

ANDRZEJ JĘDREAS

## Badania nad immunizacją owiec przeciw diktiokaulozie

Z Zakładu Parazytologii PAN w Warszawie

Rozwój wielkostadnych hodowli zwierząt jednogatunkowych wymaga coraz szerszego stosowania zabiegów profilaktycznych dla ochrony stad przed różnymi chorobami, a wśród nich i przed chorobami pasożytniczymi. Dlatego też badania nad zjawiskami odpornościowymi powstałymi u żywicieli jako reakcja na inwazję pasożytnicze, mają duże znaczenie poznawcze i praktyczne. W praktyce od wielu lat zdaje egzamin metoda szczepień bydła przeciw diktiokaulozie (5, 6, 7, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26). Wykonane dotychczas badania nad przebiegiem diktiokaulozy u owiec wskazują, że zwierzęta te po przechorowaniu intensywnej inwazji wykazują wysoką odporność na reinwazję (11, 12, 13, 30). Odporność ta według Parlov'a i Denev'a (16, 17) powstaje u owiec nie tylko w wyniku przechorowania naturalnej inwazji, lecz również po podaniu zwierzętom różnymi drogami: doustnie, podskórnie, dotchawicowo, dootrzewnowo larw I lub II stadium. Badania Wilsona (30) wykazały, że immunizowane owce przez okres ponad 46 miesięcy posiadały wysoką odporność na zarażenie dawką wywoławczą — 5000 i więcej — larw *Dictyocaulus filaria*. Veličkin (31) podaje, że owce należycie żywione są odporne na reinwazję nawet do 6 lat po przechorowaniu diktiokaulozy.

Odporność u owiec przeciw diktiokaulozie jedni badacze (2, 11, 16, 17, 30) starali się uzyskać przez podanie owcom określonej dawki normalnych larw *Dictyocaulus filaria*, inni (1, 3, 4, 14, 15, 18, 19, 27, 28, 29) przez podanie larw inaktywowanych przez naświetlanie odpowiednio wysoką dawką promieni jonizujących. W obu przypadkach badacze ci stwierdzili, że odporność uzyskana po immunizacji jest wystarczająco wysoka dla ochrony owiec przed zarażeniem dawką wywoławczą lub spontaniczną reinwazją na pastwisku. Wyniki badań Kasai i wsp. (9, 10) nie potwierdzają w pełni tego stanowiska. Autorzy ci stosowali do immunizacji owiec przeciw diktiokaulozie zarówno normalne, jak i naświetlane promieniami jonizującymi larwy *Dictyocaulus filaria*. Wysoką odporność na reinwazję uzyskali jednak tylko u owiec, którym podawali normalne larwy. Kiedy stosowali larwy w dawkach podobnych liczbowo, lecz inaktywowanych przez naświetlanie promieniami jonizującymi, nie stwierdzili już u tak immunizowanych zwierząt powstawania odporności, mogącej zabezpieczyć je przed skutkami podania dawki wywoławczej, jak rów-

nież późniejszej, naturalnej, spontanicznej reinwazji na pastwisku.

Przeprowadzone w naszym kraju badania nad zwalczaniem diktiokaulozy owiec dotyczyły głównie metod i skuteczności leczenia zwierząt opadniętych już płucniakami. Nie przeprowadzono natomiast badań nad zjawiskami odpornościowymi powstałymi u owiec w wyniku przechorowania diktiokaulozy. Badania takie były konieczne, gdyż dotychczasowe wyniki uzyskane w innych krajach są kontrowersyjne. Badania nad immunizacją owiec różnymi liczbowo dawkami larw *Dictyocaulus filaria* zarówno normalnych, jak i inaktywowanych przez naświetlanie promieniami Roentgena przeprowadzono w Zakładzie Parazytologii PAN. Celem badań było sprawdzenie, czy możliwe jest uodpornienie owiec przeciw diktiokaulozie przez podanie niższych liczbowo dawek larw *Dictyocaulus filaria* od tych, które stosowali wymienieni na wstępie badacze. Dotychczasowe nasze obserwacje nad inwazją *D. filaria* u owiec potwierdzają bowiem wyniki badań cytowanych na wstępie autorów, że dawki 1000 lub więcej larw powodują u tych zwierząt silnie zaznaczone objawy diktiokaulozy.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 25 owcach rasy merynos w wieku 6 miesięcy, wolnych od diktiokaulozy. Owce te immunizowano różnymi liczbowo, dwukrotnie w odstępie 21 dni zadanymi dawkami:

a) normalnych larw *Dictyocaulus filaria* — 250+500 (grupa A), 500+500 (grupa B), 500+1000 (grupa C);

b) larw inaktywowanych naświetlaniem promieniami Roentgena w dawce 40 000 r — 500+1000 (grupa D).

Sprawdzianem powstałej odporności było podanie dawki wywoławczej — 5000 normalnych larw *Dictyocaulus filaria*, która u owiec wrażliwych powoduje śmierć.

Grupie kontrolnej owiec (grupa E) podano tylko dawkę wywoławczą.

Od owiec doświadczalnych i kontrolnych przez cały czas trwania doświadczenia pobierano krew i oznaczano poziom swoistych przeciwciał w surowicy przy użyciu OWD. Poza tym ważono, pobierano próbki kału do badań koproskopowych oraz przeprowadzono ogólne obserwacje zachowania się zwierząt. W końcowym etapie badań owce zabito, a ich płuca badano na obecność nicieni *Dictyocaulus filaria*.

### Omówienie wyników

Owce immunizowane różnymi dawkami larw *Dictyocaulus filaria* zarówno normalnych, jak

i inaktywowanych przez naświetlanie promieniami Roentgena wykazywały dość wysoką odporność na reinwazję dawki wywoławczej. Okazało się przy tym, że owce, którym podano normalne larwy uzyskały wyższą odporność niż immunizowane larwami inaktywowanymi. Stwierdzono ponadto, że owce immunizowane najniższymi liczbowo dawkami normalnych larw *Dictyocaulus filaria* (250 + 500) wykazały najwyższą odporność na zarażenie dawką wywoławczą, chociaż w surowicach tych zwierząt obserwowano najniższy poziom przeciwciał wiążących dopełniacz (tab. 1).

rynej. Należy więc stosować mniejsze liczbowo, ale dwie dawki larw.

Do immunizacji owiec przeciw diktiokaulozie najczęściej stosowanymi przez różnych badaczy dawkami naświetlanych larw *Dictyocaulus filaria* były dawki — pierwsza 1000, druga 2000 larw. Takie dawki używali Čuperlović (1), Dhar i wsp. (3, 4), Miklijan i wsp. (14), Movsesijan i wsp. (15), Sokolić i wsp. (18, 19), Tewari (27), Tewari i wsp. (28, 29). Autorzy ci stwierdzali u owiec po immunizacji wystarczająco wysoką odporność do ochrony zwierząt zarówno przed

Tab. 1. Średnie miana OWD dla antygenu *Dictyocaulus filaria* w surowicach owiec poszczególnych grup

Grupa	Wielkość dawek uodporniających <i>D. filaria</i>	Data pobrania krwi - 1973 r.																
		4.IX	11.IX	18.IX	25.IX	2.X	9.X	16.X	23.X	30.X	6.XI	13.XI	20.XI	27.XI	4.XII	11.XII	18.XII	24.XII
A	250+500 larw normalnych	10	-	20	320	320	80	320	80	80	160	160	320	160	160	640	640	40
B	500+500 larw normalnych	5	-	20	160	160	40	320	40	40	160	160	320	160	160	640	640	40
C	500+1000 larw normalnych	5	-	20	640	640	160	160	80	80	160	160	160	160	160	640	160	80
D	500+1000 larw naświetlanych	-	-	5	80	80	40	40	20	20	160	320	160	160	80	640	320	80
E	kontrola doświadczenia	5	-	-	10	20	5	-	-	-	40	640	320	640	320	320	640	80

Objaśnienia: 4.IX. = podanie pierwszej dawki uodporniającej; 25.IX. = podanie drugiej dawki uodporniającej; 25.X. = podanie dawki wywoławczej.

