

ZDZISŁAW LARSKI

Użycie szczepów B₁ i Roakin do dwustopniowego doustnego uodporniania kurcząt przeciw rzekomemu pomorowi kur

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

W poprzednich badaniach własnych dotyczących prób dwustopniowego uodporniania z użyciem lentogenicznego szczepu LaSota do pierwszego wstępnego szczepienia i mezogenicznego szczepu Roakin do reowakcytacji, mimo stosowania różnych schematów immunizacji, nie uzyskano reakcji anamnesticznej (6, 8, 9); co więcej — otrzymane dane wskazywały na upóźnienie humoralnego układu immunologicznego przez szczep LaSota (7). Za przyjęciem takiego działania tego szczepu przemawiają też wyniki badań Spalatina i wsp. (14) oraz Ghummana i wsp. (4). Ci ostatni autorzy podkreślają też, że wiele jeszcze spraw związanych z reakcją immunologiczną kurcząt na wirus choroby Newcastle wymaga wyjaśnienia. Przy stosowaniu szczepu LaScota, jedno- i czterokrotnie w odstępach 10 dni nie stwierdzili różnic poziomu przeciwciał HI; po szczepieniu 6-tygodniowych kurcząt i ich reowakcytacji po 6, 8, 14 lub 18 tygodniach, wzrost poziomu przeciwciał nie następował wcześniej niż w 5 dni (u indyków w podobnych doświadczeniach nawet dopiero w 7 dni) po reowakcytacji, co jest nietypowe dla właściwej reakcji anamnesticznej.

Biorąc pod uwagę te wszystkie dane oraz wyniki badań Schulze-Rehma i wsp. (13), wskazujące na występowanie typowej reakcji anamnesticznej po reowakcytacji u kurcząt szczepionych poprzednio szczepem B₁, użyto w niniejszej pracy właśnie tego, lentogenicznego szczepu do wstępnego uodporniania.

Materiały i metody

Kurczęta użyte do doświadczeń rasy Rhode Island pochodziły z Zakładu Wylęgowego w Szczytnie.

Szczepy wirusa choroby Newcastle:

a) lentogeniczny szczep B₁ otrzymano z Zakładu Chorób Drobiu Instytutu Weterynarii w Puławach,
b) mezogeniczny szczep Roakin stanowiła seria 30 170 szczepionki „R” produkcji PZPB Biowet Puławy.

Uodpornianie ptaków wykonywano doustnie podając im wirusy rozcieńczone w stosunku 1:750 w wodzie do picia.

Poziom przeciwciał HI określano met. beta z 2 jednostkami HA.

Wyniki i omówienie

Stosowano kilka schematów uodporniania u kurcząt w różnym wieku — poszczególne grupy oznaczano w ten sposób, że liczba przy symbolu

B lub R podaje wiek ptaków (w dniach), w którym otrzymały szczep B₁ lub szczepionkę „R”.

Doświadczenie 1. Grupę 50 kurcząt w wieku 8 dni (odczyn HI ujemny) uodporniono szczepem B₁ — grupa B8. W wieku 24 dni kurczęta podzielono na 2 grupy — 25 ptaków otrzymało szczepionkę „R” — grupa B8+R24, a 25 powtórnie szczep B₁ — grupa B8+B24.

Doświadczenie 2. 75 kurczętom w wieku 14 dni (odczyn HI ujemny) podano szczep B₁ — grupa B14. Następnie, w wieku 31 dni 25 ptaków reowakcynowano szczepionką „R” — grupa B14+R31, 25 szczepem B₁ — grupa B14+B31, a 25 pozostawiono jako kontrolę.

Doświadczenie 3. Użyto 175 kurcząt, którym w wieku 20 dni (odczyn HI ujemny) podano szczep B₁ i oznaczono je jako B20. W określonych odstępach czasu po 2, 17 i 28 dniach reowakcynowano po 25 ptaków z tej dużej grupy szczepem B₁ lub szczepionką „R” i uzyskano następujące grupy pochodne: B20+R22, B20+B22, B20+R37, B20+B37, B20+R48, B20+B48 oraz pozostałą grupę 25 ptaków kontrolnych B20 nie reowakcynowanych.

