

WOJCIECH KARCZEWSKI, ANNA CAKAŁA, HELENA RASZEWSKA

Przydatność szczepu NDV „Komarov” do uodparniania kurcząt przeciwko rzekomemu pomorowi drobiu

Zakład Badania Chorób Drobiu Instytutu Weterynarii w Puławach
p.o. Kierownika: dr W. KARCZEWSKI

W Polsce stosuje się obecnie 2 rodzaje żywych szczepionek przeciwko pomorowi rzekomemu drobiu: szczepionkę „Vaccina L” — opartą na lentogenicznym szczepie LaSota, oraz szczepionkę „Vaccina R” sporządzoną na szczepie mezogenicznym — Roakin. Szczepionka „R”, którą można stosować u kur dorosłych lub kurcząt w wieku ponad 6 tygodni, jakkolwiek wytwarza dobrą, trwającą około jednego roku odporność, to jednak u ptaków słabszych powodować może powstawanie reakcji poszczepiennych. Dlatego w chwili obecnej większość stad hodowlanych szczepi się szczepionką „L” podawaną w wodzie do picia. Odporność powstająca po takim szczepieniu trwa stosunkowo krótko 3—4 miesiące. Ponieważ każde szczepienie, szczególnie szczepionką żywą, stanowi dla ptaków czynnik stressowy, dlatego bardziej celowe byłoby stosowanie u kur dorosłych szczepionki wytwarzającej odporność dłużej trwającą.

Ze szczepów mezogenicznych, stosowanych obecnie do produkcji szczepionek, szczep „Komarov” daje najlepsze wyniki (3, 4, 8, 10).

Jest to szczep wirusa ND wyizolowany z z przypadku terenowego, a następnie osłabiony przez wielokrotne pasażowanie przez mózgi kaczek (6).

Szczepionka sporządzona na tym szczepie może być stosowana domięśniowo, lub do błony skrzydłowej. W piśmiennictwie podkreśla się brak występowania reakcji poszczepiennych po jej podaniu, zarówno ze strony układu rozrodczego jak i sytemu nerwowego. Długotrwałość odporności wywołanej przez szczepionkę oparta na szczepie „Komarov” określa się na 7—12 miesięcy.

Celem niniejszej pracy było dokładne przebadanie właściwości immunogennych szczepu „Komarov”, jego rozsiewalności, możliwości ewentualnego zastosowania u młodych ptaków, oraz prześledzenie rozwoju tego wirusa w różnych narządach organizmu ptaka.

Materiał i metody

Szczep szczepionkowy. Do przygotowania szczepionki użyto szczepu NDV „Komarov” uzyskanego od Dr Samberga z Izraela.

Przygotowanie szczepionki.

a) pasaż wstępny — liofilizat szczepu rozcieńczono płynem fizjologicznym i wprowadzono do worka omocznioowego 8 zarodków kurzych. Po 48 godz. inkubacji zarodki schłodzono i zebrano płyny omocznioowe. Miano Ha płynu wynosiło 1:1280, a EID_{50} — $10^{8,24}$ w 1 ml.

b) przygotowanie szczepionki — uzyskanym z pasażu wstępnego materiałem zakażono 74 dziesięciodniowe zarodki kurze, pochodzące od kur nieszczepionych.

Materiał wirusowy rozcieńczono 10^{-3} płynem fizjologicznym i wprowadzano do worka omocznioowego w ilości 0,1 ml. Zarodki, które padły do 34 godz. po zakażeniu odrzucano, natomiast żywe schłodzono i zebrano płyny omocznioowe. Po przeprowadzeniu kontroli bakteriologicznej płyny zmieszano w stosunku 1:1 z buforowaną gliceryną. Tak uzyskaną szczepionkę rozlano w ilości po 2 ml do ampulek i przechowywano w temperaturze suchego lodu. Miano Ha szczepionki wynosiło 1:640, zaś EID_{50} — $10^{8,44}$ w 1 ml.

Szczep zjadliwy NDV. Do badań użyto zjadliwego szczepu „Radom” wirusa ND, przechowywanego w postaci liofilizatu sporządzonego z zakażonych płynów omocznioowych zarodków kurzych. EID_{50} tego płynu wynosiło $10^{8,75}$ w 1 ml.

