

pał do pracy. W wysokim stopniu posiadał umiejętność kierowania pracą innych — rzecz wydawałoby się prosta, gdy się o tym czyta, a jednak jest sztuką, kluczem do powodzenia. Brak jej powoduje często niepomyślne rezultaty w pracy nawet u ludzi bardzo wybitnych.

Profesor posiada nie tylko głęboką intuicję naukową, ale błyskotliwy zmysł kojarzenia faktów i budowania z nich oryginalnych koncepcji. Jest wrogiem wszelkich form nieporządku, chaoty czności i rozproszenia w pracy, a uosobieniem rzeczowości i koncentracji. Rzetelność i ostrożność w wysuwaniu wniosków naukowych wzbudza szacunek do Jego osoby. Głęboko waży mówione i pisane słowo, stąd każda Jego wypowiedź niesie z sobą niezmierną wagę i konsekwencję.

Jest człowiekiem wyjątkowo skromnym, bardzo mądrym życiowo, wrażliwym, o wielkim takcie i kulturze osobistej. Cechuje Go życzliwość i serdeczność w obcowaniu z ludźmi. Należy do liczby uczonych, którzy łączą umiłowanie przyrodnicze z najgłębszym humanizmem. Posiada rozległą wiedzę i szerokie zainteresowania daleko wychodzące poza wybraną specjalność.

Wydaje się, że przyczyn tak bogatej, wszechstronnej, wielokierunkowej i wielopłaszczyznowej działalności prof. A. Stryszaka należy szukać w osobowości, w której skojarzyły się racjonalizm i przenikliwość badacza z pasją społecznika i humanisty, w której obok krytycznego spojrzenia naukowca przebijają wyjątkowa życzliwość do ludzi i przywiązanie do ziemi, z której pochodzi.

PUBLIKACJE POŚWIĘCONE PRZEZ AUTORÓW PROF. DR HABIL. ABDONOWI STRYSZAKOWI — W ZWIĄZKU Z 50-LECIEM JEGO DZIAŁALNOŚCI NAUKOWEJ I DYDAKTYCZNEJ

JERZY KITA, JANINA OYRZANOWSKA-POPLEWSKA, JAN PRANDOTA

Immunogenność i skuteczność prototypowej atenuowanej szczepionki przeciw zakaźnemu zapaleniu nosa i tchawicy oraz otrętwi bydła IBR/IPV

Katedra Epizootologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
ul. Grochowska 272, 03-846 Warszawa

Przedstawiona praca stanowi kontynuację poprzednich badań (4), podjętych w celu opracowania krajowej, atenuowanej szczepionki przeciw zakaźnemu zapaleniu nosa i tchawicy oraz otrętwi bydła. Otrzymała ona nazwę „Ribovac”.

Celem niniejszej pracy było ustalenie wpływu różnych dawek prototypu szczepionki „Ribovac” na odpowiedź immunologiczną szczepionych zwierząt przy zachowaniu jednakowego schematu uodpornienia, porównanie odpowiedzi humoralnej i komórkowej, porównanie odpowiedzi immunologicznej szczepionki „Ribovac” i szczepionki odniesienia produkcji NRD, ustalenie transmisji wirusa szczepionki na podstawie wyniku zakażenia szczepem challengeowym.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w dwóch obiektach hodowlanych:

a) wychowalnia cieląt, licząca 183 sztuki w wieku

4 — 10 tygodni; zwierzęta pochodziły wyłącznie ze skupu, szczepieniem objęto 90 cieląt, z których 40 stanowiło ścisłą grupę doświadczalną,

b) Państwowe Gospodarstwo Rolne, w którym obśada zwierząt własnej hodowli wynosiła 64 sztuki w wieku 6 — 12 tygodni; z liczby tej 32 sztuki poddano szczepieniu.

