

MEDYCYNA WETERYNARYJNA

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

CZASOPISMO POŚWIĘCONE NAUCE I PRAKTYCE WETERYNARYJNEJ
ZAŁOŻONE W 1945 R. PRZEZ WYDZIAŁ WETERYNARYJNY W LUBLINIE

REDAKCJA

Redaktor naczelny: prof. dr Edmund PROST

Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr Ryszard BADURA, prof. dr Jerzy MAZURCZAK,
prof. dr Abdon STRYSZAK, doc. dr Stanisław WOŁOSZYN.

Sekretarz naukowy: dr Ryszard SŁUŻEWSKI

RADA PROGRAMOWA

Dr Anatol BACHAREWICZ, prof. dr Henryk BALBIERZ, prof. dr Władysław BIELAŃSKI, prof. dr Stanisław CAKAŁA, prof. dr Zygmunt EWY, prof. dr Roman HOPPE, prof. dr Tadeusz JASTRZĘBSKI, prof. dr Lech JAŚKOWSKI, płk doc. dr Stefan KOSSAKOWSKI, prof. dr Zdzisław LARSKI, dyr. dr Henryk LIS, dr Władysław LUTYŃSKI, prof. dr Wincenty PEZACKI, prof. dr Wiktor STEFANIAK, prof. dr Marian TRUSZCZYŃSKI, prof. dr Janusz WELENTO, prof. dr Aleksander ZAKRZEWSKI, prof. dr Eugeniusz ZARNOWSKI

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZYGMUNT CYGAN, TADEUSZ JASTRZĘBSKI

Badania nad immunochemiczną identyfikacją pałeczek *Bacteroides* i *Fusobacterium*

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie

Identyfikacja gramujemnych, beztlenowych pałeczek niezarodnikujących stanowi zagadnienie niesłychanie złożone, trudne i aktualnie praktycznie jeszcze nieopracowane. Wynika to z braku dostatecznie pewnych kryteriów rozpoznawania zarówno rodzaju jak i gatunku zarazka. W badaniach dotychczasowych przy tego typu identyfikacji uwzględniane były właściwości morfologiczne i fermentacyjne (14), enzymatyczne (15), immunochemiczne (1, 26, 27, 28), a także dotyczące kwasów nukleinowych (19, 20, 21, 22) i kierunku metabolizmu zwłaszcza glukozy i treoniny (2, 5, 6, 7, 8) oraz oporności na antybiotyki i barwniki (3, 4, 12, 16, 23, 24). Spośród tych metod szczególne znaczenie posiada badanie składu enzymów tj. dehydrogenaz oraz stosunków ilościowych zasad purynowych i pirymidynowych w DNA, a także cyklów metabolicznych. Jednak dla rutynowej diagnostyki bakteriologicznej badania takie są zbyt skomplikowane i trudne do przeprowadzenia. Dlatego, jak się wydaje, w warunkach praktyki laboratoryjnej przy rozpoznawaniu rodzaju gramujemnych beztlenowców niezarodnikujących najbardziej celowe są badania immunochemiczne z uwzględnieniem jako podstawy rozpoznania — właściwości antygenowych zarazka.

Celem niniejszej pracy było zastosowanie odczynu Ouchterlony'ego z użyciem surowic diagnostycznych królików uodpornionych przeciwko typowym szczepom *Bacteroides* sp. i *Fusobacterium* sp. oraz odnośnych antygenów komórkowych pełnych i ogrzewanych. Ponadto wyodrębniono metodą fenolową z hodowli zarazka antygeny wielocukrowe i zbadano je spektrolometrycznie na ilościową zawartość heksoz, metylopentoz, kwasów uronowych, aminocukrów i związków azotowych oraz na stopień inhibicji hemaglutynacji pośredniej przez wybrane cukry proste.

Materiał i metody

1. Badania serologiczne. W badaniach serologicznych użyto ogółem 16 szczepów *Fusobacterium* sp. oraz 7 *Bacteroides* sp. Szczepy oznaczone jako *Fusobact. necrophorum* 56, 57, 91, 93, 94, 97, 98, 99, 101 oraz 108 wyosobnione z ropni wątroby bydła — pochodziły ze zbiorów własnych ZHW w Lublinie. Beztlenowce *F. necrophorum* 606 i 337, *F. nucleatum* 95 i 96, *F. mortiferum* 252 oraz pałeczki *B. fragilis* 350, 351, 31, 32 i 33 były pochodzenia ludzkiego i otrzymano je od dr H. Beerensa (Francja) oraz dr S. M. Finegolda (Kanada). Pozostałe 2 szczepy *B. fragilis* mb i wr zostały ostatnio wyizolowane od gęsi ze zmianami nekrotycznymi wątroby (zbiory ZHW Lublin).

