

ZDZISŁAW LARSKI, GRAŻYNA GRABOWSKA, JERZY WIŚNIEWSKI

Próby określenia optymalnego czasu szczepienia i rewakcytacji w dwustopniowym uodparnianiu kurcząt przeciw chorobie Newcastle

Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych
Wydziału Weterynaryjnego AR-T w Olsztynie

Badania te stanowią kontynuację prac, mających na celu ustalenie schematu doustnego dwustopniowego szczepienia przeciw rzekome-mu pomorowi drobiu. Stwierdzono, że doustne podawanie szczepionki „R” (zawierającej mezogeniczny szczep wirusa, Roakin) stanowi bardzo łatwy do masowego stosowania sposób długotrwałego uodpornienia kurcząt (7, 12). Jednakże zastosowanie tej szczepionki u kurcząt w wieku poniżej 4 tygodni powodować może reakcje poszczepienne. Dla uniknięcia ich postanowiono poprzedzić podanie szczepionki „R” podaniem szczepionki „L”, nieszkodliwej nawet dla najmłodszych piskląt. Bliższe omówienie tej metody określonej przez nas jako „dwustopniowe uodparnianie” podano w pracy przeglądowej (8) oraz w doniesieniu przedstawiającym wstępne wyniki badań (9).

Materiał i metody

Kurczęta. Do doświadczeń użyto ptaków w różnym wieku, rasy Rhode Island.

Szczepy wirusa:

a) lentogeniczny szczep LaSota stanowiła seria 950475 szczepionki „L”, produkcji PZBP Biowet w Puławach,

b) mezogeniczny szczep Roakin stanowiła seria 30170 szczepionki „R” tego samego producenta.

Uodparnianie ptaków w wykonywano doustnie, podając szczepionki „L” i „R” rozcieńczone w wodzie do picia w stosunku 1:750.

Odczyn zahamowania hemaglutynacji do badania przeciwciał w surowicy wykonywano metodą Beacha (3), stosując do określenia jednostki hemaglutynacyjnej $1,5 \times$ wzrastających rozcieńczeń wirusa.

Wyniki

Doświadczenie 1. Użyto 165 kurcząt rasy Rhode Island Red. W wieku 20 dni 135 ptakom podano doustnie szczepionkę „L” i oznaczono je jako grupę L_{20} . Po określonych odstępach czasu — 2, 10, 17 i 50 dni rewakcywowano po 15 ptaków z tej dużej grupy doustnie szczepionką „L” lub „R” i uzyskano następujące grupy pochodne: $L_{20}+L_{22}$, $L_{20}+R_{22}$, $L_{20}+L_{30}$, $L_{20}+R_{30}$, $L_{20}+L_{37}$, $L_{20}+R_{37}$, $L_{20}+L_{70}$, $L_{20}+R_{70}$. Liczba przy symbolu L lub R oznacza wiek ptaka, w którym otrzymał doustnie szczepionkę „L” lub „R”. Ponadto kontrolę stanowiły następujące grupy po 15 kurcząt: L_{20} — ptaki nierewakcywowane, L_{37} i R_{37} — ptaki szczepione tylko jeden raz szczepionką „L” lub „R” w 37 dniu życia. Grupy trzymano oddzielnie aby zapobiec transmisji wirusa szczepionkowego. W końcowym okresie zupełnego spadku miana sześć grup kurcząt rewakcywowano powtórnie, tym razem domięśniowo szczepionką „R”, po 1 ml rozcieńczenia 1:2000.

Wyniki badania serologicznego krwi na obecność przeciwciał przedstawia tab. 1.

Doświadczenie 2. Grupie 15 kurcząt podano doustnie szczepionkę „L” w wieku 14 dni a szczepionkę „R” w wieku 64 dni — grupa $L_{14}+R_{64}$ (wyniki badań serologicznych w tab. 2).

Doświadczenie 3. Użyto 30 kurcząt — połowie z nich podano doustnie szczepionkę „L” w siódmym i dwudziestym dniu życia a szczepionkę „R” w 70 dniu życia — grupa $L_7+L_{20}+R_{70}$. Pozostałe ptaki otrzymały szczepionkę „L” w dwudziestym a szczepionkę „R” w 70 dniu życia — grupa $L_{20}+R_{70}$ (wyniki badań serologicznych w tab. 2).