Szczepem wyjściowym do produkcji szczepionki „Ribovac” był atenuowany, krajowy szczep wirusa zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła B-184/PL. Szczep namnażano w hodowli komórek nerki zarodkowej bydła (hknzb). Hodowlę komórek przygotowywano według metody ogólnie przyjętej w pracowniach wirusologicznych. Zbioru wirusa dokonywano 48 godzin po zakażeniu. Płyn zebrany z hodowli trzykrotnie zamrażano i odmrażano, rozlewano do butelek i przechowywano w temp. -20°C . Każdą serię szczepionki sprawdzano na jałowość. Miano wirusa w poszczególnych seriach szczepionki obliczane według metody Karbera wynosiło $16^{6.2}$ TCID₅₀/ml.

Poziom przeciwiiał w surowicy krwi i śluzie nosa dla wirusa IBR określano odczynem seroneutralizacji (SN). Krew i wymazy z nosa pobierano przed każdym szczepieniem oraz 2 tygodnie po szczepieniu. Odczyn SN wykonywano metodą alfa używając 10-krotne rozcieńczenia wirusa oraz równą objętość surowicy

lub śluzu nosa w rozcieńczeniu 1:10. Miano surowicy podano w logarytmach indeksu neutralizacji (lg IN). Odporność komórkową badano odczynem zahamowania migracji leukocytów krwi obwodowej. Krew do badań pobierano przed uodpornieniem oraz 1 i 2 tygodnie po I i II szczepieniu. Zawiesinę leukocytów uzyskiwano wg metody Moreno-Lopez (3). Test zahamowania migracji wykonywano wg własnej modyfikacji metody Soborga (6). Jako antygen używano namnożonego metodą rotacyjną w tknzb wirusa IBR celem uzyskania wyższej jego koncentracji. Miano wirusa wynosiło $10^{6.2}$ TCID₅₀/ml. We wstępnych próbach określano miano wirusa, które nie wywoływało migracji leukocytów pobranych przed uodpornieniem. W próbach kontrolnych dodawano odpowiedni dodatek płynu z nad nie zakażonej hodowli komórkowej.

Strefy migracji odrysowywano na kalce technicznej z ekranu mikroskopu projekcyjnego, wycinano i ważono. Indeks migracji (IM) wyrażony w procentach obliczano wg wzoru:

$$IM = \frac{\text{migracja w płynie odżywczym zawierającym antygen}}{\text{migracja w płynie odżywczym bez antygeny}} \times 100$$

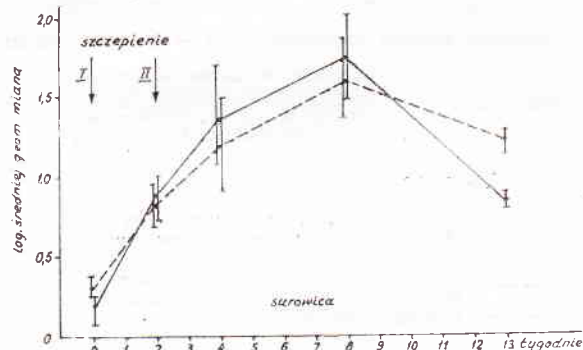
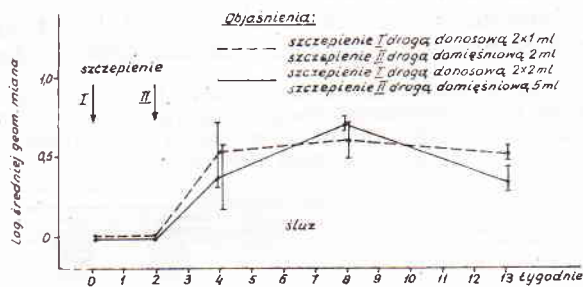
Cielęta zakażano szczepem challengowym wirusa IBR o mianie $10^{4.2}$ TCID₅₀/0,2 ml dotchawicowo i dożylnie.