Ptaki. Do doświadczeń użyto 207 kurcząt w różnym wieku, wrażliwych na rzekomy pomór drobiu. Jeśli używano kurcząt młodszych niż 5-tygodniowe, pochodziły one z jaj od kur nieszczepionych p-ko ND, dla wykluczenia obecności odporności biernej. Dokładny wiek oraz ilość użytych ptaków podano przy opisie poszczególnych doświadczeń.

Odczyn hemaglutynacji (Ha). Przeprowadzono metodą próbkową opisaną przez Larskiego (7). Odczyn zahamowania hemaglutynacji (HI) wykonywano metodą „beta” podaną przez Beacha (1).

Określenie EID_{50} przeprowadzano na 10-dniowych zarodkach kurzych wg metodyki opisaną przez Larskiego (7). Obliczenia przeprowadzano metodą Reeda i Muencha (9).

Indeks patogenności domózgowej. Wykonywano i obliczano wg metody podanej przez Hansona (2).

Szczepienie kurcząt. Ptakom podawano szczepionkę odpowiednio rozcieńczoną płynem fizjologicznym, wprowadzając ją do mięśnia piersiowego w ilości 1 ml.

Zakażanie kurcząt. Zakażanie przeprowadzano rozcieńczonym 10^{-3} szczepem „Radom” wirusa ND, wprowadzając go do mięśnia piersiowego lub dotchawicowo w ilości 0,2 ml.

Reizolacja wirusa szczepionkowego. Pobrane wycinki narządów szczepionych ptaków (około 1 g narządu) przechowywano w temperaturze suchego lodu. Przed zakażeniem zarodków materiały rozmrażano, rozcierano w moździerzach porcelanowych z jałowym piaskiem, zawieszano w 2 ml płynu fizjologicznego i odwirowywano przy 1000 obr./min. przez 10 min. Następnie ściągano płyn z nad osadu i sporządzano kolejne dziesięciokrotne rozcieńczenia do 10^{-3} . Po dodaniu antybiotyków (1000 jedn. penicyliny i 5 mg streptomycyny na 1 ml zawiesiny), poszczególnymi rozcieńczeniami zakażano po 3 dziewięciodniowe zarodki kurze. Płyn wprowadzano do worka omocznioowego w ilości 0,1 ml. Płyn omocznioowy zarodków, zamarych oraz tych, które przeżyły do 72 godz. po zakażeniu, badano metodą hemaglutynacji szkiełkowej. Uzyskanie dodatniego wyniku próby przyjmowano za dowód obecności wirusa.

Przebieg doświadczeń i wyniki

Doświadczenie I. Określenie indeksu patogenności domózgowej (IPI)

Do doświadczenia użyto 4 grup piskląt jednodniowych (po 10 sztuk w grupie). Kurczęta otrzymały domózgowo po 0,05 ml rozcieńczonej szczepionki. Ptakom grupy I podano po $10^1 EID_{50}$, grupy II — po $10^2 EID_{50}$,

grupy III — po 10^3 EID₅₀ i grupy IV — po 10^4 EID₅₀. Kurczęta obserwowano przez 8 dni notując zachorowania i upadki. Następnie obliczono indeks patogenności domózgowej. Uzyskane wyniki ilustruje tab. 1.

Tab. 1. Określenie indeksu patogenności domózgowej (IPI)

Dawka EID ₅₀	IPI
10^1	0,37
10^2	0,71
10^3	0,75
10^4	1,05

Doświadczenie II. Określenie najmniejszej dawki uodparniającej.

Doświadczenie przeprowadzono na 6 grupach kurcząt (po 5 ptaków w grupie) w wieku 3 miesiące. Kurczętom każdej grupy (z wyjątkiem kontrolnej) podano domięśniowo rozcieńczoną szczepionkę w ilości 1 ml na ptaka. Grupa I otrzymała po 10^1 EID₅₀, grupa II — po 10^2 EID₅₀, grupa III po 10^3 EID₅₀, grupa IV — po 10^4 EID₅₀ i grupa V — po 10^5 EID₅₀, na ptaka. Grupa VI — kontrolna — szczepionki nie otrzymała. W dwa tygodnie po szczepieniu od wszystkich kurcząt pobrano krew i przeprowadzono odczyn HI. W tym samym dniu zakażono wszystkie kury domięśniowo wirusem zjadliwym ND. Po zakażeniu wszystkie kurczęta obserwowano przez 10 dni. Uzyskane wyniki przedstawia tab. 2.

