

Z. ROGIŃSKI, E. GRODZKI, J. ZAJFERTOWA

Próby oceny wartości niezjadliwej kultury różycowej Stauba wyprodukowanej na podłożu z hydrolizatem grochu

Z Drwalewskich Zakładów Przem. Bioweterynaryjnego oraz Dyrektor do spraw produkcji: dr Z. ROGIŃSKI

Centralnego Laboratorium Biopreparatów Weterynaryjnych Dyrektor: dr A. TEKLIŃSKI

Niezjadliwa kultura różycowa Stauba jest obecnie w Polsce podstawowym preparatem przy zwalczaniu różycy świń. Szczepionka ta daje na ogół wyniki dobre. Ilość szczepionki corocznie produkowanej przekracza już 10 milionów dawek co odpowiada ponad 50 tysiącom litrów szczepionki, a zatem powoduje duże zużycie potrzebnego podłoża. Podłożem do produkcji szczepionki Stauba w Polsce obecnie jest pożywka opracowana przez *Tereszczuka* (1957); (woda mięсна z mięsa końskiego z dodatkiem 1% peptonu, 0,2% fosforanu sodu, 0,5% chlorku sodu, 0,2% agar-agar i 3% surowicy końskiej normalnej). Pożywka powyższa daje wyniki dobre: ilość włoskowców różycy w 1 ml wynosi zwykle 400 do 600 milionów bakterii, co zapewnia około 3 miesięczną odporność u świń szczepionych szczepionką nawet pod koniec ważności preparatu tj. w 20 dni po wyprodukowaniu (*Tereszczuk* 1957). Wadą podłoża jest jego wysoka cena, co się wiąże przede wszystkim z koniecznością używania wielkich ilości drogiego mięsa jako źródła białka i surowicy normalnej końskiej.

W wielu krajach próbuje się ostatnio zastąpić białko mięsne przy produkcji pożywek bakteriologicznych białkiem roślinnym. Pomyślne wyniki osiągnięto w tej dziedzinie zwłaszcza w Związku Radzieckim. Wg *Matwiejewy* (1953) stosuje się tam z powodzeniem hydrolizaty grochu do produkcji szczepionki przeciwdypłokokowej i przeciwsalmonelozowej, a według *Kazancowej* i *Bryzgunowej* (1953) do produkcji szczepionki przeciwko różycy świń. W Polsce podłoża bakteriologiczne oparte na hydrolizacie grochu opracowali *Jaskólski*, *Gruzdzeń* i *Lipiński* (1957). Podłożo to zostało opatentowane (Opis Patentowy PRL Nr 41306, Kl. 30h, 14 z 21. XI. 1958 roku). Według doniesienia wstępnego powyższych autorów nowa pożywka ma dawać m. in. bardzo obfite wzrosty włoskowców różycy wobec czego sugerują oni użycie tej pożywki do produkcji szczepionki Stauba.

Biorąc pod uwagę, że zdolności uodparniające niezjadliwych kultur różycowych zależą nie tylko od stężenia wyjściowego ciał bakteriologicznych w szczepionce, ale także od żywotności wyhodowanych bakterii, a być może, jak na to wskazują doświadczenia z produkcją zabitej szczepionki adsorbowanej Trauba, także od składników użytego podłoża — postanowiliśmy przebadać zdolności uodparniające szczepionki

Stauba na podłożu z hydrolizatem grochu na myszach i świnach z uwzględnieniem wieku wyprodukowanych szczepionek.

Doświadczenia własne.

Potrzebne pożywki przygotowano zasadniczo w oparciu o opis patentowy *Jaskólskiego* i współpracowników.

Przygotowanie pożywki było następujące:

340 ml kwasu solnego ch. cz. o ciężarze właściwym 1,19 uzupełnia się wodą z kranu do objętości 5 litrów. Rozworem tym zalewa się 1 kg grocnu w kolbie kulistej z chłodnicą zwrotną. Kolbę z chłodnicą umieszcza się na łaźni glicerynowej lub olejowej o temperaturze 110°—120° aż do momentu, gdy azot aminowy w przesączu osiągnie wartość 1,5—2,5 mg/ml, najlepiej 1,9—2,2 mg/ml, co przeciętnie trwa 16 godz-n. Po zakończonej hydrolizie zawartość kolby przesącza się np. przez lejek Buchnera, a przesącz uzupełnia do objętości 10 litrów wodą z kranu. Rozcieńczony hydrolizat należy jeszcze odbarwić węglem aktywowanym (20 g węgla na 1 litr hydrolizatu) i ponownie przesączyć. Otrzymany w ten sposób hydrolizat w naszych doświadczeniach przerabiany był potem na podłożo w sposób następujący. Odbarwiony hydrolizat alkaliczowano za pomocą 40% wodorotlenku sodu do pH 8,1—8,4 i wytrącone substancje balastowe usuwano przy pomocy filtracji przez papkę azbestową. Następnie do 250 ml przefiltrowanego hydrolizatu dodawano:

— 50 ml dializatu drożdżowego (dializat przed dodaniem do podłoża ogrzewano na łaźni wodnej w celu wypędzenia chloroformu,

- 0,75 g azotanu potasu ch. cz.,
- 1,5 g cytrynianu sodu ch. cz.,
- 7,5 g peptonu krajowego,
- 700 ml wody studziennej.

Całość filtrowano przez bibułę w celu otrzymania klarownego płynu, doprowadzono pH do 7,5 i wyjąławiano przy pomocy sączenia przez sączki Seitz lub podgrzewanie w autoklawie przez 30 minut pod ciśnieniem 0,5 atmosfery.

Dializat drożdżowy przygotowano we własnym zakresie. W tym celu 250 g drożdży zawieszano w 400 ml wody destylowanej, zawiesinę przenoszono do worka celofanowego i zanurzano w 1 litrze wody destylowanej; dializę prowadzono na łaźni wodnej w temperaturze 78—81° przez 6—7 godzin. Po zakończeniu dializy dializat uzupełniono wodą destylowaną do 750 ml, konserwowano chloroformem w ilości 5 ml na 1 litr dializatu i przechowywano w lodówce w temperaturze +1° do +4°.

Do doświadczenia używano bądź pożywki na hydrolizacie grochu bez dodatku surowicy końskiej (pożywka „HG”) bądź też tę samą pożywkę z dodatkiem 5% surowicy normalnej końskiej (pożywka „HGS”). Dla kontroli przygotowywano jednocześnie kulturę niezjadliwą różycową Stauba terenową na zwykłym podłożu mięsnym, lub na podłożu mięsno-agarowo-surowicznym wg przepisu *Tereszczuka*. Wszystkie szczepionki przygotowywano z kultury

wyjściowej Stauba używanej do normalnej produkcji szczepionki i otrzymanej na wiosnę 1957 roku z Instytutu Weterynaryjnego w Puławach. Stężenie włoskowców w 48 godzinnej hodowli na pożywce „HG” 5 seriach przebadanych, obliczone metodą płytkową Kocha, wynosiło 208, 466, 400 i 618 milionów żywych bakterii w 1 ml.

Doświadczenie I.

Do doświadczenia użyto szczepionki Stauba przygotowanej na pożywce HG (tj. z hydrolizatem grochu bez dodatku agaru i surowicy) oraz terenowej kultury Stauba (S. 720957) wyprodukowanej na podłożu z wodą mięsną bez agaru, ale z dodatkiem 3% surowicy normalnej końskiej. Szczepionki powyższe badano na zdolności uodparniające na myszach białych po 2-ch, 14 i 21 dniach po wyprodukowaniu. Jako dawkę uodparniającą dla myszy przyjmowano 0,25 ml (wyjątkowo 0,05 ml); uzyskane uodpornienie myszy sprawdzano przez zakażenie ich pełnozjadliwym szczepem włoskowca różycy po 1/2, 2-ch i 3-ch lub 4 miesiącach po zastosowaniu szczepionki. Rezultaty oceniano metodą Reeda-Müncha podaną przez Hirszfelda (1948). Otrzymane wyniki podaje tabela nr 1.

wa na pożywce mięsnej z 3% surowicy, c) — szczepionka 21 dniowa, zarówno przygotowana na podłożu „HG” jak i na podłożu mięsnym z surowicą w przeprowadzonym doświadczeniu nie dała u myszy odporności, zabezpieczającej w wystarczający sposób te zwierzęta przed zakażeniem kontrolnym wykonanym w 3 miesiące po uodpornieniu.

Doświadczenie II.

