

Cygan Z., Wawrzkiwicz K. — **L'identification d'anaérobies sporulantes éliminées des voies digestives des volailles péries.**

Les auteurs éliminèrent des souches de *Clostridium perfringens* thermorésistantes des voies digestives de poules péries. L'analyse détaillée des antigènes toxiques des souches isolées démontra une souche du type A de l'œdème gazeux. Une deuxième souche répondait par l'ensemble des antigènes toxiques, la thermorésistance importante et la faible virulence envers les cobayes à la variante des intoxications alimentaires du type A, mais certaines particularités, comme le manque de la production de la toxine

alpha? (de Kapp?), beta et la résistance très marquée au chauffage rapprochait cette souche au type F. Elle se distinguait pourtant de ces souches par le manque de la toxine beta. La littérature démontre, qu'il existe un pourcent de souches du type F, chez lesquelles cette toxine n'a pas été constatée.

Les recherches démontrèrent que l'isolation de microorganismes du groupe *Clostridium perfringens*, et surtout des souches thermorésistantes ne semble pas présenter de grandes difficultés si on emploie la méthode appliquée par les auteurs. La typisation des souches isolées de *Clostridium perfringens* est cependant difficile, surtout quand on examine les souches aux particularités dégradée.

JERZY WIŚNIEWSKI\*

## Badania nad wzrostem przeciwciał zobojętniających po uodpornianiu bydła różnymi dawkami trójwartentnej szczepionki p/pryszczycowej

Z Laboratorium Wirusologii Zwierzęcej w Lonie  
Dyrektor: prof. dr FELIKS LUCAM

Odpowiedzią ustroju na wprowadzenie szczepionki p/pryszczycowej jest pojawienie się w surowicy przeciwciał zobojętniających. Ilościową ich ocenę określa się różnymi metodami w seroneutralizacji, a mianowicie: na świnkach morskich, na oseskach mysich (cyt. wg 11), na bydło (3), na hodowli nabłonka językowego (1, 4) na hodowli komórek nerkowych w teście barwnym (15, 16) oraz, od czasu wprowadzenia hodowli tkankowej, w jednowarstwowych hodowlach komórek nerkowych (6, 7, 8, 12, 13, 14, 18, 19).

Celem niniejszej pracy było ustalenie momentu pojawiania się przeciwciał zobojętniających w surowicy zwierząt uodpornionych oraz ilościowe określenie ich miana dla trzech typów wirusa, w okresie trzech tygodni od uodpornienia bydła przeciwpyszczycową szczepionką trójwartentną produkcji fancuskiej.

### Materiał i metody

**Zwierzęta.** Do doświadczenia użyto 18 sztuk bydła pochodzącego z departamentu Finistère, wolnego od pryszczycy, gdzie nie przeprowadza się szczepień przeciwpyszczycowych.

**Szczepionki.** Zwierzęta uodporniono trójwartentną przeciwpyszczycową szczepionką saponinową, pochodzącą z dwóch zakładów produkcyjnych. 10 ml dawka uodporniająca dla bydła zawierała po 0,3 g wirusa każdego typu, adsorbowanego na wodorotlenku glinu. Każdą serią szczepionki uodporniono 9 sztuk bydła, szczepiąc po 3 krowy dawkami 13, 4, i 1,2 ml szczepionki.

**Surowica.** Surowice pochodzące od zwierząt uodpornionych szczepionką Nr 1 badano 5-krotnie: pierwszy raz przed szczepieniem, a następnie w 3, 7, 14 i 21 dniu po szczepieniu. Surowice zwierząt uodpornionych szczepionką nr 2 ze względów technicznych badano 1 raz w 21 dni po podaniu szczepionki. Surowica po odwirowaniu była zamrożona, przed badaniem inaktywowana w 56° przez 30 minut, a następnie rozcieńczana w płynie odżywczym przy współczynniku rozcieńczenia 2.

\* Lek. wet. Jerzy Wiśniewski adiunkt Zakładu Pryszczycy Instytutu Weterynarii w Zduńskiej Woli przebywał na 6-miesięcznym stażu naukowym we Francji.

**Wirus.** Do odczynu seroneutralizacji użyto 3 typów wirusa pryszczycy O, A i C namnożonych w hodowli komórek nerkowych i przechowywanych w ampulkach w temp. 70°.

