

2. Epizootologia i choroby inwazyjne

Państwowy Instytut Weterynaryjny, Wydział Produkcji.

Kierownik: Dr MARCIN WOŁOSZYŃSKI.

MARCIN WOŁOSZYŃSKI

Produkcja surowic i szczepionek weterynaryjnych

Brak w języku polskim podręcznika z zakresu wytwórczości surowic i szczepionek weterynaryjnych skłania mnie do zajęcia się tym zagadnieniem i umożliwienia zaznajomienia się z nim szerszemu ogółowi lekarzy weterynaryjnych, którzy w praktyce mają do czynienia z gotowymi już preparatami, mianowicie surowicami i szczepionkami.

Blizsze zaznajomienie się z produkcją środków biologicznych i leczniczych, jest tym bardziej wskazane, iż w wytwarzaniu ich bierze bezpośredni udział ustrój zwierzęcy, jak np. przy produkcji surowic leczniczych. Dlatego też współudział lekarza w tej produkcji jest konieczny.

Dokładniejsze poznanie etapów produkcji tych środków biologicznych, a w szczególności mechanizmu powstawania ciał odpornościowych w ustroju zwierząt, służących do produkcji, dalej sposobów samej produkcji szczepionek zwłaszcza przeciw chorobom wirusowym, przyczyni się niewątpliwie do pogłębienia wiedzy lekarskiej oraz wnikliwszego poznania leczniczego względnie zapobiegawczego działania tych środków.

Pracę niniejszą podzielono na rozdziały, z których każdy obejmuje pewną gałąź produkcji, stanowiąc dla siebie pewną całość. Natomiast na wstępie zostały omówione zagadnienia ogólne, odnoszące się do całości pracy.

W omawianych rozdziałach zostały uwzględnione wiame spostrzeżenia i ulepszenia, dotyczące już to produkcji danego preparatu, już to sposobu stosowania go.

Pragnąłbym, aby niniejszy artykuł dotarł do rąk wszystkich Kolegów i wzbudziło w nich zainteresowanie do tej tak ważnej, zwłaszcza w dobie dzisiejszej, dziedziny wiedzy lekarsko-weterynaryjnej, jaką jest produkcja weterynaryjnych środków biologicznych i skłoniło ich do wspólnej pracy w ich wytwórczości.

Autor

PRODUKCJA SUROWIC WETERYNARYJNYCH

Wstęp

Wytwórnia surowic weterynaryjnych jest po prostu fabryką środków biologicznych, zwierzęcego pochodzenia, której głównymi „maszynami” są zwierzęta.

Tak więc głównymi urządzeniami fabrycznymi przy produkcji surowic są zwierzęta, a technicznymi siłami w tej fabryce, znającymi mechanizm działania tych żywych „maszyn”, mogą być tylko lekarze weterynaryjni.

Dokładna znajomość bakterjologii i immunologii, precyzyjność w wykonaniu wszelkich zabiegów oraz ostrość, ze względu na duże możliwości zakażenia siebie czy pomocniczego personelu, oto są zasadnicze właściwości, jakie muszą posiadać wszyscy ci, którzy zajmują się produkcją surowic.

Prócz wielkiego wkładu wiedzy i pracy, uruchomienie produkcji środków biologicznych, zwłaszcza surowic leczniczych, wymaga wielkiego wkładu materialnego, zwłaszcza działaj ze względu na duży koszt zwierząt i urządzeń technicznych.

W produkcji środków biologicznych chodzi nie tylko o nasycenie rynku odpowiednią ilością potrzebnych preparatów, ale również o doskonalenie ich jakości przez opracowywanie nowych metod produkcji i przeprowadzanie badań naukowych, opartych na doświadczeniu. Z tych też powodów personel lekarsko-weterynaryjny, zatrudniony w wytwórni, musi posiadać prócz podstawowych znajomości poszczególnych gałęzi wiedzy weterynaryjnej, niejednokrotnie wnikliwie wiadomości z niektórych dziedzin, jak mikrobiologii, chemii, anatomii i histopatologii i in.

Czynności, połączone z uzyskaniem surowicy leczniczej, zlepiającej (aglutynacyjnej), wykluczającej (precypitacyjnej) itp. w postaci gotowego już preparatu, można ująć następująco:

1. Przygotowanie wywoływacza (antygeny) do uodpornienia zwierząt.
2. Uodpornianie zwierząt.
3. Przeróbka wynaczynionej krwi celem sporządzenia surowicy, jako gotowego preparatu.