W związku z wynikami doświadczenia I w dalszej pracy podłoże „HG” wzbogacono, dodając do niego 3% surowicy końskiej normalnej („HGS”). Badania szczepionki przygotowanej na tym podłożu wykazały stężenie żywych włoskowców wynoszące na drugi dzień po wyprodukowaniu od 406 do 826 milionów bakterii w 1 ml, po 14 dniach od 60 do 80 milionów i po 21 dniach od daty wyprodukowania od 18 do 28 milionów włoskowców w 1 ml. Otrzymaną szczepionką uodparniano myszy w dawce po 0,25 ml podskórnie; dla kontroli taką samą ilość myszy uodporniono niezjadliwą kulturą różycową terenową Stauba wyprodukowaną na podłożu mięsno-agarowo-surowicznym. Badanie prowadzono podobnie jak

Tab. 1. Badanie własności uodparniających niezjadliwej kultury różycowej Stauba (wyhodowanej na pożywce HG bez surowicy względnie na pożywce mięsnej z surowicą) — na myszach

Wiek niezj. kultury	Dawka	Czas między uodporn. a zakaż.	Wyniki zakażenia kontrolnego myszy uodpornionych niezjadliwą kulturą różyc. wyhod. na:													
			a) — na pożywce HG (bez surowicy)						b) — na pożywce mięsnej + 3% surow.							
			Dane doświadczalne			Dane rekonstr.			%	Dane doświadczalne			Dane rekonstr.			%
			ogółem	padło	przeżyło	padło	przeżyło	odpor.	ogółem	padło	przeżyło	padło	przeżyło	odpor.		
2 dni	0,05	1/2 m.	7	—	7	—	15	100								
		2 mies.	7	3	4	3	8	72,7								
		3 „	7	4	3	7	4	36,3								
		4 „	3	2	1	9	1	10,0								
	0,25	1/2 m.	7	—	7	—	23	100,0	7	—	7	—	22	100		
		2 mies.	7	1	6	1	16	94,1	7	2	5	2	15	82,2		
		3 „	7	2	5	3	10	76,8	7	1	6	3	10	76,8		
		4 „	5	—	5	3	5	62,0	4	—	4	3	4	57,1		
14 dni	0,25	1/2 m.	7	1	6	1	14	93,3	7	1	6	1	20	95,2		
		2 mies.	7	2	5	3	8	72,7	7	—	7	1	14	93,3		
		3 „	3	—	3	3	3	50,0	7	—	7	1	7	87,5		
21 dni	0,25	1/2 m.	7	1	6	1	11	91,6	7	1	6	1	9	90,0		
		2 mies.	7	3	4	4	5	55,5	7	4	3	5	3	37,5		
		3 „	5	4	1	8	1	11,1	2	2	—	7	—	0,0		

Jak z powyższego wynika: a) — szczepionka Stauba przygotowana czy to na mięsnym podłożu czy też na nowym „HG” okazała się w podanej dawce dla myszy całkowicie nieszkodliwa — b) — 2 i 14 dniowa hodowla Stauba na pożywce „HG” dała u myszy odporność mniej więcej taką samą, jak przygotowana z tegoż szczepu szczepionka tereno-

w doświadczeniu I, a wyniki oceniano wg Reeda i Müncha; podaje je tabela nr 2.

Jak z powyższej tabeli wynika: a) — obydwie szczepionki w użytej dawce są dla myszy nieszkodliwe, b) — 2 i 14 dniowa szczepionka Stauba na pożywce „HGS” dała u myszy odporność mniej więcej taką samą jak terenowa szczepionka Stauba, c) natomiast porównanie

Tab. 2. Badanie własności uodparniających niezjadliwej kultury różycowej Stauba (wyhodowanej na pożywce HG + 3% surowicy względnie na pożywce mięsnej z surowicą) — na myszach

Wiek niezj. kultury	Dawka	Czas między uodporn. a zakaż.	Wyniki zakażenia kontrolnego myszy uodpornionych niezjadliwą kulturą różyc. wyhod. na:													
			a) — na pożywce HG + 3% surowicy						b) — na pożywce mięsnej + 3% surow.							
			Dane doświadczalne			Dane rekonstr.			%	Dane doświadczalne			Dane rekonstr.			%
			ogółem	padło	przeżyło	padło	przeżyło	odpor.		ogółem	padło	przeżyło	padło	przeżyło	odpor.	
2 dni	0,25	1/2 m.	7	—	7	—	18	100	7	—	7	—	18	100		
		2 mies.	7	1	6	1	11	91,6	7	—	7	—	11	100		
		3 „	7	2	5	3	5	62,5	7	3	4	3	4	57,1		
14 dni	0,25	1/2 m.	7	—	7	—	17	100	7	1	6	1	17	94,4		
		2 mies.	7	2	5	2	10	83,3	7	—	7	1	11	91,6		
		3 „	7	2	5	4	5	55,5	5	1	4	2	4	66,6		
21 dni	0,25	1/2 m.	7	6	1	6	1	14,2	7	1	6	1	14	93,3		
		2 mies.	7	7	—	13	—	0	7	3	4	4	8	66,6		
		3 „	7	7	—	20	—	0	6	2	4	6	4	40,0		

zdolności uodparniających szczepionki 21 dniowej na podłożu „HGS” z taką samą szczepionką terenową wypadło wyraźnie na korzyść szczepionki terenowej.