Zbiórcze ujęcie wyników badań poziomu przeciwciał HI we wszystkich trzech doświadczeniach po pierwszym szczepieniu i po reowakcytacji przedstawia tab. 1. Z zawartych w niej danych wynika, że w stosowanych układach w żadnym z 5 schematów immunizacji również użycie szczepu B₁ nie stworzyło podstawy do

Tab. 1. Średnie geometryczne mian HI kurcząt

Grupa	Wiek ptaków (w dniach)														
	22	28	34	38	38	44	48	51	52	58	62	65	76	79	93
B8+R24	60				37!				21						12
B8+B24	60				50!				21						15
B14+R31		69				32!				15					10
B14+B31		69				40!				23					14
B14		69				24				7					5
B20+R22			63	69!				6							8
B20+B22			63	39!				14							8
B20+R37			63					26!					18		6 8
B20+B37			63					98!					52		7 6
B20+R48			63				26					28!			10
B20+B48			63				26					158!			9
B20			63	63			26	18				16	23		9

Objaśnienie: Wartości z wykrzyknikiem = miana w 14 dni po reowakcytacji.

reakcji anamnesticznej po rewakcytacji szczepionką „R”. Schulze-Rehm i wsp. (13) uzyskali typowy „booster effect” u kurcząt szczepionych B₁ i następnie rewakcytowanych, jednak szczepem LaSota, ponadto w ich badaniach zarówno pierwsze jak i drugie szczepienie wykonywano drogą aerorozolową.

Zastanawiające jest, że mimo uznawanego powszechnie występowania szczepów wirusa rzekomego pomoru drobiu w jednym typie antygenowym (pewne drobne odchylenia sugeruje się tylko przy szczepach VVND₂ ale tych nie dotyczą omawiane wyniki własne i z piśmiennictwa), uzyskanie typowej reakcji anamnesticznej jest trudne i wymaga użycia odpowiedniej pary szczepów i określonego sposobu ich podania. Na immunosupresyjne działanie też innych szczepów omawianego wirusa w stosunku do heterologicznych antygenów wskazują także dane uzyskane przez innych autorów. Medzon i Vas (11) już w 1964 r. stwierdzili metodą izotopową wyraźne hamowanie przez szczep B₁ tworzenia się przeciwciał w zawieszynie komórek śledziony królików uodpornionych albuminą surowicy bydła. Berencsi i wsp. wykazali, że szczep Hertfordshire (H) wprowadzony do otrzewnowo chomikom uodpornionym czerwonymi krwinkami barana, znacznie zmniejsza w ich śledzionie liczbę komórek produkujących przeciwciała dla krwinek, zarówno przy pierwszej (3) jak i drugiej (2) odpowiedzi immunologicznej. Wykazano też hamujący wpływ omawianego wirusa (autorzy nie podali jakiego szczepu) na odpowiedź komórkową u myszy, co wyrażało się opóźnieniem odrzucania przeszczepów (16).

Berencsi i Běládi (2) omawiają na podstawie danych z piśmiennictwa możliwe mechanizmy immunosupresyjnego działania wirusa rzekomego pomoru drobiu a mianowicie — konkurencję antygenów, zmiany recyrkulacji limfocytów pod wpływem neuraminidazy wirusa oraz supresyjne działanie powstającego interferonu na immunologicznie czynne komórki. Autorzy ci analizując własne obserwacje dochodzą do wniosku, że hamowanie reakcji immunologicznej przez omawiany wirus jest prawdopodobnie głównie następstwem działania samego interferonu, a być może także łącznie z neuraminidazą. Jednak rozważania te dotyczą immunosupresyjnego działania wirusa w stosunku do nie namnażających się antygenów heterologicznych, u zwierząt na niego niewrażliwych, a wnioski opierają się na oznaczaniu metodą Jerne'go liczby komórek produkujących przeciwciała *in vitro*, która nie zawsze musi korelować z poziomem przeciwciał wykazywanych serologicznie, co na przykład stwierdzono przy badaniu odporności przeciw pryszczycy (12).

Próba tłumaczenia braku reakcji anamnesticznej w naszych doświadczeniach uszkodzeniem komórek immunologicznych czynnych przez interferon mogłaby wchodzić w rachubę tylko

przy rewakcytacji w dwa dni po pierwszym szczepieniu; na ograniczone w czasie hamujące działanie interferonu wskazują też Berencsi i wsp. (3). Ponadto w poprzednich badaniach własnych (6, 8, 9) z użyciem szczepu LaSota taka przyczyna upośledzenia reakcji humorальной byłaby jeszcze mniej prawdopodobna, gdyż właśnie po rewakcytacji w dwa dni po wstępnym szczepieniu wzrost mian był stosunkowo znaczny, większy niż przy większych odstępach. Co więcej szczep LaSota jest według Lomniczi'ego (10) słabym induktorem interferonu; to ostatnie stwierdzenie należy jednak traktować z pewną ostrożnością, gdyż prawdopodobnie szczepu LaSota wprowadzone przez różne laboratoria uległy wskutek różnych czynników zmianom i mogą wykazywać znaczne różnice szeregu cech biologicznych.