Badania prowadzono w 6 grupach cieląt. Trzy pierwsze grupy po 10 zwierząt szczepiono dwukrotnie w odstępach dwutygodniowych różnymi dawkami szczepionki donosowo i domięśniowo. Grupa 1 i 2 otrzymała szczepionkę „Ribovac”, grupa 3 szczepionkę odmieszenia produkcji NRD. Grupa 4 liczyła 12 cieląt nie szczepionych, u których badano transmisję wirusa w wyniku kontaktu z grupą zwierząt szczepionych oraz poziom przeciwciał we krwi i śluzie nosa. Wymazy do izolacji wirusa pobierano 2, 4, 6, 10 i 14 dnia po szczepieniu. Grupa 5 liczyła 5 cieląt, u których badano odpowiedź komórkową i humorálną na wprowadzony bodziec antygenowy. Grupa 6 liczyła 3 cielęta uodpornione i 2 kontrolne. W 4 tygodnie po uodpornieniu cielęta zakażono dotchawicowo i dożylnie wirusem IBR w dawce po 2,5 ml.

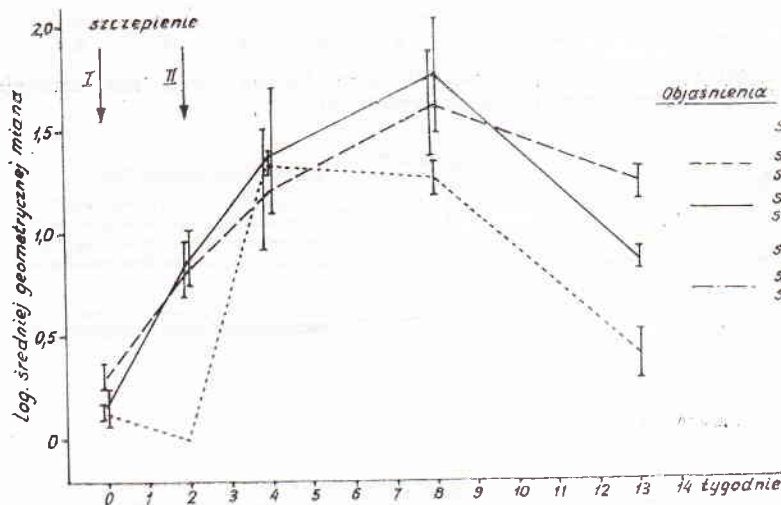
Wyniki i omówienie

Otrzymane wyniki podano graficznie na ryc. 1—5 i w tab. 1.

W grupie 1 i 2 po zastosowaniu różnych dawek szczepionki nie wykazano różnic w poziomie przeciwciał w surowicy krwi. Miana surowicy obu grup wykazywały tendencję wzrostową, a po 11 tygodniach od II szczepienia obserwowano nieznaczny ich spadek (ryc. 1). Przeciwciała w śluzie nosowym w rozpatrywanych grupach pojawiły się dopiero po II szczepieniu i utrzymywały się przez cały czas trwania doświadczenia. W grupie 3 uodpornionej szczepionką produkcji NRD przeciwciała w surowicy stwierdzono dopiero po 2 tygodniach (ryc. 2), a w śluzie nosa po 6 tygodniach po II szczepieniu. Wyniki transmisji wirusa



Ryc. 1. Logarytm średniej geom. miana przeciwciał w surowicy krwi i śluzie nosowym po szczepieniu donosowym i domięśniowym prototypem szczepionki krajowej



Objaśnienia:
 - - - - - szczepionka polska JBR
 - - - - - szczepienie I drogą donosową 2x1 ml
 - - - - - szczepienie II drogą domięśniową 2 ml
 - - - - - szczepienie I drogą donosową 2x2 ml
 - - - - - szczepienie II drogą domięśniową 5 ml
 - - - - - szczepionka NRD
 - - - - - szczepienie I drogą donosową 2x2 ml
 - - - - - szczepienie II drogą domięśniową 2 ml