2. Surowice. Zostały one wyprodukowane we własnym zakresie na królikach uodpornionych zabitymi ogrzewaniem (70°C — 20 min.) pączkami *F. necrophorum* 108 i 337 oraz *B. fragilis* 350 i 351 — według metody podanej w pracy poprzedniej (10).

3. Odczyn Ouchterlony'ego. Użyto 1,2% żel agarowy (agar Difco — Bacto USA) w płynie fizjologicznym o pH 7,2, konserwowany mertiolatem 1:5000. Odstęp między basenami wynosił 8 mm, przy średnicy basenu 7 mm i głębokości 3 mm. Badania przeprowadzano w temperaturze 20°C, a wyniki odczytywano po 5 dniach inkubacji. Jako antygeny nieogrzewane i ogrzewane (100°C — 1 godz.) stosowano odwirowane (4000 obr. na min. — 45 min.) drobnoustroje z podłoża Wrzoska z 0,5% glukozy, zawieszony w płynie fizjologicznym do ujednoliconej gęstości odpowiadającej 5 próbówce skali Mac Farlanda.

4. Przygotowanie suchej masy bakteryjnej. Każdy badany szczep *Fusobacterium* sp. i *B. fragilis* hodowano w ciągu 3 dni w temperaturze 37°C w objętości 4 l podłoża Wrzoska z 0,5% glukozy. Supernatant uzyskany przez wstępne wirowanie hodowli przy małych obrotach (1000 obr. na min. — 2 min.), wirowano następnie przy 4000 obr./min. przez 45 min. Otrzymany osad bakteryjny płukano wodą destylowaną, a potem 3 razy acetonem o temperaturze 4°C i suszono w 40°C przy częściowej próżni przez około 6 godzin.

5. Izolacja wielocukrów. Wielocukry otrzymywano z suchej masy bakteryjnej według metody Westphala i wsp. (29) przez 4 — krotne ekstrahowanie fenolem i 3—4 dniową dializę w wodzie destylowanej w 0°C.

6. Analiza chemiczna. Bliższa charakterystyka wielocukrów objęła ilościowe oznaczenie: heksoz metodą antronomą według Mokrasha (18); metylopentoz wg Gibbonsa (13); aminocukrów metodą Elson — Morgana wg Colvicka i Kaplana (9); kwasów uroonowych wg Dische (11) oraz związków azotowych wg Lowry i wsp. (17).

Powyższe oznaczenia wykonano w spektrokolorymetrze „Spekol” produkcji C. Zeiss — Jena.

7. Odczyn hemaglutynacji pośredniej (HaP). Jako antygen stosowano erythrocyty owcze, opłaszczony wyciągami lipowielocukrów uzyskanych metodą fenolową z komórek badanych beztlenowców. Odczyn wykonywano według metody stosowanej przez Truszczyńskiego i Bakera (25).

8. Odczyn zahamowania hemaglutynacji pośredniej (IHaP). Surowice odporne w objętości 0,2 ml mieszano z 0,1 ml cukrów standardowych o stężeniu od 0,4 M do 0,025 M i inkubowano w 37°C przez 2 godz., po czym dodawano 0,2 ml opłaszczonych erythrocytów i przetrzymywano w 37°C przez dalsze 2 godziny. Przy wynikach dodatnich określano najmniejsze stężenie cukrów dające zahamowanie hemaglutynacji. Swoistość odczynu sprawdzano kontrolami dodatnimi i ujemnymi. Jako kontrolę dodatnią stosowano surowice o aktywności 2 jedn. Ha w systemie z erythrocytami opłaszczonymi

homologicznym antygenem, ale bez inhibitorów, a jako kontrolę ujemną — te same surowice w układzie z erythrocytami nieopłaszczonymi.