**Hodowla tkankowa.** Do badań użyto hodowli komórek nerki cielęcia, 4-7-dniowych, przygotowanych wg ogólnie przyjętych zasad. Płyn odżywczy stanowił hydrolizat kazeiny i roztwór Hanksa z dodatkiem 5-10% surowicy cielęcej i antybiotyków.

**Seroneutralizacja.** Mieszaniny wirus-surowica przygotowywano przez zmieszanie 1 ml badanych rozcieńczeń surowicy z równą objętością wirusa zawierającego ca 500 TCID<sub>50</sub>/ml. Mieszaniny te przetrzymywano 1 godz. w cieplarni w 37°, a następnie dawką 0,2 ml inokulowano hodowle używając po 5 probówek na każde rozcieńczenie. Wyniki odczytywano po 48-godz. przebywaniu probówek w aparacie rotacyjnym w cieplarni. Miana surowic obliczono przy użyciu metody 50% dawki neutralizującej wg wzoru Reeda i Muencha.

### Wyniki

#### Szczepionka nr 1.

1. Poziom przeciwciał w surowicy bydła przed szczepieniem.

Spośród badanych 9 surowic, u 3 zwierząt stwierdzono nieznaczną moc seroneutralizacji dla jednego z 3 typów wirusa nie przekraczającą 0,3 log. DN<sub>50</sub>. W pozostałych surowicach nie stwierdzono obecności przeciwciał zobojętniających, bądź jedynie ich ślady. Tak więc wszystkie zwierzęta okazały się w pełni wrażliwe na wirus pryszczycy.

2. Poziom przeciwciał w surowicy uodpornionego bydła w 3 dni po szczepieniu.

Już w 3 dni po szczepieniu w surowicy 5 zwierząt stwierdzono wzrost miana przeciwciał zobojętniających osiągający najwyższą wartość 0,64-0,66 log. DN<sub>50</sub> dla wirusa typu O. Należy zauważyć, że większość zwierząt wykazująca wzrost miana seroneutralizacji posiadała ślady przeciwciał już przed szczepieniem.

3. Poziom przeciwciał w surowicy uodpornionego bydła w 7 dni po szczepieniu.

W 7 dni po szczepieniu stwierdzono obecność przeciwciał dla 3 typów wirusa u wszystkich uodpornionych zwierząt. Jedynie w 1 surowicy pochodzącej od krowy uodpornionej najmniejszą dawką szczepionki brak było jeszcze przeciwciał dla wirusa typu A. Największe miana seroneutralizacji przekraczające niekiedy wartość 1 log. stwierdzano u zwierząt uod-

pornionych dawkami 13 i 4 ml szczepionki, najmniejsze w grupie bydła uodpornionego dawką 1,2 ml.

4. Poziom przeciwciał neutralizujących w 14 dni po szczepieniu.

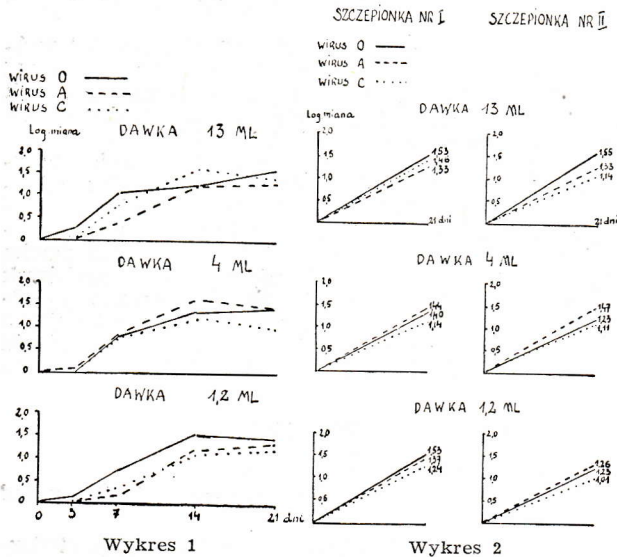
W okresie tym stwierdzono największy wzrost miana, które przekroczyło strefę niepewności dla wszystkich trzech typów wirusa. Krzywa seroneutralizacja osiągnęła prawie maksymalny swój poziom różniący się nieznacznie od wyników uzyskanych w tydzień później (Wykres 1).