Tab. 2. Określenie najmniejszej dawki uodparniającej

Dawka szczepionki	Ujemny log. śred. miana HI	Padło*)
10^1 EID ₅₀	(—)	5/5
10^2 „	2,62	0/5
10^3 „	2,68	0/5
10^4 „	2,86	0/5
10^5 „	2,80	0/5
kontrola	(—)	5/5

*) licznik — ilość padłych kurcząt
mianownik — ilość badanych kurcząt

Doświadczenie III. Stosowanie szczepionki u kurcząt w różnym wieku.

Do doświadczenia użyto 39 kurcząt. Wiek kurcząt wahał się od 1 do 5 tygodni. Ptaki zostały zaszczipione domięśniowo po 1 ml szczepionką rozcieńczoną tak, aby każda sztuka otrzymała po 10^3 EID₅₀. Ptaki obserwowano przez 2 tygodnie, poczym pobrano krew i określono miano HI. Wyniki zestawiono w tab. 3.

Tab. 3. Reakcja poszczepienna w zależności od wieku szczepionych kurcząt

Wiek kurcząt	Objawy	Upadki*)	Ujemny log. śred. miana HI
1 tydzień	objawy ze strony układu oddechowego	3/9	2,45
2 tygodnie	brak objawów	0/9	2,57
3 tygodnie	brak objawów	0/9	3,13
5 tygodni	brak objawów	0/12	2,82

*) licznik — ilość padłych kurcząt
mianownik — ilość badanych kurcząt

Doświadczenie IV. Długotrwałość odporności.

Dwadzieścia osiem kurcząt w wieku 2 miesięcy zaszczipiono domięśniowo po 1 ml szczepionką roz-

cieńczoną tak, aby każda sztuka otrzymała po 10^3 EID₅₀. W wybranych odstępach czasu od części lub od wszystkich kurcząt pobierano krew i badano miano HI. Po 4 mies. od chwili zaszczipienia, 10 kurcząt zakażono dotchawicowo zjadliwym wirusem ND. Po 7 miesiącach od momentu zaszczipienia podobne zakażenie przeprowadzono u pozostałych kurcząt. Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 4.

Tab. 4. Długotrwałość odporności

Dni po szczepieniu	Ujemny log. śred. miana HI	Padło po zakażeniu*)
14	2,71	
41	2,00	
70	1,60	
104	1,19	
122		0/10
134	1,40	
184	1,38	
212	1,26	0/18

*) licznik — ilość padłych kurcząt
mianownik — ilość badanych kurcząt

Doświadczenie V. Określenie rozsiewalności wirusa szczepionkowego.

Do kurcząt z doświadczenia poprzedniego, w dwa dni po szczepieniu, dołączono 10 wrażliwych kurcząt w wieku 2 mies. i pozostawiano je przez 3 miesiące razem. W tym czasie trzykrotnie pobierano od nich krew i określano miano HI. Przyjęto, że kurczęta wykazujące miano HI 1 : 20 lub wyższe zakażyły się wirusem szczepionkowym. Takie miano stwierdzano u 60% ptaków.

Doświadczenie VI. Badania nad rozwojem wirusa szczepionkowego w organizmie kurcząt.

Do doświadczenia użyto 30 kurcząt 10 tygodniowych, które zaszczipiono domięśniowo w dawce po 1 ml, zawierającej 10^3 EID₅₀. Codziennie, zaczynając od pierwszego dnia po szczepieniu, od 3 ptaków pobierano krew dla określenia miana HI, poczym poddawano je ubojowi i pobierano następujące narządy do badania wirusologicznego: krew, płuca, wątrobę, śledzionę, jelito grube oraz mózg. Izolację wirusa z pobranych narządów przeprowadzano na 9-dniowych zarodkach kurzych. Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 5.

Omówienie wyników

Przedstawione badania nad szczepem NDV „Komarov” tylko częściowo potwierdzają wyniki prac innych autorów (3, 4, 10).

