

ZYGMUNT PEJSK, BOGUSŁAW BŁASZCZYK

Skuteczność immunoprofilaktyki w ograniczaniu strat spowodowanych zakażeniami parwowirusowymi u świń

Zakład Badania Chorób Świń Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Efficacy of vaccination for the control of porcine parvovirus infection in breeding herd

Vaccination against porcine parvovirus (PPV) infection were carried out in the breeding herd where reproductive failure and significant number of small litters occurred. Antigen of PPV was demonstrated in the lungs from dead fetuses. It was found that 96% of 50 sows sera and 55% of 40 gilts sera have antibodies to PPV. For evaluation of the efficacy of the vaccine five hundred thirty eight sows and 355 gilts were vaccinated once — 6 weeks before mating with Nobi — Porvac Parvo vaccine. Efficacy of vaccination was evaluated on the basis of reproductive performance of vaccinated and non vaccinated gilts and sows. The average litter size of immunized gilts was 0,68 piglet larger than non-vaccinated. The percentage of small litters (< 6 piglets born) was lower among the vaccinated gilts (4,22%) in comparison with untreated control (14,42%). The reproductive performance of vaccinated sows was not improved in comparison with unimmunized. The results have indicated that even in endemically PPV — infected herds a significant percentage of gilts is seronegative at the time of breeding and therefore the vaccination of gilts is recommended. Vaccination of sows in this herd seems not to be necessary. Serological investigation carried out in quinea pigs revealed good immunogenic properties of the vaccine. It was also confirmed that the vaccine is safe for foetuses.

Materiał i metody

Szczepionka Nobi-Porvac Parvo — jest inaktywowaną, przy pomocy formaliny, hodowlą PPV (szczep PPV 014); jako adjuwant zastosowano płynną parafinę. Jedna dawka szczepionki — 2 ml zawiera co najmniej 2560 jednostek hemaglutynacyjnych (HA) PPV.

Zwierzęta. W badaniach laboratoryjnych dotyczących nieszkodliwości i immunogenności szczepionki użyto 10 prośnych loch o masie ciała (m.c.) około 160 kg oraz 10 świńek morskich o m.c. 200—250 g. Odczynem zahamowania hemaglutynacji (HI) wykazano, że wszystkie wybrane do badań zwierzęta były wolne od przeciwciał dla PPV.

Badania terenowe, których celem było określenie wartości ochronnej szczepionki wykonano w wielkotowarowej fermie I. Stado podstawowe tej fermi składało się z 750 samic oraz 42 knurów. W gospodarstwie tym stwierdzono około 10% miotów, w których liczba prosiąt żywo urodzonych była ≤ 6 . Rejestrowano także przypadki rodzenia się prosiąt zmumifikowanych. W celu ustalenia statusu zdrowotnego stada przeprowadzono badania wirusologiczne i serologiczne. Dla wykrycia antygenu PPV posługiwano się metodą immunofluorescencji — IF (15), zaś stopień rozprzestrzenienia się wirusa wśród samic stada podstawowego ustalono przy pomocy badań serologicznych z wykorzystaniem testu zahamowania hemaglutynacji — HI (11). Badaniom tym poddano wybranych losowo 50 loch i 40 loszek. Do analizy statystycznej wyników użyto danych dotyczących płodności loch (480) i loszek (298) w okresie ośmiu miesięcy (lipiec 1989 r. — luty 1990) bezpośrednio przed wprowadzeniem szczepień oraz 538 loch i 355 loszek immunizowanych jednokrotnie szczepionką Nobi-Porvac Parvo, których wyproszenia przypadły na okres od lipca 1990 do lutego 1991 r.

Właściwości immunogenne biopreparatu określono przy użyciu świńek morskich (1). W tym celu 6 zwierzętom podano i.m. jednokrotnie 0,5 ml szczepionki Nobi-Porvac Parvo, a 4 innym zaaplikowano placebo. Krew do badań serologicznych pobierano bezpośrednio przed immunizacją, a następnie 6-krotnie w odstępach miesięcznych. Miana przeciwciał PPV określano odczynem HI.

Nieszkodliwość szczepionki dla płodów ustalono podając jednokrotnie podwójną dawkę szczepionki 6 lochom prośnym w pierwszym trymestrze ciąży; pozostałym 4 prośnym samicom w tym samym okresie podano placebo. W 21 dni po immunizacji świnię poddano ubojowi w celu określenia liczby oraz stanu zdrowotnego płodów.