Ad 1. Przez wywoływacz (antygen) rozumiemy bakterie względnie produkt komórki bakteryjnej, lub też inną substancję względnie czynniki, które wprowadzone do ustroju, po-

wodują w nich powstanie swoistych przeciwciał (odpornościowych) skierowanych wyłącznie przeciwko czynnikowi, któremu zawdzięczają one swoje powstanie.

W krwi zatem zwierzęcia, do ustroju którego wprowadzono pewien antygen, wytwarzają się odpowiednie przeciwciała, które gromadzą się w znacznej ilości w surowicy, uzyskanej z pobranej krwi.

Ponieważ od jakości antygeny zależy wzrost ciał odpornościowych (przeciwciał) w ustroju zwierzęcym, przeto jednym z najważniejszych zagadnień produkcji surowic jest przygotowanie odpowiedniego antygeny.

Jako antygeny używamy zwykle żywego zarazka osłabionego lub zabitego różnymi czynnikami chemicznymi lub fizykalnymi.

Żądaniem każdej wytwórni jest, aby ciała odpornościowe we krwi zwierzęcia nagromadziły się możliwie w jak największej ilości, co uzyskuje się przez kilkakrotne wprowadzenie zwierzęciu antygeny w coraz to większej dawce już to przez wzmożoną zjadliwość zarazka, jest to tzw. hiperimmunizacja.

Chcąc przygotować odpowiedni antygen, należy dokładnie poznać wszystkie jego własności. Komórki bakteryjne zawierają, względnie wydzielają różne antygeny, które powodują powstawanie odpowiednich przeciwciał. Ponieważ różnorodność antygenów może istnieć nie tylko w obrębie jednego gatunku, ale również w obrębie jednego szczepu bakteryjnego, należy w razie niemożliwości wydzielenia odpowiednich typów, stosować do hiperimmunizacji antygen, w którego skład wchodzi szczepu bakteryjne wyhodowane z różnych przypadków chorobowych, wywołanych przez ten zarazek. Dokładne określenie antygenów pod względem chemicznym i ewent. ich syntetyczne otrzymanie spowoduje niewątpliwie ogromny przewrót w obecnych metodach produkcji surowic i szczepionek. Pod tym względem szczególne znaczenie mogą posiadać antygeny wyisobnione z moczy, które w ostatnich latach uzyskano przy niektórych chorobach zakaźnych ludzi.

Ad 2. Niemniej ważną rolę w produkcji surowic odgrywa dobór odpowiednich zwierząt produkcyjnych, ich żywienie oraz pielęgnacja w czasie uodporniania.

Do produkcji surowic weterynaryjnych używamy koni, bydła, świń, baranów, osłów, królików itp.

Zwierzęta używane do produkcji winny w pierwszym rzędzie być zdrowe i młode o kondycji, która dawałaby rękojmię rentowności wkładów połączonych z uodpornianiem. Przed rozpoczęciem zabiegów immunizacyjnych zwierzęta podlegają obserwacji przez okres unormowany odpowiednimi przepisami, w którym przeprowadza się dokładne, różnorodne badania kliniczne, zależnie od gatunku zwierzęcia.

Konie bada się w kierunku:

1. nosaczyny (malemizacja, wiązanie dopełniacza),
2. niedokrwistości zakaźnej,
3. zółtów,
4. zarazy stadniczej,

Bydło bada się w kierunku:

1. gruźlicy (tuberkulinizacja),
2. pryszczycy,
3. zakaźnego ronienia (aglutynacja, odczyn Meisnke'go, wiązanie dopełniacza),
4. ospy,
5. piropłazmozy,
6. rzęsistka bydłeciego.

Świnie podlegają dwutygodniowej obserwacji celem wykluczenia pomoru, różycy, pryszczycy oraz badaniu klinicznemu (mocz, kał itp.).

Barany: obserwuje się przez dwa tygodnie oraz bada klinicznie.

Osły bada się w kierunku nosaczyny, oraz ogólnie klinicznie.

Wymagany wiek dla zwierząt produkcyjnych waha się w następujących granicach: konie od 4—10 lat, krowy od 3—6 lat, barany około 2 lat, osły od 2—10 lat, wartość produkcyjna świń jest najlepsza przy wadze od 70—80 kg.

Najczęściej zastrzykujemy antygen przy uodpornianiu zwierząt dożylnie lub podskórnym, rzadziej domięśniowo, do otrzewnowo, wśródskórnym.

