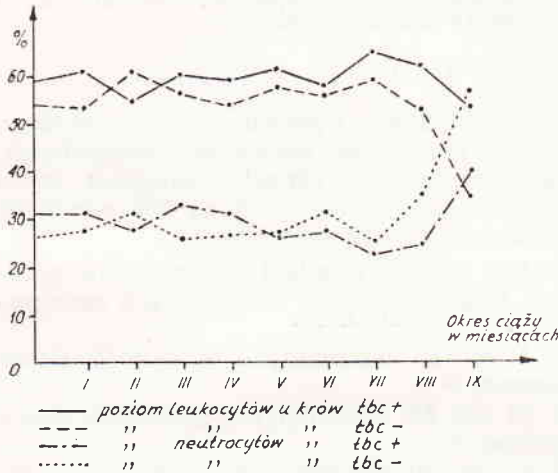
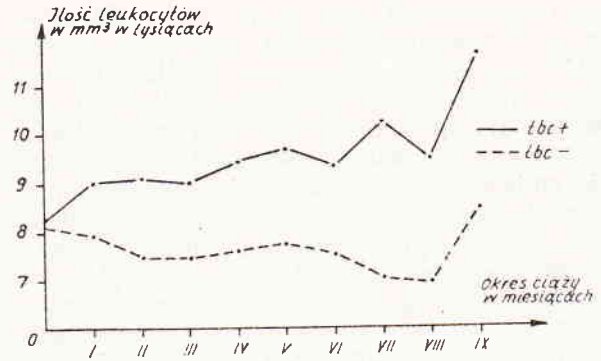


chodzący do 1 miliona; w ciągu pierwszych 6 tygodni ciąży w obu grupach zmniejszyły się do 500 000. W przebiegu ciąży wyraźnie zarysowały się różnice pomiędzy badanymi grupami w odniesieniu do bezwzględnej ilości leukocytów (rys. 1), których średnia arytmetyczna w grupie krów zakażonych — z wyjątkiem 6 i 8 miesiąca ciąży — wykazywała systematyczny wzrost. W grupie wolnej od gruźlicy stwierdzano stały spadek leukocytów. Ostatni miesiąc ciąży był okresem wyraźnego wzrostu bezwzględnej ilości leukocytów w obu grupach. Stosunek limfocytów do neutrocytów ilustruje rys. 2.



Rys. 1. Ilość leukocytów i neutrocytów w leukogramie, w %

W grupie krów zakażonych obserwowano przez cały okres ciąży — z wyjątkiem 2 miesiąca — wyższy poziom procentowy limfocytów a niższy neutrocytów, aniżeli w grupie wolnej od gruźlicy. W obu grupach, w ostatnim miesiącu ciąży wystąpił wyraźny procentowy spadek limfocytów i wzrost neutrocytów, przy czym przesunięcie w grupie krów wolnych od gruźlicy było zdecydowanie wyraźniejsze. Spadek limfocytów tuż przed porodem obserwowali również Greatorex i Moberg (cyt. za 7).



Rys. 2. Ilość leukocytów w krwi obwodowej w przebiegu ciąży u krów

Z dokonanych obserwacji wynika, że krowy dodatnio reagujące na tuberkulinę nie wykazują specjalnej leukocytozy, która mogłaby być przyczyną pomyłek w badaniach na białaczkę. Tylko w 7 i 9 miesiącu ciąży, ilość leukocytów w 1 mm³ (średnio dla tej grupy) przekroczyła 10 000, a tym samym mogłaby spowodować zaliczanie takich krów do grupy podejrzanych o białaczkę wg klucza Götzego. Jednakże po przeliczeniu tych wyników na bezwzględne wartości limfocytów w mm³ wątpliwości te znikają, bowiem średnie w odpowiednich przedziałach wieku mieściły się w granicach normy.