O wysokim stopniu odporności tych owiec świadczy fakt, że po podaniu larw dawki wywoławczej wydalaly w kale od 5 do 39 razy mniej larw (tab. 2), a w czasie sekcji w ich płucach wykazano obecność tylko pojedynczych nicieni *Dictyocaulus filaria* (tab. 3).

spontaniczną inwazją pastwiskową, jak i przed skutkami inwazji dawki wywoławczej.

W badaniach własnych stosowano dwukrotnie niższe liczbowo dawki — pierwsza 500 i druga 1000 — naświetlanych larw, które podano dwukrotnie w odstępie 21 dni. Immunizowane

Tab. 2. Średnie liczby larw *Dictyocaulus filaria* wydalanych w 1 g kału przez owce poszczególnych grup

Grupa	Data badania															
	30.IX	9.X	11.X	16.X	20.X	25.X	30.X	8.XI	13.XI	20.XI	27.XI	1.XII	8.XII	13.XII	20.XII	27.XII
A	0	0	0,2	8	9	20	11	18	13	29	3	1	1	1	1	5
B	0,2	5	12	9	19	16	22	19	9	7	10	14	51	51	101	90
C	0	0,4	2	18	16	8	3	6	6	13	12	44	0,4	1	0,2	1
D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	49	170	199	117
E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,04	11	175	1120	1509	578	443

Objaśnienia: 4.IX. = podanie pierwszej dawki uodporniającej; 25.IX. = podanie drugiej dawki uodporniającej; 25.X. = podanie dawki wywoławczej.

Jovanović i wsp. (8) analizując wyniki badań stwierdzili, że optymalna dawka promieni jonizujących leży w granicach od 40 000 do 60 000 r. Stanowisko to popierają Tewari i wsp. (28, 29). Autorzy ci uważają bowiem dawkę 50 000 r za odpowiednią do inaktywacji larw przeznaczonych do produkcji szczepionki. W badaniach własnych nie stosowano larw naświetlanych tak wysoką dawką promieni. Owce immunizowano bowiem larwami inaktywowanymi dawką 40 000 r. Badania próbek kału pobranych od tych owiec po okresie rozwoju prepatentnego nie wykazywały obecności larw *Dictyocaulus filaria* (tab. 2). Podane owcom larwy inaktywowane naświetlaniem nie były więc zdolne do pełnego rozwoju i złożenia potomnych jaj. Naświetlanie larw *Dictyocaulus filaria* dawką 40 000 r jest w pełni wystarczające do ich inaktywacji. Tak osłabione larwy stają się niechorobotwórcze, ale zachowują w pełni właściwości immunogenne.

Doświadczenia Kunwar'a i Deo (11) wykazały, że immunizacja owiec przeciw diktiokaulozie przez stosowanie pojedynczej tylko dawki larw, nawet dostatecznie wysokiej liczbowo, jest zbyt dużym ryzykiem i nie może być wprowadzona do praktyki weteryna-

owce uzyskały odporność na inwazję dawki wywoławczej. Podanie dawki wywoławczej owcom nieimmunizowanym (kontrolnym) spowodowało śmierć dwóch z pięciu w grupie, u dwu dalszych owiec obserwowano bardzo ciężki przebieg inwazji. Sekcja płuc tych dwu grup

Tab. 3. Średnia liczba dorosłych nicieni *Dictyocaulus filaria* w płucach owiec poszczególnych grup zabitych w 64 dniu po zarażeniu dawką wywoławczą 5 000 larw *D. filaria*

Grupa	Liczba nicieni		
	samice	samce	samice + samce
A	2,4	2,4	4,8
B	47,8	24,4	72,2
C	163,2	103,4	266,6
D	72	29,8	101,8
E	716,2	490,8	1207

wykazała u owiec immunizowanych 12 razy mniej nicieni *Dictyocaulus filaria* w porównaniu z owcami kontrolnymi (tab. 3). Zaobserwowano również ciekawe biologicznie zjawisko przedłużenia się okresu prepatentnego rozwoju *Dictyocaulus filaria* u owiec immunizowanych. Okres ten trwał bowiem u owiec kontrolnych średnio 31 dni (u poszczególnych zwierząt od 26 do 35 dni), zaś u owiec immunizowanych średnio 36 dni (u poszczególnych zwierząt od 33 do 42 dni).