Przy zastrzykach dożylnych antygen zostaje niemal natychmiast rozprowadzony z krwiobiegiem po całym ustroju.

Przy zastrzykach podskórnych występują zwykłe obrzęki miejscowe, a po wprowadzeniu antygeny w większych ilościach — na brzuchu i kończynach niejednokrotnie obrzęki miejscowe przestają się w jałowe lub niejałowe ropnie.

Antygen wprowadzony do ustroju zwierzęcego powoduje w nim dzięki posiadaniu substancji hemolitycznych częściowy rozpad krwinek, co prowadzi do spadku stopnia hemoglobiny we krwi oraz do wzmożonej odnowy krwinek.

Wprowadzenie antygeny do ustroju zwierząt oraz periodyczne pobieranie z nich krwi nie mijają bez śladu. U zwierząt produkujących stwierdza się przy sekcji w przypadkach skrwalenia, a w jeszcze większym stopniu u padłych, niejednokrotnie znaczne zmiany anatomiczno-patologiczne, które dotyczą głównie wątroby (mięszak kruchy, popstrzony licznymi wybroczynami) oraz większe krwawe wylewy. Wątroba może ulec nekrozie z następnym skrwaleniem do jamy ciała. Zwłaszcza u koni, używanych przez dłuższy okres czasu (kilka lat) do produkcji surowicy, można stwierdzić ponadto skrobawicę wątroby i śledziony (amyloidosis hepatitis, linitis diffusa vel follicularis) jako prawdopodobnie następstwo bezpośredniego działania antygeny i tworzenia się przeciwciał, lub też jak przy skrobawicy utraty wielkiej ilości płynów ustrojowych. Wioskowiec różycy może nadto spowodować wrzodzące zapalenie osierdzia, zastawek (endocarditis valvularis ulcerosa verrucosa) oraz zapalenie surowicze stawów zwłaszcza kończyn tylnych.

Antygen wprowadzony do ustroju krąży w nim, gromadząc się głównie w wątrobie i w śledzionie, gdzie zostaje wchłaniany przez komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego. W produkcji przeciwciał biorą udział niemal wszystkie narządy zwłaszcza śledziona, a także skóra, oraz gruczoły dokrewne. Nie obojętne są również czynniki zewnętrzne, jak odżywianie (witaminy) oraz warunki chowu (przebywanie zwierząt na wolnym powietrzu).

Praktyka wykazała, że zwierzęta hiperimmunizowane wyczerpują się w produkcji przeciwciał po pewnym czasie oraz, że zwierzęta dając wysokie miano surowicy, szybko stosunkowo giną.

Zagadnienie podniesienia miana surowicy przez zwiększenie dawek antygeny zalecane przez różnych autorów nie udało się w przeprowadzonych doświadczeniach własnych. Podobnie nie dało dodatnich wyników stosowanie w tym celu pewnych środków chemicznych ($CaCl_2$, $BaCl_2$).

Według badań Rewitta pod wpływem wprowadzonego do ustroju antygeny zachodzą jakies bliżej nieznanie zmiany w kompleksie proteinowym surowicy, które czynią surowicę zdolną do neutralizowania danego antygeny. W produkcji przeciwciał odgrywa niezawodnie rolę obecność we krwi soli wapnia.

Otrzymywanie surowicy. Wyznaczenie krwi.

Po wprowadzeniu odpowiedniej ilości antygeny dokonujemy próbnego upustu krwi z uodpornianego zwierzęcia. Robimy to w celu przekonania się czy surowica posiada już odpowiednią miano, po czym dopiero pobieramy normalną ilość krwi.

Czynności przy pobieraniu krwi są następujące:

1. Co najmniej 10-godzinne głodzenie zwierzęcia, co wpływa na uzyskanie jałowej oraz klarownej surowicy.
2. Skontrolowanie numeru.
3. Zważenie zwierzęcia.
4. Wystrzyżenie, względnie wygolenie miejsca, z którego ma się pobierać krew (vena jugularis) oraz dezynfekcja tego miejsca (0,5% roztworem karbolu).

5. Nałożenie pasa z drewnianym uciskającym na żyłę jarzmową.

6. Przebiecie skalpelem fałdu skóry w miejscu wyjąłowym, wbić igły do żyły jarzmowej.

Na igłę nasadzony jest wąż gumowy zakończony rurką szklaną zgiętą pod kątem około 60° (rurka szklana pozwala nam obserwować czy płynie krew). Krew spływa do banki posiadającej specjalne (wiatrakowe) urządzenia do odwiłknięcia krwi. Ilość pobranej krwi zależy od wagi zwierzęcia i wynosi przeciętnie 1%.