Wyniki i omówienie

Uzyskane rezultaty badań nad różnicowaniem beztlenowców *Fusobacterium* i *Bacteroides* odczynem żel — precypitacji z użyciem surowic antybakteryjnych „OH” i antygenów ogrzewanych i nieogrzewanych przedstawia tab. 1. Wynika z niej, że obie użyte surowice „OH” w przypadku antygenów nieogrzewanych wykazały szereg nieswoistych powiązań międzyrodzajowych, a zatem do identyfikacji rodzajowej nie nadają się. Natomiast przy zastosowaniu antygenów ogrzewanych zakres reakcji dodatnich wystąpił tylko w obrębie odnośnego rodzaju. Odnośnie reakcji ujemnych to były one zgodne z przynależnością rodzajową szczepów przy surowicy anty *Bacteroides* (*B. fragilis* 350). W przypadku surowicy anty *Fusobacterium* (*F. necrophorum* 108) — nie uzyskano oczekiwanego dodatniego wyniku aż u 6 szczepów z 14 zbadanych (42,9%), w tym u 1 z 9 zbadanych szczepów zwierzęcych oraz u wszystkich 5 szczepów ludzkich. Powyższy wynik zdaje się wskazywać na brak wspólnego antygeny rodzajowego u szczepów ludzkich i zwierzęcych zaliczanych obecnie do wspólnego rodzaju *Fusobacterium*.

Wyniki badań nad składem ilościowym cukrów i związków azotowych w lipowielocukrach przygotowanych według Westphala i wsp. (29) przedstawiono w tab. 2. Wynika z niej, że wszystkie 3 użyte szczepy rodzaju *Bacteroides* wykazują stosunek dodatni białek do cukrów (1,5—3,5/1), natomiast wszystkie zbadane szczepy *Fusobacterium* charakteryzuje stosunek ujemny (1/1—2). Poza tym stwierdzono u szczepów *Bacteroides* znacznie niższą zawartość heksozamin: *Bacteroides* 15,0—18,7 mg%, a *Fusobacterium* 27,5—30,5 mg%. Zbyt mała ilość przebadanych gatunków i szczepów nie pozwala na wyciągnięcie wiążących wniosków. Powstają przy tym wskazania odnośnie celowości przeprowadzenia szerszych badań w tym kierunku.

Rezultaty przeprowadzonych badań nad działaniem hamującym cukrów na aktywność surowic w odczynie HaP przedstawione w tab. 3

Tab. 1. Różnicowanie metodą Ouchterlony'ego beztlenowców *Fusobacterium* i *Bacteroides*

Antygeny - Rodzaj Nr szczepu *) Pochodzenie	<i>Fusobacterium</i>														<i>Bacteroides</i>									
	56 Z	57 Z	91 Z	92 Z	93 Z	94 Z	97 Z	98 Z	99 Z	101 Z	108 Z	606 C	337 C	95 C	96 C	252 C	350 C	351 C	31 C	32 C	33 C	nb Z	nr Z	
Surowica „OH” anty: <i>Fusobacterium</i>																								
<i>(F. necrophorum 108)</i>																								
Surowica „OH” anty: <i>Bacteroides</i>																								
<i>(B. fragilis 350)</i>																								
Ogrz.	2	-	nb	2	2	nb	3	1	1	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nogrz.	3	2	2	3	3	2	4	3	2	2	3	3	-	-	1	2	1	1	2	2	2	1	2	
Ogrz.	-	-	-	-	-	nb	-	-	nb	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2	2	2	1	1	
Nogrz.	1	1	-	1	-	-	1	1	-	-	-	1	1	-	-	nb	3	3	3	3	3	2	2	

Objaśnienia: wartość liczby = wynik dodatni i ilość linii precypitacyjnych; — = wynik ujemny; nb = nie badano; Ogrz. = antygen ogrzewany; Nogrz. = antygen nieogrzewany; Z = szczep wyosobniony od zwierzęcia; C = szczep wyosobniony od człowieka; x = szczepy Nr 95 i 96 należą do gatunku *F. nucleatum*, nr 252 — *F. mortiferum*, pozostałe z rodz. *Fusobacterium* — *F. necrophorum*, wszystkie *Bacteroides* — *B. fragilis*.

