

TADEUSZ DZIDO
Chodzież

Badania nad doustnym uodparnianiem kur w różnym wieku przeciw ospie atenuowanemu szczepem HP-1

Rozwijająca się wielkostadna hodowla drobiu zmusza do poszukiwania prostych, szybkich i mniej pracochłonnych sposobów uodparniania ptaków. Jedną z nich jest podawanie szczepionki z wodą do picia. Ta droga uodparniania eliminuje reakcje poszczepienne w przeciwieństwie do stosowanej w kraju metody doskórnej. Podawany doustnie antygen pobudza komórki plazmatyczne podśluzówki do wytwarzania przez nie miejscowych przeciwciał. Wprowadzony w ten sposób do organizmu ptaka, żywy, o osłabionej zjadliwości wirus stymuluje pojawianie się odporności czynnej trwającej różny okres czasu. Droga *per os* stwarza możliwość uodparniania we wczesnym okresie życia ptaków, oraz zmniejsza niebezpieczeństwo alergii w przypadku powtórnych szczepień.

W pierwszych pracach dotyczących profilaktyki swoistej ospy zalecano uodparnianie doskórne uważając, że jedynie ta droga zapewni uzyskanie należytej odporności. Po dokładnym poznaniu patogeny ospy kur stwierdzono, że w wyniku naturalnego zakażenia dochodzi do namnażania się wirusa w układzie siateczkowo-śródbłonkowym, wątrobie i szpiku kostnym, a nie jak przypuszczano tylko w skórze, a następnie wirerii prowadzącej do generalizacji. Skłoniło to wielu autorów do wypróbowania innych dróg uodparniania i okazało się, że cechująca się dobrymi właściwościami immunogennymi szczepionka daje dobrą odporność tak przy podaniu doskórnym, jak i doustnym.

Stosowane w kraju szczepionki przeciwko ospie to liofilizowane zawiesiny błon kosmówkowo-omoczniovych zarodków kurzych z namnożonym żywym, niezjadliwym szczepem wirusa ospy ptaków, wyisobnionym od indyków (Poxvac I), bądź zliofilizowaną zawiesiną błon kosmówkowo-omoczniovych zarodków kurzych z namnożonym żywym, niezjadliwym szczepem wirusa ospy gołębiej (Poxvac K). Zarówno jedna jak i druga szczepionka heterologiczna stosowana jest u kur w wieku powyżej 8 tygodnia życia w postaci szczepień indywidualnych doskórnych w odsłonięte brodawki piór.

Intensywny rozwój produkcji drobiarskiej, tworzenie dużych ferm i kombinatów uzasadniały podjęcie pracy, której celem było opracowanie metody przydatnej do masowej profilaktyki ospy kur. W pracy postanowiono prześledzić skuteczność doustnej drogi uodparniania szczepem atenuowanym. W badaniach tych uwzględniono prace autorów (1, 2, 3, 7, 8), którzy uzyskali zachęcające wyniki po doustnym uodparnianiu ptaków szczepionką opartą na żywym atenuowanym szczepie wirusa ospy kur.

Materiał i metody

Do badań użyto szczep wirusa kur HP-1 atenuowany przez Mayra w hodowli komórek zarodka kury pasaż 324 o mianie $10^{-8}ID_{50}$. Szczep ten namnażano na 24-godzinnych hodowlach komórek 9–10 dniowych zarodków kury. Płyn wzrostowy składał się z 90% płynu Earle'a z 0,5 dodatkiem hydrolizatu laktoalbuminy oraz 10% inaktywowanej surowicy cielęcej, penicyliny krystalicznej w ilości 50 j/ml oraz streptomycyny 50 mg/ml. W skład płynu utrzymującego wchodził płyn Earle'a z dodatkiem 0,5 hydrolizatu laktoalbuminy, surowicy cielęcej 2% oraz antybiotyków jak poprzednio. Zbiórki wirusa dokonywano 4–5 dnia w okresie 80% zniszczenia komórek. Hodowlę z płynem utrzymującym 3-krotnie zamrażano i odmrażano, następnie wirowano przez 15 minut przy 3000 obr/min. w celu oddzielenia reszty komórkowej. Supernatant stanowił wyjściowy materiał wirusowy, który przechowywano w temperaturze $-20^{\circ}C$. Do zakażeń kontrolnych ptaków uodpornionych i kontrolnych użyto zjadliwego szczepu „Schönwalde-Desseau” z NRD, 9 pasaż skóry o mianie $10^{-8}ID_{50}$. Do badań używano kurcząt typu mięsnego Hybro sprovedzonych do kraju z fermi Eurybryd. Uodparnianie ptaków wykonywano wg następującego układu.

