w poszczególnych grupach używano dawek hodowli szczepu VR2 zawierających 7,6×10⁸ i 3,5×10⁹ żywych włoskowców na jedno zwierzę uodporniane oraz hodowli szczepu A70 w dawkach zawierających 4,5×10⁸; 9×10⁸; 10×10⁹ i 14,5×10⁹ żywych włoskowców na jedną świnię w grupie uodpornianej. Bezpośrednio przed użyciem szczepionki

rozcieńczano równą objętością 0,9% roztworu NaCl. Po całkowitym rozpyleniu preparatu i ostatecznym uszczelnieniu pomieszczenia pozostawiano w nim zwierzęta przez 1 godzinę, potem tym samym aparatem rozpylano z kolei 200 ml wody. Po następnych 15 minutach zwierzęta przepędzono do innych pomieszczeń a komorę używaną do uodporniania poddawano dokładnemu oczyszczeniu i dwukrotnej dezynfekcji roztworem chinoksazolu i ługu sodowego. Pracownicy wykonujący te czynności używali masek ochronnych (M12).

Zwierzęta doświadczalne poddawano dokładnej obserwacji z mierzaniem wewn. ciepłoty ciała przez okres 10 dni po przeprowadzeniu zabiegu.

W 21, 40 i 108 dni po uodpornieniu aerosolowym od świń z grup uodpornianych oraz kontrolnych — nieuodpornianych pobierano krew do badań metodą próby wzrostowej, a następnie poddawano je kolejno zakażeniu. W tym celu każdej świni wstrzykiwano śródkórnice w 3 odwołanie i wydezynfekowane miejsca na boku ciała po 0,2 ml zmieszanych w równych częściach hodowli szczepów R203 i R2708 — tych samych, które używano do badania surowicy. Przy interpretowaniu wyników uzyskanych metodą próby wzrostowej przyjmowano za jej autorami, że świni, których surowice dodane w ilości nie większej niż 1% (miano 100) do bulionu posianego następnie wymienionymi szczepami powodują aglutynację hodowli, są całkowicie niewrażliwe na zakażenie różycą. Za wrażliwe na zakażenie doświadczalne uznawano te świni, które w ciągu 3 dni po tym zakażeniu wykazywały wewnętrzną ciepłotę ciała powyżej 40,5°C przez co najmniej 16 godzin i ewentualne rozległe zmiany skórne wokół miejsc zakażenia.

Wyniki i omówienie

Badanie metodą próby wzrostowej surowic pobranych od świń przed uodpornieniem wykazało niski poziom swoistych ciał przeciwróżycowych u wszystkich zwierząt badanych. Miana tych przeciwciał nie przekraczały 20, co świadczy o wrażliwości na zakażenie różycą i przydatności zwierząt do doświadczeń. Za stwierdzeniem takim przemawiają również wyniki późniejszego zakażenia świń kontrolnych. Obserwacje i badania kliniczne przeprowadzane w okresie pomiędzy uodpornieniem a zakażeniem nie wykazały odchylen od normy w zakresie wewn. ciepłoty ciała, apetytu i zachowania się zwierząt uodpornianych. Można więc przyjąć, że użyte hodowle szczepów A70 i VR2 jak i sposób ich podania okazały się nieszkodliwe zarówno dla świń młodszych (po ok. 35 kg) jak i starszych (po ok. 70 kg).

Wyniki badania poziomu odporności swoistej u świń w 21, 40 i 108 dni po aerosolowym uodpornieniu przeciw różycy przedstawiono w tab. 1.

Uwzględnione w tab. 1 dane z prób *in vitro*

Tab. 1. Wyniki badania odporności swoistej metodą próby wzrostowej i zakażenia sztucznego u świń w różnym czasie po uodpornieniu aerosolowym

