

ZDZISŁAW LARSKI
WSR Olsztyn

NIEKTÓRE ZAGADNIENIA ODPORNOŚCI PRZECIWWIRUSOWEJ

Poznanie istoty odporności przeciwwirusowej ma szczególnie duże znaczenie, gdyż wobec braku skutecznych środków leczniczych, profilaktyka swoista jest główną metodą walki z chorobami wirusowymi ludzi i zwierząt. Ponadto znajomość mechanizmów oddziaływania elementów antygenowych wirusa ze swoistymi elementami obronnymi gospodarza jest konieczna w diagnostycznych badaniach serologicznych, immunologicznych i alergicznych.

Istota odporności przeciwwirusowej

Według definicji Burneta (5) „organizm jest odporny na dane zakażenia wirusowe, jeżeli przeciwciało lub równoważna populacja immunologicznie czynnych komórek znajduje się w takim miejscu i w takiej ilości, że może reagować z wirusem zanim osiągnie on te komórki, których uszkodzenie daje charakterystyczne objawy chorobowe”.

Ponieważ wiadomo, że w większości zakażeń wirus namnaża się najpierw w narządach „pierwotnego powinowactwa”, a dopiero po osiągnięciu tu pewnego poziomu przenosi się do narządów właściwych dla jego tropizmu, konieczne jest, aby czynniki obronne były gotowe do działania zanim nastąpi ta druga faza.

Zagadnienie, czy odporność przeciwwirusowa ma charakter wyłącznie humoralny czy też i inne mechanizmy odgrywają tu rolę, jest w dalszym ciągu przedmiotem badań i dyskusji.

Niektóre obserwacje mają ograniczoną moc dowodową dla poparcia koncepcji odporności komórkowej (przy braku przeciwciał), gdyż nie można całkowicie wykluczyć innego ich tłumaczenia.

Najprostsze, to zbyt mała czułość stosowanych metod serologicznych, może mieć także miejsce szybkie znikanie przeciwciał z krwioobiegu i łączenie się ich z innymi składnikami w serologicznie nieaktywne kompleksy (12).

O stopniu odporności nie decyduje poziom przeciwciał w surowicy a we wrażliwym narządzie względnie tkance. Zilber (31) podkreśla, że paralelizm między poziomem przeciwciał w surowicy a odpornością jest najbardziej wyraźny przy wirusach wiscerotropowych, rozmnażających

się w wielu tkankach; natomiast im bardziej wąski tropizm wirusa do danej tkanki i im bardziej izolowana jest ona od obiegu krwi, tym paralelizm ten jest mniejszy.

A więc nie można wykluczyć odporności humoralnej tylko na podstawie niemożności stwierdzenia obecności przeciwciał krążących, gdyż miejscowa „tkankowa” lub „komórkowa” odporność może być następstwem wiązania przeciwciał przez komórki danej tkanki lub też miejscowej produkcji tych przeciwciał (30).

Ciekawe są jednak obserwacje poczynione u dzieci z wrodzoną agammaglobulinemią, które bardziej niż normalne narażone są na zakażenia bakteryjne, natomiast nie na wirusowe. Nie stwierdza się u nich cięższego przebiegu świnki, odry, ospy wietrznej, polio i grypy azjatyckiej; co więcej nie wytwarzają krążących przeciwciał, ale nabywają swoistą odporność na powtórne zakażenie w tym samym stopniu, co inni rekonwalescenci. Przypuszcza się, że mechanizm swoistej odporności opiera się w tym przypadku na zjawisku nadwrażliwości typu późnego. Jednak zdania co do tego są podzielone, a rozstrzygnięcie znaczenia tej i innych postaci odporności komórkowej jest bardzo trudne, gdyż nie można całkowicie pewnie rozgraniczyć działania komórek i przeciwciał.

O ile sprawa komórkowych mechanizmów swoistej odporności wymaga dalszych badań dla rozstrzygnięcia jej istotności, to odporność humoralna, będąca wyrazem działania przeciwciał, jest doskonale udowodniona, a prowadzone badania mają na celu wyjaśnienie mechanizmów ich powstawania oraz właściwości i sposobu działania na wirusy.

Wykazano ostatnio, że drobiny przeciwciał (immunoglobuliny) o podobnej swoistości nawet u tego samego gospodarza mogą różnić się między sobą wielkością, awidnością, zdolnością wiązania dopełniacza, zdolnością przechodzenia przez łożysko oraz innymi jeszcze właściwościami biologicznymi i fizycznymi. Wyróżnia się trzy główne grupy gamma globulin, wykazujących aktywność przeciwciał. Są to makroimmunoglobuliny (IgM), immunoglobuliny A (IgA) i immunoglobuliny G (IgG); u ludzi wykazano prócz tych jeszcze immunoglobuliny D (IgD), a przypuszcza się istnienie dodatkowej odmiany — immunoglobulin E (IgE), które byłyby nośnikiem przeciwciał typu reagin, biorących udział w różnych reakcjach nadwrażliwości (cyt. wg 7). Biorąc pod uwagę ciężar drobinowy przeciwciał i związaną z tym stałą sedymentacji, można je podzielić na dwie główne grupy — przeciwciała 19S i 7S. Oto jak przedstawia się czas pojawiania poszczególnych immunoglobulin (cyt. wg 18).

Od około 15 godzin do 15 dni po wprowadzeniu antygeny tworzą się makroimmunoglobuliny IbM (przeciwciała typu 19S); ich ciężar drobinowy wynosi 900000 do 1 miliona.

Później — od 7 dni poczynając — powstają przeciwciała 7S zawiera-

jące dalsze immunoglobuliny o ciężarze 160 000, najpierw IgA, a następnie — przy silniejszym bodźcu antygenowym — IgG; te ostatnie zapewniają długotrwałą odporność.

Przy użyciu bardzo małych dawek antygeny lub na przykład słabo namnażających się zarazków reakcja organizmu ograniczyć się może do produkcji IgM. Stwierdzenie przez Heffnera i Schleuderberga (13), że przeciwciała 19S są wrażliwe na 2 — merkaptoetanol, a 7S odporne na jego działanie, ułatwia ich różnicowanie (13); znajomość kolejności pojawiania się omawianych typów pozwala określić fazę zakażenia i ma duże znaczenie dla dochodzeń epizootio- i epidemiologicznych.

Obecność przeciwciał 19S wskazuje bowiem na świeżą ekspozycję.