Piśmiennictwo

- Balbierz H., Cogieł F., Nikolaiczuk M., Senze A.: Medycyna Wet. 2, 65, 1963.
- Cogieł F.: Medycyna Wet. 9, 533, 1966.
- Cogieł F.: Medycyna Wet. 8, 455, 1967.
- Dziąba A., Markiewiczowa Z.: Medycyna Wet. 18, 210, 1962.
- Grundboeck M.: Biuletyn III Zjazdu PTNW, Lublin, 317, 1963.
- Grzebuła S., Madej E.: Medycyna Wet. 22, 175, 1966.
- Kłuczek J. P., Łosiński T.: Medycyna Wet. 23, 615, 1967.
- Krzyżowski T.: Roczn. Nauk Roln. E-69, 1-44, 1959.
- Kudriawcew A.: Issledowanija krowi w wietierinarnoj diagnostikie, Moskwa, 1952.
- Malinowska A.: Medycyna Wet. 20, 673, 1964.
- Patyra W.: Ann. UMCS, vol. VI, Fasc. 15-22, 315, 1952.
- Sobiech T., Lipanowicz J.: Zeszyty Nauk. WSR Wrocław, Weterynaria 2, 7, 1955.
- Stankiewicz W., Malinowski W., Krzaczynski J.: Medycyna Wet. 18, 232, 1962.
- Wirth D.: Klinische Hematologie der Haustiere, Wien, 1950.

Adres autora: Edmund Burdziak, Sulechów, ul. Armii Czerwonej 39 m. 2, woj. Zielona Góra.

IRENA WEISBACH, ANTONI TEKLIŃSKI, KRYSZYNA WOŹNIAK

## Badania porównawcze nad aktywnością szczepionki liofilizowanej i natywnej przeciwko ospie kur

Zakład Technologii i Kontroli Leków Weterynaryjnych Instytutu Weterynarii w Puławach  
Kierownik: doc. mgr Z. SYNOWIEDZKI

Uodparnianie drobiu przeciwko ospie jest ciągle aktualnym problemem w świecie. W Polsce ogniska ospy kur występują sporadycznie, niemniej istnieje stale niebezpieczeństwo rozprzestrzenienia tej choroby. Do szczepień zapobiegawczych przeciwko ospie stosuje się wyłącznie szczepionki żywe.

Wśród badaczy są odmienne zdania co do

wyboru szczepów. Niektórzy autorzy uważają (2, 5, 7), że szczepionki należy produkować na szczepach o osłabionej zjadliwości, homologicznych dla danego gatunku ptaków, inni (3, 4, 8, 9, 10) wykazali wysoką wartość uodparniającą szczepionek opartych na szczepach heterologicznych, mniej patogennych dla drugiego gospodarza. Autorzy ci uważają, że

szczep ospy gołębi jest nieszkodliwy dla drobiu, nie powoduje spadku nieśności i daje 9—12 miesięczną odporność. Balla (1), De Blicck (2), Hartwigk i Taübrich (4), Oláh (8) i Müller (6) stwierdzili, że o silnym działaniu immunogennym wirusa ospy gołębi decyduje ilość zmienionych chorobowo brodawek skóry. Balla (1) ocenę szczepionki określał na podstawie stopnia rozcieńczenia, które w dawce 0,1 ml wywoływało u 50% szczepionych ptaków dodatnią reakcję miejscową przyjmując, że już dwie chorobowo zmienione brodawki skóry decydowały o dodatnim odczynie.

W naszych badaniach oparliśmy się na wynikach Balla (1) i Oláha (8). Celem badań było otrzymanie trwałego preparatu (liofilizowanego) zachowującego swą aktywność co najmniej do 2 lat i będącego jednocześnie wygodnym w stosowaniu w terenie.