Grupa	Szczep	Liczba żywych włoskowców na 1 sztukę uodpornioną	Liczba świń w grupie i przeciętny ciężar w dniu uodpornienia	Liczba świń uznanych za odporne na różycę po dniach:		
				21	40	108
I	VR2	$7,6 \times 10^8$	5 szt. — 70 kg	(0*)5**		
II	A70	10×10^9	5 szt. — 40 kg	(1)4		
Kontrolna	—	—	2 szt. — 60 kg	(0)0		
III	VR2	$7,6 \times 10^8$	5 szt. — 35 kg			
IV	A70	$4,5 \times 10^9$	5 szt. — 75 kg		(0)5	
V	A70	9×10^9	5 szt. — 75 kg		(1)5	
VI	A70	10×10^9	5 szt. — 40 kg		(0)4	
Kontrolna	—	—	6 szt. — 60 kg		(1)5	
VII	A70	$14,5 \times 10^9$	i 2 szt. — 35 kg		(0)0	
VIII	VR2	$3,5 \times 10^9$	5 szt. — 40 kg	(0)n.b.		(1)5
Kontrolna	—	—	4 szt. — 40 kg	(1)n.b.		(2)4
Kontrolna	—	—	5 szt. — 40 kg	(0)n.b.		(0)0

Objaśnienia: * = na podstawie badania surowicy metodą próby wzrostowej; ** = na podstawie reakcji na zakażenie doświadczalne; n.b. = nie badano.

— próby wzrostowej (*) jak i *in vivo* — śródskórnego zakażenia doświadczalnego (**), wskazują na istnienie różnic pomiędzy wynikami uzyskanymi tymi dwiema metodami. I tak np. stosując podane wyżej kryterium wg Wellmanna-Hubriga, za w pełni odporne na różycę na podstawie próby wzrostowej można było uznać tylko 6 z 39 świń uodpornianych (po jednej z grup II, IV, VI i VII oraz dwie z gr. VIII). Takie same różnice stwierdzono w kilkakrotnie powtarzanych badaniach tych samych surowic metodą próby wzrostowej, do której użyto wzorcowego szczepu włoskowca „Marienfelde”. Natomiast 37 z 39 świń uodpornianych aerosolowo hodowlami szczepów VR2 i A70 okazało się niewrażliwymi, a tylko dwie (po jednej z gr. II i V), zareagowały na zakażenie sztuczne, wykonane w 21 i 40 dni po uodpornieniu. Należy dodać, że wśród niewrażliwych na zakażenie znalazły się wszystkie zwierzęta uznane za odporne na podstawie badania serologicznego. Pełną zgodność pomiędzy wynikami badań *in vitro* i *in vivo* uzyskano tylko u nieuodpornianych świń kontrolnych, które wykazywały niski poziom swoistych przeciwciał w surowicy oraz pełną wrażliwość na zakażenie sztuczne. Nasilone objawy ogólne i zmiany miejscowe występujące u tych zwierząt już w 24 godz. po zakażeniu oraz fakt zachorowania wszystkich świń kontrolnych świadczą o wysokiej patogenności użytych szczepów R203 i R2708.

Z analizy powyższych stwierdzeń zdaje się zatem wynikać, że przy określaniu poziomu odporności swoistej powstałej po aerosolowym uodpornieniu przeciw różycy bardziej miarodajne wyniki uzyskano metodą challenge'u niż badaniem serologicznym. Przyczyn tych rozbieżności, których nie obserwowano na szerszą skalę w dotychczasowych badaniach nad uodpornianiem świń przeciw różycy metodą doustnego czy podskórnego podawania szczepionek (7, 8) możnaby doszukiwać się w spo-

sobie interpretacji zależności pomiędzy stanem odporności na zakażenie śródskórne a poziomem swoistych przeciwciał wykrywanych próbą wzrostową. Możliwe jest także, że zjawisko to pozostaje w związku z działaniem innego niż w poprzednich doświadczeniach mechanizmu odporności przeciwwakażnej. Należy bowiem mieć na uwadze fakt, że w opisanych warunkach uodporniania aerosolowego, kontakt zwierząt z żywymi hodowlami włoskowca następował nie tylko poprzez drogi oddechowe ale także przez śluzówki naturalnych otworów ciała jak i całą powierzchnię skóry.