Powtórne wprowadzenie antygeny (dawka „przypominająca”) powoduje reakcję wtórną — tzn. odczyn anamnesticzny, który różni się od reakcji pierwotnej: 1) krótszym okresem indukcji, 2) powstawaniem znacznie większych ilości przeciwciał, 3) wolniejszym spadkiem ich syntezy i 4) tworzeniem głównie przeciwciał 7S, a nie 19S. Odczyn immunologiczny po powtórnym podaniu antygeny jest jednak zależny od pierwszego wprowadzenia. Jeśli po pierwszej immunizacji powstały tylko przeciwciała IgM, to powtórny kontakt z antygenem nie da reakcji anamnesticznej (stwierdza się to często u zwierząt, które pierwszy raz szczepiono w bardzo młodym wieku); jeżeli natomiast po pierwszej ekspozycji wytworzyły się przeciwciała IgG, to po powtórnym reakcja taka nastąpi (30). A więc powstawanie przeciwciał 7S natychmiast po inokulacji wirusa dowodzi, że gospodarz zetknął się już w przeszłości z tym czynnikiem i nabył odporność.

Oprócz ogólnoustrojowej reakcji na wprowadzenie antygeny, wyrażającej się powstawaniem przeciwciał krążących we krwi istotne znaczenie ma również lokalna reakcja immunologiczna. Zagadnienie to w oparciu o najnowsze badania w tym zakresie omawia Heremans (14); niektóre najważniejsze dane warto krótko przedstawić. W reakcji ogólnej na bodziec antygenowy biorą udział wszystkie tkanki limfatyczne organizmu, jednak ostatnio jest coraz więcej danych świadczących, że prawie wszystkie odrębne tkanki i narządy eksponowane na działanie antygeny wykazują zdolność uruchomienia własnego odczynu odpornościowego, w znacznym stopniu niezależnego od reakcji ogólnoustrojowej; ten lokalny odczyn opiera się na obecności „najbardziej intrygującej immunoglobuliny — IgA”.

Biorąc pod uwagę typ miejscowej reakcji immunologicznej struktur tkankowych, Heremans dzieli je na dwie grupy. Do pierwszej zalicza wewnętrzne części oka, ośrodkowy układ nerwowy, zapalne ziarniaki i wszystkie tkanki łączne, nie wchodzące bezpośrednio w skład gruczołów lub błon śluzowych. W tkankach tej grupy miejscowa reakcja jest praw-

dopodobnie ściśle zależna od dłuższego kontaktu z antygenem, a jakościowo często przypomina reakcję ogólnoustrojową (stwierdza się te same immunoglobuliny IgM, IgG i 7S—IgA i w tych samych, co w surowicy proporcjach); łączność obu odczynów potwierdza zależność czasu ich pojawienia się (tylko wyjątkowo po tej reakcji lokalnej nie następuje ogólna).

Druga grupa obejmuje następujące struktury: błony śluzowe wyściełające jamy nosowe, oskrzela, żołądek, jelita, a być może i szyjkę maciczną oraz ściany pochwy; dalej gruczoły zewnątrzwydzielnicze — mleczone, łzowe, ślinowe, żołądkowe, jelitowe i wreszcie przewody żółciowe oraz narząd moczowy. Pojawienie się w tych tkankach dużej ilości przeciwciał tłumaczy się głównie lokalnym pobudzeniem antygenowym. Ta reakcja immunologiczna jest w znacznym stopniu niezależna od równocześnie istniejącej reakcji ogólnoustrojowej (brak korelacji między poziomem przeciwciał w surowicy i w wydzielinach). Najbardziej jednak uderza budowa chemiczna przeciwciał — stwierdza się szczególną postać immunoglobuliny IgA, o wysokim ciężarze drobinowym (stała sed.=11S), której brak w IgA surowicy. Ta „zewnątrzwydzielnicza” odmiana IgA jest prawdopodobnie głównym, a może jedynym nośnikiem właściwości oznaczonych jako „przeciwciała kałowe” i „przeciwciała śluzowe”. Heremans określa tę postać lokalnej reakcji immunologicznej jako odmianę „zewnątrzwydzielniczą” i zwraca uwagę na jej duże biologiczne znaczenie. IgA, dzięki zdolności do tworzenia kompleksów z innymi białkami przylega do powierzchni błon śluzowych jak gdyby „ochronna farba”; odmiana 11S—IgA jest bardziej niż IgG oporna na degradację proteolityczną i to być może tłumaczy, dlaczego zawarte w sianie przeciwciała dla różnych czynników zakaźnych, a wśród nich i wirusa polio można wykazać w stanie nienaruszonym jeszcze w kale ssących niemowląt.

Przeciwciała „kałowe” i „śluzowe” wykazują szczególnie dobre właściwości ochronne, lepsze niż przeciwciała surowicy. Cytowane przez Heremansa dane wskazują, że obecne w mleku matki przeciwciała (IgA) przeciw wirusowi polio zapobiegają namnażaniu się spożytego wirusa w przewodzie pokarmowym noworodka, natomiast przeciwciała przekazane przez łożysko (IgG) nie wykazują tego działania. Karmienie sianą od odpornych macior chroni prosięta przed wirusowym zakażeniem żołądka i jelit (TGE), natomiast ochrony takiej nie uzyskuje się po parenteralnym podaniu surowicy odpornościowej. Tak samo donosowe stosowanie szczepionki zapewnia lepszą ochronę przeciw zakażeniu wirusem grypy niż uodpornienie inną drogą.

Reasumując powyższe rozważania, można zatem stwierdzić, że odporność jest uwarunkowana obecnością przeciwciał, z tym że przy różnych formach zakażenia wirusowego odgrywają głównie rolę poszczególne typy immunoglobulin (2); przy zakażeniach lokalnych, na przykład wy-

wołanych przez wirusy grypy, adenowirusy lub rinowirusy główną rolę odgrywają IgA, wytwarzane przeważnie w węzłach chłonnych przynależnych do bramy wejścia zarazka i immunocyty w podnabłonkowej tkance łącznej, a uwalniane z wydzieliną błony śluzowej. Przy cyklicznych zakażeniach drugą barierę stanowią wolne przeciwciała surowicy, które nie zapobiegają zakażeniu, ale ograniczają rozsiew wirusa drogą krwionośną i chronią uodpornionego gospodarza przed rozwojem schorzenia klinicznego. Te wolne, krążące przeciwciała — to omówione poprzednio wczesne duże IgM (przeciwciała 19S) i najbardziej aktywne, późne IgG (przeciwciała 7S).

Rozpatrując zależność hamującego działania przeciwciał na rozwój zakażenia wirusowego od czasu ich pojawienia się czy ich podania, należy wyróżnić zjawiska zachodzące na poziomie komórki i na poziomie organizmu. W tym pierwszym przypadku istotny jest, poza nielicznymi wyjątkami, kontakt przeciwciał z wirusem przed zainicjowaniem przez niego zakażenia komórki. Natomiast w przypadku badania wpływu przeciwciał na rozwój toczącego się już procesu wirusowego organizmu, ale jeszcze przed wystąpieniem objawów chorobowych, stwierdza się różnice zależne od charakteru danego wirusa i jego sposobu rozprzestrzeniania się w gospodarzu (9). Wirus dostawszy się do komórki jest nieosiągalny dla przeciwciał, a narażone na ich działanie może być dopiero jego potomstwo po uwolnieniu się z komórki (np. wirusy grypy, polio) i to zapobiega zakażeniu komórek sąsiednich. Ale niektóre wirusy (np. krowianki, herpes) mogą przechodzić do sąsiednich komórek bezpośrednio bez uwalniania się na zewnątrz, przez mostki plazmatyczne lub w następstwie zlania się komórek i dzięki temu unikają działania przeciwciał.

