

miesiącach 1971 r. wśród pogłowia świń występują przede wszystkim TGE i kolibakterioza. Przypadki innych chorób zakaźnych są raczej sporadyczne. W oparciu o dotychczasowe, pomyślne wyniki szczepień przeciwrozwijających przy użyciu szczepionki VR₂, Departament Weterynarii zezwolił na wprowadzenie tej szczepionki w tuczu przemysłowym na terenie całego kraju, wycofując jednocześnie szczepionkę NKR Stau-ba.

W 1971 r. wprowadzono skojarzone szczepienia przeciw pomorowi i różycy przy użyciu szczepionek Lapest i VR₂. Wyniki nie budzą żadnych zastrzeżeń. Począwszy od 1968 r. rozpoczęto próby stosowania skojarzonych szczepień przeciw pomorowi i chorobie Aujeszkiego, oraz pomorowi, różycy i chorobie Aujeszkiego. Szczepionek przeciw chorobie Aujeszkiego, własnej produkcji, dostarczył Zakład Chorób Świń Instytutu Weterynarii w Puławach. W oparciu o prace Wijaszki (8, 9) i przy jego współudziale ustalono sposób przeprowadzenia szczepień. Użyto dwóch wersji szczepionek atenuowanych: TK-900 i BUK. Szczepionkę BUK zastosowano tylko jednorazowo w 1969 r. Szczepionkę TK-900, uznaną za mniej zjadliwą, zastosowano w latach 1968, 1970 i 1971.

Uzyskane wyniki, uwzględniając prawie stacjonarne występowanie choroby Aujeszkiego w tuczarni D., należy ocenić pozytywnie. Jedyne skojarzenie Lapest, TK-900 i NKR nie dało pełnego efektu odnośnie szczepienia przeciwrozwijającego.

Obserwacje własne dotyczyły wprawdzie reprezentatywnych grup zwierząt ale ograniczone one były do jednego środowiska, a ocenę wyników oparto głównie na rozeznaniu przy czyn zachorowań i upadków świń. Ze względów technicznych nie przeprowadzono testów biologicznych i immunologicznych, które po-

zwoliłyby bardziej ściśle określić stan nabytej odporności przy różnych metodach skojarzonych szczepień. W związku z tym ocena uzyskanych wyników musi być bardzo ostrożna, tym nie mniej pozwalają one na wysunięcie kilku wniosków:

1. odczyn poszczepienne po szczepieniach skojarzonych były podobne jak przy pojedynczych wakcynacjach.

2. pozytywne wyniki uzyskano przy skojarzonych szczepieniach przeciw pomorowi i różycy oraz pomorowi i chorobie Aujeszkiego.

3. skojarzone szczepienia przeciw pomorowi, salmonelozie i pasterelozie dały wyniki niepomysłne gdyż uzyskano wystarczającą odporność jedynie przeciwko pomorowi.

Piśmiennictwo

1. Antomenko W. I.: Veterinarija, Moskwa, 39, 11, 39, 1962.
2. Isopescu L., Mihaita S., Tagaeru N., Jitaru N., Dumitrescu T., Mindras T., Aleksandru N.: Mh. Vet.-Med. 25, 33, 1970.
3. Kijanenko V. F.: Veterinarija, Moskwa, 45, 12, 74, 1968.
4. Lukianczuk I. N.: Veterinarija, Moskwa, 39, 8, 39, 1962.
5. Meese M., Stoer P., Schmidt D., Wittman E.: Mh. Vet.-Med. 22, 161, 1967.
6. Nedialkow S., Ribarow D., Stitowa N., Gawrilow N., Mermerski K.: Arch. exp. Vet. Med. 24, 159, 1970.
7. Pritulin P., Koropatkina A. A., Sujer G. D.: Veterinarija, Moskwa 47, 3, 59, 1971.
8. Wijaszka T.: Biul. IV Zjazdu PTNW, Warszawa, 1970.
9. Wijaszka T., Bartosz B., Janowski H.: Właściwości immunogenne w warunkach laboratoryjnych i terenowych szczepów wirusa Aujeszkiego, (w przygotowaniu do druku).
10. Wittman W., Schmidt D., Bergman H.: Mh. Vet.-Med. 22, 167, 1967.