#### Materiał i metody

Do doświadczenia użyto produkcyjny szczep ospy gołębi otrzymany z Puławskich Zakładów Przemysłu Bioweterynaryjnego. Szczep ten namnożono na gołębiach wprowadzając wirus metodą skaryfikacji w brodawki skóry, okolicy klatki piersiowej pozabawione piór bezpośrednio przed szczepieniem. Dzieśiątego dnia po zakażeniu w okresie najintensywniejszego nasilenia zmian ospowych, pobrano wycinki zmienionej skóry. Połowę z nich zliofilizowano, drugą część materiału, pochodzącego z tej samej partii, przetrzymywano w chłodni w stanie zamrożenia ( $-5^{\circ}$ ) do czasu każdorazowego wykonania szczepionki natywnej dla porównawczych oznaczeń ze szczepionką liofilizowaną.

A. Metodyka liofilizacji szczepionki przeciwko ospie kur. Odważono 14,21 g wycinków skór pochodzących od gołębi, szczepionych tym samym rozcieńczeniem wirusa, które wykazały silny odczyn poszczepienny. Skóry rozarto z piaskiem kwarcowym w moździerzu porcelanowym. Jako nośnika, służącego jednocześnie jako rozcieńczalnik użyto odtłuszczonego jałowego mleka. Otrzymaną emulsję z rozartych skór uzupełniono mlekiem do ogólnej ilości 127 ml tj. wagowo dziesięciokrotnie większą ilością od ciężaru skór. Otrzymaną zawiesinę rozlano jałowo po 1 ml do 5 ml ampułek. Szczepionkę zamrożono na aparacie obrotowym w alkoholu 96% z suchym lodem otrzymując na ściankach ampułek jednolitą, cienką warstwę zamrożonej emulsji. Liofilizację szczepionki przeprowadzono w aparacie „Usifroid” M32/4 w temperaturze  $-76$  do  $-78^{\circ}$ . Suszenie przeprowadzono przez 7 godzin w próżni wynoszącej  $10^{-2}$  Torr. Ampułki zatopiono w próżni i przechowywano przez cały czas doświadczenia w temperaturze  $+4^{\circ}$  C. W podany sposób zliofilizowano dwie serie szczepionki, które oznakowano numerami 1364 i 166.

B. Oznaczenia aktywności obu serii szczepionek liofilizowanych i natywnych przeprowadzono na gołębiach i kurczętach.

Gołębie otrzymywano zawsze od tego samego hodowcy, kurczęta rasy karmazyn oraz mieszańce pochodziły z doświadczonego majątku SGGW w Brwinowie i z Zakładu Wylęgu Drobiu w Warszawie.

Gołębie szczepione metodą skaryfikacji w brodawki skóry klatki piersiowej po obu stronach mostka, stosując po 0,1 ml odpowiedniego rozcieńczenia szczepionki. Szczepionkę liofilizowaną oraz natywną rozcieńczano płynem fizjologicznym od  $10^{-2}$  do  $10^{-6}$ . Odpowiednim rozcieńczeniem szczepiono 3 do

5 gołębi. Kurczęta szczepiono szczepionkami w rozcieńczeniu od  $10^{-1}$  do  $10^{-5}$  po 0,1 ml metodą skaryfikacji dwoma sposobami: 1) w brodawki skóry uda, 2) cyklicznie t.j. brano 4 grupy kurcząt, w których każdą grupę szczepiono czterema rozcieńczeniami w skórę obu skrzydeł i nóg. Np. I grupę szczepiono kolejno pierwszym rozcieńczeniem — w prawe udo, drugim — w lewe udo, trzecim — w prawe skrzydło, czwartym — w lewe skrzydło; II grupę — pierwszym rozcieńczeniem w lewe udo, drugim — w prawe skrzydło, trzecim — w lewe skrzydło, czwartym — w prawe uda i w ten sposób dalej przesuując każdorazowo szczepienie danym rozcieńczeniem w nowe miejsce.

Miano aktywności  $ED_{50}$  szczepionek liofilizowanych i natywnych, badanych w poszczególnych odstępach czasu, obliczono wg metody Reeda Müencha, przyjmując za średnie miano takie rozcieńczenie wirusa, które u większości badanych ptaków wywołało odczyn o nasileniu co najmniej ++.