5. Ocena przeciwciał neutralizujących w 21 dni po szczepieniu.

W 3 tygodnie po szczepieniu miano seroneutralizacji dla wirusa typu O wynosiło 1,27—1,59 log. DN<sub>50</sub>, dla wirusa A 1,22—1,57 log., dla wirusa typu C 1,13—1,57 log. W przebiegu krzywych nie stwierdzono znacznych różnic dla poszczególnych typów wirusa, jak również nie zaobserwowano wyraźnej różnicy w mianie seroneutralizacji w zależności od dawki podanej szczepionki (Wykres 1).

#### Szczepionka nr 2.

W surowicach zwierząt uodpornionych szczepionką nr 2 badanych w 21 dni po szczepieniu stwierdzono zbliżone miano seroneutralizacji, podobnie jak w grupie poprzedniej uodpornionej dawkami 13 i 4 ml. Nieco niższe miano przeciwciał uzyskano z surowicami zwierząt uodpornionych dawką 1,2 ml. Krzywe mian seroneutralizacji uzyskane po uodpornieniu szczepionką nr 2 przekroczyły także strefę niepewności (Wykres 2).



Wykres 1

Wykres 2

Wykres 1. Krzywe wzrostu miana przeciwciał w surowicy bydła uodpornionego różnymi dawkami przeciwpyszczycowej szczepionki trójwartennej nr I.

Wykres 2. Porównanie wartości miana przeciwciał

Uzyskane wyniki seroneutralizacji porównano ze stopniem odporności szczepionego bydła na zakażenie wirusem pryszczycy. W badaniu tym posłużono się metodą indeksu ochrony (*Lucam, Fedida*). Ze względu na małą ilość bydła użytego do doświadczeń odporność kontrolowano wyłącznie przeciw wirusowi typu O. Indeks ochrony przedstawiony w skali grupy dla szczepionki nr 1 podanej w dawce 13 ml wynosił 3,84 log; przy dawce 4 ml 3,76; przy najniższej 3,62. Dla szczepionki nr 2 wartości te były mniejsze i wynosiły: 2,12; 2,08 i 1,16 log.

#### Omówienie

W doświadczeniu uzyskano bardzo szybki wzrost miana seroneutralizacji po zastosowaniu szczepionki. Wzrost przeciwciał w 3 dni po uodpornieniu stwierdzono przede wszystkim u tych zwierząt, u których wykazano minimalną obecność przeciwciał przed szczepie-

niem. 7 dnia przeciwciała zobojętniające występowały już u wszystkich zwierząt dla 3 typów wirusa pryszczycy.

Badania innych autorów (6, 11) wykazały obecność przeciwciał neutralizujących około 8 dnia po szczepieniu. *Lucam* i *Fedida* (10) badając metodą testu ochronnego 4 szczepionki o różnej wartości immunogennej stwierdzili, że początek ukazania się odporności jest tym wcześniejszy im szczepionka jest skuteczniejsza. Dla dobrze uodporniających szczepionek pojawiała się ona 8—11 dnia, dla słabych nawet pod koniec 3 tygodnia. *Nogina* (17) badając surowicę ozdrowieńców w odczynie SN na myszkach stwierdziła przeciwciała około 7 dnia.

Brak wyraźnych różnic w mianie przeciwciał u bydła uodpornionego tą samą szczepionką, zastosowaną w trzech różnych dawkach: 13, 4 i 1,2 ml, świadczy o wysokiej skuteczności i wartości immunogennej badanej szczepionki.

*Dinter* i *Wesslen* (6) kontrolując miano seroneutralizacji dwóch szczepionek bivalentnych podanych bydłu w dawkach normalnych i 10-krotnie mniejszych stwierdzili dla jednej z badanych szczepionek nieznaczne różnice miana, podczas gdy dla drugiej przy dawce zmniejszonej miana były niższe. Podobnie *Ubertini* i wsp. (17) badając surowicę świnek morskich uodpornionych rozcieńczonymi dawkami szczepionki stwierdzili, że poniżej pewnej ilości antygeny nie jest możliwe uwidocznienie przeciwciał, podczas gdy powyżej tego minimum istnieje strefa, gdzie stwierdza się pewien związek między wzrostem antygeny i wzrostem przeciwciał. W miarę oddalania się od tego progu ustrój odpowiada coraz słabszym wzrostem miana na zwiększoną dawkę szczepionki.

Należy sądzić, że w naszym doświadczeniu strefa, w której stwierdza się zależność poziomu seroneutralizacji od dawki szczepionki znajdowała się poniżej zastosowanej dawki.