Adres autora: dr Jan Chwalibóg, Gorzów Wlkp., ul. Bohaterów Warszawy 4.

JAN RUŁKA

Próby doustnego uodporniania piskląt p-ko chorobie Newcastle, przy użyciu szczepionki tkankowej

Zakład Technologiczno-Badawczy PZP „Biowet” w Puławach

Kierownik: dr S. MAJDAN

Konsultant naukowy: prof. dr T. JASTRZEBSKI

W krajach gdzie rzekomy pomór drobiu — choroba Newcastle (ND) panuje stacjonarnie, czynne uodpornianie jest podstawową metodą zapobiegania zarazie. Zwraca się uwagę na fakt, że przy stosowaniu szczepionek produkowanych na jajach można przenieść wiele czynników chorobotwórczych dla drobiu: wirusy leukozy (2), choroby Mareka (18), CELO (20) oraz zarazki z grupy PPLO (12, 19). Hilleman (8) wymienia 17 czynników, które stwierdzono w zarodkach kurzych.

W Polsce szeroko obecnie stosowanym preparatem do doustnego uodporniania kur jest szczepionka „L”, oparta na szczepie LaSota. Zaletą tej szczepionki jest łatwość stosowania, stosunkowo długi czas odporności (4—5 mies.) i mały koszt produkcji; wadą natomiast — możliwość rozprzestrzeniania w. w. czynników cho-

robotwórczych. Z uwagi na to podjęto próby zastąpienia podłoża namnażającego — zarodków kurzych, heterologiczną hodowlą komórek nerki świni. Możliwość parenteralnego stosowania szczepionek tkankowych p-ko ND, opartych na heterologicznych układach komórek wykazali Bankowski (1), Gale (7), Shimizu (17), Lar-ski (10) i wielu innych.

W niniejszej pracy starano się zbadać możliwość uodporniania piskląt szczepionką produkowaną na pierwotnej hodowli komórek nerki świni (HKNS) z użyciem lentogenicznego wirusa ND, szczepu MS — drogą doustną.

Materiał i metody

Wirusy. Użyto następujące szczepy wirusa choroby Newcastle:

„MS” — wariant szczepu Hertfordshire, zaadaptowany we własnym zakresie do pierwotnej hodowli

komórek nerki świni; używany do przygotowania szczepionki — „Pestvac MS”.

„MS/z” — szczep MS namnożony w płynie owodniowo-omoczniovym 10 dniowych zarodków kurzych, używany do próby Ha i HI.

„Radom” — szczep zjadliwy wirusa ND, namnożony w płynie owodniowo-omoczniovym zarodków kurzych; używany do challenge'u.

Koncentrację wirusa ND szczepu MS określano w TCID₅₀ zarówno na hodowli komórek nerki świni (HKNS) jak i w hodowli komórek zarodka kurzego (HKZK). Miano szczepu „MS/z” i szczepu „Radom” oznaczano na HKZK w TCID₅₀ oraz na 10 dniowych zarodkach kurzych w LD₅₀. Mianowanie powyższych szczepów wykonywano przy inoculum 0,1 ml w przedziale 1 log z użyciem 4 próbek hodowli komórek (HK) lub 4 zarodków na każde rozcieńczenie. Wyniki obliczano wg Reeda i Muencha (15). Hodowla komórek — HKNS i HKZK przygotowywano wg metody Youngnera (21).