Istnienie tych niejasności, których ostateczne rozstrzygnięcie wymaga przeprowadzenia dodatkowych badań, nie wydaje się natomiast mieć istotnego wpływu na zasadność stwierdzenia, że w przyjętych warunkach doświadczalnych uzyskano zadawalającą, choć nieco wolniej chyba narastającą odporność swoistą. Okazała się ona wystarczająca dla całkowitego zabezpieczenia uodpornianych świń przed następstwami silnego zakażenia doświadczalnego przez okres nie krótszy niż 15 tygodni. Przemawia to za celowością użycia powyższej metody w kontroli immunoprofilaktyki różycy.

Należy jednak podkreślić, że wprowadzenie tej metody do praktyki wymaga uprzedniego wyjaśnienia wielu wiążących się z nią zagadnień natury biologicznej i technicznej. Spośród nich należałoby wymienić dla przykładu: zagadnienie nieszkodliwości używanych szczepionek dla zwierząt i ludzi, możliwość rewersji zjadliwości u szczepów obficie wprowadzanych w postaci żywej hodowli do bezpośredniego otoczenia zwierząt a także możliwość przygotowania przez przemysł bioweterynaryjny preparatów dających się łatwo i równomiernie rozpylać. Z obserwacji poczynionych podczas wykonywania doświadczeń wynika, że wytwarzane obecnie szczepionki dość trudno przechodzą w stan aerosolu o małej średnicy cząsteczek. Rozwiązania wymagałaby także

sprawa wyposażenia w odpowiednie urządzenia rozpraszające i rozpylające preparat w obiekcie hodowlanym, zorganizowanie i przeszkolenie ekip pracowników oraz zapewnienie solidności wykonywania zabiegu. Stanowi to niejako drugi aspekt zagadnienia uodporniania aerosolowego, którego pierwszym było wykazanie, czy przy użyciu dostępnych dziś w kraju preparatów i środków możliwe jest aerosolowe uodpornianie świń przeciw różycy.

Przedstawione powyżej i omówione pokrótce badania, pomimo ich wstępnego charakteru wydają się jednak upoważniać do wyciągnięcia pewnych wniosków.

Wnioski

1. Aerosolowe uodpornianie świń przeciw różycy hodowlami atenuowanych szczepów 470 i VR2 w warunkach zastosowania w doświadczeniach okazało się zabiegiem nieszkodliwym zarówno dla świń młodych (po ok. 35 kg) jak i starszych (po ok. 70 kg).

2. Uzyskano odporność swoistą zabezpieczającą w pełni 37 z 39 uodpornianych świń przed silnym zakażeniem śródskórnym wykonanym w 21, 40 i 108 dni po uodpornieniu.

3. Dla określania tej odporności bardziej miarodajna wydaje się być próba zakażenia sztucznego niż badanie surowic metodą próby wzrostowej.

4. Bliższe poznanie przyczyn zaobserwowanego zjawiska rozbieżności pomiędzy wynikami próby wzrostowej i sztucznego zakażenia śródskórnego wydaje się być celowe ze względu na walory poznawcze jak i ewentualne aspekty praktyczne.

YOSHIDA I., YUASA N., NORIUCHI T., TSUBAHARA H.: Wpływ odporności biernej naturalnej na przebieg choroby Mareka oraz właściwości ochronne szczepionki. (Effect of maternal immunity against development of Marek's disease and protective ability of vaccine). *Natn. Inst. Anim. Hlth. Qt.*, Tokio, 15, 1—7, 1975 (1).

Badania miały na celu określenie wrażliwości kurcząt na chorobę Mareka oraz działanie ochronne szczepionki opartej o herpeswirus indyków (HVT) na kurczęta pochodzące od niosek zakażonych uprzednio chorobą Mareka lub wirusem HVT. Nioski zakażono wirusami w wieku 4 tygodni życia. Odsetek zachorowań u kurcząt zakażonych w wieku 3 dni wirusem choroby Mareka wynosił w przypadku kurcząt pochodzących od niosek zakażonych MDV-HVT 26,7%, MDV — 44,8%, zaś od niosek z grupy kontrolnej 81,8%. Stopień działania ochronnego obniżał się wraz z wiekiem kurcząt. Działania ochronnego nie stwierdzono zupełnie u kurcząt pochodzących od niosek zakażonych MDV, po 10 dniach życia, zaś po 21 dniach życia u kurcząt pochodzących od niosek zakażonych MDV-HVT. Po szczepieniu kurcząt ze stada kontrolnego jak również od niosek zakażonych MDV szczepionką opartą o HVT uzyskiwano solidną odporność 10 dnia po szczepieniu. Natomiast po szczepieniu tą