Omówienie wyników

Dane przedstawione w poprzednim doniesieniu (9) wykazały, że u kurcząt uodpornionych po raz pierwszy szczepionką „L” w wieku 14 dni, miana przeciwciał HI po rewakcytacji na-

Tab. 1. Średnie geometryczne mian przeciwciał hamujących hemaglutynację, w surowicy szczepionych ptaków

Grupa	Wiek ptaków w dniach																
	34	36	44	52	58	65	70	84	98	112	126	142	175	179	185	220	235
$L_{20}+L_{22}$		112 ^a		50		18		15		7	8	5	3			—	1260 ^b
$L_{20}+R_{22}$		295 ^a		97		42		45		21	20	11	16			3	142 ^b
$L_{20}+L_{30}$			35 ^a		5			3									
$L_{20}+R_{30}$			18 ^a		6			3									
$L_{20}+L_{37}$	143			53 ^a		13		10		6	4	2	3	3		372 ^b	
$L_{20}+R_{37}$	143			98 ^a		13		9		6	3	3	4	3		513 ^b	
$L_{20}+L_{70}$	143		45	32	9	7	8	121 ^a	12	13	11	11	14			—	224 ^b
$L_{20}+R_{70}$	143		45	32	9	7	8	182 ^a	32	6	8	4	5			—	178 ^b
L_{20}	143		45	32	9	7	8	2	3	1	2	2	2			—	
L_{37}				158		30		29		17	20	16	19			1	
R_{37}				631		398		314		129	158	121	73			25	

Objaśnienia: a = miana w 14 dni po rewakcytacji; b = miano w 14 dni po domięśniowym wprowadzeniu szczepionki „R”.

wet szczepionką „R” są niskie. Nieznaczny odczyn anamnestyczny wystąpił w przypadku dwu- i siedemnastodniowego odstępu między szczepieniem a rewakcyacją. Wiadomo, że dla powstania takiego odczynu decydujące znaczenie ma dostatecznie efektywna reakcja na pierwsze wprowadzenie antygeny (11). Można przypuszczać, że właśnie szczepienie kurcząt po raz pierwszy w tak młodym wieku mogło stanowić zbyt słaby bodziec z dwu powodów — jeden to niedostateczny rozwój układu immunologicznego, drugi to posiadanie pewnej ilości przeciwciał matczynych (odporność bierna).

nienie a jedynie za stworzenie ochrony interferencyjnej (1).

Analizując wyniki doświadczenia głównego (tab. 1) trzeba stwierdzić, że w żadnym ze stosowanych układów dwustopniowego uodparniania nie uzyskano tak dobrych efektów jak po jednorazowym podaniu szczepionki „R” w 37 dniu życia, podobnie jak w poprzednich badaniach (9) w 31 dniu życia ptaków. Najwyraźniejszy wzrost miana stwierdzono przy rewakcyacji po dwu dniach, co znowu odpowiada wynikom poprzednich badań, ale dość trudne jest do wyjaśnienia. Przecież w tym przypadku

Tab. 2. Średnie geometryczne mian przeciwciał hamujących hemaglutynację, w surowicy szczepionych ptaków

Grupa	Wiek ptaków w dniach															
	20	28	34	42	47	63	68	78	84	92	99	106	112	124	151	183
L ₁₄ +R ₆₄		10		9		6		148 ^a		33		23		4	1	1
L ₇ +L ₂₀ +R ₇₀	6		69 ^a		10	5	8		55 ^b		28		29	12	5	2
L ₂₀ +R ₇₀	-		107		12	9	12		21 ^a		10		12	4	3	4

Objaśnienia: a = miana po pierwszej rewakcyacji; b = miana po drugiej rewakcyacji.

Dlatego do badań opisanych w niniejszym doniesieniu użyto kurcząt 20-dniowe, w tym bowiem wieku, zdaniem większości autorów, zanikają przeciwciała przekazane przez matkę. Z tej samej przyczyny ptaki stają się całkowicie bezbronne w przypadku kontaktu z wirusem zjadliwym i dalsze odwlekanie szczepienia może być w pewnych sytuacjach ryzykowne.

Przesuwając termin pierwszego szczepienia na 20 dzień życia pozostawiono te same co poprzednio (9) odstępy do rewakcyacji, to jest 2, 10 i 17 dni a ponadto dodano odstęp 50-dniowy. Przy tym ostatnim rewakcyacja ma miejsce w 70 dniu życia — odpowiada to schematowi uodparniania kurcząt według terminarza dla stad kur mięsnych lohmanowskich (10). Dla uzyskania danych porównawczych w stosunku do wyników przedstawionych w poprzednim doniesieniu (9) uzupełniono doświadczenie szczepiąc kurcząt w wieku 14 dni a rewakcyując w wieku 64 dni.