Kurczęta. Do badań używano piskląt 3 dniowych rasy Leghorn pochodzących z jaj od niosek nieszczepionych p-ko ND. Celem potwierdzenia przydatności powyższego materiału do badań, określono wstępnie fizjologiczne miano przeciwciał p-ko ND próbą HI wg metody Beacha, sposobem beta (5). U piskląt 3 dniowych próbki krwi pobierano przez wykrwawienie, natomiast u kurcząt starszych krew pobierano w terminach 1, 2, 3, 6 i 12 miesięcy po szczepieniu przez nakłucie żyły skrzydłowej. Surowice do badań inaktywowano w temp. 56—58°C przez 30 minut. Mianowanie surowic wykonywano w przedziale 0,3 log każdorazowo w stosunku do 2 jednostek Ha szczepu „MS/z” i obliczano następnie jako GMT (Geometric Medium Titer). Krwinki kurze do odczynu Ha i HI używano w rozcieńczeniu 0,75%.

Wyniki

Do badań użyto 60 piskląt 3 dniowych oraz 2 serie szczepionki „Pestvac MS”. I seria — „Pestvac MS” 40, przygotowana została w oparciu o 40-ty pasaż szczepu MS na HKNS, zaś seria II — „Pestvac MS” 45, w oparciu o pasaż 45. Obie serie szczepionki w postaci nierozcieńczonej podawano indywidualnie *per os* strzykawką (bez igły) po 0,2 ml/pisklą. Miano na HKNS I serii szczepionki wynosiło 10^{5,0} TCID₅₀/0,1 ml, zaś serii

II — 10^{5,66}, natomiast miano TCID₅₀ określone na HKZK wynosiło odpowiednio: 10^{5,8} dla serii I i 10^{6,3} dla serii II.

W przypadku uodparniania piskląt szczepionką „Pestvac MS” 40 (grupa A — tab. 1), poziom przeciwciał typu HI w okresie 12 miesięcy po szczepieniu wykazywało 64—85% kurcząt. Miano GMT w tym czasie wahało się w granicach od 1:11 do 1:134. Zasluguje na uwagę, że kurczęta szczepione wykazujące dodatnie miano HI tylko w pierwszych miesiącach po uodparnieniu, przeżyły próbę challenge mimo braku ich w momencie zakażenia. Kurczęta kontrolne oraz szczepione nie wykazujące w ogóle przeciwciał HI — padły.

W grupie B uodpornionej szczepionką „Pestvac MS” 45 (tab. 2), dodatnie miana HI w okresie ww. obser-

Tab. 2. Wyniki doustnego szczepienia kurcząt 3 dniowych p-ko chorobie Newcastle szczepionką tkankową — „Pestvac MS” 45

Grupa kurcząt	Numer kurcząt	Miano HI po szczepieniu (dnia)					Challenge		miano w 1 tyg. po
		28	60	121	183	365	wynik HI+	HI-	
(B)	0290	160	320	80	80	80			
	0291	160	320	160	80	80			
	0293	640	320	320	40	20 ^x	v		640
	0294	80	40	20	20	20 ^x	v		1280
	0295	320	640	160	160 ^x	20 ^x	v		640
	0296	—	—	—	—	—		+	
	0297	80	40	20	20	20 ^x	v		1280
	0298	40	20	20	20 ^x	20 ^x	v		1280
	0299	320	160	60	80	40			
	0300	160	160	80	80	40			
	0301	640	320	320	160 ^x	—	v		1280
	0302	—	—	—	—	—		+	
	0303	2560	2560	640	640	320			
	0304	1280	640	320	320	160			
	0305	80	20	20	20 ^x	—	v		1280
	0306	640	320	320	160 ^x	—	v		640
	0307	640	160	80	80 ^x	—	v		1280
	0308	1280	1280	1280	320	—			
	0309	640	640	320	320	320			
	0310	20	20	—	—	—	v		1280
dane ogólne									
GMT		153	112	60,7	45	24,8	0/9	3/4	1040
% sztuk z HI+		90	90	85	85	77			
z HI+		0/10	0/10	0/10	0/10	0/5			
Kontrola	100% zakażonych	0	0	0	4	4		8/8	

Legenda: — — wynik negatywny próby HI; × — zakażenie wirusem zjadliwym (w. z.); v — przeżył zakażenie w. z.; + — padł po zakażeniu w. z.