Tab. 2. Skład ilościowy cukrów i związków azotowych (w mg%) w wielocukrach według Westphala uzyskanych z pałeczek *Fusobacterium* i *Bacteroides*

Badany szczep	Pochodzenie	Heksozamina	Metylapentozy	Kwasy uronowe	Związki azotowe	Cukry jako heksoza	Stosunek związków azotowych do cukrów
<i>F. necrophorum</i> 108	Z	30,5	25,0	3,2	22,5	22,5	1 : 1
" 98	Z	nb	28,3	3,5	36,1	61,2	1 : 15
" 337	C	27,5	71,6	13,1	26,1	41,2	1 : 1,5
" 606	C	nb	13,3	nb	10,1	21,2	1 : 2
<i>B. fragilis</i> 351	C	15,0	15,0	4,0	107,5	31,2	3,5 : 1
" 350	C	18,7	16,6	6,2	57,5	38,7	1,5 : 1
" mb	Z	17,5	38,3	3,1	36,1	19,7	2 : 1

Objaśnienia: nb = nie badano; Z = szczep wyisobniony od zwiercia; C = szczep wyisobniony od człowieka.

wskazują, że surowice przeciwko *Fusobacterium* są hamowane przez d — glukozaminę, a częściowo i przez niektóre inne cukry (d — ksylloza, d — rafinoza). Natomiast obydwie zbadane surowice anty *Bacteroides* nie są hamowane przez

Tab. 3. Działanie hamujące cukrów na aktywność surowic anty *Fusobacterium* i *Bacteroides* w odczynie hemaglutynacji pośredniej

układ homologiczny:	Minimalne stężenie molarne cukrów hamujące hemaglutynację															
	glikogen	d-ksylloza	d-arabinoza	ramnoza	d-fuktoza	raffinnoza	d-glukoza	d-glukozamina	d-galaktozamina	L-fuktoza	maltoza	galaktoza	mannoza	L-ksylloza	laktuloza	skrobia
surowica-antygen																
<i>F. necrophorum</i> 108	-	0,4	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>F. necrophorum</i> 337	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. fragilis</i> 350	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. fragilis</i> 351	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Objaśnienia: — = zupełny brak hamowania nawet przy koncentracji cukru wynoszącej 0,4 M; wartość liczby = hamowanie przez cukier w danej koncentracji molarnej.

zaden z 16 użytych cukrów. Powyższy wynik wydaje się wskazywać, że pewne cukry odgrywają rolę w ugrupowaniach terminalnych antygenów pałeczek *Fusobacterium*.

Reasumując należy stwierdzić, że przeprowadzone badania sugerują możliwość wykorzystania niektórych metod immunochemicznych do wstępnego odróżniania drobnoustrojów rodzaju *Bacteroides* i *Fusobacterium*. Jednak badania takie winny być powtórzone na większej ilości szczepów, w dodatku bardziej zróżnicowanych pod względem gatunku i pochodzenia.

Wnioski

1. Badanie antygenów ogrzewanych w odczynie Ouchterlony'ego z surowicą króliczą „OH” anty *B. fragilis* 350 pozwoliło na odróżnienie wszystkich zbadanych szczepów *Bacteroides* od *Fusobacterium*.

2. W przypadku surowicy „OH” anty *F. necrophorum* 108 to dodatni wynik identyfikacji uzyskano tylko w stosunku do szczepów homologicznego rodzaju. Jednak wynik ujemny występował w odniesieniu nie tylko do pałeczek *Bacteroides*, ale i do wielu szczepów *Fusobacterium*, w tym do wszystkich — pochodzących

od ludzi. Rezultat ten wskazuje na brak wspólnego antygeny rodzajowego u szczepów ludzkich i zwierzęcych rodzaju *Fusobacterium*.

3. Stosunek ilościowy związków azotowych do cukrów oraz zawartość heksozamin w wielocukrach według Westphala wydają się posiadać znaczenie w identyfikacji rodzajowej pałeczek *Bacteroides* i *Fusobacterium*.

4. U 2 zbadanych szczepów *F. necrophorum* 108 i 337 stwierdzono hamujące działanie w IHaP niektórych cukrów, przede wszystkim d — glukozaminy, czego nie wykazano u obydwu szczepów *Bacteroides*.