Ocena szczepionki w warunkach terenowych. Zgodnie z zaleceniami producenta wszystkie samice doświadczalne immunizowano jednokrotnie i.m. dawką 2 ml szczepionki w okresie 8—2 tygodni przed pokryciem. Jednokrotne szczepienie według opinii producenta miało zabezpieczać samice przed zakażeniem na okres dwóch kolejnych cykli reprodukcyjnych (1 rok). Efektywność prowadzonej profilaktyki swoistej określono porównując płodność (liczba prosiąt żywych i martwo urodzonych w miocie) loch i loszek kolejno proszających się, przed wprowadzeniem szczepień, z płodnością kolejno proszających się samic uodpornianych przeciw PPV.

Uzyskane w badaniach dane poddano analizie statystycznej przy pomocy testu t-Studenta.

Wyniki i omówienie

Badaniem IF skrawków płuc dwóch z sześciu przesłanych do badań mumifikatów stwierdzono obecność antygenu PPV. Odczynem HI wykazano w 96% surowiec pobranych od wieloródek i 55% od loszek przeznaczonych do krycia przeciwciała w stężeniu wskazującym na kontakt z wirusem (miano > 320). Uzyskane wyniki dowiodły występowania PPV w gospodarstwie, uwi-

Parwowirus świń (PPV) jest najważniejszym (5) spośród wirusów powodujących zaburzenia w rozrodzie trzody chlewnej. Straty ekonomiczne związane z parwowirusowym zakażeniem świń (PPI) uwiadcniają się jedynie wtedy, gdy infekcji ulegną wrażliwe na zakażenie samice w okresie między pokryciem a 65 dniem prośności (6). W tym czasie po przeniknięciu bariery łożyskowej PPV zakaża zarodki lub płody, powodując ich uszkodzenie i śmierć (7, 8). Średnia liczba prosiąt w miotach takich samic może wtedy zmniejszyć się nawet do 3,6 (2). Występowanie PPI w chlewni z reguły prowadzi do spadku wskaźnika płodności i plenności stada podstawowego. Warto pamiętać, że infekcja innych grup wiekowych świń wymienionym czynnikiem patogennym nie wywołuje zauważalnych zmian chorobowych (6).

Badania krajowe (11, 12, 15) dowiodły występowania PPV w stadach zarodowych oraz w gospodarstwach drobno- i wielkotowarowych. Wykazano dodatkowo, że w fermach wielkotowarowych drobnoustrój ten występuje ubikwitalnie; oznacza to, że obiekty te ponoszą straty związane z PPI.

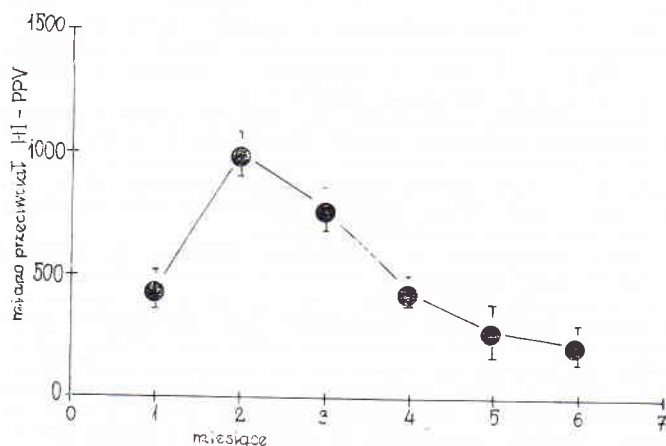
We wszystkich rozwiniętych rolniczo krajach świata, od wielu lat prowadzona jest immunoprofilaktyka omawianej choroby. W najbliższym czasie przewiduje się podjęcie produkcji krajowego biopreparatu przeciw PPV. Prawdopodobnym jest, że dostępne okażą się u nas również szczepionki producentów zagranicznych.

Celem niniejszej pracy było ustalenie przydatności holenderskiej szczepionki przeciw PPV p.n. Nobi-Porvac Parvo (Intervet) w profilaktyce PPI.

doczniono też, że szczególnie narażone na infekcję są loszki w okresie przed włączeniem ich do stada podstawowego. Jak bowiem wynika z przedstawionych danych 47% tych świń było wrażliwych na zakażenie. Było to konsekwencją braku wcześniejszego kontaktu samic z PPV z uwagi na stosowaną w gospodarstwie zasadę „całe pomieszczenie pełne, całe pomieszczenie puste” oraz odchowywanie loszek w izolacji od stada podstawowego.