Grupie pierwszej w wieku 5 dni podano z wodą do picia 10 ml szczepionki rozcieńczonej w stosunku 1:50 na ptaka i powtórnie w wieku 26 dni 40 ml w dawce dobowej wody. Zakażenie kontrolne przeprowadzono w wieku 54 dni metodą doskórna, donosową i kontaktową. Metoda doskórna polegała na wtarciu w odsłonięte brodawki piór po zewnętrznej stronie uda 0,1 ml zjadliwego wirusa. Donosowo zakażano przez wkroplenie do otworów nosowych 0,2 ml wirusa zjadliwego rozcieńczonego w wodzie w stosunku 1:10. Zakażenie kontaktowe polegało na umieszczeniu w grupie badanych ptaków 10 kur w tym samym wieku z objawami uogólnionej ospy po zakażeniu wirusem zjadliwym.

W grupie drugiej kurczętom w wieku 3 tyg. podano w dawce dobowej wody 40 ml rozcieńczonej 1:50 szczepionki oraz powtórnie w wieku 6 tyg. 80 ml na ptaka. Zakażeniu kontrolnemu poddane zostały ptaki w wieku 10 tyg. przez dożylną wprowadzenie do żyły jarmowej 200 ID_{50} wirusa zjadliwego w ilości 0,05 ml w 20-krotnym rozcieńczeniu.

Grupa trzecia odpowiadała wiekowo grupie poprzedniej. Kurczętom podano indywidualnie doustnie strzykawką bez igły 0,4 ml szczepionki w rozcieńczeniu 1:10 w wodzie. Zakażenie kontrolne przeprowadzono w wieku 10 tygodni metodą dożylną, dawką wirusa jak w doświadczeniu drugim.

Grupa czwarta obejmowała kurczęta, którym w wieku 3 tygodni podano w dawce dobowej wody 40 ml szczepionki oraz powtórnie w wieku 9 tyg. 120 ml na ptaka. Zakażano również metodą dożylną w wieku 13 tyg. życia.

Grupę piątą stanowiły ptaki, którym w wieku 3 i 9 tygodni podano szczepionkę indywidualnie doustnie strzykawką bez igły w ilości 0,4 ml w rozcieńczeniu 1:10 w wodzie. Zakażenie kontrolne metodą dożylną jak w doświadczeniu drugim.

Okres obserwacji ptaków po zakażeniu dożylnym, doskórnym i donosowym wynosił 21 dni, a przy zakażeniu kontaktowym 40 dni. Celem określenia czasu odporności u kurcząt szczepionych w wieku 5 i 26 dni po 8 mies. od rewakcynacji wykonano odczyn seroneutralizacji metodą beta na 11-dniowych zarod-

kach kury. Mianowanie surowic wykonano w dwukrotnych wzrastających rozcieńczeniach, każdorazowo w stosunku do 100 LD₅₀ w pięciu rozcieńczeniach. Na każde rozcieńczenie użyto cztery zarodki.

Kontrolę biologiczną przez zakażenie dożylnie i doskórnie wykonano na 30 kurach w 9 miesięcy po rewakcytacji. Kryterium oceny odporności stanowiła lokalizacja, nasilenie i generalizacja procesu chorobowego. Za reakcję dodatnią (zakażenie zjadliwym wirusem ospy) przyjmowano wystąpienie zarówno zmian głęboko osadzonych, jak i powierzchniowych tzn. na skórze, błonach śluzowych i kończynach bez względu na ilość i ich jakość. O odporności nabytej świadczył brak zmian ospowych w zakresie skóry i błon śluzowych; po zakażeniu kontrolnym u pojedynczych ptaków uodpornionych obserwowano reakcję uczuleniową określaną przez Mayra jako reakcja szybka. Cechowała się ona lekkim przebiegiem, pojawianiem się rozrostów grudkowych na 2—5 dzień po zakażeniu kontrolnym oraz szybkim zanikaniem w 5—8 dniu po zakażeniu. Brak było charakterystycznych strupów ospowych.

Wyniki i omówienie

Wynik uodparniania doustnego z wodą do picia przeciwko ospie kur szczepionką podawaną dwukrotnie u kurczątków 5- i 26-dniowych, 3-, 6- oraz 3-, 9-tygodniowych przedstawiono w tab. 1. Wyniki utrzymywania się odporności po 9 mies. od rewakcytacji obrazuje tab. 2.

Dwukrotne podanie z wodą do picia atenuowanej szczepionki przeciwko ospie kurczątkom w wieku 5 i 26 dni chroniło 80—100% przed zakażeniem zjadliwym wirusem ospy. Przygotowana szczepionka okazała się nieszkodliwa dla 5-dniowych piskląt, a po rewakcytacji w 26 dniu zapewniła dobrą odporność. Średnie miana przeciwciał w badanych próbach krwi po 9 miesiącach od uodpornienia kształtowały się od 12,14 do 36,36 obliczonych wg tablic Karber.