Piśmiennictwo

1. Chajkowski M., Matras J.: *Medycyna Wet.* 24, 8, 1968.
2. Hubrig Tr.: *Wiss Arbeit auf d. Geb. Vet. Med. Dtsch. Ak. Landwirtwiss.* Berlin 1962.
3. Janowski H., Wasiński K., Wasińska B.: *Medycyna Wet.* 28, 466, 1972.
4. Mayr A., Rojahn A.: *Tierarztl. Umsch.* 23, 555, 1968.
5. Meese M., Möhlmann H., Stöhr P.: *Mh. Vet.-Med.* 23, 331, 1968.
6. Schulz V.: *Mh. Vet.-Med.* 27, 818, 1972.
7. Wasiński K., Wasińska B., Tereszczuk S.: *Medycyna Wet.* 31, 73, 1975.
8. Wasiński K.: *Medycyna Wet.* 32, 85, 1976.

Adres autora: dr Konrad Wasiński, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.

Васиньски К. — Исследования по аэрозольной иммунизации свиней против рожи свиней.

Установили, экспериментально на 54 свиньях, что аэрозольная иммунизация живой культурой аттенуированных штаммов А₇₀ (в дозах 4,5×10⁹, 9×10⁹, 10×10⁹, 14,5×10⁹) и VR2 (в дозах 7,6×10⁸ и 3,5×10⁹) является для младших (ок. 35 кг) и старших (ок. 70 кг) свиней безвредно. Вызванный иммунитет хранил 37 животных на 39 вакцинированных против сильного интрадермального заражения восприимчивого на 21, 40 и 108 день после вакцинации. Для определения уровня этого иммунитета кажется более подходящим метод контрольного заражения чем исследование in vitro сыворотки реакцией торможения роста бактерий.

Автор полагает что по научным, а также практическим соображениям желательнее более точное выяснение причин противоречивых результатов получаемых обоими методами.

Wasiński K. — Investigations on aerosol immunization of pigs against diamond disease.

The investigations carried out on 54 pigs revealed that aerosol immunization by the use of live attenuated cultures of the strain A₇₀ in the number of 4.5×10⁹, 9×10⁹, 10×10⁹, 14.5×10⁹, and VR₂ in the number of 7.6×10⁸ and 3.5×10⁹ proved to be safe for young (approx. 35 kg of live weight) and older (approx. 70 kg) animals. The immunity acquired protected 37 out of 39 pigs against intradermal infection performed after 21, 40, and 108 days since immunization. In order to determine the degree of immunity the challenge method seemed to be better than that of growth one. The author thinks that some discrepancies between those two methods should be the subject of further investigations.

szczepionką kurcząt od niosek zakażonych HVT względnie HVT-MDV obserwowano słabsze działanie ochronne szczepionki. Uzyskane wyniki wskazują na przekazywanie odporności z niosek na kurczęta za pośrednictwem jaja.

G.

LEGENDRE A. M., WHITENACK D. L.: Zakaźne zapalenie otrzewnej z zajęciem rdzenia kręgowego u dwóch kotów. (Feline infectious peritonitis with spinal cord involvement in two cats). *J. Am. vet. med. Ass.* 167, 931—932, 1975 (10).

U dwóch kotów (6 miesięcy i 3 lata) występowało porażenie tylnych kończyn i hypergammaglobulinemia (2,5 g/100 ml i 2,54 g/100 ml). Badania radiograficzne nie wykazały żadnych odchyień od normy w zakresie rdzenia kręgowego i miednicy. Badaniem sekcyjnym u 3 letniego kota wykazano powiększenie nerek i krezkowych węzłów chłonnych, liczne drobne ogniska o białym zabarwieniu w części korowej nerek i w krezkowych węzłach chłonnych. Badanie histologiczne wykazało nacieczenie opon miękkich neutrofilami, limfocytami, komórkami plazmatycznymi i histocytami. Nacieki o podobnym charakterze występowały w mózdzku i w splocie naczyniowym kory IV.

G.