Piśmiennictwo

1. Araujo W. C., Varah E., Mergenhagen S. E.: J. Bact. 86, 837, 1963.
2. Barnes E., Goldberg H. S.: J. gen. Microbiol. 51, 313, 1968.
3. Beerens H.: Annlis Inst. Pasteur, Paryż 82, 235, 1952.
4. Beerens H.: Annlis Inst. Pasteur, Lille 6, 36, 1953/1954.
5. Beerens H., Castel M. M.: Annlis Inst. Pasteur, Paryż 198, 682, 1965.
6. Beerens H., Castel M. M., Abraham R.: Annlis Inst. Pasteur, Paryż 99, 454, 1960.
7. Beerens H., Castel M. M., Fievez L.: Abstracts VIII th. Int. Congr. Microbiol., Montreal 1962.
8. Beerens H., Guillaume J., Pettit H.: Annlis Inst. Pasteur, Paryż 96, 211, 1959.
9. Colwick S. P., Kaplan N. O.: Methods in Enzymology, tom III, Academic Press Inc., New York 1957.
10. Cygan Z.: Clostridia w narządach zwierząt zdrowych i padłych. Praca doktorska, WSR Lublin 1967.
11. Dische Z.: J. biol. Chem. 167, 189, 1947.
12. Finegold S. M., Miller L. G.: Les bacteries anaerobies, La-val — Rapides, Montreal 1967.
13. Gibbons M. N.: Analyst. Lond. 80, 268, 1955.
14. Hine M. K., Berry G. P.: J. Bact. 34, 517, 1937.
15. Keudell K. C., Goldberg H. S.: Appl. Microbiol. 19, 505, 1970.
16. Lahele O.: Acta path. microbiol. scand. suppl. 67, 1947.
17. Loury O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. V.: J. biol. Chem. 193, 265, 1951.
18. Mokrash L. C.: J. biol. Chem. 208, 55, 1954.
19. Prevot A. R.: Manual for the classification and determination of the anaerobic bacteria, Lea and Febiger, Philadelphia 1966.
20. Prevot A. R., Turpin A., Kaiser P.: Les bacteries anaerobies, Dunod, Paris 1967.
21. Sebald M.: Etude sur les bacteries anaerobies gram — negatives asporules, Paris 1962.
22. Sebald M.: Gazette Medicale de France 81, 1335, 1974.
23. Sutter V. L., Finegold S. M.: Appl. Microbiol. 21, 13, 1971.
24. Suzuki S., Ushijima T., Ischinose H.: Jap. J. Microbiol. 10, 193, 1966.
25. Truszczyński M., Baker E. E.: J. Immun. 89, 154, 1962.
26. Wattré P., Fievez L., Beerens H.: Annlis Inst. Pasteur, Paryż 120, 643, 1971.
27. Werner H.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I. 210, 192, 1969.
28. Warner H., Sebald M.: Annlis Inst. Pasteur, Paryż 115, 350, 1968.
29. Westphal O., Lüderitz O., Bister F.: Z. Naturf. 76, 148, 1952.

Adres autora: doc. dr hab. Zygmunt Cygan, ul. Słowicza 2 m 7, 20-336 Lublin.

Цыган З., Ястшембски Т. — Исследования по иммунохимической идентификации палочек *Bacteroides* и *Fusobacterium*.

Исследовали тестом Ouchterlony возможность идентификации рода у 16 штаммов *Fusobacterium*

sp. и 7 *Bacteroides fragilis*. Кроме того в экстрагированных фенолом полисахаридах из 4 штаммов *F. necrophorum* и 3 штаммов *B. fragilis* опрезелили при помощи спектроколориметра содержание гекозоз, метилопентоз, уроновой кислоты, аминокислот и азотных соединений а также степень задержки посредственной гемагглютинации (ИHaP) избранными моносахаридами. Исследование гретьх антигенов с специфической сывороткой крови против *B. fragilis* 350 позволило отличить все исследуемые штаммы *Bacteroides* от штаммов *Fusobacterium*. В случае специфической сыворотки против *F. necrophorum* 108 положительный результат идентификации получили только в отношении к штаммом гомологического рода. Результаты химических исследований указывают, что количественное отношение азотных соединений к сахарам и содержание гекозоаминов могут иметь некоторые значение для идентификации палочек родов *Fusobacterium* и *Bacteroides*. У 2 исследуемых штаммов *F. necrophorum* 108 и 337 установили ингибирующее действие в реакции задержки посредственной гемагглютинации некоторых сахаров главным образом д-глюкозамина, чего не выявили у обоих исследуемых штаммов *B. fragilis*.

