

Czas utrzymywania się przeciwciał u przeżuwaczy po szczepionce Clovac 5^{*})

ZYGMUNT CYGAN, JAN BUCZEK^{*}

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Słowicza 2, 20-336 Lublin

^{*}Katedra Mikrobiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Cygan Z., Buczek J.

Persistence of antibodies in cattle and sheep vaccinated with Clovac 5 autovaccine

Summary

This study examined the level and persistence of antibodies in sheep and cattle immunized twice at 2 weeks intervals with an Clovac 5 autovaccine. The vaccine induces immunity which manifests itself by an increase of the level of antibodies at day 14 after the first vaccination (peak at 24 day, 10 day after the second vaccination). Clovac 5 stimulates an immunologic response in sheep and cattle against antitoxins of *C. perfringens* α , β , and ϵ , *C. septicum* α and antigens of *C. chauvoei* which lasts for 7-9 weeks. The level of the immune response correlates to that developing after the use of one or two-component vaccines such as Closeptivac, Perseptivac and Dipervac which protect infected herds.

Keywords: Clostridial autovaccine, antibodies persistence.

W poprzednim artykule przedstawiono wyniki badań nad odpowiedzią immunogenną autoszczepionki Clovac 5 (8). Stwierdzono, że wywołuje ona bezsporny wzrost odporności u wielu różnych gatunków zwierząt (bydło, owce, kozy, świny, konie). Przedyskutowano także przydatność tego preparatu w immunoprofilaktyce najważniejszych chorób wywołanych – jak wykazano w kraju (7) – przez szereg laseczek z rodzaju *Clostridium* (*C. perfringens* A, C, D, *C. septicum*, *C. chauvoei*). Celem niniejszej pracy jest przesledzenie czasu utrzymywania się przeciwciał przeciwko wszystkim pięciu antygenom wchodzącym w skład szczepionki Clovac 5.

Materiał i metody

Uodporniane zwierzęta. Do badań wykorzystano 11 jałówek rasy n.c.b., o masie ciała około 200 kg, pochodzących z gospodarstwa „T” oraz 24 owce dorosłe, mieszańce merynosów, Ile-de-France oraz Suffolk (po 12 z dwóch gospodarstw G i K).

Immunizacja. Wszystkim zwierzętom podawano autoszczepionkę dwukrotnie, w dwutygodniowym odstępie, natomiast krew pobierano czterokrotnie od bydła (14, 24, 42, 58, 105 dzień) i pięciokrotnie od owiec (14, 24, 42, 63, 87, 111 dzień). Dawki preparatu wynosiły dla jałówek 10 ml, a w przypadku owiec 5 ml (wstrzyknięcia szczepionki podskórne).

Oznaczanie przeciwciał. W celu określenia poziomu wzbudzonych antytoksyn stosowano reakcję seroneutralizacji przeprowadzoną testem letalnym na myszach, a dla ustalenia miana aglutynin wykorzystywano odczyn aglutynacji próbówkowej, zatem użyto metody identyczne jak w poprzedniej pracy (8). Wyniki przedstawiono jako średnią arytmetyczną koncentracji przeciwciał u zwierząt badanych w różnych interwałach czasowych.

Wyniki i omówienie

Podawanie autoszczepionki Clovac 5, stymulowało u owiec odporność (tab. 1) manifestującą się wzrostem w 14 dniu, od pierwszej iniekcji preparatu, antytoksyn beta i epsilon *C. perfringens* (Cp), alfa *C. septicum* (Cs) osiągających poziom średnio 1 jedn. antyt./ml (w przypadku antytoksyny alfa *C. perfringens* 4 jedn. antyt./ml), ze szczytem przypadającym w 24 dniu (10 dni po drugiej iniekcji) wynoszącym od 6 jedn. antyt./ml (antytoksyna alfa Cs) do 8–8,5 jedn. antyt./ml (wyjątek antytoksyna alfa Cp – apogeum w tym czasie 14 jedn. antyt./ml). Kolejne sprawdziany utrzymywania się przeciwciał przeprowadzone w 42, 63, 87 i 111 dniu od pierwszej immunizacji, wskazywały na ich stopniowy spadek, tj. przeciętnie do pułapu 4,5–6,6 jedn. antyt./ml (42 dzień) oraz 3–4 jedn. antyt./ml (63–87 dzień). Jeszcze w 111 dniu