Ryc. 2. Logarytm średniej geom. Miana przeciwciał w surowicy krwi cieląt po szczepieniu donosowym i domięśniowym szczepionką IBR w odniesieniu do szczepionki NRD

w grupie 4 przedstawia ryc. 3. U cieląt nie szczepionych, przebywających w bezpośrednim kontakcie ze zwierzętami szczepionymi donosowo, wirus szczepionkowy izolowano od 4 do 10 dnia, po uodpornieniu domięśniowym tylko 6 dnia. Wyniki izolacji wirusa IBR od cieląt szczepionych donosowo i domięśniowo szczepionką krajową i produkcji NRD ilustruje ryc. 4. U cieląt uodpornionych donosowo szczepionką krajową wirus izolowano od 2 do 10 dnia, a po szczepieniu domięśniowym 6 dnia. Natomiast w grupie cieląt uodpornionych donosowo szczepionką produkcji NRD wirus izolowano od 2 do 10 dnia, po uodpornieniu domięśniowym — 4 dnia. Zachowanie się przeciwciał w surowicy i śluzie nosowym cieląt nie szczepionych grupy 4 przedstawia ryc. 5. Zarówno w surowicy jak i w śluzie nosowym wyższy poziom przeciwciał występuje po kontakcie z cielętami otrzymującymi wyższe dawki szczepionki.

Wyniki grupy 5 zestawiono w tab. 1. Średni poziom przeciwciał w surowicy krwi 2 tygodnie po I szczepieniu wynosił 1,48 lg ś.g., zaś 2 tygodnie po II szczepieniu — 2,5. Immunologiczna odpowiedź komórkowa po donosowym podaniu szczepionki pojawiła się u 4 spośród 5 uodpornionych cieląt. U pierwszego cielęcia zahamowanie migracji leukocytów wy-

stało po I szczepieniu, u 3 pozostałych 2 tygodnie po II szczepieniu. Odpowiedź humoralna po szczepieniu donosowym kształtowała się na poziomie 1,5 lg ś.g., a 2 tygodnie po II szczepieniu wynosiła 2,5 lg ś.g. Challenge wirusa IBR przeprowadzono w grupie 6. Trzeciego dnia po zakażeniu u cieląt kontrolnych stwierdzono wzrost ciepłoty wewnętrznej ciała (40,5°C i 40,7°C), przyspieszony oddech, surowiczy wypływ z nosa, obniżony apetyt i posmutnienie. Czwartego dnia po zakażeniu przystąpiono do leczenia zwierząt. U cieląt szczepionych nie stwierdzono żadnych objawów klinicznych choroby.

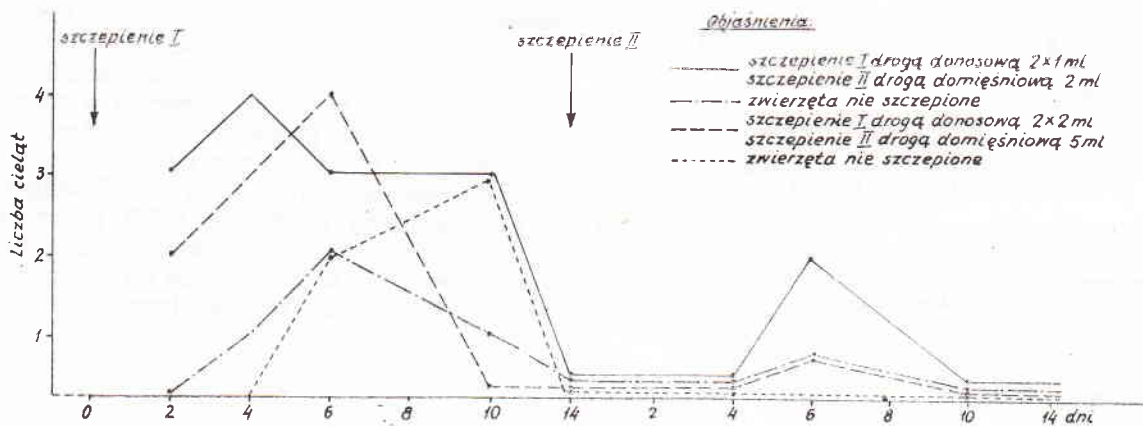
Odpowiedź humoralna w grupie 1 i 2, przy różnicowanych dawkach donosowych i do-