#### Badania własne

Celem określenia wpływu czasu i warunków przechowywania na aktywność szczepionek, przeprowadzono w różnych odstępach czasu 15 porównawczych oznaczeń na 259 gołębiach i 5 oznaczeń na 212 kurczętach.

Zmiany ospowe u gołębi obserwowano przez 15 dni. Nasilenie zmian chorobowych oznaczano od + do + + + +:

od 1 do 10 obrzmiałych brodawek skóry oznaczano +

od 11 do 20 obrzmiałych brodawek skóry oznaczano ++

od 21 do 30 obrzmiałych brodawek skóry oznaczano +++

ponad 31 obrzmiałych brodawek skóry oznaczano ++++

Często przy wysokich koncentracjach wirusa ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) obserwowano silne, rozlane nacieczenie surowicze tkanki podskórnej, uniemożliwiające liczenie reagujących dodatnio brodawek, zmiany takie określano jako + + + +. W czasie przeprowadzonych przez nas badań stwierdzono, że silniejszy stopień reakcji, zarówno w sensie ilościowym jak i jakościowym, obserwowanych zmian na gołębiach, występuje u gołębi młodszych niż u dorosłych. Jednocześnie zaobserwowano zdecydowanie słabsze występowanie objawów poszczepiennych bądź też nawet ich brak u gołębi wychudzonych, co w kilku przypadkach spowodowało znaczny rozrzut wyników w grupie gołębi szczepionych tą samą szczepionką i tym samym rozcieńczeniem w granicach + + + + do —.

Do badań aktywności szczepionek na kurczętach użyto do dwóch oznaczeń ptaków w wieku 4 miesięcy, do trzech — w wieku 6—7 tygodni. Reakcję poszczepienną określano także na podstawie ilości i nasilenia zmian ospowych na skórze:

od 1 do 5 obrzmiałych brodawek skóry oznaczano +

od 6 do 10 obrzmiałych brodawek skóry oznaczano ++

od 11 do 15 obrzmiących brodawek skóry oznaczano +++

ponad 15 obrzmiących brodawek skóry oznaczano ++++

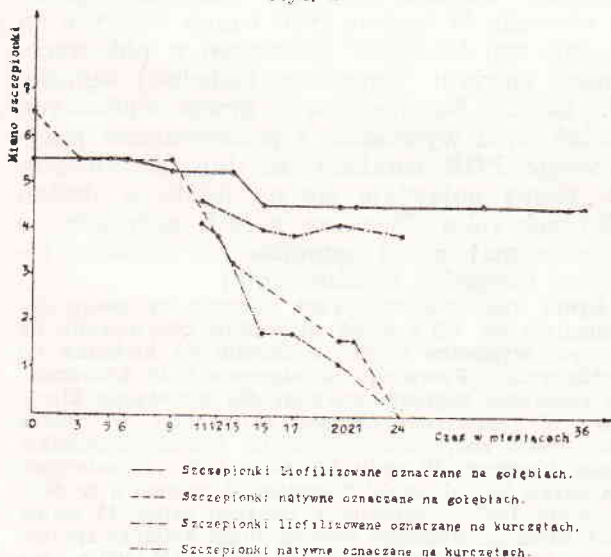
Zastosowanie metody cyklicznego szczepienia kurcząt pozwoliło nam na czterokrotne zwiększenie ilości przeprowadzonych odczytów reakcji poszczepionych. Stwierdzono, że odczyn poszczepienny niezależny jest od miejsca szczepienia ani od wielokrotności szczepienia, a tylko od stężenia użytej szczepionki. Przeprowadzone w jednym czasie porównawcze szczepienia 2 grup kurcząt: 1 — metodą stosowaną w terenie tj. szczepienie w brodawki skóry uda; 2 — metodą szczepień cyklicznych, wykazały całkowite pokrywanie się oceny wartości szczepionki przy obu metodach.