Tab. 1. Poziom przeciwciał u owiec uodpornionych antygenami autoszczepionki Clovac 5

| Antygen | Miano przeciwciał w dniu po immunizacji | | | | | |
|----------------------------------|---|------|------|------|-----|-----|
| | 14 | 24 | 42 | 63 | 87 | 111 |
| <i>C. perfringens</i> α | 4,0* | 14,0 | 6,5 | 4,0 | 3,5 | 1,0 |
| <i>C. perfringens</i> β | 1,0* | 8,0 | 5,0 | 4,0 | 4,0 | 1,0 |
| <i>C. perfringens</i> ϵ | 1,0* | 8,5 | 5,0 | 3,0 | 3,0 | 2,5 |
| <i>C. septicum</i> α | 1,0* | 6,0 | 4,5 | 3,5 | 3,0 | 0 |
| <i>C. chauvoei</i> | 350** | 1200 | 1400 | 1000 | 50 | 25 |

Objaśnienia: *jedn. antyt./ml; **odwrotność miana aglutynacji.

^{*}) Praca finansowana przez KBN nr 5PO6K00209.

doświadczenia uodpornienie manifestowało się wyraźną zawartością w krwi przeciwciał wynoszącą 1–2,5 jedn. antyt./ml. Jedynie w przypadku antytoksyny alfa *C. septicum* nie wykazano już w tym czasie jej obecności (tab. 1).

Ogólnie można przyjąć, że po dwukrotnej immunizacji czas trwania u owiec antytoksycznej odpowiedzi utrzymuje się w sposób wyraźny przez około 9 tygodni. W tym okresie oczekiwać można także efektu ochronnego, bowiem odporność pojawia się szybko, a przeciwdziałanie zachorowaniom łączone np. przy bradsocie z poziomem antytoksyny alfa Cs (2–4 jedn. antyt./ml, wg 4), wzbudzone przez Closeptivac, jest uzyskiwane – w analogicznym stopniu – także podaniem preparatu Clovac 5. Również długi, 9-tygodniowy okres trwania odpowiedzi immunologicznej, w dodatku dostatecznie wzbudzonej w swoim natężeniu, należy przyjąć za wystarczający do hamowania w tym okresie rozwoju beztlenowcowej enterotoksemii, co jest istotne w przypadku konieczności przedłużenia wpływu profilaktycznego. Stymulowany poziom antytoksyny epsilon Cp sięgał wtedy jeszcze 3 jedn. antyt./ml (tab. 1). Podobną koncentrację przeciwciał gwarantującą odporność (4 jedn. antyt./ml, miano aglutynin anty *C. chauvoei* 1/500) przyjąć można również do innych, rzadziej występujących beztlenowcowych chorób owiec (szelstnica – wg 3, „struck” – wg 9, 12 i „fatal hemolytic disease” związana z toksyną alfa Cp – wg 11). Co więcej, taki stan immunizacji wywołany przez Clovac 5 wydaje się korelować z przyjmowaną za ochronną zawartością antytoksyn mianowanych w jednostkach międzynarodowych, a wynoszącą 0,15 j.m./ml (1) – 0,3 j.m./ml (cyt. wg 2). Słuszność powyższych rozważań pośrednio potwierdza uzyskane zahamowanie zachorowań w zabezpieczonych autoszczepionką Clovac 5 w trzech stadach owiec, wcześniej nękanych corocznie enterotoksemią, nadto bradsotem (trwające 2 lata obserwacje grupy 550 zwierząt zagrożonych chorobą).

Czas utrzymywania się stymulowanej przez Clovac 5 odpowiedzi u bydła ilustruje tab. 2. Wynika z niej, że po 2 tygodniach od pierwszej iniekcji preparatu poziom antytoksyn szybko wzrastał od wysokości sięgającej przeciętnie 3,5 jedn. antyt./ml (przeciwko toksynie beta Cp) do 5,0–6,5 jedn. antyt./ml (anty epsilon, alfa Cp oraz alfa CS). Natomiast miano aglutynacyjne dla antygeny *C. chauvoei* wyniosło w tym czasie 1/800. Zatem wzbudzona odporność – już jednokrotną iniekcją – wydaje się osiągać poziom ochronny, w dodatku wobec wszystkich antygenów tworzących skład preparatu. Popoff (10) podaje, że przygotowane w podobny sposób szczepionki francuskie indukują początkowo, tj. po pierwszej iniekcji, słabą na ogół odporność. Wynikać to może z różnic immunogennych szczepów użytych w powyższych preparatach. Podkreślić należy, że szczyt najwyższej odporności przypadał na 14 dzień po drugim podaniu autoszczepionki w odniesieniu do wszystkich antytoksyn, tj. beta Cp (6 jedn. antyt./ml, alfa i epsilon Cp (około 9 jedn. antyt./ml), wreszcie anty alfa Cs (6,5 jedn. antyt./ml) oraz aglutynin przeciwko *C. chauvoei* (miano 1/900). Na podobną w swojej wysokości odpowiedź immunologiczną wskazują także inni autorzy (10, 13). Natomiast w dalszej perspektywie czasowej zaznaczył się spadek przeciwciał (tab. 2), ale jeszcze w 58 dniu – od pierw-