Doświadczenie nasze potwierdziło spostrzeżenia innych autorów (1, 6, 7, 8, 11, 18, 19) co do zgodności miana przeciwciał neutralizujących i stopnia nabytej odporności przy kontroli skuteczności szczepionek przeciwpyszczycowych.

#### Wnioski

1. Pojawienie się przeciwciał zobojętniających w surowicy bydła uodpornionego trójwartenną szczepionką przeciwpyszczycową stwierdzono między 3 a 7 dniem, przy czym najwyższe miano wykazano około 14 i 21 dnia po szczepieniu (ostatnie badanie).

2. Krzywe miana seroneutralizacji dla 3 typów wirusa O, A, C wykazały zbliżoną wartość oraz przebieg.

3. W okresie 21 dni po szczepieniu nie stwierdzono znacznych różnic w mianie przeciwciał u bydła uodpornionego trzema dawkami szczepionki.

\* \* \*

Niniejsza praca została wykonana w Laboratorium Wirusologii Zwierzęcej w Lionie dzięki wielkiej uprzejmości Pana Profesora Lucama oraz pomocy dr. Fedidy i dr. Dannacher, którym tą drogą składam serdeczne podziękowanie.

## Piśmiennictwo

1. Van Bekkum J. G., Fish R. C., Dale C. N.: Amer. J. Vet. 24, 77—82, (1963).
2. Van Bekkum J. G.: The Vet. Bull., 30, 2, 178 (1960).
3. Brooksby J. B.: The antibodies in Foot-and-Mouth Disease. Agricultural Research Council Report Series Nr 9 London (1949).
4. Brooksby J. B., Wardle E.: Hyg J., 52, 1 (1954).
5. Capstick P. B., Sellers R. F., Stewart L.: Arch. Virusforsch. 9, 5, 606—620 (1960).
6. Dinter H. Z., Wessten T.: Zbl. Orig. I 171, 3, 157—165 (1958).
7. Lang R., Mačkowiak C., Petermann H. G., Fontaine J.: Publications IFFA 119—129 (1956—1960).
8. Lucam F., Fedida M., Dannacher G.: Symposium International de Virologie Vétérinaire O.I.R. — A.I.S.M. Lyon (1962).
9. Lucam F., Fedida M.: Bull. Off. Int. Epiz. 49, 9—10, 596 (1958).
10. Lucam F., Fedida M.: C.R. Acad. Sci. 251, 1596—1597 (1960).
11. Mačkowiak C., Lang R., Fontaine J., Cammand R., Petermann H. G.: 5 Congr. Stand. Biol., Jérusalem, 13—29 sept. (1959).
12. Mačkowiak C., Lang R.: Bull. Off. Int. Epiz. 49, 1—2, 99—105 (1958).
13. Mačkowiak C., Lang R., Fontaine J., Camand R., Petermann H. G.: Ann. Inst. Pasteur 103, 2, 252—261 (1962).
14. Mačkowiak C., Lang R., Fontaine J., Petermann H. G.: Ann. Inst. Pasteur 97, 571—82 (1959).
15. Martin W. B., Chapman W. G.: Res. Vet. Sci., 2, 53—61 (1961).
16. Nardelli, Prato, Panina, Santero: Veterinaria Italiana 6, 709—716 (1962).
17. Nogina W. T.: Wiet., 4, 50—54 (1957).
18. Ubertini B., Nardelli L., Dal Prato A., Panina G., Santero G.: Bull. Off. Int. Epiz. 53, 9—10, 1307—1327 (1960).
19. Willems R., Leunen J.: Bull. Off. Int. Epiz. 49, 1—2, 71—83 (1958).

Adres autora: Jerzy Wiśniewski, Zduńska Wola, ul. Wodna 7.

Висневски Е. — Исследования роста нейтрализующих антител после иммунизации крупного рогатого скота разными дозами трехвалентной антиафтозной вакцины.

Установлено, что нейтрализующие антитела в сыворотке крупного рогатого скота привитого французской трехвалентной противафтозной вакциной появляются между 3 а 7 днем после прививки. В течение трехнедельных наблюдений самый высокий титр обнаружено около 14 и 21

дня после вакцинации. Кривые титра для типов вируса О, А и С по высоте и форме были похожи. Не установлено соответствия между величиной дозы вакцины и разницей титра вызванных ими антител.

Wiśniewski J. — Investigations on the increase of neutralizing antibodies after the immunisation of cattle with various doses of trivalent anti-foot-and-mouth disease vaccine.