Badania serii 1364 przeprowadzono na gołębiach przez 36 miesięcy, na kurczętach przez 24 miesiące, od chwili wyprodukowania szczepionki, serię 166 badano przez 24 miesiące zarówno na gołębiach jak i kurczętach.

### Wyniki

Wyniki oceny wartości szczepionek liofilizowanych i natywnych p-ko ospie kur przeprowadzanej porównawczo w różnych odstępach czasu na gołębiach i kurczętach, zestawiono graficznie w postaci średniej  $ED_{50}$  obu badanych serii szczepionek dla danego okresu mianowań. Miano  $ED_{50}$  szczepionki liofilizowanej serii 1364 badanej na gołębiach przez 36 miesięcy wahało się w granicach  $10^{-5.5}$  do  $10^{-4.5}$ , miano szczepionki liofilizowanej serii 166 po 24 miesiącach wynosiło  $ED_{50}$  4,24. Dane uzyskane z badań przeprowadzonych nad obu seriami szczepionek wykazano na wykresie w postaci wspólnej krzywej (rys. 1). Szczepionka natywna serii 1364 w pierwszym porównawczym badaniu na gołębiach, wykazała wyższe miano  $ED_{50}$  — 6,5 w stosunku do

Rys. 1



szczepionki liofilizowanej  $ED_{50}$  — 5,5. Różnicę tę można wytłumaczyć przebiegiem procesu liofilizacyjnego, w czasie którego część materiału żywego ulega obumarciu. Zjawisko to dotyczy różnych komórek żywych tak bakteryjnych, jak i wirusowych. W badaniach po 3, 6 i 9 miesiącach przechowywania, szczepionki natywne obu serii utrzymywały stałe miano na poziomie  $ED_{50}$  — 5,5. Po 15 miesiącach zanotowano spadek miana do  $10^{-3.24}$  a po 24 miesiącach przetrzymywania szczepionki natywne utraciły całkowicie swą aktywność.

Podobne wyniki uzyskano z przeprowadzonych mianowań na kurczętach. Średnie miano szczepionek liofilizowanych oznaczone po 11 i 15 miesiącach od chwili liofilizacji wynosiło  $10^{-4.6}$  i utrzymało się w granicach  $10^{-4}$  przez 24 miesiące tj. przez okres trwania doświadczenia. Podczas gdy szczepionki natywne po 15 miesiącach przechowywania wykazały już tylko miano  $10^{-1.63}$ , po 20 miesiącach  $10^{-1.1}$ , a po 24 miesiącach utraciły swą aktywność.

### Omówienie wyników

Badanie aktywności szczepionek na podstawie ilości reagujących dodatnio brodawek skóry oparto na metodach stosowanych przez badaczy Balla (1), De Blic'ka (2) Hartwig'ka i Täubrich'a (4) oraz Oláh'a (8). Balla (1) stwierdził, że dawka 0,1 ml szczepionki w rozcieńczeniu  $10^{-2}$  wywołująca lokalny odczyn poszczepienny warunkuje dostateczną wartość immunogenną szczepionki. Badana przez niego liofilizowana szczepionka produkowana ze szczepu gołębiego, przetrzymywana w tem.  $-4^{\circ}$  do  $-8^{\circ}C$  zachowała swą aktywność przez 800 dni.

W badaniach naszych szczepionka liofilizowana przetrzymywana w tem.  $+4^{\circ}C$  utrzymała stałe miano  $ED_{50}$  — 4,5 przez cały okres badania tj. przez 1080 dni. Zatem uzyskane wyniki w odniesieniu do szczepionki liofilizowanej są zgodne ze sprostaczeniami innych autorów, a nawet pozwoliły stwierdzić dłuższy termin jej aktywności immunogennej.