Tab. 1. Wyniki odczynu hamowania migracji leukocytów krwi obwodowej cieląt uodpornionych atenuowaną szczepionką przeciw wirusowi IBR (procent migracji/procent hamowania)

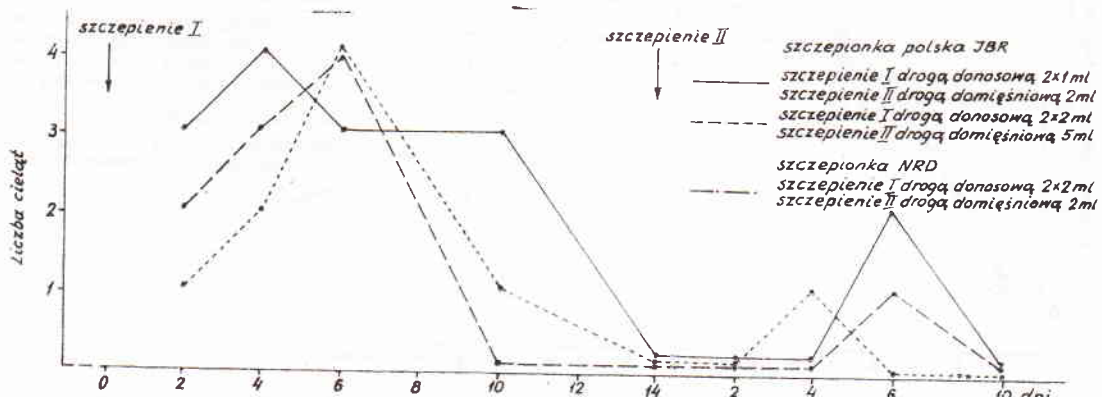
Nr cielęcia	Termin badania					
	przed szczepieniem	7 dni po I szczepieniu	2 tyg po I szczepieniu	7 dni po II szczepieniu	2 tyg po II szczepieniu	
1	110/-10	94/4	72/28	46/54	70/30	
2	117/-17	97/3	110/-10	105/-5	56/44	
3	104/-4	100/0	117/-17	113/-13	109/-9	
4	112/-12	116/-16	108/-8	118/-18	75/25	
5	103/-3	108/-8	118/-18	116/-16	66/34	

Objaśnienia: procent hamowania = 100 — procent migracji,

$$\text{procent migracji} = \frac{\text{migracja w płynie odżywym zawierającym antygen IBR}}{\text{migracja w płynie odżywym bez antygenu}} \times 100.$$



Ryc. 3. Izolacja wirusa IBR od cieląt szczepionych donosowo i domięśniowo oraz nie szczepionych, przebywających wspólnie ze szczepionymi

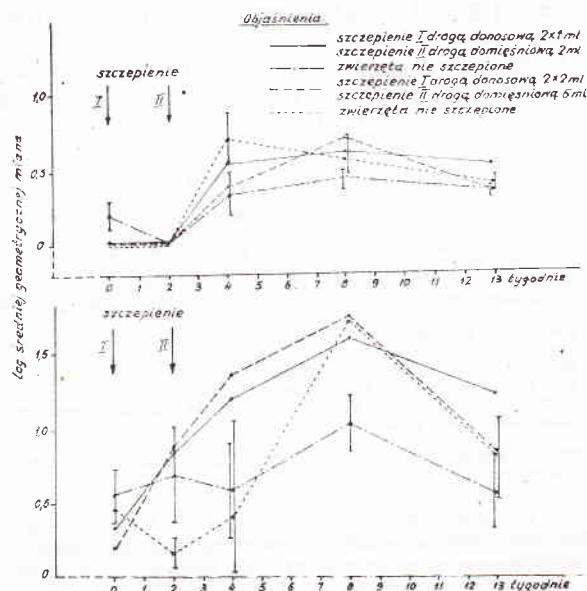


Ryc. 4. Izolacja wirusa IBR od cieląt szczepionych donosowo i domięśniowo szczepionką krajową i NRD