Z uwagi na antygenową homologiczność (w grupach kontrolnych nawet identyczność) szczepów użytych do wstępnego uodporniania i do rewakcytacji, a szczególnie przy dużych odstępach czasowych między nimi, nie można braku reakcji anamnesticznej odnosić do konkurencji antygenowej.

Wpływ wirusa choroby Newcastle na przerwanie recyrkulacji limfocytów wykazano u szczurów (cyt. wg 16) w badaniach wskazujących że to zjawisko a nie niszczenie komórek powoduje szybko limfocytopenię; ulega ona jednak równie szybkoemu, w ciągu 1—2 dni wyrównaniu. A więc nawet przy założeniu identycznego działania wirusa na poziom limfocytów u kur, immunosupresja trwałaby krótko. Ponadto zmiany recyrkulacji dotyczą limfocytów T, które nie mają bezpośredniego wpływu na produkcję przeciwciał; nie stwierdzono też obniżenia poziomu odporności komórkowej w odczynie hamowania migracji leukocytów u kurcząt po rewakcytacji (8).

Niezależnie od poznawczych wartości badań przyczyn trudności uzyskania reakcji anamnesticznej przy szczepieniu przeciw rzekomemu pomorowi drobiu, są one konieczne dla czysto empirycznego opracowania schematu postępowania, zapewniającego solidną i trwałą odporność. Szczepy lentogeniczne, bezpieczne w stosowaniu u nawet bardzo młodych ptaków, chronią je na zbyt krótki czas, mezogenicznych natomiast nie można stosować u młodych ptaków, ale już wrażliwych na zakażenie po utracie odporności przekazanej przez matkę. Ważny jest więc dobór odpowiednich szczepów — lentogenicznego do pierwszego, wstępnego uodpornienia, stwarzającego równocześnie osłonę dla rewakcytacji po optymalnym czasie szczepem bardziej zjadliwym, oraz podstawę do uzyskania reakcji anamnesticznej. Podobne próby stosowania lentogenicznego szczepu LaSota i mezogenicznego szczepu Hertfordshire (H) opisali ostatnio Balla i Vegh (1); jeden ze skutecznych schematów uodpornienia obejmuje podanie szczepu LaSota w wieku 10—14 dni i podskór-

na rewakcyjnację szczepem H w wieku 4—5 miesięcy. Wadę w masowym stosowaniu stanowi parenteralna aplikacja szczepu H. Dążyć należy do użycia takich szczepów mezogenicznych, których podanie w sposób prosty, na przykład z wodą do picia, daje również dobre efekty, co wykazano dla szczepu Roakin (5, 15).

Piśmiennictwo

1. Balla L., Vegh L.: Magy Allatorv. Lap. 31, 731, 1976, ref. Virology Abstr. 10V4130, 1977.
2. Berencsi K., Béládi I.: Acta virol. 21, 296, 1977.
3. Berencsi K., Béládi I., Juhász A.: Z. Immun.-Forsch. 147, 441, 1974.
4. Ghumman J. S., Wiggins A. D., Bankowski R. A.: Avian Dis. 20, 1, 1976.
5. Kozicki J.: Materiały Naukowe I Krajowego Sympozjum Wirusologicznego w Kazimierzu Dolnym, str. 57, 1972.
6. Larski Z.: Medycyna Wet. 31, 517, 1975.
7. Larski Z.: Materiały Naukowe III Krajowego Sympozjum Wirusologicznego w Lublinie, str. 35, 1977.
8. Larski Z., Grabowska G., Spöhr de Faúndez I.: Medycyna Wet. 33, 133, 1977.
9. Larski Z., Grabowska G., Wiśniewski J.: Medycyna Wet. 32, 399, 1976.
10. Lomniczi B.: J. gen. Virol. 21, 305, 1973.
11. Medzon E. L., Vas S. I.: Canad. J. Microbiol. 10, 535, 1964.
12. Reda L., Wittmann G., Skoda R.: Z. Immun.-Forsch. 148, 119, 1974.
13. Schulze-Rehm G., Monreal G., Kraft V.: Zbl. Vet. Med. 21B, 489, 1974.
14. Spalatin J., Turner A. J., Hanson R. P.: Avian Dis. 20, 361, 1976.
15. Wiśniewski J.: Zesz. Nauk. ART w Olsztynie, Weterynaria 3, 3, 1974.
16. Woodruff J. F., Woodruff J. J.: Infect. Immun. 9, 969, 1974.