Badania własne potwierdzają wnioski wysunięte przez Oláh'a (8) o równowartości oceny szczepionek ospowych prowadzonej bądź na gołębiach, bądź to na kurczętach.

### Wnioski

1. Z przeprowadzonych badań wynika, że liofilizowane szczepionki mają co najmniej dwu- do trzykrotnie dłuższy termin ważności niż surowiec wyjściowy do szczepionek natywnych, przechowywany w formie zamrożonego półfabrykatu.

2. Szczepionki liofilizowane zachowały wysokie miano skuteczności ( $ED_{50}$   $10^{-4.5}$ ) przez co najmniej 3-letni okres przechowywania.

3. Przeprowadzone równoległe mianowania szczepionek liofilizowanych i natywnych na

gołębiach i kurczętach potwierdziły równowartość oceny ich aktywności.

4. Do kontroli szczepionki winno używać się ujednolicony materiał zwierzęcy zarówno pod względem wieku jak i kondycji.

#### Piśmiennictwo

1. Balla L.: Mag. állator Lapja 19, 94, 1964.
2. Bengelsdorff H. J., Schneider B.: Dtsch tierärztl. Wschr. 70, 12, 322, 1963.

3. De Eliceck L. B. M.: Tierärztl Wschr. 65, 1955.
4. Hartwig A., Täubrich Fr.: Msehr. f. Thk. 61, 1959.
5. Madhusudan A. R.: Indian Vet. J. 35, 3, 1958.
6. Müller H.: Zesz. Prob. Post. Nauk. Roln. 58, 157, 1964.
7. Nilakantan P. K., Sengupta B. R., Sakkubai P.: Indian Vet. J. 37, 1, 1960.
8. Oláh P.: Acta Vet. Hung. 13, 1, 15, 1963.
9. Ursache R., Dinculescu P.: Lucr. Inst., Cerc., Vet. Bioprep. Pasteur 1, 441, 1962.
10. Winterfield R. W., Hitchner S. B.: Avian Dis 9, 2, 237, 1965.
11. Reed L. J., Muench H.: Am. J. Hyg. 27, 493, 1938.

Adres autora: Irena Weisbach, Warszawa, ul. Leona Schillera 6 m. 21.

JACEK DUTKIEWICZ, KRZYSZTOF SIUDA

## Nowe ognisko kleszczy *Dermacentor pictus* Herm. w południowej Lubelszczyźnie

Instytut Medycyny Pracy i Higieny Wsi w Lublinie  
Dyrektor: doc. dr H. RAFALSKI

Znaczenie epidemiologiczne i epizootologiczne *D. pictus*.

Kleszcze z gatunku *Dermacentor pictus* Herm. są przenosicielami całego szeregu chorobotwórczych drobnoustrojów.

Według autorów radzieckich są one jednym z głównych przenosicieli pałeczek *Francisella tularensis*, wywołujących tularemię u ludzi i zwierząt (16, 17, 19). Kleszcze te stanowią rezerwuuar pałeczek tularemii i odgrywają dużą rolę w utrzymywaniu się w przyrodzie naturalnych ognisk tego schorzenia, co stwierdzono na graniczących z Polską obszarach Ukrainiejskiej SSR (14). Badacze radzieccy wyosobnili również z kleszczy *D. pictus* pałeczki *Brucella abortus* i *Brucella melitensis*, listerie (*Listeria monocytogenes*) i włoskowca różycy (*Erysipelothrix rhusiopathiae*) (16, 20). *D. pictus* jest również przenosicielem riketsji kleszczowego duru wysypkowego (*Rickettsia sibirica*), riketsji wywołujących zakaźny nefroz-nefryt (*Rickettsia pavlovskyi*) i wirusów omskiej gorączki krwotocznej (1, 16). W świetle ostatnich badań Katina (7, 8), przeprowadzonych na terenie okręgu tiumeńskiego (ZSRR), należy się również liczyć z dużym udziałem tych kleszczy w przenoszeniu na ludzi i zwierzęta wirusów kleszczowego zapalenia mózgu. Autor ten wyosobnił z różnych stadiów rozwojowych *D. pictus* 25 szczepów wirusa kleszczowego zapalenia mózgu, a ponadto stwierdził eksperymentalnie możliwość transwaryjnego przekazywania wirusa u omawianego gatunku kleszcza. *Dermacentor pictus* przenosi również pierwotniaki chorobotwórcze dla zwierząt domowych: *Babesia caballi*, wywołujące babeszjozę koni, *Nuttallia equi*, wywołujące nutaliozę koni oraz *Babesia canis*, wywołujące babeszjozę psów (6, 18). Niekorzystny wpływ na zwierzęta domowe wywiera wreszcie sama ślina kleszczy, wydzielana w czasie aktu ssania.