Doświadczenie III.

Biorąc pod uwagę, że wyniki na myszach nie muszą być całkowicie miarodajne dla preparatów przeznaczonych dla trzody chlewnej, przeprowadzono badanie na świniach. Szczepionkę przygotowano na podłożu „HG” (bez surowicy). Po 48 godzinach szczepionka ta mianowana metodą płytkową Kocha, wykazała 466 milionów, po 8 dniach 206 milionów i po 14 dniach — 4 miliony żywych włoskowców różycy w 1 ml szczepionki. Otrzymaną

szczepionką w różnych okresach jej ważności zaszczepiono 5 grup świń w dawce po 5 ml podskórnie na sztukę; następnie świnię te w różnym czasie po uodpornieniu zakażano pełnozjadliwymi szczepami włoskowca różycy metodą Fortnera. Wyniki podaje tabela nr 3.

Z tabeli tej po odrzuceniu 2 przypadków niezupełnie jasnych zachorowań u 2 świń charłacznych (po przebyciu pomoru) możemy wyciągnąć wnioski, że: a) — szczepionka Stauba wyprodukowana na podłożu HG jest w użytych dawkach dla świń zupełnie nieszkodliwa, b) — szczepionka na podłożu HG w 23 dni po wyprodukowaniu zapewnia świniom szczepionym co najmniej 3 miesięczną odporność tj. daje wyniki nie gorsze od wykazanych przez Te-

Tab. 3. Badania własności uodparniających niezjadliwej kultury różycowej Stauba (wyhodowanej na pożywce HG bez surowicy) na świniach (dawka 5 ml)

Wiek niezjadl. kultury	Ilość świń szczep.	Odczyn termin 40°	Zakażenie metodą Fortnera							Odczyn termin 39,6°	U w a g i
			Czas po uodporn.	Ilość świń zak.	Różycy ogólna	Odczyn po zakażeniu			Różycy skóry		
						Różycy ogólna	Różycy skóry				
							++	+			
8 dni	16	—	14 dni	5	2*)	—	1	—	3	2 sztuki charłacze po przebyciu pomoru	
		1	65 „	6	—	—	—	—	2		
		1	118 „	5	—	—	—	—	3		
14 dni	15	—	14 dni	5	—	—	—	—	2		
		—	63 „	5	—	—	—	—	—		
		—	112 „	5	—	—	—	—	2		
21 dni	10	—	14 dni	5	—	—	1	—	2		
		—	104 „	5	—	—	—	—	3		
23 dni	10	—	14 dni	5	—	—	—	—	—		
100 dni	5	—	26 dni	5	1	—	—	—	2		
Kontrole		—		18	5	10	2	—	17		

++ — duże zlewające się zaczerwienienia i obrzęki
 + — pojedyncze wykwyty (1—3)
 ogólna — postać posocznicowa

reszczuka przy użyciu drogiego podłoża mięsno-agarowo-surowiczego.

Dalsze próby objęły przygotowanie na nowej pożywce antygeny różycowego żywego do uodparniania 25 koni używanych do produkcji surowicy przeciwróżycowej. Zwierzęta powyższe znosiły podawany antygen dobrze, lepiej niż antygen wyprodukowany na bulionie z mięsa końskiego. Mianowanie surowic otrzymywanych od tych koni wykazało, że stosowanie antygeny na podłożu „HG” do hyperimmunizacji międzyupustowej nie dopuszcza do spadku miana w tym samym stopniu co antygen produkowany na pożywce mięsnej i stale dotychczas używany.

Próby terenowe użycia u świń szczepionki Stauba przygotowanej na nowym podłożu zostały przeprowadzone na 5.059 sztukach świń w Gdańskim Okręgowym Przedsiębiorstwie Obrotu Zwierzętami Rzeźnymi; świnię zniosły szczepienia bez szkody i różycy wśród nich nie obserwowano.