Doświadczenia nad indeksem patogenności domózgowej (IPI) wykazały, że należy on do szczepów mezogenicznych. Ponieważ Hanson w swojej metodzie nie podał dokładnej dawki wirusa, w powyższych doświadczeniach użyto 4 różnych rozcieńczeń zawierających od 10^1 do 10^4 EID₅₀. Okazało się, że indeks IPI zależnie od dawki wirusa był niższy lub wyższy. Mieścił się jednak w granicach przewidzianych dla szczepów mezogenicznych (2). Przy 10^2 EID₅₀ indeks ten wynosił 0,71. Podobna wartość otrzymali Huygelen i Peetermans (3) przy rozcieńczeniu materiału wirusowego 1 : 10, co stanowiło około 10^6 EID₅₀.

Próba określenia najmniejszej dawki uodparniającej wykazała wysoką wartość immunogenną badanego szczepu. Już 10^2 EID₅₀ uodparniło kury na przeprowadzone w dwa tygodnie po szczepieniu kontrolne zakażenie wirusem

Tab. 5. Rozwój wirusa szczepionkowego w organizmie kurcząt

Narząd	Ilość dni po szczepieniu*)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Krew	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pluca	—	—	—	+	—	++	++	++++	—	—
	—	—	+	—	+	—	+++	—	+	—
	—	—	—	—	++++	—	—	+	++	++++
Wątroba	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
Sledziona	—	—	—	—	—	++	++	+	—	—
	—	—	—	—	++++	—	—	+	++	—
	—	—	—	—	+	++	—	+	—	++++
Jelito grube	—	—	—	—	—	++	++	+++	—	—
	—	—	—	—	++	—	—	—	—	+++
	—	—	—	—	+++	—	—	++	—	—
Mózg	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
Ujemny log średn. miana HI	(—)	(—)	(—)	(—)	0,8	0,9	1,0	1,2	1,2	2,0

*) W poszczególnych dniach przedstawiono wyniki badania narządów trzech kurcząt: — nie stwierdzono wirusa; + wirus stwierdzono jedynie w zawieszynie nierozcieńczonej; ++ wirus stwierdzono w zawieszynie nierozcieńczonej i rozcieńczonej 10¹; +++ wirus stwierdzono również w zawieszynie rozcieńczonej 10²; ++++ wirus stwierdzono we wszystkich rozcieńczeniach.

zjadliwym. 10² EID₅₀ stanowi rozcieńczenie około 10⁻⁶. Thorne i Mc Leod (10) uzyskali wyniki znacznie gorsze bo już rozcieńczenie 10⁻³ szczepionki zawierającej EID₅₀ tego samego rzędu co w naszych badaniach, nie dawało pełnego zabezpieczenia przeciwko zakażeniu wirusem zjadliwym.

W związku z uzyskanymi przez nas wynikami, w dalszych badaniach przyjęto dawkę dziesięciokrotnie większą (10³ EID₅₀) do uodparniania ptaków.

Następne doświadczenie miało na celu sprawdzenie w jakim wieku można szczepić kurczętą bez obawy wystąpienia reakcji poszczepiennej. Jak wiadomo szczepionki oparte na szczepach mezogenicznych nie nadają się do uodparniania zbyt młodych kurcząt ze względu na możliwość występowania komplikacji poszczepiennych. I tak np. szczepionek opartych na szczepie „Roakin” nie można podawać kurczętom poniżej 6 tygodni życia. Z przedstawionych powyżej badań wynika, że już 2-tygodniowe kurczęta nie wykazały żadnych objawów po zastosowaniu szczepionki opartej na szczepie „Komarov”. Byłaby to zaleta bardzo cenna umożliwiająca przeprowadzenie szczepień bezpośrednio po zaniknięciu odporności biernej.

Prowadzone przez 212 dni badanie nad długo trwałością odporności wykazało możliwość zabezpieczenia ptaków przed zjadliwym wirusem ND conajmniej na okres 7 miesięcy. Te wyniki są zgodne z danymi innych autorów (4, 10).

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono jednocześnie, że miano HI, które w 2 tygodnie po szczepieniu wahało się od 1 : 80 do 1 : 2560,

spadało bardzo szybko i już w 104 dni po szczepieniu wahało się od ujemnego do 1 : 40. Jednakże te niskie miano nie były wskaźnikiem słabej odporności, ponieważ żadna kura nie zareagowała na zakażenie wirusem zjadliwym.