Uwaga. Wybrane losowo 10 kurcząt 3 dniowych z grupy doświadczalnej i wykrwawione przed rozpoczęciem badań wykazały w próbie HI wynik negatywny

Tab. 1. Wyniki doustnego szczepienia kurcząt 3 dniowych p-ko chorobie Newcastle szczepionką tkankową — „Pestvac MS” 40

Grupa kurcząt	Numer kurcząt	Miano HI po szczepieniu (dnia)					Challenge		miano w 2 tyg. po
		28	60	121	183	365	wynik HI+	HI-	
(A)	0261	—	—	—	— ^x	—		+	
	0262	—	—	—	— ^x	—		+	
	0264	320	160	80	80	40			
	0265	20	20	—	— ^x	—	v		1280
	0266	40	20	—	— ^x	—	v		1280
	0267	320	320	160	80	80 ^x	v		1280
	0268	1280	640	640	320	—			
	0269	1280	320	160	40 ^x	—	v		640
	0270	1280	640	320	320	—			
	0271	40	40	10	—	— ^x	v		1280
	0273	640	320	160	80	80 ^x	v		160
	0275	640	160	80	80 ^x	—	v		1280
	0276	640	320	160	160	80 ^x	v		1280
	0277	640	160	40	40	20			
	0278	640	320	160	160	80			
	0279	—	—	—	— ^x	—		+	
	0280	1280	160	160	160 ^x	—	v		1280
	0281	160	40	10	10	10			
	0282	160	80	40	10	— ^x	v		1280
	0283	160	160	80	80	—			
dane ogólne									
GMT		134	70	28,6	20,7	11,4	0/8	3/7	971
% sztuk z HI+		85	85	75	70	64			
z HI+		0/10	0/10	0/10	0/10	0/6			
Kontrola	100% zakażonych	0	0	0	4	4		8/8	

Legenda: — — wynik negatywny próby HI; × — zakażenie wirusem zjadliwym (w. z.); v — przeżył zakażenie w. z.; + — padł po zakażeniu w. z.

Uwaga. Wybrane losowo 10 kurcząt 3 dniowych z grupy doświadczalnej i wykrwawione przed rozpoczęciem badań wykazały w próbie HI wynik negatywny

wacji wykazywało 77—90% kurcząt. Miano GMT wahało się od 1:24 do 1:153. Również i tu przy zakażeniu kontrolnym wirusem zjadliwym padły tylko kurczęta, które w żadnym z kolejnych badań nie wykazały przeciwciał typu HI.

Porównując wyniki powyższych badań można zauważyć, że ilość piskląt niewykazujących przeciwciał w 28 dniu po szczepieniu wynosiła 2—3 szczepionych, co stanowi 10—12%. Kurczęta kontrolne, pozostające przez okres 12 mies. w bezpośrednim kontakcie z kurczętami szczepionymi, nie wykazały dodatnich mian przeciwciał typu HI.

Kontrolę biologiczną — challenge — wykonano w 6 i 12 mies. po szczepieniu. Po 6 mies. wykazano odporność w grupie A i u 5 kurcząt na 6 zakażonych, a grupie B u 6 na 6 zakażonych. Challenge wykonany w 12 mies. po szczepieniu wykazał odporność w grupie A u 5 na 7 zakażonych, w grupie B u 4 na 6 zakażonych. Stwierdzono, że wszystkie kurczęta wykazujące dodatnie miano okazały się niewrażliwe na domięśniowe zakażenie wirusem zjadliwym w dawce około 100 000 LD₅₀. Kurczęta wykazujące przejściowo dodatnie miano po szczepieniu, nie zachorowały i pozostały przy życiu. Kurczęta, które po szczepieniu w ogóle nie wykazywały przeciwciał p-ko ND, padły po 8—10 dniach po zakażeniu. Zakażone równocześnie wirusem zjadliwym kurczęta kontrolne, padły po 7—9 dniach wśród typowych objawów ostrego pomoru drobiu.