Tab. 2. Poziom przeciwciał u krów uodpornionych antygenami autoszczepionki Clovac 5

| Antygen | Miano przeciwciał w dniu po immunizacji | | | |
|-------------------------|---|-----|-----|-----|
| | 14 | 28 | 58 | 105 |
| <i>C. perfringens</i> α | 5,0* | 9,0 | 4,0 | 0 |
| <i>C. perfringens</i> β | 3,5* | 5,0 | 2,0 | 0,5 |
| <i>C. perfringens</i> ε | 5,0* | 9,0 | 4,0 | 0,5 |
| <i>C. septicum</i> α | 6,5* | 6,5 | 4,0 | 0 |
| <i>C. chauvoei</i> | 800** | 900 | 500 | 50 |

Objaśnienia: jak w tab. 1.

szego podania preparatu – ich koncentracja wynosiła od około 2,0 jedn. antyt./ml (antytoksyna beta Cp) do około 4,0 jedn. antyt./ml (pozostałe antytoksyny; miano aglutynacyjne 1/500). Zatem w odniesieniu do bydła ostateczny czas trwania odporności stymulowanej przez Clovac 5 należy bezwzględnie przyjąć za nie krótszy niż 6–7 tygodni. Co więcej, stymulowany tym preparatem poziom przeciwciał osiągał koncentrację antytoksyn wzbudzonych dwukomponentową szczepionką Perseptivac (u większości zwierząt 2–8 jedn. antyt./ml, wg 6), a gwarantującą w stadach zakażonych efekt ochronny (6). Poza tym aktywność immunogenna 5. składnikowego preparatu Clovac 5 koreluje ze zdolnością uodporniającą dwuskładnikowej autoszczepionki Dipervac, gdyż umożliwia uzyskiwanie dolnego zasięgu indukowanej przez nią odporności (4–8 jedn. antyt./ml, wg 5), w dodatku przy identycznej dawce preparatu (w obu przypadkach 10 ml /zwierzę, iniekcja s.c.).

Reasumując można przyjąć, że Clovac 5 stymuluje u owiec i bydła odpowiedź immunologiczną trwającą wobec antytoksyn 7–9 tygodni, co więcej utrzymującą się na poziomie korelującym z aktywnością stosowanych w zakażonych stadach – a dających efekt ochronny – preparatów jednoskładnikowych (Closeptivac) oraz dwukomponentowych (Perseptivac, Dipervac).

Piśmiennictwo

1. Bullen J. J.: Role of toxins in host – parasite relationship. W: Microbial toxins, (wyd.) Ail S. J., Kadis S., Montié T. C., Academic Press, New York, 1970.
 2. Cygan Z.: Medycyna Wet. 44, 131, 1988.
 3. Cygan Z.: Medycyna Wet. 44, 259, 1988.
 4. Cygan Z.: Medycyna Wet. 46, 6, 1990.
 5. Cygan Z., Buczek J.: Medycyna Wet. 50, 548, 1994.
 6. Cygan Z., Buczek J.: Medycyna Wet. 51, 475, 1995.
 7. Cygan Z., Buczek J.: Medycyna Wet. 53, 464, 1997.
 8. Cygan Z., Buczek J.: Odpowiedź immunologiczna zwierząt na autoszczepionkę Clovac 5. Medycyna Wet. – (oddana do druku 1998).
 9. Daube G.: Annales Méd. Vét. 136, 5, 1992.
 10. Popoff M.: Revue Méd. Vét. 140, 479, 1989.
 11. Radostits O. M., Blood D. C., Gay C. C.: Veterinary Medicine. A textbook of the disease of cattle, sheep, pigs, goats and horses. Baillière Tindall, London, 1994.
 12. Sterne M.: Br. vet. J. 137, 443, 1981.
 13. Sterne M., Batty I., Thomson A.: Vet. Rec. 74, 909, 1962.
- Adres autora: prof. dr hab. Zygmunt Cygan, ul. Żelazowej Woli 6/13, 20-833 Lublin