Po pobraniu wyznaczonej ilości krwi, osusza się ranę watą oraz zalega kolodjum.

Przy pobieraniu krwi polecają niektórzy podawanie buraków lub marchwi do żucia, co wpływać ma na lepszy wypływ krwi.

Słoje (banki) z pobraną krwią należy przechowywać w temperaturze od 10 — 25°, następnie należy krew odwiłnować.

Surowica powinna być koloru burzaczynowo - żółtego, przezroczysta. W wypadku hemolizy surowica jest lekko różowa, w przypadkach zmian patologicznych w wątrobie przybiera kolor zielonkawo - brązowy.

Celem odbarwienia surowicy, w przypadkach występowania w niej barwników żółciowych filtrujemy ją przez świecę Benkefelda.

Ilość otrzymanej surowicy z pobranej krwi zależy od stanu w jakim znajduje się zwierzę w czasie skrawiania. W warunkach normalnych otrzymuje się z krwi przeciętnie 50—70% surowicy.

Bardzo ważną rzeczą jest oczyszczać surowicę jałową, co w praktyce napotyka na pewne trudności, pomimo ostrożności, której przestrzega personel fachowy.

Do otrzymanej surowicy dodaje się środka konserwującego (najczęściej stosuje się karbol 0,5%, rzadziej trójkroczol 0,4%, chloroform, eter, chinezol, glicerynę itp.). Dodatek pewnego środka konserwującego ma na celu powstrzymanie rozwoju drobnoustrojów w surowicy. Praktyka wykazała, że ilości środka konserwującego przewidziane przez ustawę są niewystarczające do zabicia bardziej odpornych drobnoustrojów, zwłaszcza ich zarodników.

Światło i wyższa temperatura powodują zmniejszenie się przeciwciał surowicy, dlatego należy przechowywać surowicę w chłodnym i ciemnym miejscu. Naczynia i flaszki, do których wlewamy surowicę, winny być neutralnego szkła, ponieważ zasady i kwasy wywierają szkodliwy wpływ na przeciwciała.

Rzadko stosuje się w praktyce konserwowanie surowicy przez suszenie. Małe ilości suszy się w elektrycznej, większe w suszarkach próżniowych w temperaturze 35—40°. Suszenie surowicy odbywa się bez dodatku środków konserwujących. W suszonych surowicach przeciwciała utrzymują się o wiele dłużej.

Świeżo wyprodukowanej surowicy w zasadzie nie używa się. Surowica winna się odstać przez okres czasu około 3—4 miesięcy, w temperaturze + 4—8°. Jeżeli wytwórnia zmuszona jest do puszczenia w obieg świeżej surowicy, wówczas inaktywuje się ją w łaźni wodnej w temperaturze

56° dwukrotnie po jednej godzinie w odstępie jednorodzinnym. Kolor surowicy jest wówczas mętnawo - biały, a przy wstrząsach występują kłaczdki.

Surowica w czasie 3—4 miesięcy, jako roztwór białki podlega zmianom fizykalnym. Pewne kompleksy białkowe przechodzą w stan nierozpuszczalności i wypadają w postaci osadu, lub kłaczków. W czasie tych procesów spada nieco miano surowicy. Proces ten nazywamy w produkcji stabilizowaniem się surowicy. W surowicach stabilizowanych miano utrzymuje się stosunkowo długi czas. c. d. n.

MARIUSZ KOCOT, lekarz wet.

Trzebnica.

W sprawie budowy komory gazowej typu „Puławy”

W miesiącu sierpniu 1945 r. wybudowałem komorę gazową typu „Puławy” wg zamieszczonego w nrze 1 „Medycyny Weterynaryjnej” opisu Prof. dr Witolda Stefańskiego. Dotychczas przeprowadziłem w niej gazowanie ponad 100 koni dotkniętych w różnym stopniu świerzem.

Ponieważ niektóre szczegóły budowy zostały w opisie pominięte, nastęrczyło mi to pewne trudności. Te szczegóły chciałbym tutaj omówić.

1. Ograniczenie ruchów konia: Drążek tylny umieściłem w odległości 120 cm. z tym, że może być przesuwany w tył, w zależności od wielkości konia, do