Dyskusja

W doświadczeniach własnych w grupie 40 kurcząt 3 dniowych uodpornionych doustnie szczepionką „Pestvac MS”, dodatnie wyniki próby HI stwierdzono ogółem u 35 kurcząt (87,5%). Wysokość mian HI wahała się od 1:10 do 1:2560. Wykazano, że przy mianie 1:20 kurczęta są odporne na zakażenie wirusem zjadliwym. Borzemska (4) natomiast uważa, że miano HI poniżej 1:80 jest mianem ujemnym, zaś Larski (11) przyjmuje miano 1:20 jako wątpliwe a 1:40 i wyższe za dodatnie. Przy analizie wyników grupy A i B zasługuje na uwagę wyższy poziom mian GMT uzyskanych w grupie B. Biorąc pod uwagę, że użyte kurczęta pochodziły z tego samego stada a badania wykonano jednocześnie, można przypuszczać, że na stwierdzone nieco wyższe wartości mian przeciwciał w grupie B mogła wpłynąć trzykrotnie wyższa koncentracja wirusa w szczepionce „Pestvac MS” 45.

Wg Kohna (9) koncentracja $10^{6,0}$ /ml, w odniesieniu do patogenego szczepu HP-NDV, jest wystarczająca dla wywołania zakażenia drogą *per os* u kurcząt 5 tyg. Marek (13) przy doustnym uodparnianiu kurcząt 3 tyg. szczepem La Sota wywołał pełny efekt immunogeny przy koncentracji wirusa $10^{6,0}$ /ml. Chruściel (6) z tym szczepem, podanym z wodą do picia uzyskał wysokie miano GMT (2848—3128) przy koncentracji wirusa $10^{5,0}$ — $10^{5,13}$ /ml. Borzemska (3) przy doustnym uodparnianiu szczepem F — NDV wykazała że minimalną koncentracją do wywołania wysokiej odporności jest miano $10^{7,0}$. Najlepszą odporność autorka uzyskała u ptaków szczepionych w wieku 1 rok; pisklęta 1 i 5 dniowe uodporniły się w 75% wytwarzając nawet wysokie miano HI.

Z przeprowadzonych badań wynika, że ilość kurcząt przeżywających challenge nie pokrywa się z ilością sztuk wykazujących aktualnie pozytywne miano HI. Powyższe spostrzeżenia pokrywają się z obserwacjami Raggi i Lee (14) oraz Zuffy i Skody (22). Ruseff i Miteff (16) podają, że zanik przeciwciał typu HI i SN przy ND nie zawsze świadczy o wrażliwości ptaków na zakażenie wirusem zjadliwym.

Uzyskane wyniki wykazały, że doustne podanie szczepionki przygotowanej na heterologicznej hodowli komórek nerki świni, w oparciu o szczep MS-NDV, wywołuje dobrą odporność u większości uodpornionych ptaków oraz wskazuje na celowość dalszych badań w obranym kierunku.

Wnioski

1. Zaadaptowany do heterologicznej HK szczep MS-NDV podany doustnie 3 dniowym pisklętom, jest nieszkodliwy i powoduje u około 85 do 90% ptaków wystąpienie przeciwciał odpornościowych typu HI.

2. Wszystkie kurczęta szczepione wykazujące nawet przejściowo dodatnie miano przeciwciał,

zakażone w 6 i 12 mies. zjadliwym szczepem NDV, pozostały zdrowe.

3. Kurczęta szczepione, u których przeciwciała w ogóle nie zostały stwierdzone próbą HI, padły w próbie challenge na 8—10 dzień po zakażeniu, podobnie jak kurczęta kontrolne. Brak występowania przeciwciał i odporności u kurcząt kontrolnych wskazuje, że użyty do uodparniania kurcząt szczep MS nie wykazywał transmisji poziomej.