W przeprowadzonych badaniach wykazano wysoką zdolność rozsiewania wirusa szczepionkowego. Ptaki wrażliwe, dołączone do szczepionych, uodporniły się w 60%. Na możliwość rozsiewania wirusa szczepionkowego zwrócili uwagę również Thorne i Mc Leod (10), jednakże w ich badaniach jedynie 21,6% ptaków uodporniło się przez kontakt. Natomiast Ileri (4) neguje możliwość kontaktowego uodparniania się ptaków.

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono prac dotyczących rozwoju wirusa szczepionkowego „Komarov” w poszczególnych narządach ptaków. Odnośnie szczepu „Roakin” analogiczna praca była przeprowadzona przez Karczewskiego (5). Z porównania z wynikami uzyskanymi ze szczepem „Komarov” wynika, że rozwój tego ostatniego przebiega znacznie wolniej. Większe ilości tego wirusa można stwierdzić w tkankach dopiero 5 dnia po szczepieniu. Może się on utrzymywać conajmniej do 10-go dnia. Natomiast szczep „Roakin” w największych ilościach można było stwierdzić już 4 dnia, a utrzymywał się on jedynie do 6 dnia po szczepieniu. Uprzywilejowanymi tkankami dla namnażania się szczepu „Komarov” były śledziona, płuca oraz jelita. Jest rzeczą charakterystyczną, że w wątrobie stwierdzano go jedynie sporadycznie, podczas gdy szczep „Roakin” namnażał się właśnie w tym narządzie w dużych ilościach. Tropizm szczepu „Komarov” do układu

oddechowego stwierdzony zarówno metodami reizolacji wirusa jak i na podstawie objawów poszczepiennych u kurcząt jednotygodniowych wydaje się być cechą niekorzystną. Często występowanie schorzeń układu oddechowego u kur (mykoplasmoza dróg oddechowych, zakażne zapalenie oskrzeli itp.) stwarza niebezpieczeństwo cięższego ich przebiegu po zastosowaniu szczepionki opartej na szczepie posiadającym tropizm do tego układu.

Wnioski

1. Szczepionka przeciw pomorowi rzekomemu drobiu, oparta na szczepie „Komarov” może mieć zastosowanie do masowego uodparniania ptaków szczególnie w fermach hodowlanych.
2. Uodparniać nią można kurczęta począwszy od 2—3 tygodnia życia.
3. Odporność po podaniu tej szczepionki trwa co najmniej 7 miesięcy.
4. Szczep wirusa ND „Komarov” namnaża się szczególnie silnie w tkankach układu oddechowego między 5 a 8 dniem po szczepieniu. Wydaje się to być cechą niekorzystną, ponieważ może usposabiać szczepione ptaki do występowania powikłań ze strony dróg oddechowych.

Piśmiennictwo

1. Beach J. R.: J.A.V.M.A. 112, 85, 1948.
2. Hanson R. P.: Am. J. Vet. Res. 17, 16, 1956.
3. Huygelen C., Peetermans J.: Res. Vet. Sci. 4, 294, 1963.
4. Ileri S. Z.: Bull. Off. int. Epiz. 46, 476, 1956.
5. Karczewski W.: Dysertacja doktorska, 1963.
6. Komarov A., Goldsmith L.: Cornell Vet. 37, 368, 1947.

7. Larski Z.: Wirusologia weterynaryjna. PWRiL, 1965.
8. Obreskov K.: Izv. Vet. Med. Nauki, Sofia, 2, 365, 1965.
9. Reed L. J., Muench H.: Am. J. Hyg. 27, 493, 1938.
10. Thorne A. L., MacLeod A. J.: Brit. Vet. J. 116, 427, 1960.

Adres autora: dr Wojciech Karczewski, Puławy, Al. Partyzantów 55, Instytut Weterynarii.