mięśniowych szczepionki była podobna. Większych różnic nie wykazano także w poziomie przeciwciał występujących w śluzie nosa i w czasie odpowiedzi, manifestującej się pojawieniem się przeciwciał w tym śluzie. Przeciwciała te stwierdzono dopiero w drugim tygodniu po szczepieniu domięśniowym. Fakt ten potwierdza wyniki badań Gerbera i wsp. (1), którzy ustalili, że domięśniowe szczepienie może stymulować odporność miejscową poprzez uczulenie leukocytów krwi obwodowej, lub też poprzez uczulone już leukocyty obecne w błonie śluzowej. Obecność przeciwciał przed szczepieniem wykazano jedynie u pojedynczych zwierząt.

Interesujące są wyniki otrzymane w grupie 3 uodpornionej szczepionką NRD. Po I szczepieniu nie stwierdzono przeciwciał w surowicy i w śluzie nosa. Dopiero 2 tygodnie po domięśniowym szczepieniu w surowicy pojawiły się pierwsze przeciwciała. W śluzie nosa przeciwciała te stwierdzono u 50% cieląt dopiero po upływie 6 tygodni od momentu szczepienia. Wyniki te są trudne do interpretacji; może to być spowodowane liofilizacją tej szczepionki. Wprawdzie w pozostałych grupach nie wykazano przeciwciał u wszystkich cieląt, jednak 2 tygodnie po domięśniowym szczepieniu 50% cieląt już je posiadało. Gerber i wsp. (1) uważają, że różne szczepionki, stosowane drogą donosową i domięśniową, utrudniają porównanie skuteczności tych dróg szczepienia. Smith i wsp. (5) nie stwierdzili w śluzie nosowym przeciwciał do 7 dnia po szczepieniu drogą donosową. Po 2 tygodniach wykazali bardzo niski poziom ciał odpornościowych, który osiągnął właściwe wartości dopiero w 21 i 52 dni po szczepieniu. McKercher i Crenshaw (2) ustalili, że zwierzęta szczepione domięśniowo po challengu wykazywały bardziej zaawansowane objawy ze strony górnych dróg oddechowych niż zwierzęta szczepione drogą donosową. Wprawdzie Gerber (1) nie wykazał większych różnic w odporności humoralnej i komórkowej uzyskanej w wyniku odmiennych dróg immunizacji, jednak w konkluzji podaje, że domięśniowa droga szczepienia stymuluje leukocyty błony śluzowej nosa do produkcji przeciwciał. Najwyższą odporność komórkową cytowani autorzy otrzymali jednak dopiero po szczepieniu donosowym żywą szczepionką.

W prezentowanych badaniach wykazano obecność wirusa w śluzie nosowym w grupach 1, 2 i 3 szczepionych drogą donosową i domięśniową. W grupie 1 (niższa dawka szczepionki) wirus izolowano od 2 do 10 dnia, w grupie 2 (wyższa dawka) od 4 do 10 dnia, zaś w grupie 3 (szczepionka prod. NRD) od 2 do 10 dnia. Obecność wirusa w śluzie nosowym została dodatkowo potwierdzona przez transmisję wirusa na cielęta nie szczepione. Wirus izolowano od 4 do 10 dnia (grupa 1) i od 6 do



Ryc. 5. Logarytm średn. geom. miana przeciwciał w śluzie nosowym u cieląt szczepionych i nie szczepionych, przebywających wspólnie. Logarytm średniej geom. miana przeciwciał w surowicy krwi cieląt szczepionych donosowo i domięśniowo oraz nie szczepionych przebywających wspólnie