Tab. 1. Kształtowanie się odporności po doustnym podaniu szczepionki przeciwko ospie u kur w różnym wieku

Grupa	Liczba ptaków	Uodparnianie		Zakażenie kontrolne					% ptaków odpornych
		droga	dawka	wiek	droga zakażenia	dawka	reakcja uczuleniowa	zachorowało	
Uodparnianie w wieku 5 i 26 dni									
1	30	woda do picia	10—40 ml	54 dni	doskórnie	0,1 ml	5	2	93,3
	30	"	"	"	donosowo	0,2 ml	5	1	96,6
	30	"	"	"	kontaktowo	—	—	—	100,0
Kontrolna	23	—	—	"	doskórnie	0,1 ml	—	27	3,6
	29	—	—	"	donosowo	0,2 ml	—	27	6,9
	29	—	—	"	kontaktowo	—	—	11	62,1
Uodparnianie w wieku 3 i 6 tygodni									
2	24	" doustnie	40—80 ml	10 tyg	dożylnie	0,05 ml	3	—	100,0
3	25		0,4 ml	"	"	"	2	1	96,0
Kontrolna	15	—	—	"	"	"	—	15	0,0
Uodparnianie w wieku 3 i 9 tygodni									
4	25	woda do picia	40—120 ml	13 tyg	dożylnie	0,05 ml	—	2	92,0
5	24	doustnie	0,4 ml	"	"	"	—	3	87,5
Kontrolna	15	—	—	"	"	"	—	15	0,0

Tab. 2. Wyniki zakażenia kontrolnego kur uodpornionych doustnie w wieku 5 i 26 dni atenuowaną szczepionką przeciwko ospie kur

Grupa	Liczba ptaków	Uodparnianie		Zakażenie kontrolne					% ptaków odpornych
		Droga	Dawka	Wiek	Droga zakażenia	Reakcja uczuleniowa	Zachorowało	Dawka	
1	15	woda do picia	10—40 ml	10 m-c	dożylnie	—	3	0,05 ml	80,0
Kontrolna	15	"	"	"	doskórnie	—	2	0,2 ml	86,6
	10	—	—	"	dożylnie	—	10	0,05 ml	0,0
"	10	—	—	"	doskórnie	—	10	200 ID ₅₀	0,0
"	10	—	—	"	doskórnie	—	10	0,2 ml	0,0

Fakt, że po szczepieniu ptaki wykazywały stosunkowo niskie miana SN, a mimo to okazały się niewrażliwe na zakażenie, można tłumaczyć tym, że odporność przy ospie ma charakter odporności tkankowej, a w mniejszym stopniu humoralnej. Potwierdzeniem była odporność na zakażenie dożylnie w 80%, a na zakażenie do skórne w 86,6% po 9 miesiącach po rewakcytacji.

Szczepionka podana kurczętom w wieku 5 i 26 dni, 3, 6 oraz 3, 9 tygodni nie dawała żadnych objawów choroby poszczepionkowej na skórze oraz nieopierzonych częściach głowy. Podanie szczepionki w dawce dobowej wody bez uprzednio wymuszonego pragnienia nie prowadziło do powstawania stresu u uodparnianych ptaków. Po wejściu wszystkich ptaków z poszczególnych grup doświadczalnych w okres nieśności nie obserwowano obniżenia produktywności, wylęgowości czy też zaburzeń w rozwoju piskląt pochodzących z jaj od kur uodparnianych atenuowaną szczepionką podawaną z wodą do picia. Wyniki potwierdziły badania innych autorów (3, 4, 5, 6, 8, 9, 10). Szczepionka oparta o atenuowany homologiczny szczep wirusa ospy kur od kilku lat stosowana jest masowo w RFN.

Przedstawione wyniki badań wskazują na celowość wprowadzenia w kraju doustnej metody uodparniania ptaków przeciwko ospie szczepionką atenuowaną.

Wnioski

1. Dwukrotne doustne podanie do picia homologicznej szczepionki przeciwko ospie kur rozcieńczonej w stosunku 1:50 u kurcząt 5 i 26 dniowych, 3, 6 oraz 3, 9 tygodniowych chroni 92 do 100% ptaków przed zakażeniem zjadliwym homologicznym szczepem w dawce 200 ID₅₀.

2. Po dwukrotnym indywidualnym doustnym podaniu szczepionki rozcieńczonej 1:10 w dawce 0,4 ml stwierdzono u 87,5—96% ptaków odporność na zakażenie kontrolne.

3. Odporność czynna nabyta po doustnym podaniu szczepionki z wodą do picia, kurczętom w wieku 5 i 26 dni utrzymuje się przez okres co najmniej 9 miesięcy.