Jak wynika z przytoczonych powyżej danych, zbadanie występowania i biologii kleszczy *D. pictus* na terenie Polski może mieć istotne znaczenie dla medycyny weterynaryjnej i ludzkiej, co podkreślał zresztą kilkakrotnie w swych publikacjach Drózdź (3, 4, 5).

Występowanie *D. pictus* w Polsce.

*Dermacentor pictus* Herm. jest jednym z rzadszych kleszczy występujących na terenie Polski. Po raz pierwszy został on stwierdzony na obszarze naszego kraju przez Obitza (15), który we wsi Kotliny (gmina Żyrzyn, pow. Puławy) znalazł 2 samce *D. pictus* na skórze

krowy padłej na hemoglobinurię. Lachmajer (11) stwierdziła te kleszcze w rejonie Białowieży, na bydłe wypasany na pastwiskach leśnych i przyleśnych. Drózdź (3, 4) stwierdził występowanie *D. pictus* w rejonie rajgrodzko-kobielańskim (woj. białostockie), znajdując te kleszcze na łośiach, bydłe, sarnie oraz na łące położonej na terenie rezerwatu Czerwone Bagno. W badaniach przeprowadzonych powtórnie w tym rejonie przez Drózdza i Szymańskiego w maju 1965 r., autorzy stwierdzili masowe występowanie tych kleszczy na bydłe oraz na roślinności w niektórych biotopach leśnych i łąkowych (5). Krzemiński (10) zebrał 34 samce *D. pictus* z głowy zastrzelonego w ramach odstrzału sanitarnego łośia, który prawdopodobnie pochodził z Puszczy Kampinoskiej.

#### Badania własne

W okresie od kwietnia 1966 r. do lipca 1967 r. Instytut Medycyny Pracy i Higieny Wsi prowadził na terenie południowej Lubelszczyzny badania dotyczące warunków pracy w oborach. W trakcie tych badań wykryto na terenie wsi Machnów (położonej w pld. wsch. części powiatu Tomaszów Lubelski) ognisko *D. pictus*. Na podstawie przeprowadzonych badań, oraz wywiadów z pracownikami miejscowego PGR ustalono, że dojrzałe kleszcze *D. pictus* pojawiają się na bydłe w dwóch okresach roku. Pierwszy z nich przypada na miesiąc maj, drugi natomiast na miesiące jesienne (wrzesień i październik).

Bydło było opadane przez kleszcze na pastwisku (odległym ok. 2,5 km. od budynków oborowych), na którym wypasano bydło w okresie od kwietnia do października. Pastwisko to otoczone było krzewami, co stwarzało dogodne warunki dla bytowania kleszczy. W pierwszym okresie aktywności *D. pictus* (m-c maj), znajdowano na bydłe jedynie niewielkie ilości kleszczy. W dniu 31 maja 1966 r. znaleziono na karku jednej sztuki 2 samice *D. pictus*, a w dniu 17 maja 1967 r. zebrano z czterech sztuk 15 samic tych kleszczy. Znacznie większe ilości kleszczy stwierdzono w okresie jesiennym. W dniu 7.IX.1966 r., ze-