W pewnym okresie badań poziomu przeciwciał HI, wyniki wskazywały, że odstęp 50 dni między szczepieniem a rewakcyacją może okazać się korzystny. Mając wtedy odpowiednią partię kurcząt wykonano dodatkowe doświadczenie (grupa L₇+L₂₀+R₇₀), którego celem było wyjaśnienie, czy w przypadku konieczności szczepienia kurcząt w wieku 5—7 dni (np. niekorzystna sytuacja epizootyczna), jak to zaleca Instrukcja Ministerstwa Rolnictwa (6), to wczesne podanie szczepionki „L” nie wpłynie na późniejsze dwustopniowe uodparnianie. Wynik doświadczenia pozwala przypuszczać, że wpływu takiego nie będzie. Jest to zgodne z opinią autorów różnych schematów immunizacyjnych, którzy tak bardzo wczesnego podania szczepionki nie uważają za uodpor-

nie można mówić o reakcji anamnestycznej. Przy wyborze tak krótkiego odstępu miano na myśli wprowadzenie szczepionki „R” pod osłoną interferencyjną stworzoną przez szczepionkę „L”. Odporność była przy tym lepsza po rewakcyacji szczepionką „R” niż szczepionką „L”, co wyrażało się zarówno wyższym poziomem przeciwciał, dłuższym czasem ich utrzymywania się jak też słabszą reakcją anamnestyczną na drugą rewakcyację. To ostatnie zdaniem Bankowskiego i Corstveta (2) może stanowić dobry wskaźnik odporności.

Interpretacja wyników uzyskanych w tej pracy, podobnie jak w poprzedniej (9) jest trudna w świetle uznanych zasad immunologii. Według nich reakcja na powtórny bodziec antygenowy wyrażać się powinna albo reakcją anamnestyczną (krótszy okres indukcji, powstawanie znacznie większej ilości przeciwciał, wolniejszy spadek ich syntezy), jeżeli pierwsze szczepienie było wystarczająco silne i spowodowało powstanie IgG, albo brakiem takiej reakcji, jeżeli pierwszy bodziec antygenowy był zbyt słaby. Natomiast z badań naszych i prac innych autorów omówionych poprzednio (9) wynika, że pierwsze podanie szczepionki „L” zmniejsza reaktywność organizmu na rewakcyację.

Brak reakcji na powtórne wprowadzenie antygeny możnaby odnosić do hamującego działania odporności lokalnej (szczepionkę podaje się doustnie), jednak z uwagi na bardzo krótkie utrzymywanie się tam przeciwciał nie mogłoby to tłumaczyć niepowodzeń przy stosowaniu długich odstępów między szczepieniem a rewakcyacją. Dla wyjaśnienia braku reakcji anamnestycznej możnaby też wziąć pod uwagę wyniki badań Wolfe'a i wsp. (cyt. wg 5), któ-

rzy określali zdolność kurcząt w wieku 3—22 tygodni do reakcji immunologicznej na białko surowicy bydła. Stwierdzili, że poniżej 6 tygodni życia mechanizmy immunologiczne u kurcząt nie są jeszcze całkowicie rozwinięte i chociaż nawet 10-dniowe ptaki reagują na szczepienie, to nie pozostaje po nim pamięć immunologiczna, czyli zdolność do reakcji anamnesticznej. Te dane odnoszą się jednak tylko do reakcji na użyty w badaniach antygen, którym było białko surowicy bydła (antygen nieożywiony) i to nie pozwala na uogólnienia. A wiadomo, że rodzaj antygeny ma duże znaczenie dla indukowania produkcji przeciwciał, zwłaszcza u młodych osobników. Przykład tego stanowi immunologiczna niekompetencja noworodków ludzkich na anatoksynę błoniczą — fakt, który przez długi czas niesłusznie uogólniano w stosunku do innych antygenów (4). Także u noworodków świń stwierdzono duże różnice poziomu przeciwciał po uodpornieniu anatoksyną błoniczą i anatoksyną tępcową. Nie można jednak wykluczyć, że obserwacje Wolfe'a i wsp. są uzasadnione także w stosunku do wirusa choroby Newcastle, co tłumaczyłoby niepowodzenia rewakuacji u ptaków szczepionych przed upływem 6 tygodni życia.

Natomiast nie można tym tłumaczyć hamującego wpływu pierwszego podania antygeny na reakcję immunologiczną po drugim podaniu. Najbardziej jest to widoczne przy porównaniu grup $L_{20}+R_{37}$ i R_{37} . Gromadzi się coraz więcej obserwacji i stwierdza sporo faktów kładących przypuszczać, że w odniesieniu do wirusa choroby Newcastle zachodzą w organizmie kurcząt jakieś bardziej złożone zjawiska immunologiczne. Być może, że pierwsze szczepienie wykonane około 3 tygodnia życia daje co prawda pewien efekt odpornościowy, ale nie stwarza to podstawy do reakcji anamnesticznej, natomiast trwale upośledza reaktywność immunologiczną na późniejsze wprowadzenie wirusa.