Uwzględniając te różnice Hirst (15) proponuje podział zakażeń wirusowych na dwa typy. Pierwszy obejmuje zakażenia, przy których czynnik wchodzi bezpośrednio w kontakt z komórką będącą ostatecznym celem jego ataku (tu należą m. in. grypa, zwykłe katary nosa, zakażenie wirusem krowianki) i w tych przypadkach podanie przeciwciał nie daje efektu. Drugi typ — to zakażenia, przy których wirus dla osiągnięcia swego ostatecznego celu (wrażliwej komórki) musi przejść przez krwioobieg; tu Hirst wyróżnia dwie sytuacje: a) tak zwane choroby dziecięce, przy których pierwotne zakażenie dotyczy narządu oddechowego, lecz dla wywołania objawów klinicznych wirus musi przejść z gardła do komórek skóry (np. odra, ospa wietrzna, ospa), b) zakażenia przenoszone przez stonogi — w tych przypadkach wirus także musi przejść przez krwioobieg.

Działanie ochronne przeciwciał polega na swoistym wiązaniu się ich z wirusem (zobojętnianiu), wskutek czego traci on zwykle zdolność adsorpcji na ścianie komórki. Inny mechanizm polega na tym, że zaadsorbowane przeciwciało dostawszy się z wirusem do komórki może hamować

jego oddziaływanie na składniki komórkowe, uruchamiające proces wewnątrzkomórkowego namnażania. Działanie przeciwciał na wirus ektromelii, połączony z następową fagocytozą, opisał Mims (23); kompleksy wirus przeciwciała są przez makrofagi nie tylko wchłaniane, lecz także trawione. Morozow i współpr. (cyt. wg 19) stwierdzili, że przeciwciała typu lizyn mogą powodować nieodwracalne zniszczenie (lize) cząstek wirusa ospy.

Istnieje szereg pewnych dowodów na utrzymywanie się pamięci immunologicznej po zniknięciu antygeny, chociażby trwałość odporności przez ponad 20 lat po wprowadzeniu anatoksyny tężcowej (30) i błędne byłoby przyjmowanie dla wyjaśnienia długotrwałej odporności, konieczności istnienia w organizmie wirusa, chociażby w formie defektywnej lub namnażającego się bardzo powoli (9). Trwałość odporności przeciwwirusowej zależy od wielu czynników (30).

Odpowiednikiem dużej liczby serotypów wirusów wywołujących syndrom danej choroby (np. kataru górnych dróg oddechowych) jest słaba odporność, gdyż powtórne zachorowania mogą być następstwem zakażenia czynnikami immunologicznie odmiennymi. Natomiast przy odrze, ospie wietrznej, których wirusy występują w jednym typie serologicznym odporność jest długa.

Również duża plastyczność antygenowa wirusów powoduje, że odporność jest krótkotrwała; typowe przykłady stanowią wirusy grypy i pryszczycy — ustrój jest wrażliwy na kolejno pojawiające się warianty zarażka.

Dalszy czynnik — to wrażliwość wirusa na przeciwciała. Może ona być mała zarówno wskutek mało efektywnego zubożenia lub wskutek lokalizacji wirusa, powodującej jego nieosiągalność przez krążące przeciwciała.

Charakterystyczne cechy patogenezy również wywierają wpływ na trwałość odporności. Jest ona długotrwała prawie z reguły przy schorzeniach o długim okresie inkubacji — to tłumaczy się tym, że w tych przypadkach jest dość czasu na włączenie się wtórnej reakcji immunologicznej. Również schorzenie, przy którym ma miejsce znaczne rozsianie wirusa w organizmie pozostawia po sobie długotrwałą odporność.

Dawka antygeny z jaką zetknął się organizm gospodarza ma także znaczenie, gdyż jak wiadomo silny bodziec antygenowy powoduje produkcję długo utrzymujących się, najbardziej aktywnych immunoglobulin typu IgG. Z tych samych względów istotną rolę odgrywa także aktywność antygenowa wirusa.

Duże znaczenie dla utrzymania się odporności przez bardzo długi czas posiadają dodatkowe naturalne bodźce antygenowe. Może to być zarówno okresowe intensywniejsze namnażanie się wirusa ukrytego, jak też eks-

pozycja na wirus obecny w środowisku zewnętrznym gospodarza. Tę możliwość należy uważać za bardzo istotną zwłaszcza w odniesieniu do powszechnie występujących wirusów, na przykład odry, ospy wietrznej, różyczki; chorują młode dzieci, a dla reszty populacji stanowi to tylko dodatkowy bodziec uodporniający (6). Jednak również przy braku ekspozycji odporność może się utrzymywać przez bardzo wiele lat, a klasyczny przykład stanowią obserwacje Panuma (cyt. wg 9) z wysp Faroe, jeszcze z 1847 r., gdzie kolejne epidemie odry rozdzielał okres 65 i 31 lat; w każdej epidemii nie chorowały te osoby, które przebyły je poprzednio.

Odporność czynna

Stopień tej odporności zależy od wielu czynników. Najwyższy osiągnięty jest po przebyciu choroby wirusowej, niemniej dobre uodpornienie jest następstwem przebycia zakażenia bezobjawowego. Szczepienie żywymi szczepionkami osłabionymi jest naśladowaniem bezobjawowego procesu zakaźnego, przy zupełnym lub częściowym wykluczeniu ryzyka zachorowania.

Na efekt uodpornienia ma wpływ, ze strony wirusa, jego rodzaj, szczep, stopień jego atenuowania, droga wprowadzenia, dawka szczepionki, użycie adiuwantów, jednokrotność czy wielokrotność szczepienia, odstęp między szczepieniami.

Na stopień uodpornienia wpływa również szereg stanów organizmu. Na ogół uważa się, że osobniki bardzo młode gorzej się uodporniają, co ma być głównie następstwem niezupełnego rozwoju aparatu wytwarzającego przeciwciała. Do niedawno sądzono, że całkiem młode osobniki (noworodki) nie są w ogóle zdolne do reakcji immunologicznej.