Rezultaty dotyczące immunogenności ocenianego biopreparatu, określone przy użyciu świń morskich przedstawiono na ryc. 1. Jak wynika z wykresu, przed szczepieniem średnie miano geometryczne przeciwciał HI-PPV u wszystkich zwierząt nie przekraczało 5. W miesiąc po immunizacji miano to dla 6 świń morskich wynosiło 446,6, a po 2 miesiącach 1000. W kolejnych badaniach obserwowano stopniowy spadek miana przeciwciał, które w 6 miesięcy po immunizacji wynosiło średnio 232,6. W tym miejscu celowe jest przedstawienie danych dotyczących minimalnego ochronnego miana przeciwciał HI-PPV. Dla przykładu Paul i wsp. (10) wykazali, że miano przeciwciał HI-PPV = 160 zabezpiecza przed replikacją wirusa w tkankach zakażonego zwierzęcia, natomiast w przypadku miana = 80, PPV namnaża się m.in. w migdałkach zainfekowanej samicy, przy czym nie dochodzi do zakażenia płodów. Natomiast Mengeling i wsp. (6) podają, że nawet przy mianie HI równym 10 płody świni są całkowicie zabezpieczone przed zakażeniem. Zgodnie z opinią Edwardsa i wsp. (3), ustalanie minimalnego miana przeciwciał zabezpieczających przed skutkami zakażenia PPV nie ma praktycznego znaczenia z uwagi na brak korelacji między wysokością miana a właściwościami ochronnymi szczepionki.

Oceniając wartość immunogenną biopreparatu przy użyciu świń morskich należy podkreślić, że preparat



Ryc. 1. Miano przeciwciał HI-PPV u świń morskich immunizowanych szczepionką Nobi-Porvac Parvo

ten charakteryzuje się podobnymi właściwościami uodporniającymi jak szczepionki inaktywowane, opracowane przez Joo i Johnsona (4), oraz Paula i wsp. (10). Warto jednak nadmienić, że w przypadku stosowania szczepionek przygotowanych przez cytowanych autorów poziom przeciwciał poszczepiennych obniżał się, począwszy od drugiego miesiąca po zastosowaniu biopreparatu, czyli wcześniej niż w przypadku szczepionki Nobi-Porvac Parvo.

Badając szczepionkę holenderską najwyższe miano HI przeciwciał po podaniu szczepionki stwierdzono w drugim miesiącu po immunizacji. Przyczyną stosunkowo późnej odpowiedzi organizmu na podany antygen był, prawdopodobnie zastosowany w szczepionce, hamujący szybkie wchłanianie, adjuwant olejowy.

Na znaczenie adjuwantu olejowego w zakresie poprawy właściwości immunogennych antygeny PPV zwróciło uwagę szeregi autorów (4, 9, 13, 14). W ich pracach wykazano, że lepszą i trwalszą odpowiedź swoistą organizmu uzyskuje się po zastosowaniu szczepionki olejowej. Nie potwierdził opinii tej Wójcik (15), porównując przy użyciu świń właściwości immunogenne własnych szczepionek z adjuwantem olejowym i glinowym. Reasumując można stwierdzić, że jednokrotnie zastosowana szczepionka Nobi-Porvac Parvo stymulowała powstanie i długotrwałe utrzymywanie się przeciwciał HI-PPV.

Analiza nieszkodliwości szczepionki dla płodów wskazała, że wszystkie płody (w liczbie 67), pochodzące od sześciu loch immunizowanych w pierwszym tryestrze ciąży omawianym biopreparatem do czasu uboju samic pozostały żywe. Nie stwierdzono u nich żadnych odchyleń od normy. Podobnie nie wykazano zmian w rozwoju 37 płodów pochodzących od czterech samic kontrolnych.

W tabeli 1 zebrano dane dotyczące płodności loch i loszek z fermy I przed wprowadzeniem w tym obiekcie szczepień ochronnych oraz po szczepieniu samic stada podstawowego przeciw PPI. Jak wskazują na to przedstawione rezultaty immunizacja samic pozwoliła na uzyskanie w miotach loszek średnio o 0,68 żywo urodzonego prosięcia więcej. Rezultat ten był prawdopodobnie wynikiem ograniczenia o 0,51 liczby prosiąt martwo urodzonych oraz zmniejszenia liczby zarodków zainfekowanych PPV, które obumarły i uległy embriolizacji.