It was established that neutralizing antibodies appear in the serum of cattle immunized by the trivalent anti-foot-and-mouth disease vaccine between the 3<sup>rd</sup> and 7<sup>th</sup> day. In a 3-week period of observation the highest titre was found about 14 and 21 days after vaccination. The graphs of the titre for the three types of virus, O, A and C, were similar in value and profile. No distinct differences were found, in the titre of antibodies, to depend on the dosage of vaccine used.

Wiśniewski J. — Recherche sur l'augmentation des anticorps neutralisants chez les bovins immunisés par les diverses doses du vaccin antiaphteux trivalent.

On a constaté que l'apparition des anticorps neutralisants dans le sérum des bovins immunisés par le vaccin anti-aphteux trivalent de la production française, a lieu entre le 3<sup>e</sup> et le 7<sup>e</sup> jour. Pendant trois semaines de l'observation le taux le plus élevé a été constaté vers le 14<sup>e</sup> et 21<sup>e</sup> jour après la vaccination. La valeur et le cours des courbes des taux des trois types de virus O, A et C étaient rapprochés. Les différentes doses immunisantes n'ont pas causé de différences distinctes dans le taux des anticorps.

Wiśniewski J. — Untersuchungen über Nachwuche der neutralisierender Antikörper nach der Immunisierung der Rinder mit verschiedenen Gaben des dreifachen Anti MK1S Vakzins.

Es ist festgestellt worden, dass das Auftreten der neutralisierender Antikörper im Serum der Rinder, welche mit dem dreifachen französischen Anti MK1S Vakzin immunisiert wurden, zwischen dem 3 und 7 Tag erscheint. Im Laufe einer dreiwöchentlichen Beobachtung ist der höchste Titer gegen den 14 und 21 Tag wahrgenommen worden. Die Titerkurven für drei Virustypen: O, A und C wiesen einen annähernd gleichen Wert und Verlauf auf. Es wurden keine deutlichen Differenzen des Antikörpertiters in Abhängigkeit von der benutzten Immunisierungsgabe festgestellt.

KAZIMIERZ GOŁAŃSKI

## Częstotliwość występowania chorób jedwabnika morwowego (*Bombyx mori* L) w Polsce w zależności od wielkości hodowli

Z Zakładu Hodowli Jedwabników Instytutu Zootechnicznego w Krakowie

Choroby jedwabnika morwowego (żółtaczką, martwość, gnilec, suchoty, muskardyna i pebryna) są objawowo znane hodowcom i badaczom od bardzo dawna. Jednak ich etiologia, a zwłaszcza rozwój wywołujących je zarazków, zostały poznane niedawno. W ostatnich latach w martwość, zwanej flaszera, którą zalicza się do chorób bakteryjnych, wyróżniono polidrodze cytoplazmatyczną (*Ishimori* 1934) oraz stwierdzono (*Aizawa* i *Furuta* 1962, *Aizawa* i *Kurata* 1964), że właściwa flaszera jest wywoływana bezinkluzywnym wirusem z rodzaju *Moratorvirus*. Równocześnie stwierdzono (*Masera* 1954, *Vago* 1961), że pod pojęciem „flaszera” oraz „gattine” = suchoty kryją się różne choroby, których etiologia dotychczas nie została dokładnie zbadana. Wymagają one dokładnych badań w celu rozpoznania ich właściwych zarazków i ustalenia dla nich jednoznacznych nazw (*Gołański*

1964). Rozwiązanie tego zagadnienia jest tym bardziej pilne, że takie same choroby obserwuje się też u innych owadów żyjących w stanie dzikim (*Martignoni* 1964). Co do muskardyny wywoływanej przez *Beauveria bassiana* stwierdzono (*Aoki* 1958), że grzybicę tę u jedwabnika morwowego mogą wywołać również grzyby należące do innych rodzajów i gatunków.

Wyniki badań nad etiologią chorób jedwabników, w większości wypadków, ograniczają się w zasadzie tylko do zidentyfikowania zarazków, które je wywołują. Natomiast sprawa rozprzestrzeniania się ich za pośrednictwem owadów dziko żyjących, badania czynników ekologicznych, sprzyjających lub hamujących ich rozwój, oraz sprawa szukania środków i sposobów ich zwalczania jest b. mało zbadana. Co więcej, Instytut Ochrony Roślin nasila badania w kierunku rozmnażania i rozsiewania zarazków owadów