Najnowsze badania i obserwacje zebrane w bardzo interesującej pracy przeglądowej Eichenwalda i współpr. (8), z której zaczerpnięto poniższe dane, każą spojrzeć na to zagadnienie w całkiem odmienny sposób. Większość badań odnosi się do człowieka, ale podobne zależności stwierdza się też przy szczegółowych badaniach reakcji immunologicznej młodych zwierząt. Zdaniem wymienionych autorów dotychczasowy pogląd na immunologiczną niekompetencję noworodków opierał się głównie na porównaniu reakcji na wprowadzenie anatoksyny błoniczej w pierwszym tygodniu życia i w wieku kilku miesięcy. Nowe dane wskazują, że odpowiednie boźdce powodują szybki wzrost ilości przeciwciał nawet przed urodzeniem. Powstaje nowa gałąź nauki o odporności — „immunologia płodu”. Antygeny na ogół rzadko docierają do płodu, ale ma to przecież miejsce przy zakażeniach wrodzonych i stwierdzonych przeciwciał (IgM) u płodów z wrodzoną kiłą i toksoplazmozą.

Płody ludzkie produkują IgG i IgM w średnich i dużych limfocytach śledziony i krwi obwodowej już od 20 tygodnia ciąży. Noworodki z wro-

dzoną różyczką, nabytą w pierwszym trymestrze ciąży i niemowlęta zakażone wirusem cytomegalii wykazują wysoki poziom IgM.

Autorzy przytaczają następnie dane wskazujące, że jeżeli wcześniak lub w normalnym czasie urodzone niemowlę otrzyma odpowiedni bodziec antygenowy, to wystąpi charakterystyczna reakcja immunologiczna. Stwierdzono to po podaniu różnych antygenów bakteryjnych, a także żywej antenuowanej szczepionki wirusa polio; dochodzi do syntezy IgM i opóźnionej syntezy IgG, przy czym obie te reakcje są jakościowo takie jak u dorosłych osób, różnią się tylko czasem pojawienia się przeciwciał.

Wybuchy chorób wirusowych w oddziałach wcześniaków i noworodków umożliwiły wykazanie zdolności do reakcji immunologicznych w warunkach zakażenia naturalnego dla wirusów RS, ECHO, niektórych Coxsackie, adenowirusów, parainfluenzy-3, polio i typu B wirusa grypy.

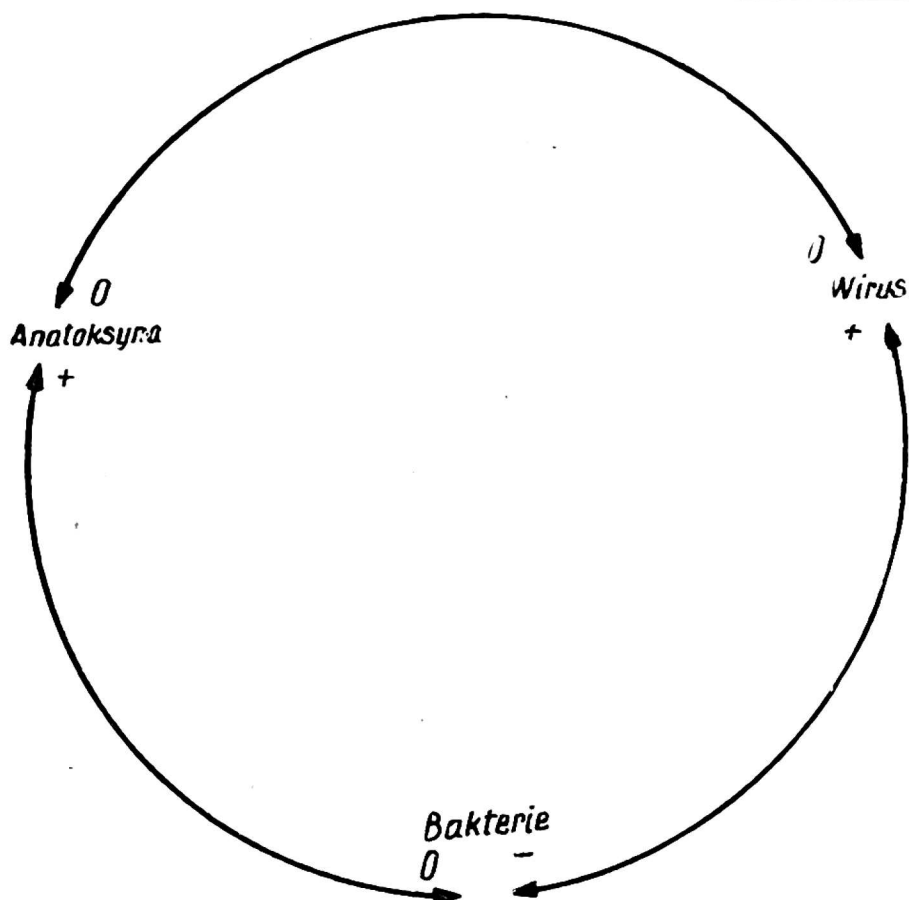
Richardson i współpr. (27) wprowadzili płodom owiec dosercowo (po laparotomii ciężarnych matek) zabita zawiesinę *Br. abortus* i badając następnie krew płodową w odczynie aglutynacji wykazali większą kompetencję immunologiczną płodów niż nowonarodzonych jagniąt; u tych ostatnich odnieść to należy do ujemnego działania przeciwciał przekazanych z siarą. Zdolność reagowania płodów owcy na szereg bodźców antygenowych już w pierwszym trymestrze ciąży stwierdził też Silverstein (28). Płody psa reagują immunologicznie na wprowadzenie im w 40 dniu życia płodowego bakteriofaga $\phi \times 174$ — wirus ten stanowi dogodny i często używany antygen do prób tego rodzaju (17).

Te wszystkie obserwacje i badania podważają słuszność do niedawna panującego uogólnienia, że u płodu i noworodka kontakt z antygenem powoduje tolerancję immunologiczną; nie można obecnie przyjmować tego jako bezwzględnej reguły. Nie stanowi też reguły, w świetle nowszych badań, niezdolność noworodka do immunologicznej reakcji na wprowadzony antygen.

Natomiast dostatecznie udowodniony jest słaby efekt szczepienia osobników młodych, związany z posiadaniem przez nich pewnej odporności biernej wskutek otrzymania przeciwciał matczynych.

Na stopień uodpornienia może również wpływać równocześnie lub w niedużym odstępie czasu wykonywane szczepienie przeciw innym czynnikom zakaźnym, a nawet przeciw innym typom tego samego wirusa. Na przykład przy stosowaniu żywej szczepionki polio triwalentnej (przeciw 3 typom wirusa), najmniej ważny epidemiologicznie typ II na zasadzie interferencji wypiera pozostałe dwa i nie powstaje dostateczna odporność na nie (3). Dlatego przy monowalentnych szczepionkach stosuje się kolejno typ I, II, III w odstępach najlepiej 6 tyg.