Bardzo ważnym efektem przeprowadzonych szczepień było w grupie loszek, obniżenie odsetka miotów, w których liczba żywo urodzonych prosiąt była < 6. Wśród loszek kontrolnych aż co siódmy miot — 14,42%, zaliczono do tej grupy. W stawce loszek uodpornianych jedynie 4,22% miotów liczyło 6 lub mniej prosiąt żywo urodzonych (różnica statystycznie istotna przy $p < 0,05$). Według Cutlera i wsp. (2) przekraczający 10% odsetek miotów o liczbie żywo urodzonych prosiąt < 6 wskazu-

Tab. 1. Płodność loch i loszek uodpornianych przeciw parwowirusowemu zakażeniu świń szczepionką Nobi — Porvac Parvo

Grupa zwierząt	Sposób postępowania	Liczba zwierząt	Liczba prosiąt urodzonych				Mioty o liczbie prosiąt ≤ 6 %
			żywo		martwo		
			$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	
Lochy	szczepione	538	11,44	1,53	0,32	0,48	2,10
	nie szczepione	480	11,40	1,38	0,30	0,62	2,18
Loszki	szczepione	355	8,31	1,38	0,20	0,39	4,22 *
	nie szczepione	298	7,63	1,18	0,71	0,90	14,42

Objaśnienie: * różnica statystycznie istotna w stosunku do loszek nie szczepionych przy $p \leq 0,05$.

je, że przyczyną niskiej płodności świń jest w danym obiekcie czynnik infekcyjny — w omawianym przypadku wykazano, że był nim PPV.

Nie dało istotnych korzyści prowadzenie szczepień w grupie wieloródek. Uodpornianie loch nie uwidoczniło się w sposób znaczący ani we wskaźniku średniej liczby prosiąt urodzonych żywo, ani w odsetku prosiąt martwo urodzonych. W grupie tej stwierdzono jedynie nieznaczny spadek liczby miotów mało licznych.

Podstawę do wyjaśnienia przedstawionej powyżej różnicy w efektywności szczepień loch i loszek stanowią wyniki wstępnych badań serologicznych dotyczących stopnia rozprzestrzenienia się PPV w fermie I. Jak podano uprzednio, obecność przeciwciał HI-PPV na poziomie chroniącym przed zakażeniem wykazano u 96% wieloródek, a tylko u 55% loszek. Wynik ten dowodzi, że w fermie endemicznie zainfekowanej PPV, prawie wszystkie wieloródki są naturalnie uodpornione przeciw temu czynnikowi patogennemu, przez co stają się wcześniej niewrażliwe na zakażenie, niezależnie od szczepień. Odm inną sytuację stwierdzono u loszek; w tej grupie zwierząt 45% samic w okresie przed pokryciem było wrażliwych na infekcję PPV. Wynik ten dowodzi, że uodpornianie loszek przeciw omawianej chorobie jest ekonomicznie uzasadnione.

Wnioski

1. W fermie endemicznie zakażonej PPV znaczny odsetek loszek przeznaczonych do krycia może pozostawać wrażliwy na zakażenie tym wirusem.

2. Szczepionka Nobi-Parvac Parvo jest biopreparatem bezpiecznym oraz immunogennym.
3. Zastosowanie szczepień ochronnych loszek przy pomocy ocenianego preparatu daje korzystne efekty, szczególnie w zakresie zwiększenia płodności loszek.
4. Immunizację loch winno się podejmować w zależności od odsetka wieloródek wrażliwych na zakażenie. W szeregu przypadków zabieg ten nie wydaje się być konieczny — ze względu na naturalnie nabytą odporność.

Piśmiennictwo

1. Bengelsdorff H. J.: Berl. Hunch. tierarztl. Wschr. 100, s. 162—166, 1987.

2. Cutler R. S., Molitor T. W., Leman A. D., Werdin R. E.: J. Am. med. Ass. 182, 592, 1983.

3. Edwards K. R., Emmerson M. A., Luff P. R., Wells D. E., Muskett J. C., Wrathall A. E., Richardson C., Parker B. N.: Thornton. Vet. Rec. 30, 203, 1986.