Wspomniane na wstępie wyniki prac innych badaczy (1, 3, 4, 14, 15, 18, 27, 28, 29), jak również wyniki własnych doświadczeń nie potwierdzają wyników prac Kassai i wsp. (9, 10). Podanie owcom w celu ich immunizacji dwu dawek naświetlanych larw daje dostatecznie wysoką odporność, zabezpieczającą zwierzęta przed dawką wywoławczą lub spontaniczną inwazją z pastwiska. Wyniki badań własnych wykazały, że owce immunizowane przeciw diktiokaulozie mają wysoki stopień odporności, który manifestuje się:

- a) obecnością specyficznych przeciwciał w surowicach,
- b) dłuższym okresem prepatentnego rozwoju *Dictyocaulus filaria* i krótszym okresem wydalenia larw w kale,
- c) mniejszą liczbą larw wydalanych w kale,
- d) brakiem objawów klinicznych,
- e) mniejszą liczbą dorosłych nicieni stwierdzanych w płucach podczas sekcji.

### Wnioski

1. Owce, którym dwukrotnie podano larwy *Dictyocaulus filaria* zarówno normalne, jak i inaktywowane przez naświetlanie promieniami Roentgena w dawce 40 000 r uzyskały wysoki stopień odporności na reinwazję dawki wywoławczej.

2. Najwyższy stopień odporności na reinwazję stwierdzono u owiec, którym podano jako pierwszą dawkę 250 i drugą 500 normalnych larw *Dictyocaulus filaria*.

3. Zarażenie owiec dawkami — pierwsza 500 i druga 1000 — normalnych larw *Dictyocaulus filaria* powoduje zauważalne objawy kliniczne diktiokaulozy, a nawet upadki owiec. Podanie owcom tych samych liczbowo dawek larw inaktywowanych naświetlaniem promieniami jonizującymi w dawce 40 000 r nie wywoływało już objawów chorobowych.

### Piśmiennictwo

1. Čuperlović K. N.: Acta vet. Belgrad, 15, 263, 1965.
2. Denev J., Savova S.: VetMed. Nauki, Sof. 6, 39, 1969.
3. Dhar D. N., Tewari H. C. i Suresh Singh Kr.: Indian Farming 21, 28, 1971.
4. Dhar D. N., Tewari H. C. i Gangadhara Rao Y. V. B.: Indian J. Anim. Sci. 42, 106, 1972.