Przedstawiony na rysunku schemat Hennessena (cyt. wg 1) ilustruje wzajemny wpływ różnych antygenów w szczepionkach kombinowanych



Rys. Schemat Hannessena ilustrujący wzajemny wpływ antygenów w szczepionce kombinowanej (cyt. wg 3). O — oznacza brak działania, + działania wspierające, — działanie osłabiające aktywność immunologiczną antygeny wskazanego strzałką

(równoczesne uodpornianie przeciw bakteriom, wirusom, toksynom). Anatoksyny i antygeny wirusowe nie przeszkadzają sobie wzajemnie; dodatek bakterii wzmacnia antygenowe właściwości wirusów, co jest prawdopodobnie następstwem ich adsorpcji na powierzchni bakterii; natomiast antygeny bakterii tracą skutek obecności wirusów w mieszaninie, być może w następstwie maskowania determinant bakteryjnych przez antygeny wirusowe; bakterie wzmacniają aktywność anatoksyn, natomiast w odwrotnym kierunku brak jakiegokolwiek wpływu.

Aktualnie toczące się zakażenie jawne lub bezobjawowe może również wywierać wpływ na rozwój odporności czynnej. Na przykład Sieriebriakow i współpr. (26) stwierdzili, że zakażenie mykoplazmami (PPLO), niezależnie od stopnia klinicznego nasilenia, wpływu ujemnie na reakcje immunologiczne kurcząt szczepionych szczepami H i B₁ przeciw chorobie Newcastle; to niekorzystne zjawisko można usunąć przez profilaktyczno-lecznicze stosowanie furazolidonu i streptomycyny na fermie.

Również pora roku może wpływać na rozwój odporności. Stwierdzono, że podawanie dzieciom żywej szczepionki przeciw polio w okresie letnim, kiedy w ich przewodzie pokarmowym są inne enterowirusy, może spowodować brak uodpornienia, gdyż te ostatnie na zasadzie interferencji zahamują rozwój wirusa szczepionkowego (3). To samo zjawisko leży prawdopodobnie u podstawy stwierdzonego przez Cockburna (cyt. wg 32) słab-

szego efektu uodporniającego żywych szczepionek w gorących strefach klimatycznych.

Na skuteczność uodpornienia wywierać może również wpływ „przeszłość immunologiczna” osobnika szczepionego, a mianowicie tak zwany „pierworodny grzech immunologiczny”. Ta ostatnia koncepcja wysunięta przez Francisa, Davenporta i Hennesey’a (cyt. wg 11) zakłada, że osobnik, który po raz pierwszy zetknął się z jakimś wirusem będzie w czasie następnych kontaktów ze spokrewnionymi antygenami reagował głównie na wirus pierwszego zakażenia. Wynika z tego, że kontakt z aktualnym w tej chwili szczepem wirusa da w efekcie bardzo niską odporność przeciw przyszłym szczepom o odmiennej budowie antygenowej.

Szczepionki „żywe” i „zabite”

W zabiegach uodporniających stosowane są szczepionki „żywe” (zawierające wirus żywy) i szczepionki „zabite” (zawierające wirus inaktywowany).

Szczepionki żywe, zawierające pełnozjadliwy wirus, mogą być stosowane tylko przy użyciu nienaturalnej drogi ich wprowadzenia do organizmu, aby zmniejszyć ryzyko zachorowania. Typowy przykład stanowi szczepionka kur przeciwko *laryngotracheitis* przez wcieranie zjadliwego wirusa w błonę śluzową kloaki i *bursa Fabricii*. Rozwój procesu zapalnego w narządzie zupełnie obcym dla tropizmu zarazka jest niegroźny dla zdrowia kur, a daje bardzo dobrą odporność już po 7 dniach. Burnet (5) cytuje próby uodporniania żywym wirusem młodych kobiet przeciw różyczce, co prowadzi do łagodnego schorzenia i rozwoju długotrwałej odporności potrzebnej szczególnie na okres ciąży.

Większość żywych szczepionek stosowanych w masowych szczepieniach zawiera wirus atenuowane, to jest pozbawione w mniejszym lub większym stopniu zjadliwości dla uodpornianych osobników (metody selekcji takich szczepów omawia m. i. n. Mayr, 20). Szczepionki te posiadają szereg zalet. Ich przygotowanie jest stosunkowo proste, są one tanie, gdyż wirus wprowadzony w małej ilości namnaża się w organizmie i osiąga taki poziom, jaki tylko wyjątkowo i to przy użyciu dużych dawek można osiągnąć przy stosowaniu szczepionek zabitych. Dzięki temu reakcja immunologiczna jest szybsza i silniejsza (sprzyja temu również rozprzestrzenianie się wirusa w szczepionym organizmie) i dłużej się utrzymuje. Niezjadliwość wirusa szczepionkowego umożliwia wprowadzenie go drogą, jaką następuje naturalne zakażenie, co ma również duże znaczenie. Dzięki temu istnieją bowiem korzystne warunki dla uruchomienia lokalnej produkcji przeciwciał i reakcji anamnesticznej („booster effect”) w przypadku późniejszego kontaktu ze zjadliwym wirusem, co stanowić może moment zwiększający odporność.

Szczepionki żywe dają odporność szybciej niż inaktywowane np. przeciw polio już po 3—4 dniach (częściowo także dzięki interferencji).

Żywe szczepionki zawierające wirus atenuowany stosowane są powszechnie w weterynarii. Na przykład przeciw rzekomemu pomorowi drobiu stosuje się szczepionki oparte na szczepach mezogenicznych (np. Rokin) i lentogenicznych (Lasota, B₁ F₁₀₇ — atenuowanych bardzo znacznie).

Szczepionki „żywe” posiadają też jednak pewne wady. Najważniejsza to niebezpieczeństwo przenoszenia innych wirusów, które w stanie trudnym do wykazania mogą być namnażane w trakcie produkcji szczepionki. Największe niebezpieczeństwo stanowią wirusy limfomatozy. Żywe szczepionki przeciw rzekomemu pomorowi kur, otrzymane przez namnażanie wirusa na zarodkach, stwarzają możliwość przeniesienia tych zarazków w masowych szczepieniach. Realność takiego niebezpieczeństwa wykazali Burmester i współpr. (4). Pewne żywe szczepionki wywołują niepożądane reakcje uboczne — ma to szczególne znaczenie u ludzi i stwarza szereg przeciwwskazań.

Szczepionki inaktywowane („zabite”)

Wykazują one również szereg zalet. Przede wszystkim w przypadkach dużej zmienności szczepów terenowych, sporządzone z nich takie szczepionki zawierają aktualne komponenty antygenowe.

W odróżnieniu od żywych pozwalają uzyskać odporność po wprowadzeniu ich osobnikom posiadającym jeszcze bierną odporność, przekazaną przez matkę lub nabytą po podaniu surowicy albo gamma globuliny; wykazano to po użyciu inaktywowanych szczepionek przeciw polio i odrze u dzieci (3) i przeciw nosówce u szczeniąt (cyt. wg 24).