Cygan Z., Jastrzębski T. — **Studies on immunochemical identification of *Bacteroides* spp., and *Fusobacterium* spp.**

There was studied the possibility of genus identification of 16 strains of *Fusobacterium* and 7 strains of *Bacteroides fragilis*. Besides, there was spectrophotometrically determined the content of hexoses, methylpentoses, uronic acids, aminosugars and nitrogen compounds in phenol-polisaccharidic extracts of 4 strains of *F. necrophorum* and 3 strains of *B. fragilis*, and also the degree of inhibition of the indirect haemagglutination test (IHaP) by chosen simple sugars. Studies with antigens heated with *B. fragilis* 350 antiserum enabled the differentiation all the strains of *Bacteroides* spp. and *Fusobacterium* spp. studied. In the case of *F. necrophorum* 108 antiserum, positive results of the identification were noted only with the strains of the homological genus. Chemical studies revealed that quantitative ratio of nitrogen compounds vs. sugars, and the content of hexosamines may play some role in the identification of microorganisms from *Fusobacterium* and *Bacteroides* genus. In two strains of *Fusobacterium necrophorum* 108 and 337 inhibitory activity of certain sugars, especially d-glucosamine was observed in IHaP test. This activity was not noted in the case of two studied strains of *B. fragilis*.

JERZY KITA, JANINA OYRZANOWSKA, JAN PRANDOTA

Uodpornianie drogą donosową bydła przeciw bronchopneumonii za pomocą szczepionki Parabovac*)

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego SGGW — AR w Warszawie

Stwierdzenie przeciwciał w śluzie dróg oddechowych po zetknięciu się z wirusami, zapoczątkowało podjęcie prób donosowego uodporniania ludzi i zwierząt przeciwko wirusowemu schorzeniu układu oddechowego. Todd (14), Bogel i Liebelt (2, 3, 4) utrzymują, że najwyższy stopień ochrony przeciwko wirusom, które silnie replikują się w komórkach nabłonkowych błony podśluzowej górnych dróg oddechowych można osiągnąć przez szczepienia donosowe, które pobudzają zarówno miejscowe jak i ogólne mechanizmy obronne. Również z prac innych autorów (3, 5, 6, 7, 15) wynika, że szczepienie donosowe żywym, atenuowanym szczepem wirusa parainfluenzy-3 (PI-3) jest bardziej skuteczne niż szczepienie innymi drogami, a obecność przeciwciał w wydzielinach nosowych okazała się lepszym wskaźnikiem odporności gospodarza na zakażenie wirusem niż poziom przeciwciał w surowicy krwi. Na szczególną rolę przeciwciał miejscowych w odporności przeciwko wirusowi PI-3, wskazuje fakt większej podatności na zakażenie cieląt z wysokim poziomem przeciwciał surowicznych lecz niskim przeciwciał śluzu w porównaniu do zwierząt wykazujących niski poziom przeciwciał w surowicy lecz wysokie miano przeciwciał miejscowych

(6, 10). Ponadto przy podaniu szczepionki tą drogą istnieje możliwość wcześniejszego (w wieku poniżej 8 tygodni) uzyskiwania odporności czynnej niż przy szczepieniu domięśniowym, bowiem przeciwciała siarowe nie mają istotnego wpływu na możliwość pobudzenia miejscowych mechanizmów obronnych przy donosowej drodze uodporniania.

Miejscowy odczyn odpornościowy polega na pobudzaniu komórek plazmatycznych znajdujących się w błonie podśluzowej dróg oddechowych, które mają zdolność wytwarzania przeciwciał należących do klasy tzw. wydzielniczych IgA. Obecność tych przeciwciał w śluzie stanowi barierę przed wtargnięciem wirusów w głąb organizmu. Przeciwciała te wraz z dopełniaczem i lizozymem nie dopuszczają do namnażania się wirusów w komórkach nabłonka dróg oddechowych. Szczepienie donosowe pobudza również mechanizmy odporności nieswoistej. Wykazano bowiem (14), że namnażanie się w obrębie dróg oddechowych do 10 dnia po podaniu szczepionki, żywego atenuowanego wirusa IBR stymuluje miejscowe wytwarzanie interferonu. Jego obecność sprawia, że już po 72 godzinach po podaniu szczepionki zwierzęta są niewrażliwe na zakażenie żywym zjadliwym wirusem. Ochronny poziom interferonu utrzymuje się jeszcze do 6—8 dnia po szczepieniu a więc do momentu, kiedy w śluzie dróg oddechowych pojawia-

*) Parabovac — atenuowana szczepionka przeciwko bronchopneumonii młodego bydła wywołanej przez wirus parainfluenzy-3. Opracowana przez J. Kitę w Instytucie Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR w Warszawie.