W oparciu o całość powyższych badań autorzy sądzą, że nowa pożywka z hydrolizatem grochu jako pozwalająca na oszczędzenie znacznej ilości mięsa i tania zasługuje na szerokie przebadanie laboratoryjne i produkcyjne,

Piśmiennictwo

1) Jaskólski H., Grudzień Cz., Lipiński W.: Półsyntetyczne podłoże płynne do produkcji antygeny różycowego oraz niezjadliwej kultury różycowej. Med. Wet. 1957, s. 677. 2) Drwalewskie Zakłady Przemysłu Bioweterynaryjnego — Sposób otrzymywania podłoża do hodowli bakterii. Urząd Patentowy PR. Opis Patentowy Nr 41306, Kl. 30 h. 14 z dnia 21 XI 1958 roku. 3) Hirschfeld L.: Immunologia ogólna. Czytelnik 1948, s. 585. 4) Tereszczuk St.: Doświadczenia nad przedłużeniem terminu ważności oraz podniesieniem wartości uodparniającej szczepionki Stauba. Med. Wet. 1957, s. 193. 5) Kazancowa N. W. i Bryzgunowa W.: Obit izgotowlenija formoŭ wakcyny roży świni na gorochowohidroliznoy sriedie. Trudy Gos. Naucz. — Kontr. Inst. Wiet. Priep. T. IV, 1953, s. 416.

ADAM CZARNOWSKI

Zakaźne zapalenie wątroby u lisów hodowlanych na terenie województwa gdańskiego

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku
Kierownik: dr ADAM CZARNOWSKI

Wraz z rozpoczęciem hodowli lisów w woj. gdańskim w 1946 r. pojawiła się wśród nich choroba zakaźna wywołana przez zarazek przesykalny, zwana wówczas „mózgówką”, a określana obecnie jako zakaźne zapalenie wątroby lub też jako choroba Rubartha.

Choroba ta nieznaną w Polsce do drugiej wojny światowej była opisywana przez Greena w Ameryce w 1929 r. przez Lewaditiego we Francji w 1930 r., przez Kiur-Muratowa w Związku Radzieckim w 1933 r., przez Schoopa w Niemczech w 1936 r. Autorzy ci stwierdzają, że powoduje ona duże straty w hodowli lisów, dochodzące do 80% pogłowia, a sztuki które przechorowały pozostają nosicielami zarazki.

6) Matwiejew W. S.: Gorochowohidroliznyje sriedy dla prozwodstwa niekotorych biopreparatow. — Trudy Gos. Naucz. Kontr. Inst. Wiet. Priep. T. IV, 1953, s. 418.

РОГИНСКИ З., ГРОДЗКИ Е., ЗАЙФЕРТОВА Я.

ПОПЫТКИ ОЦЕНКИ ВАКЦИНЫ ШТОБА ПРОТИВ РОЖИ СВИНЕЙ ПРИГОТОВЛЕННОЙ НА ГОРОХОВОГИДРОЛИЗНОЙ СРЕДЕ

Содержание

Авторы исследовали на мышах и свиньях вакцину Штоба приготовленную на гороховогидролитической среде в сравнении с той же вакциной на применяемой сейчас мясоагаровосывороточной среде.

Полученные успешные результаты показывают, что новая среда заслуживает дальнейшей разработки в производственных условиях.

ROGIŃSKI Z., GRODZKI E., ZAJFERTOWA J.

ATTEMPTS OF THE EVALUATION OF THE VALUE OF THE AVIRULENT CULTURE OF STAUB'S STRAIN OF ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE PRODUCED ON THE MEDIUM WITH THE HYDROLISATE OF PEA

Summary

The authors studied the influence of the medium prepared on the hydrolisat of pea („HG” and „HGS”) on the immunizing properties of Staub's vaccine produced on this medium. The experiments were conducted on mice and pigs. The experiments, particularly those conducted on pigs gave encouraging results (the 23 days vaccine on the medium GH conferred to pigs immunity of 3 months duration. The authors taking into consideration the low cost of the production of the new medium propose further laboratory and field studies.

W Polsce *Stryszak* pierwszy opisał dwie enzootie tej choroby, z których jedna wystąpiła na Wybrzeżu i poczyniła poważne straty w hodowli lisów, dochodzące do 100% wśród młodych zwierząt. Enzootie te opisuje *Stryszak* jako eizoootyczne zapalenie mózgu u lisów srebrzystych, a za przyczynę ich wybuchu uważa sprowadzone lisy ponemieckie oraz klatki, w których przebywały chore względnie zakażone lisy. Od tego czasu zakaźne zapalenie wątroby jest stale stwierdzane w hodowlach lisów w Polsce.

Na terenie Wybrzeża Gdańskiego przenoszenie się i rozprzestrzenianie się zakaźnego zapalenia wątroby jest łatwe, ponieważ zagęszczenie lisów, szczególnie w okolicach trójmiasta Gdańsk-Sopot-Gdynia jest bardzo duże, a ruch