Inaktywowane szczepionki można sporządzać w postaci bardziej oczyszczonej, przy ściślejszym dawkowaniu antygenów; pozwala to również produkować kombinowane szczepionki, dzięki ustaleniu optymalnych proporcji poszczególnych komponentów, tak aby nie wpływały na siebie ujemnie w sensie aktywności immunologicznej.

Metody inaktywacji zarówno fizyczne, jak i chemiczne — dotyczą najczęściej zewnętrznej części zarazków, natomiast ideałem byłoby selektywne zniszczenie kwasu nukleinowego wirusa przy zachowaniu niezmienionych składników zewnętrznego białka płaszcza wirusa (1).

Jeden ze sposobów sporządzania inaktywowanych szczepionek polega nie tylko na usunięciu zakaźności wirusa, lecz na rozbiciu wiriona na przykład za pomocą eteru i Tweenu oraz uwolnieniu ukrytych komponentów atygenowych. Są to próby podejmowane w ostatnich latach, a wartość takich szczepionek „rozbitych”, „cząstkowych” jest obecnie intensywnie

badana. Według teoretycznych założeń, częściowo potwierdzonych doświadczalnie, szczepionki takie będą miały większą i szerszą aktywność antygenową dzięki odsłonięciu grup determinujących, normalnie ukrytych w nienaruszonym wirionie przy innych sposobach inaktywacji.

Szczepionki zabite są natomiast drogie, gdyż stosować się je musi w dużych dawkach, nieraz z adiuwantami i zwykle trzykrotnie. Również inaktywacja jest dość kłopotliwa, gdyż bardzo ważny jest właściwy jej stopień, zapewniający z jednej strony nieszkodliwość szczepionki, a z drugiej strony nie naruszający właściwości antygenowych wirusa.

Tak więc zarówno żywe, jak i inaktywowane szczepionki wykazują szereg zalet i wad.

Koncepcja Scholtisseka (25), oparta na jego badaniach myksowirusów sugeruje trzecią metodę uodparniania przy użyciu szczepionek częściowo inaktywowanych. Otrzymany przez niego preparat miał jeszcze zdolność syntezy niektórych komponentów wirusa, jednak bez dawania zakaźnego potomstwa. Autor pracy uważa, że dzięki zdolności tych, częściowo inaktywowanych cząstek wirusowych, do syntezy komponentów uodparniających uzyskuje się tę korzyść, jaką dają szczepionki żywe, gdyż wystarcza wprowadzenie tylko bardzo małych ilości materiału przy szczepieniu.

W dotychczasowych rozważaniach brano pod uwagę zalety i wady szczepionek żywych i inaktywowanych głównie pod kątem uzyskania u danego osobnika należytej odporności i zmniejszenia do minimum ryzyka szczepień. Ten cel jest stosunkowo łatwy do osiągnięcia. Jednak takie stanowisko całkowicie nie uwzględnia epizootiologicznych względnie epidemiologicznych skutków szczepień.

Sprawa stosowania odpowiedniej profilaktyki swoistej przeciw chorobom wirusowym zwierząt, jako narzędzia nie tylko doraźnego zmniejszenia strat, ale jako jednej z metod zwalczania tych chorób jest zagadnieniem weterynaryjnym, ale i ekonomicznym.

Bardzo cenne są prace Mayra (20, 21, 22), dotyczące zależności między charakterem choroby zakaźnej (w sensie epizootiologicznym) a rodzajem profilaktyki swoistej. Autor uwzględnia zarówno teoretyczne przesłanki, jak i dane doświadczalne oraz obserwacje terenowe i przedstawia bardzo przekonująco koncepcje dotyczące zasad postępowania profilaktycznego — przede wszystkim wyboru szczepionek żywych lub inaktywowanych. Krótko ujęte to jest w tabeli, a poniższy komentarz stanowi skrót rozważań wymienionego autora. Trzeba mieć na uwadze, że aktywna interwencja człowieka za pomocą szczepień powoduje również ciągłe zmiany charakteru danej choroby zakaźnej. Rozsądne postępowanie profilaktyczne daje korzyści, a nieuwzględnienie pewnych cech chorób nagminnych może przynieść szkody. To ostatnie stwierdza się na przykład

przy używaniu szczepionek żywych zawierających zbyt zjadliwe szczepy lub przy chorobach, przy których z uwagi na ich charakter epidemiologiczny lub patogenetyczny stosować można tylko szczepionki inaktywowane. I odwrotnie także inaktywowane szczepionki, stosowane przy chorobach zakaźnych charakteryzujących się dużym odsetkiem postaci bezobjawowych, mogą wskutek prowokacji i ujawnienia tych postaci pogorszyć sytuację (szybszy wzrost krzywych zachorowalności niż gdyby nie stosowało się szczepienia).

Mayr przytacza kilka typowych przykładów. I tak stosowanie żywych szczepionek prowadzi do kontrolowanego i bezpiecznego „życia z zarazkiem”, to znaczy — śmiertelność i zachorowalność spadają znacznie, a zjadliwe szczepy terenowe są coraz bardziej wypierane. Jednak nie eliminuje to całkowicie zakażenia, a tylko przesunęła je na inny tor, ponieważ hamuje rozwój choroby; epizootia przechodzi w podprogową, permanentną enzootię (takie zjawisko stwierdzono na przykład przy pomorze świń, księgosuszu, zapaleniu oskrzeli kur, chorobie Newcastle w USA), która stanowi stałe zagrożenie dla populacji, a uniemożliwia likwidację zarazy.

Autor tych rozważań omawia też inne czynniki, które mogą zarówno ujemnie, jak i dodatnio wpływać na charakter zarazy przy stosowaniu żywych szczepionek. Są to źle atenuowane lub zbyt zjadliwe szczepy szczepionkowe, interferencja ze szczepami terenowymi, mutacja, selekcja i rekombinacja zarazków terenowych oraz szczepionkowych.

Użycie żywych szczepionek nie spowodowało w żadnym przypadku zupełnego opanowania zarazy i likwidacji zarazka, natomiast daje ono wyraźne ograniczenie zachorowalności i śmiertelności oraz związane z tym korzyści ekonomiczne. Wyjątek stanowią żywe szczepionki zawierające heterologiczne zarazki, jak na przykład wirus ospy gołębi i indyków przeciw ospie kur, atenuowany szczep wirusa odry ludzi przeciw nosówce psów, wirus fibromatozy przeciw myksomatozie królików, wirus „lumpy skin disease” i wirus ospy kóz przeciw ospie owiec (cyt. wg 21) lub wirus biegunki bydła („mucosal disease”) przeciw pomorowi świń. Zdaniem Mayra w optymalnych warunkach profilaktyka przy użyciu tych szczepów pozwala uzyskać nie tylko bezpieczne „życie z zarazkiem”, ale i likwidację zarazka. Niestety te szczepionki wykazują często zbyt słabe właściwości uodparniające.