Piśmiennictwo

1. Barendale W.: Vet. Rec. 88, 5, 1971.
2. Cunningham C. H.: Avian Pox. In Diseases of Poultry 6 th Ed. Edited by M. S. Hofstad. Iowa State University Press, Ames, J. A. 1972.
3. Danner K., Mayr A.: Zbl. Vet-Med. B 19, 609, 1972.
4. Garg S. K., Sethi M. S., Negi S. K.: Ind. Vet. 45, 713, 1968.
5. Hochstein — Mintzel V.: Zbl. Bakt. Hyg. B 1, 159, 1972.
6. Kawashima H., Tanaka T., Nishimura V.: J. jap. vet. Med. Ass. 19, 253, 1966.
7. Malicki K.: Zycie Wet. 7, 201, 1967.
8. Mayr A., Rath M., Danner K.: Zbl. Vet.-Med. B 18, 441, 1971.
9. Mayr A., Mahnel H., Munz E.: Zbl. Vet-Med. 19 B, 69, 1972.
10. Menasce I.: Vet. Ital. 19, 495, 1968.

Adres autora: dr Tadeusz Dzido, ul. H. Sawickiej 1, 64-800 Chodzież.

Dzido T. — Исследования по пероральной иммунизации кур разного возраста против оспы аттенюированным штаммом HP-1.

Цыплятам в возрасте 5 и 26 дней, 3, 6 и 3, 9 недель была введена двукратно в двухнедельных перерывах с водой для питья аттенюированная вакцина, приготовленная из вируса оспы кур HP-1 в разбавлении 1:50. Контрольному заражению птицы подвергались через 4 недели после второй иммунизации вирулентным вирусом контактовым, внутриносовым, внутрикожным и внутривенными методами. Вакцинация обеспечивала иммунитет в пределах 80—100%. Иммунитет после введения вакцины с водой для питья в возрасте 6 и 26 дней удерживался 9 месяцев (время опыта) в 80—86,6%. Способ пероральной иммунизации вакциной, опирающейся на штамм HP-1 вируса оспы кур, обеспечивает эффективный и продолжительный иммунитет.

Dzido T. — Vaccination of hens of various age against pox with an attenuated strain HP-1.

Chickens, aged 5-26 days, 3, 6 and 3, 9 weeks were given a vaccine orally diluted 1:50 with water two weeks apart; it was prepared of an avipoxvirus HP-1. Four weeks after the second dose of the vaccine the birds were challenged with a virulent strain given intranasally, intradermally, intravenously or by direct contact. The vaccination protected the animals within the range of 80-100%. The immunity within 80-86.6% lasted for 9 months when the vaccine was administered at the age of 5-26 days per os. The route of oral application of the vaccine based on the strain HP-1 makes sure an effective and long-lasting immunity.

GORDON L. M.: Izolacja *Leptospira interrogans* serovar. hardjo od owiec. (Isolation of *Leptospira interrogans* serovar. hardjo from sheep.) Aust. vet. J. 56, 348—349, 1980 (7).

W maju 1979 r. w stadzie owiec na terenie Wiktorii (Australia) wystąpiły nagłe padnięcia. Badanie serologiczne krwi w odczynie mikroskopowej aglutynacji wykazało obecność swoistych przeciwciał dla *Leptospira hardjo* w mianie 64—256 przy braku przeciwciał dla *L. pomona*, *L. tarassovi* i *L. icterohaemorrhagiae*. Zmiany pośmiertne u padłych sztuk wskazywały na zakażenie leptospirami. W korze nerek występowały liczne cysty o średnicy 1—5 mm, ogniskowe chroniczne zapalenie dróg żółciowych. Z nerek dwóch owiec wyosobniono leptospiry, które zaliczono w oparciu o wyniki badań serologicznych do odmiany serologicznej hardjo.

G.

MC. DONALD J. S., RICHARD J. L., ANDERSON A. J., FICHTNER R. E.: In vitro wrażliwość drożdżaków wyizolowanych z zakażonego gruczołu mlekowego krów na środki przeciwgrzybicze. (The in vitro antimycotic sensitivity of yeasts isolated of infected bovine mammary gland). Am. J. vet. Res. 41 — 1987—1990, 1980 (12).

Oznaczono wrażliwość 91 szczepów drożdżaków wyizolowanych z gruczołu mlekowego krów na amfoterycynę B, clotrimazole, ketoconazole, nystatynę, myxynę, micronazole, 5-fluorocytozynę. Badane szczepy były najbardziej wrażliwe na clotrimazole następnie ketoconazole, nystatynę, i amfoterycynę B, najmniej na 5-fluorocytozynę. Aż 85,7% szczepów *Candida lusitanae* była wrażliwa na badane preparaty przeciwgrzybicze. Najmniej wrażliwe na badane preparaty były szczepy *Candida rugosa*.

G.