10 dnia (grupa 2). Po szczepieniu domięśniowym szczepionką krajową wirus izolowano tylko 6 dnia po szczepieniu, przy szczepionce NRD — 4 dnia. Podobny termin izolacji wirusa po szczepieniu lub challengu do 10 dnia wykazali Todd i wsp. (7). Smith i wsp. (5) izolowali wirus do 11 dnia po szczepieniu drogą donosową. Zniknięcie wirusa ze śluzu nosowego autorzy wiążą z pojawieniem się swoistych przeciwciał. W badaniach własnych w śluzie nosa po I szczepieniu nie wykazano obecności przeciwciał i tym można tłumaczyć utrzymywanie się wirusa do 10 dnia po szczepieniu. Nadal otwartą pozostaje sprawa wydalania wirusa challengowego u szczepionych i nie szczepionych zwierząt.

Na podstawie uzyskanych wyników dotyczących odpowiedzi komórkowej można sądzić, że dwukrotne uodpornienie szczepionką „Ribovac” znacznie zwiększa szanse pobudzenia mechanizmów odporności komórkowej, która, jak wiadomo, odgrywa istotną rolę w odporności przeciwko wirusowi IBR. Wobec tego, że doświadczenie przeprowadzono na małych grupach zwierząt sformułowanie ostatecznych wniosków wymaga dalszych badań.

Wnioski

1. Miano szczepionki „Ribovac” $10^{6.2}$ TCID₅₀ okazało się wystarczające do uzyskania ochronnego miana przeciwciał u cieląt szczepionych dwukrotnie (donosowo i domięśniowo).
2. Miano surowicy krwi 1,2 i śluzu nosowego 0,5 — wyrażone jako logarytm średniej geometrycznej, stanowi skuteczną barierę o-

chronną przed zakażeniem doświadczalnym wirusem IBR.

3. Dwukrotne szczepienie cieląt jest niezbędne do uzyskania pełnej odporności przeciw zakażeniu wirusem IBR.

Piśmiennictwo

1. Gerber J. D., Marron A. E., Kucera J. C.: A. J. vet. Res. 753, 39, 1978.
2. McKercher D. G., Crenshaw G. L.: J. Am. vet. med. Ass. 159, 1362, 1971.
3. Moreno-Lopez J.: Zentbl. Vet. Med. 24, 231, 1977.
4. Oyrzanowska J., Kita J., Prandota J.: Medycyna Wet. 36, 529, 1980.
5. Smith M. W., Miller R. B., Svoboda I., Lawson K. F.: Can. vet. J., 3, 63, 1978.
6. Soborg M.: In vitro methods in cell-mediated immunity. ed. B. R. Bloom P. R. Glade, Academic Press, 1971.
7. Todd J. D., Volenc F. J., Paton I. M.: J. Am. vet. med. Ass. 159, 1370, 1971.

Adres autora: prof. dr Jerzy Kita, ul. Wąski Dunaj 7 m. 8, 00-256 Warszawa.

Кита Е., Ойжановская-Поплевская Я., Прандота Я. — Иммуногенность и эффективность прототипной аттенуированной вакцины против инфекционного воспаления носа и трахеи, а также пузырьковой сыпи половых органов крупного рогатого скота (IBR/IPV)

Цель исследований состояла в сравнении эффективности различных доз прототипа аттенуированной вакцины против инфекции вирусом IBR/IPV при сохранении аналогичной схемы иммунизации, сравнении иммуногенного ответа вакцины „Ribovac” и вакцины отнесения производства ГДР, определении сева и трансмиссии вируса вакцины, сравнении гуморального и клеточного ответа, а также проведении челленджа. Титр противотел в сыворотке крови и слизи носа определяли методом SN. Иммуногенность клеточную оценивали на основе лейкоцитарной миграции. В группах телят после применения разных доз вакцины не показали больших различий в уровне противотел в носовой слизи и сыворотке. У большинства иммунизированных телят появился также клеточный иммунологический ответ.