4. Joo H. S., Molitor T. W., Leman A. D.: Vet. Microbiol. 9, 27, 1984.

5. Mengeling W. L.: Am. J. vet. Res. 36, 1173, 1975.

6. Mengeling W. L., Brown T. T., Paul P. S., Gutekunst D. E.: Am. J. vet. Res. 40, 204, 1979.

7. Mengeling W. L., Paul P. S., Gutekunst D. E., Pirtle E. C., Brown T. T.: Proc. IPVS Congress, Copenhagen 1980, s. 61.

8. Mengeling W. L., Pejsak Z., Paul P. S.: Am. J. vet. Res. 45, 2043, 1984.

9. Morrison R. B., Joo H. S.: Preventive Vet. Med. 2, 699, 1984.

10. Paul P. S., Mengeling W. L.: Am. J. vet. Res. 41, 1368, 1980.

11. Pejsak Z., Wójcik J.: Medycyna Wet. 41, 459, 1985.

12. Pejsak Z., Wójcik J.: Medycyna Wet. 42, 650, 1986.

13. Vannier P., Brun A., Chappuis G., Reynaud G.: Ann. Res. Vet. 17, 425, 1986.

14. Wrathall A. E.: Vet. Rec. 23, 411, 1988.

15. Wójcik J., Pejsak Z.: Medycyna Wet. 40, 426, 1984.

16. Wójcik J.: Uzyskanie i porównanie immunogenności atenuowanej i inaktywowanych szczepionek przeciw parwowirusowym zakażeniom u świń. Praca dokt. Puławy, 1989.

Adres autora: prof. dr hab. Zygmunt Pejsak, ul. Kościuszki 12/9, 24-100 Puławy

KRZYSZTOF WOJNARSKI, KRZYSZTOF A. SOBIECH*

Aktywność acylazy aktywowanej przez kobalt w surowicy kaczek chorych na wirusowe zapalenie wątroby

* Zakład Biochemii, Akademia Wychowania Fizycznego, ul. Witelona 25, 51-612 Wrocław
Wojewódzki Zakład Weterynarii w Tarnowie, Rejonowy Oddział w Dębicy,
ul. Zawadzkiego 16, 39-200 Debica

Summary

The activity of acylase induced by cobalt contained in the serum of ducks suffering from viral hepatitis

There was determined the activity of acylase activated by cobalt present in sera of 3 days old ducks. A significant increase of the enzyme activity in ducks with viral hepatitis was noted compared with that observed in healthy birds. No essential changes in respect to the activity of other enzymes were found, therefore the authors suggest to use the test for cobalt-activated acylase in the diagnostics of poultry diseases.

W 1971 r. Szewczuk opisał występowanie w tkankach człowieka i zwierząt aktywności enzymu, który nazwał acylazą aktywowaną przez kobalt (5). W następnych latach grupa wrocławskich badaczy opracowała test enzymatyczny do pomiaru aktywności tego enzymu, a także dostarczyła wiele biochemicznych i klinicznych informacji na ten temat (2, 3, 4, 6, 7). Stwierdzono, że enzym ten — w odróżnieniu od innych amidohydrolaz (acylaz) — jest aktywowany przez jony kobaltu, hamowany przez wersenian oraz charakteryzuje się znaczną nietrwałością (5).

W surowicy ludzi zdrowych nie stwierdzono lub znaleziono śladową aktywność tego enzymu, natomiast wyraźną aktywność wykazano w surowicy chorych na wirusowe zapalenie wątroby (2, 7). U chorych, badanych w pierwszych trzech dniach od wystąpienia objawów choroby, wykazano znaczną aktywność acylazy (ponad 10 mJ/cm³ surowicy), która szybko obniżyła się z ustępowaniem choroby (7). Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt braku aktywności tego enzymu w surowicy w innych chorobach wątroby u ludzi (2, 7). W surowicy zwierząt stwierdzono aktywność acylazy aktywowanej przez kobalt, przy czym oznaczone wartości były stosunkowo niskie (6). Ze względu na brak badań tego enzymu u drobiu, a szczególnie u kaczek postanowiono wykonać oznaczenia enzymatyczne u kaczek zdrowych i chorych na zakaźne, wirusowe zapalenie wątroby (duck virus hepatitis, DVH), a także porównać jego aktywność w wirusowym zapaleniu wątroby u ludzi i kaczek.

Material i metody

W styczniu w fermie liczącej 5700 kaczek typu brojler, w trzeciej dobie odchovu wystąpiły nagle padnięcia ptaków w ilości 44% ogólnej obsady. W związku z podejrze-