Całkowicie inaczej oceniać należy szczepienia inaktywowanymi szczepionkami. O ile na terenach permanentnie objętych chorobą zakaźną, gdzie nie ma szans likwidacji choroby i zarazka, zaleca się stosowanie żywych szczepionek, to szczepionki inaktywowane mogą być użyte również w celach profilaktycznych na obszarach i w okresach wolnych od danej choroby, a więc chronią pogłowie zwierząt przed zawleczeniem do niego choroby. Takie szczepienia nie prowadzą do osiedlenia się zarazka w da-

T a b e l a

Dobór rodzaju szczepionki w zależności od typu* choroby wirusowej (Mayr, 21)

Szczepionki	Szczepy	Typowy przykład	Przydatne	Wpływ na charakter choroby zakaźnej	Nie-przydatne
	naturalnie występujące, nie-zjadliwe lub słabo zjadliwe zarazki homologiczne	szczepionka doustna przeciw rzeżomemu pomorowi drobiu (chorobie Newcastle): lentogenne szczepy wirusowe	1,3	spadek liczby zakażeń szeregiem zjadliwym, spadek zachorowalności i śmiertelności, zahamowanie strat gospodarczych; „życie z zarazkiem”	5
	sztucznie osłabione (atenuowane) zarazki homologiczne	szczepionka przeciw parainfluenzie-3 bydła: atenuowane szczepy parainfluenzy-3	1,3,4	—, —	5
„Żywe”	naturalnie występujące zarazki heterologiczne	szczepionka przeciw ospie kur: heterologiczny wirus ospy gołębi lub indyków	1,2,3,4,5	spadek częstości zakażeń, zachorowalności i śmiertelności; wypieranie czynnika zakaźnego	—
	sztucznie atenuowane zarazki heterologiczne	szczepionka przeciw nosowce psów: atenuowany wirus odry ludzkiej	1,2,3,4,5	—, —	—

<p>Inaktywowa- wane</p>	<p>homologiczne związki zjad- liwe, inaktywowane meto- dami chemicznymi lub fi- zycznymi</p>	<p>szczepionka przeciw prysz- czy: wirus pryszczycy ina- ktywowany formaliną</p>	<p>2,3,4,5</p>	<p>przy pierwszym zawlecze- niu: przeszkodzenie rozprze- strzenianiu się; przy roz- przestrzenianiu się przez kontakt: zmniejszenie za- chorowalności i śmiertel- ności; szczepienie służy li- kwidacji zarazy</p>	<p>1</p>
-----------------------------	--	--	----------------	--	----------

Typy: typ 1 — enzootia kontaktowa o niezmiennym nasileniu lub wykazująca tendencję wzrostową (zaraza utrzymuje się nieprzerwanie dzięki bezobjawowym zakażeniom); typ 2 — enzootia kontaktowa z tendencją spadkową zakażenia bezobjawowe nie odgrywają żadnej roli); typ 3 — enzootia lub epizootia przenoszona biologicznie przez żywe wektory; typ 4 — enzootia lub epizootia przenoszona przez martwe wek-
tory lub mechanicznie przez żywe wektory) zakażenia kontaktowe nie odgrywają dużej roli); typ 5 — epizootia nie związana z danym tere-
nem, przy której zakażenia bezobjawowe nie mają żadnego znaczenia dla rozprzestrzeniania zarazy (zaraza jest zawlekana z zewnątrz do da-
nego kraju lub na dany teren i rozprzestrzenia się następuje przez kontakt lub przez nieożywione wektory).

nym środowisku, a do likwidacji zarazy. Skuteczność taką można zwiększyć przez połączenie szczepień z metodą „stamping out”.

Odporność bierna

Wyróżnia się dwie jej postacie. Wrodzona albo naturalna jest następstwem przekazania przeciwciał potomstwu przez odporną matkę. U zwierząt, których typ łożyska (placenta haemo-chorialis) pozwala na przechodzenie przeciwciał następuje to już w okresie życia płodowego. Ma to miejsce u człowieka, małp człekokształtnych i gryzoni (królików, świnek morskich, szczurów, myszy, nietoperzy, jeży, wiewiórek itd.). Przechodzą prawie wyłącznie przeciwciała 7S IgG, inne immunoglobuliny tylko w minimalnych ilościach. Mechanizm tego zjawiska nie został dotąd dokładnie wyjaśniony; wiadomo jednak, że jest to proces czynny (8), gdyż tylko to może tłumaczyć przedostanie się do płodu ilości IgG większych niż stwierdza się w surowicy matki. Przechodzenie tylko przeciwciał 7S związane jest z obecnością w nich pewnych struktur, których nie mają makroglobuliny, a nie z wielkością cząsteczki (cyt. wg 9).

Eichenwald i współpr. (8) dokonali przeglądu badań dotyczących tego zagadnienia u ludzi. Wynika z nich, że noworodek przychodzi na świat z zespołem przeciwciał stanowiących kopię immunologicznych przeżyć matki, lecz że brak tu zależności ilościowych; na przykład poziom przeciwciał u płodu przeciw wirusom adeno, polio i pewnych ECHO waha się w znacznych granicach, niezależnie od miana stwierdzonego u matki. Również stopień działania ochronnego przeciwciał zależy od rodzaju wirusa; zabezpieczenie przeciw odrze mumpsowi i zapaleniu wątroby A jest prawie całkowite, natomiast słabsze przeciw zakażeniu pewnymi adenowirusami, wirusem herpes i wirusami Picorna.

Przekazywanie przeciwciał przez matkę potomstwu następuje również za pośrednictwem siary. Jest to wyłączny mechanizm wrodzonej odporności biernej u zwierząt, u których typ łożyska uniemożliwia przechodzenie przeciwciał w macicy. A tak jest u zwierząt domowych (jedynie u psa ma miejsce nieznaczne przekazywanie przeciwciał płodowi, jak to wykazał Brambell (cyt. wg 10). Oseki pobierają przez około 36 godzin z siarą przeciwciała i te przedostają się do krwioobiegu. U ptaków przekazywanie przeciwciał następuje przez woreczek żółtkowy.

Wrodzona odporność bierna zabezpiecza nowonarodzone zwierzęta w okresie ich pierwszych tygodni, a nawet miesięcy życia. U cieląt maksymalne miana przeciwciał (przeciw wirusom IBR i parainfluenzy-3) stwierdza się, jeżeli otrzymają najmniej 1000 ml siary w ciągu pierwszych 12 godzin po porodzie; trwałość tej odporności zależy głównie od maksymalnego miana uzyskanego w czasie pierwszych 2 dni, a może utrzymywać się nawet ponad 5 miesięcy (29).