5. Jarret W. F. H., Jennings F. W., Mc Intyre W. I. M., Mulligan W., Sharp N. C. C., Urquhart G. M.: Am. J. vet. Res. 20, 522, 1959.
6. Jarrett W. F. H., Jennings F. W., Mc Intyre W. I. M., Mulligan W., Urquhart G. M.: Immunology 3, 145, 1960.
7. Jarrett W. F. H., Jennings F. W., Mc Intyre W. I. M., Mulligan W., Sharp N. C. C.: Am. J. vet. Res. 22, 492, 1961.
8. Jovanović M., Nevenić V., Sokolić A., Sofrenović D., Gligorićević J., Čuperlović K., Mousesijan M.: Vet. Glasn. 15, 455, 1961.
9. Kassai T., Altaif K., Kadhim J. K., Jabbir M. H., Bayyar H. A.: Isotopes and Radiation in Parasitology III (Panel Proc. Series) IAEA Vienna 51, 1973.
10. Kassai T., Kadhim J. K., Altaif K. I. i Jabbir M. H.: Magy. Allatorv. Lap. 29, 409, 1974.
11. Kunwar G. S., Deo P. G.: Indian J. vet. Sci. 37, 298, 1967.
12. Michel J. F.: J. comp. Path. 66, 241, 1956.
13. Michel J. F.: J. comp. Path. 66, 338, 1956.
14. Miklijan S., Mousesijan M., Mladenović Z., Sokolić A.: Vet. Glasn. 21, 251, 1967.
15. Mousesijan M., Mladenović Z., Čuperlović K., Sokolić A., Jovanović M.: Vet. Glasn. 17, 837, 1963.
16. Pavlov P., Denev J.: VetMed. Nauki, Sof. 5, 25, 1968.
17. Pavlov P., Denev J.: Acta parasit. pol. 18, 33, 1970.
18. Sokolić A., Jovanović M., Nevenić V., Sofrenović D., Čuperlović K., Mousesijan M.: Vet. Glasn. 15, 635, 1961.
19. Sokolić A., Jovanović M., Čuperlović K., Mousesijan M.: J. Parasit. 49, 612, 1963.
20. Świetlikowski M.: Biuletyn Informacyjny. Zjednoczenie Przemysłu i Zaopatrzenia Weterynaryjno-Zootechnicznego, Biowet 2, 7, 1964.
21. Świetlikowski M.: Wiad. parazyt. 11, 278, 1965.
22. Świetlikowski M.: Acta parasit. pol. 15, 141, 1967.
23. Świetlikowski M.: Acta parasit. pol. 15, 247, 1967.
24. Świetlikowski M.: Acta parasit. pol. 15, 253, 1967.
25. Świetlikowski M.: Acta parasit. pol. 16, 101, 1969.
26. Świetlikowski M.: Medycyna Wet. 25, 465, 1969.
27. Tewari H. C.: Indian Farming 21, 24, 1971.
28. Tewari H. C., Gangadhara Rao Y. V. B., Dhar. D. N.: Indian J. Anim. Sci. 42, 32, 1972.
29. Tewari H. C., Mittal K. R. i Gangadhara Rao Y. V. B.: Indian vet. J. 49, 246, 1972.
30. Wilson G. I.: Res. vet. Sci. 2, 7, 1970.
31. Velićkin P. A.: Mater. nauč. Konf. Vses. obšč. gel'mint. 1, 50, 1964.

Adres autora: Andrzej Jędras, Klasztorna 11 m. 5, 04-475 Warszawa.

### Єндрєас А. — Исследования по иммунизации овец против диктиокаулеза.

Исследования провели на 25 шестимесячных овцах-мериносах, которых иммунизировали двумя родами личинок *Dictyocaulus filaria* — нормальных (250+500, 500+500, 500+1000) или инактивированных дозой 40 000 е. лучей Рентгена (500+1000). Степень иммунитета проверяли путем введения 5000 нормальных личинок *D. filaria*.

На основании проведенных исследований авторы пришли к следующим выводам: а) овцы, двукратно получавшие нормальные или инактивированные личинки *D. filaria*, развили высокую степень иммунитета против реинвазии патогенной дозы, б) самый высокий иммунитет был получен после вакцинации дозой 250+500 нормальных личинок, в) введение овцам дозы 500+1000 нормальных личинок *D. filaria* вызывает появление клинических симптомов диктиокаулеза и даже смертные случаи; те же самые дозы инактивированных личинок не вызывают симптомов заболевания.

### Jędras A. — Studies on the immunization against *Dictyocaulus filaria* in the sheep.

Twenty five sheep of merino breeding at the age of 6 months were vaccinated twice by the vaccine containing normal larvae of *Dictyocaulus filaria* (250+500; 500+500 or 500+1000) or inactivated ones by x rays at the dose of 40 000 R (500+1000). The immunity was controlled by the challenge of 5000 normal invasive larvae of *D. filaria*. It was found that: a. the animals vaccinated twice by the use of normal or inactivated larvae of *D. filaria* were highly resistant to challenge dose, b. maximal level of immunity to challenge revealed the animals after the application of 250+500 normal larvae of *D. filaria*, c. in sheep the invasion of 500+1000 normal larvae of *D. filaria* caused dictyocaulosis, and sometimes death. Any signs of the disease did not appear after the equal doses of inactivated larvae.