Piśmiennictwo

1. Bankowski R.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 96, 114, 1957.
2. Burmester B., Cunningham C., Cottral G., Belding R., Gen-
try R.: Am. J. vet. Res. 17, 233, 1956.
3. Borzemska W.: Biul. II Zjazdu PTNW, Wrocław, 142, 1962.
4. Borzemska W.: Medycyna Wet. 18, 205, 1962.
5. Beach J.: J. Am. vet. med. Ass. 112, 85, 1948.
6. Chruściel Cz., Jastrzębski T.: Medycyna Wet. 20, 161, 1964.
7. Gale D., Gard E., Ose, Berkman R.: Avian Dis. 9, 348, 1965.
8. Hilleman M. R., wg. Larskiego Z.: Wirusologia Weterynaryjna, PWRiL, 1965.
9. Kohn A.: Poult. Sci. 37, 792, 1958.
10. Larski Z.: Med. dośw. 14, 51, 1962.
11. Larski Z.: Medycyna Wet. 18, 43, 1962.
12. Marek K., Raszevska H., Czakala A.: Medycyna Wet. 24, 214, 1968.
13. Marek K.: Bull. vet. Inst., Puławy, 4, 12, 1960.
14. Raggi L., Lee G.: Avian Dis. 4, 187, 1960.
15. Reed L., Muench H.: Am. J. Hyg. 27, 493, 1938.
16. Ruseff G., Miteff A.: Bull. Off. int. Epizoot. 45, 409, 1956.
17. Shimizu T., Ishizaki R., Kono Y., Ishi S.: Jap. J. exp. Med. 27, 181, 1957.
18. Toth B.: Acta vet. hung. 21, 255, 1971.
19. Yamamoto R., Bigland C., Peterson J.: Poult. Sci. 44, 1427, 1965.
20. Yates V., Chang P., Dardiri A., Fry D.: Avian Dis. 4, 500, 1960.
21. Youngner Z.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 85, 202, 1954.
22. Zuffa A., Skoda R.: Vet. Cas. 7, 211, 1958.

Adres autora: lek. wet. Jan Rułka, Puławy-Michałówka, Bio-wet.

JAIN N. C., SCHALM O. W., CARROLL E. J., LA-SMANIS J.: Leukocyty i czynniki tkankowe w patogenezie zapalenia wymienia u bydła. (Leukocytes and tissue factors in the pathogenesis of bovine mastitis). Am. J. Vet. Res., 33, 1137—1145, 1972 (6).

W następstwie iniekcji histaminy do gruczołu młecznego w dawce 5—20 mg po 10—30 min. pojawia się obrzęk i stwardnienie tkanki gruczołowej. Stwardnienie i obrzęk ustępują następnego dnia. W następstwie silnie zwiększonej przepuszczalności naczyń krwionośnych dochodzi do znacznego nagromadzenia albumin surowicy w serwatce mleka. Po iniekcjach histaminy nie dochodzi natomiast do zwiększenia leukocytozy w mleku. Wprowadzenie do gruczołu młecznego serotoninu w dawce 100 mg powoduje wystąpienie jedynie przejściowego obrzęku oraz silnego stwardnienia tkanki gruczołowej. Nie występuje natomiast wzrost ilości albumin i leukocytów w mleku, objawy zapalenia nie występują zupełnie po iniekcjach bradykininy. Przebadano również zmiany występujące w gruczole młeczkowym po iniekcjach nietkniętych oraz rozbitych leukocytów. Leukocyty pochodziły z mleka krów którym wprowadzono do wymienia 0,2—0,75 mg endotoksyny *Escherichia coli*. Po wprowadzeniu do wymienia rozbitych leukocytów ($12,5 \times 10^6$ — $1,5 \times 10^8$, rozbite przez zamrażanie i rozmrażanie względnie ultradźwiękami), leukocytów nietkniętych ($1,1 \times 10^{10}$) oraz wyciągów lisosomalnych z leukocytów zapalnych otrzymanych wg. met. Cohn'a i Hirsch'a stwierdzano obrzęk i stwardnienie tkanki gruczołowej, wzrost poziomu albumin w serwatce mleka oraz diapedezę neutrofilów z krwi do mleka. Kliniczne objawy zapalenia ustępowały zazwyczaj po 24 godz., leukocytoza w mleku ustępowała natomiast po 3—5 dniach.

Z.