Piśmiennictwo

- Allan, W. H.: Agriculture 79, 413, 1972.
- Bankowski, R. A., Corstvet, R.: Am. J. vet. Res. 21, 610, 1960.
- Beach, J. R.: J. Am. vet. med. Ass. 112, 85, 1948.
- Eichenwald, H. F., McCracken, G. H., Kindberg, S. J.: Progr. med. Virol. 9, 35, 1967.
- Howell, D. G.: Vet. Rec. 77, 1391, 1965.
- Instrukcja Ministerstwa Rolnictwa — Departamentu Weterynarii Nr 1, z dnia 1 lutego 1972.
- Kozicki, J.: I Krajowe Sympozjum Wirusologiczne w Kazimierzu Dolnym, Streszczenia Prac, s. 57, 1972.
- Larski, Z.: Medycyna Wet. 31, 321, 1975.
- Larski, Z.: Medycyna Wet. 31, 449, 1975.
- Terminarz zabiegów lekarsko-weterynaryjnych w stadach kur mięsnych. Olsztyńskie Zakłady Drobiarskie, Olsztyn 1973.
- Wakcyny przeciw wirusowym i riketsyjowym zakażeniom zwierząt. Dokład Naukowej Grupy WOZ Nr 325. WOZ Genewa 1967.
- Wiśniewski, J.: Zesz. Nauk. ART w Olsztynie, Weterynaria 3, 3, 1974.

Лярски З., Грабовска Г., Висьневски Е. — Попытки определения оптимального времени вакцинации и ревакцинации цыплят при двухступенной иммунизации против азиатской чумы.

Исследовали уровень противотел тормозящих геммагглютинацию (HI) после пероральной вакцинации 20-дневных цыплят вакциной L (LaSota) и ревакцинации вакциной R (Roakin) в разных сроках времени (представленных в таблицах где числа при символах L и R обозначают возраст птиц в день прививки).

Самое высокое повышение титра установили при ревакцинации на 2 день что не можно считать анамнестической реакцией и трудно объяснить. Ни в одном варианте применяемой двухступенной вакцинации не получили так хороших результатов как после однократного применения вакцины R на 37 день жизни цыплят. Автор приходит к выводу, что первая прививка так молодых цыплят вакциной L не только не создает хорошей дозы для анамнестической реакции но даже действует дефективно на вторичное введение вируса.

Larski Z., Grabowska G., Wiśniewski J. — Attempts to find the optimal time for the vaccination and re-vaccination in the two-stage immunization of chickens against Newcastle Disease.

The chickens were perorally vaccinated at the age of 20 days with „L” vaccine (containing LaSota strain) and then at different intervals of time re-vaccinated with „R” vaccine (containing Roakin strain). The levels of HI-antibodies are given in two tables, where numbers at symbols L and R denote the day of life at which the vaccine „L” or „R” was administered. The most pronounced rise in HI-titer was found in the case of revaccination after two days, what can not be considered as an anamnestic response. In all schemes of the two-stage immunization, the antibody titers were lower than after the single vaccination of 37 day old chickens with „R” vaccine. The obtained data seem to indicate that the first vaccination of such young chickens with „L” vaccine is not only unsatisfactory to create the basis for an anamnestic response but it handicaps the immunologic reactivity to the vaccination.

MOULTON J. E., PAN J. C., HESS W. R., DE BOER C. J., TESSLER J.: Zmiany sekcyjne w przebiegu chronicznego zapalenia płuc u świń doświadczalnie zakażonych afrykańskim pomorem świń. (Pathologic features of chronic pneumonia in pigs with experimentally induced african swine fever). Am. J. vet. Res., 36, 27—32, 1975 (1).

U 14 prosiąt o wadze 20 kg rozwinęło się przewlekłe zapalenie płuc po zakażeniu dawką $2 \times 10^{4.0}$ lub 2.4×10^8 HAd50 atenuowanego szczepu wirusa afrykańskiego pomoru świń (szczep Lisbon 60). Wirus atenuowano na drodze seryjnych pasażów w hodowli komórkowej szpiku kostnego świń. Na czoło zmian sekcyjnych w padłych i poddanych ubojowi prosiąt wysuwała się konsolidacja tkanki płucnej, występowanie ognisk częściowej konsolidacji tkanki płucnej (6 sztuk) oraz ogniskowa martwica tkanki płucnej (10 sztuk). Zmiany mikroskopowe polegały na zgrubieniu przegród międzypęcherzykowych w następstwie nacieku limfocytami i makrofagami, ogniskowych naciekach limfocytarnych i makrofagowych, które ulegały martwicy i zwapnieniu. Wokół ognisk martwicowych dochodziło do nagromadzenia komórek jednojądrzastych i przerostu tkanki włóknistej. U wszystkich zakażonych sztuk wiremia wystąpiła 14 dnia po zakażeniu. Swoiste precypityny stwierdzano w surowicy 58 dnia po zakażeniu.

Adres autora: prof. dr Zdzisław Larski, 10-957 Olsztyn-Kortowo, bl. 37.

G.