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

Лярский З. — Применение штаммов В₁ и Roakin для двухступенной пероральной иммунизации цыплят против азиатской чумы кур.

Применение 5 схем иммунизации с использованием штамма В₁ вместо LaSota в двухступенной пероральной иммунизации цыплят не создало основания для анамнестического ответа после ревакцинации мезогеническим штаммом Roakin. В таб. 1 числа при символах В и R обозначают возраст птиц в дни, когда они иммунизировались штаммом В₁ или Roakin.

Рассмотрены до сих пор проведенные собственные исследования и других авторов, касающиеся иммуносупрессивного действия вируса азиатской чумы птиц (болезни Newcastle).

Larski Z. — The use of В₁ and Roakin strains in the two stage immunization of chickens against Newcastle Disease.

The use of five schemes of immunization with application of В₁ instead of LaSota strain in the two-stage immunization of chickens against Newcastle Disease did not create the basis for anamnestic response in chickens after revaccination with mesogenic Roakin strain. In table 1, the numbers at symbols В and R indicate the age in days at which the birds were vaccinated with strains В₁ or Roakin respectively. The results we have obtained hitherto and the data of other authors concerning the immunosuppressive effect of Newcastle Disease Virus have been discussed.

BENEDYKT MUSIELAK, BOGNA GONDEK
Gdańsk

Choroba Mareka w fermach drobiu woj. gdańskiego

Od dłuższego czasu w wielu krajach świata w fermach drobiu grzebiącego, prowadzonych metodą intensywną, notowana jest choroba Mareka w postaci ostrej. Czynnikiem chorobotwórczym jest wirus z grupy *Herpes* (cyt. za 13), który bardzo silnie namnaża się w brodawkach piór i znacznie rozprzestrzenia się szczególnie w silnie zakurzonych pomieszczeniach drobiarskich. W pyłe i kurzu w halach produkcyjnych wirus choroby Mareka przez szereg miesięcy zachowuje zdolność namnażania i zakażenia ptaków (1, 3, 10, 13). Najbardziej wrażliwe na zakażenie są ptaki młode w wychowie, aż do pierwszych miesięcy nieśności. Ogólnie stwierdza się, że wirus choroby Mareka nie przenosi się przez jaja wylęgowe, ale zakażenie piskląt i kurcząt w pierwszych dniach życia jest wyjątkowo niebezpieczne (3, 4, 10).

Zmiany nowotworowe mogą występować w narządach już w 5 tyg. życia ptaków, ale dopiero w wieku 8—12 tygodni obserwuje się kliniczne objawy choroby. W narządach zmienionych stwierdza się jasne, słoninowate wybijalności i nadmierną ilość limfocytów. Badaniem serologicznym krwi można wykryć zakażenie nawet u ptaków pozornie zdrowych (8, 10).

Wobec braku skutecznych metod leczenia całej ciężar zwalczania choroby przerzucony został na szczepienia ochronne piskląt jednodniowych.

W praktyce do szczepień używane są 2 rodzaje szczepionek. Szczepionka płynna zawierająca wirus związany z komórką, przechowywana w płynnym azocie w temp. — 190°C i szczepionka liofilizowana, w której wirus uwolniony jest od komórki i szczepionka ta może być przechowywana w temp. +4°C. Awizowana w 1975 r. metoda aerozolowego szczepienia piskląt nie została jeszcze szerzej rozpowszechniona (9, 11, 12, 13, 17).

Po trzyletnim okresie przeprowadzanych szczepień na terenie przez siebie obsługiwanym autorzy niniejszego artykułu postanowili przeanalizować wyniki zwalczania choroby Mareka w fermach zorganizowanych.

Obserwacje własne

Do 1972 r. na terenie woj. gdańskiego w fermach drobiu grzebiącego w chowie ekstentynym spotykano jedynie pojedyncze przypadki choroby Mareka w postaci klasycznej neurolimfomatozy. Nie obserwowano trzewiowej, ostrej postaci tej choroby. Problem ten powstał z chwilą znacznego wzrostu liczby dużych ferm kur nieśnych w chowie intensywnym — bezwybiegowym. Wyniki zachorowań, zmian nowotworowych i strat spowodowanych ostrą postacią trzewiową choroby Mareka w latach 1972—