Карчевски В., Цонкала А., Рашевска Х. — **Пригодность штамма NDV „Комаров” для вакцинации цыплят против азиатской чумы птиц.**

Приготовали вакцину из штамма NDV „Комаров” и определили ей свойства. Индекс внутримозговой патогенности вакцины (IPI) равнялся в зависимости от дозы 0,37—1,05. Вакцина была безвредной для цыплят уже от двухнедельного возраста. Минимальная обеспечивающая иммунитет доза равнялась 10^2EID_{50} . Вакцина оказалась безвредной для цыплят уже от двухнедельного возраста, а иммунитет держался минимум 7 месяцев. Установили сильное рассеивание вакцинного вируса. Размножался он у вакцинированных цыплят главным образом в легких, селезенке и кишках. Авторы полагают что интенсивное размножение вируса в дыхательном аппарате может способствовать появлению в этом органе разных осложнений.

Karczewski W., Cakała A., Raszevska H. — **The usefulness of „Komarov” strain of NDV for immunization of chickens against Newcastle disease.**

A vaccine had been made of the „Komarov” strain of NDV and then its properties was investigated. Intracerebral pathogenic index (IPI) fluctuated within 0.37—1.05; it depended on the dose. The minimal immunity dose was 10^2EID_{50} . The vaccine was harmless for chickens two weeks old, and the period of immunity after its application lasted at least seven months. The vaccine virus was widespread. Its best multiplication was noticed in lungs, spleen and guts of the vaccinated chickens. The strong multiplication of the virus in respiratory system may lead to predisposition of that organ to some complications.

JERZY GÓRSKI, JERZY MOTZ, CZESŁAWA GÓRSKA

Odporność u norek szczepionych przeciwko nosówce

Puławskie Zakłady Przemysłu Bioweterynaryjnego
Konsultant naukowy: prof. dr T. JASTRZĘBSKI

Enzootie nosówki na fermach zwierząt futerkowych w Polsce powodują ciągle poważne straty (5, 8, 9, 10, 11, 14, 18, 22). Podstawową metodą walki z tą chorobą we wszystkich krajach są szczepienia zapobiegawcze. Ostatnio istotny postęp w tej dziedzinie osiągnięto dzięki zastosowaniu szczepionek przygotowanych na hodowli komórek (HK) *in vitro* (3, 13, 15, 21). Szczepionki te charakteryzuje wysoka immunogenność. Uzyskiwana odporność występuje regularnie i trwa długo (1, 4, 16, 17, 20).

Doniesienia terenowe lekarzy praktyków, m. in. także doświadczenia własne uzyskane przy szczepieniach masowych są jednak wyraźnie mniej pozytywne od przewidywanych na podstawie piśmiennictwa. W związku z tym postanowiono przebadać to zagadnienie na szerszym materiale u norek, uwzględniając m. in. nieszkodliwość i właściwości uodporniające nowo opracowanej szczepionki Canivac F przygotowanej z adaptowanego do HK szczepu wirusa nosówki (7), oraz nieszkodliwość i

skuteczność importowanej od niedawna szczepionki aerosolowej.

Materiał i metody

Szczepionki i szczepienie norek. Szczepienie wykonano na fermie „Łas” w S. Ferma obejmowała ok. 1500 norek różnych odmian. Doświadczenia wykonano na norkach odmiany „pastel”. Biorąc pod uwagę czas utrzymywania się odporności biernej u norek urodzonych przez odporne matki (8) szczepiono norki młode w wieku 11—13 tyg. Użyto szczepionek z wirusa namnożonego na HK: krajowej (Biowet — Puławy) — Canivac F-Led (s. dośw. Led. 60768) i importowanej (Behringwerke) — Candur S (s. 114). Każdą szczepionką uodporniono po 60 norek s.c. Poza tym po 100 norek zaszczepiono przez rozpylenie przez 15 wzgl. 30 sek. szczepionki Candur S SAV (Candur S Staupe Aerosol Vaccine s. 24). Rozpylenie wykonywano pistoletem Oxyparat (przy 1,8 atm). Kontrolę stanowiło 25 norek nieszczepionych. Zwierzęta uodpornione i kontrolne obserwowano do uboju tj. ok. 110 dni. Z grupy kontrolnej na 15 dni przed ubojem zaszczepiono (s.c.) 16 norek szczepionką przygotowaną na HK Canivac F 68 (TC M-68 s. dośw. 11168 — Biowet, Puławy).

Szczepionkę Canivac F-Led przebadano dodatkowo dla ustalenia minimalnej dawki uodporniającej