Dlatego ostatnio zwraca się uwagę na celowość uodparniania w odpowiednim czasie ciężarnych samic dla zapewnienia wysokiego poziomu przeciwciał przekazywanych potomstwu; szczepienie kur przeciw zapaleniu mózgu i rdzenia w okresie kiedy jaja przeznacza się do wylęgu zapewnia ochronę ich potomstwa (16).

Ujemny wpływ biernej odporności na efektywność czynnego uodparnienia młodych zwierząt omówiono już poprzednio.

Druga postać odporności biernej powstaje przez wprowadzenie surowicy zawierającej gotowe przeciwciała. Otrzymuje się natychmiastowy stan odporności przeciw zakażeniu wirusowemu, co jest potwierdzeniem decydującego znaczenia przeciwciał. Efektywność jej zależy jednak nie tylko od ilości podanych przeciwciał, lecz również od drogi, którą wprowadza się wirus przy zakażeniu kontrolnym, mającym na celu sprawdzenie stopnia odporności. Będzie ona tym większa, im większe będą możliwości bezpośredniego kontaktu wirusa z przeciwciałem. Burnet (5) cytuje dane Olitsky'ego i Harforda wskazujące przykładowo na różnice ochronnego działania surowicy przeciw wirusowi wschodniego encefalitu u myszy; podana dootrzewnowo chroni ona myszy przeciw 10^7 (10 milionów) dawek wirusa przy zakażeniu domięśniowym, ale przy zakażeniu domózgowym tylko przeciw najwyżej 10 dawkom wirusa.

Efekt profilaktycznego podawania surowic odpornościowych w przypadku toczącego się już procesu wirusowego w organizmie, ale jeszcze przed wystąpieniem objawów chorobowych (okres inkubacji), zależy od charakteru samego wirusa, głównie od tego, czy dla osiągnięcia swego ostatecznego celu — narządów, których zajęcie wyraża się chorobą — musi przejść przez krwioobieg (omówiono to szczegółowo przy mechanizmie działania przeciwciał). Natomiast próby leczniczego wykorzystania odporności biernej w chorobach wirusowych nie dają efektu.

W odróżnieniu od dość długo utrzymującej się odporności biernej wrodzonej (przekazanej przez matkę) odporność wywołana przez podanie surowicy osobnikowi dorosłemu zanika stosunkowo szybko (po kilku tygodniach); dzieje się tak dlatego, że w tym drugim przypadku stosuje się zwykle obcogatunkową surowicę — np. u człowieka końską, a dorosły biorca posiada już pełnosprawny mechanizm odpornościowy i reaguje na heterologiczne białko. W następstwie tego aktywność przeciwciał zanika szybciej niż nastąpiłoby to przy użyciu surowicy homologicznej. Czas utrzymywania się wprowadzonych przeciwciał zależy też w pewnym stopniu od rodzaju wirusa i makroorganizmu.

Użycie gamma-globuliny jest doskonalszą formą biernego uodparniania. W mniejszej dawce wprowadza się większą ilość przeciwciał, a brak pozaglobulinowych frakcji białek i innych składników w surowicy eliminuje ujemne ich działanie na organizm. W medycynie ludzkiej stosowanie

gamma-globuliny oddaje wielkie usługi, szczególnie w zapobieganiu odrze i polio. W medycynie weterynaryjnej użycie tych preparatów, z uwagi na duży koszt, jest na razie bardzo ograniczone.

LITERATURA

1. Bonin O.: *Prakt. Arzt* Band 4. 1966.
2. Bonin, O.: *Gelb. H.*, nr 14, 617, 1968.
3. Bonin, O.: *Gelb. H.*, nr 15, 742, 1968.
4. Burmester, B. R., Gentry, R. F., Waters, N. F.: *Poultry Sci.* 34, 609, 1955
5. Burnet, F. M.: *Principles of Animal Virology*. New York, London 1960.
6. Carpenter, P. L.: *Immunology and Serology*. W.B. Saunders Co. Philadelphia, London 1965.
7. Cohen, S., Milsten, C.: *Nature* 214, 449, 1967.
8. Eichenwald, H. F., McCracken, G. H., Kindberg, S. J.: *Progr. Med. Virol.* 9, 35, 1967.
9. Fenner, F.: *Immune Mechanisms in Viral Infections*. In „Viral and Rickettsial Infections of Man”. Pitman Medical, London 1965.
10. Gillies, R. R.: *Vet. Rec.* 77, 1396, 1965.
11. Hale, J. H.: *Duration of Immunity in Virus Disease*. *Advances in Immunology*. Vol. 1. New York, London 1961.
12. Haurowitz, F.: *The Role of Antigen in Antibody Formation*. In „Immunity in Virus Infection”. New York 1959.
13. Heffner, R. R., Schleuderberg, A.: *J. Imm.* 98, 668, 1967.
14. Heremans, J. F.: *Curr. Topics Microb. Imm.* 45, 131, 1968.
15. Hirst, G. K.: *Cell-Virus Attachment and the Action of Antibodies on Viruses*. In „Viral and Rickettsial Infections of Man”. Pitman Medical London 1965.
16. Howell, D. G.: *Vet. Rec.* 77, 1391, 1965.
17. Jacoby R. O., Dennis R. A., Griesemer R. A.: *Am. J. Vet. Res.* 20, 1503, 1969.
18. Korn G., *Tierärztl. Umsch.*, nr 6, 262, 1968.
19. Kosjakow P. N.: *Faktory i mechanizmy protiwowirusnego immunitieta*. W „Aktualnyje Woprosy Wirusologii”. Izd. „Medicina”, Moskwa 1965.
20. Mayr A.: *Zbl. Bakt. I Orig.* 191, 37, 1963.
21. Mayr A.: *Zbl. Bakt. I Orig.* 205, 276, 1967.
22. Mayr A., Ecker skorn W.: *Tierärztl. Umsch.*, nr 9, 415, 1965.
23. Mims C. A.: *Bacter. Rev.* 28, 30, 1964.
24. Piercy S. E.: *J. A. V. M. A.* 149, 684, 1966.
25. Scholtissek Chr.: *Zbl. Vet. Med.* 128, 351, 1965.
26. Sieriebriakow A. S., Szubin W. A., Czistow Z. J.: *Wietier* 46, 45, 1969
27. Richardson M., Beck C. C., Clark D. T.: *J. Imm.* 101, 1363, 1968, ref. *Vet. Bull.* 3403/1969.
28. Silverstein A. M.: *Science* 144, 1423, 1964.
29. Straub O. C.: *Tierärztl. Umsch.* 42, 571, 1969.
30. *Wakcyny protiw wirusnych i rikketsioznych zaboiewanij czielowieka*. *Dokład Naucznoj Grupy WOZ (WHO)*, nr 319, 1967.
31. Zilbera L. A.: *Uczenie o wirusach*. Moskwa 1956.
32. *Zur Poliomyelitis — Schutzimpfung*. *Gelb. H.*, nr 14, 675, 1968.