У телят, вакцинированных внутрь носа, вакцинный вирус изолировали на 2—10 день, внутримышечно только на 6 день. У невакцинированных телят, пребывающих в непосредственном контакте с вакцинированными животными, вирус изолировали на 4—10 день. После челленджа на 3 день заболели только невакцинированные телята. Титр вируса в вакцине „Ribovac” оказался достаточным для получения защитного уровня противотел в сыворотке и в слизи носа у телят, вакцинированных двукратно — внутрь носа и внутримышечно.

Kita J., Oyrzanowska-Poplewska J., Prandota J. — Immunogenicity and effectiveness of the prototype attenuated vaccine IBR/IPV of cattle

The purpose of the experiment was to evaluate the effectiveness of „Ribovac”, the prototype attenuated IBR/IPV vaccine in different doses with constant vaccination schedules by comparing immunological response of „Ribovac” to a vaccine produced in East Germany. Shedding and transmission of the vaccine virus, and comparison of humoral and cellular responses were observed as well as challenge.

The virus titer of „Ribovac” was $10^{6.2}$ TCID₅₀. The level of antibodies in blood serum and nasal mucous was determined by SN. Cellular immunity was determined by leukocyte migratio test.

In the experimental groups of calves which received different doses of the vaccine no significant differences were seen in the antibody level of blood serum and nasal mucous. In the majority of immune calves was also seen a cellular immunological response. In calves vaccinated intranasally the vaccine virus was reisolated after 2—10 days, and in the animals vaccinated intramuscularly the virus was reisolated only on the sixth day. In control, non vaccinated calves, and in a direct contact with vaccinated calves, the virus was isolated after 4—10 days. Three days after challenge only one unvaccinated calf became ill. The virus titre of „Ribovac” was enough to provide a protective level of antibody in blood serum and in nasal mucous of calves vaccinated twice, intranasally and intramuscularly.

JERZY KITA, JANINA OYRZANOWSKA-POPLEWSKA,
JAN PRANDOTA, MAREK BAŃBURA

Próby aerozoluowego uodparniania cieląt atenuowaną szczepionką przeciw zakaźnemu zapaleniu nosa i tchawicy oraz otrętwi bydła IBR/IPV

Katedra Epizootologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR
ul. Grochowska 272, 03-649 Warszawa

Dane piśmiennictwa z ostatnich lat wskazują, że w chorobach układu oddechowego i pokarmowego wprowadzenie poprzez błony śluzowe bodźca antygenowego daje najlepszą odporność. Działanie to wyzwała w organizmie, w znacznym stopniu niezależną od ogólnoustrojowej, miejscową reakcję immunologiczną (4, 6, 11). Stąd też spośród licznych metod szczepienia zwierząt coraz większe zainteresowanie budzi metoda aerozoluowa, dzięki której pobudzeniu ulega komórki plazmatyczne znajdujące się w błonie podśluzowej dróg oddechowych, mające zdolność wytwarzania przeciwciał wydzielniczych IgA (6, 8). Obecność ich w

śluzie stanowi pierwszą ochronną barierę przed wtargnięciem wirusów w głąb organizmu. Przeciwciała te wraz z dopełniaczem i lizozymem nie dopuszczają do namnażania się wirusów w komórkach dróg oddechowych.

Szczepienie poprzez błony śluzowe dróg oddechowych pobudza również mechanizmy odporności nieswoistej. Wykazano, że namnożenie się w obrębie dróg oddechowych do 10 dnia po podaniu szczepionki żywego, atenuowanego wirusa IBR stymuluje miejscowe wytwarzanie interferonu. Ponadto wprowadzenie apatogennego wirusa poprzez błony śluzowe dróg oddechowych wywołuje syntezę interfe-