

TRUDNOŚCI W IMMUNIZACJI KRÓLIKÓW PEŁNYM NASIENIEM I PLAZMĄ KNURA

Zdzisław Dobkowicz

Pracownia Fizjologii i Patologii Rozrodu
Zakład Higieny Weterynaryjnej w Opolu
Kierownik Zakładu: dr Anna Kamińska

Immunosurowica jest nieodzownym reagentem każdej próby immunologicznej, nadto surowice od zwierząt hyperimmunizowanych są używane do celów leczniczych i diagnostycznych przy stosowaniu rozpoznania *ex iuvantibus*. Producentami immunosurowic są najczęściej króliki, kozy, konie, a dla celów laboratoryjnych także świnki morskie, szczury i drób. Immunizację można prowadzić w układach izo- homo- lub heterogenicznych.

W niniejszej publikacji opisano immunizację królików plazmą nasienia i plemnikami knurów.

MATERIAŁ I METODY

Do immunizacji użyto zmieszanego nasienia, uzyskanego metodą manualną od trzech knurów. Badania bakteriologiczne nasienia przeprowadzono na pożywkach powszechnie do tego celu stosowanych. Ilościowe badanie bakteriologiczne i badanie morfologiczne plemników przeprowadzono wg obowiązujących metod [2].

Króliki w grupie pierwszej immunizowano plemnikami odwirowanymi, trzykrotnie przemytymi i zawieszonymi w jałowym płynie fizjologicznym o pH 7.

Króliki z grupy drugiej immunizowano plemnikami nie przemywanymi, lecz zawieszonymi po odwirowaniu w płynie fizjologicznym.

Króliki grupy pierwszej i drugiej immunizowano wg metody podanej przez Rühmke [3], tj. podskórnice, w kilka miejsc, w ilości $1,5-1,7 \times 10^9$ plemników w jednej dawce, czterokrotnie, co drugi dzień. Po czwartej iniekcji pobrano krew w celu określenia stopnia uzyskanej odpowiedzi.

Króliki w grupie trzeciej immunizowano plazmą nasienia knurów oddzieloną od plemników przez wirowanie przy 3000 obr/min, w ciągu 5 minut. W zebranej znad osadu plazmie oznaczono metodą biuretową białko całkowite i po przeprowadzeniu dodatkowych ilościowych badań bakteriologicznych zamrożono w ampułkach w temp. -18°C . Plazmę podawano co 4 dni domięśniowo w kilku miejscach w ilości od 0,3 ml, w dawkach wzrastających o 0,1 ml, aż do ostatniej — wynoszącej 0,7 ml plazmy. Stanowiło to odpowiednio 9-21 mg białka całkowitego w jednej dawce. Po 43 dniach od zakończenia immunizacji króliki tej grupy reimunizowano.

Podczas całego okresu immunizacji wszystkie króliki były pod stałą obserwacją. W wypadku padnięcia przeprowadzano sekcję oraz badanie bakteriologiczne. Immunosurowice kontrolowano w teście podwójnej dyfuzji wg Ouchterlony i aglutynacji, przeprowadzanej techniką użytą przez Franklina i Dukesa [cyt. za 1].

WYNIKI BADAŃ

W grupie pierwszej (u dwóch królików po pierwszej iniekcji, a u pozostałych dwóch po drugiej) zauważono wzrost temperatury ciała, zmniejszony apetyt oraz obniżoną aktywność ruchową. W miejscach wprowadzenia plemników powstały twarde, bolesne obrzęki. Po trzech dniach od rozpoczęcia immunizacji jeden królik padł, a drugi — ze względu na bardzo zły stan ogólny — został skrwawiony. Pozostałe dwa króliki dotrwały do końca immunizacji, ale ze względu na krytyczny stan ogólny również zostały skrwawione. Sekcyjnie u królików z tej grupy stwierdzano w tkance łącznej podskórnej, w miejscach wprowadzenia antygeny, guzy wypełnione kremową, ciastowatą, cuchnącą treścią. W posiewach bakteriologicznych z treści tych guzów otrzymano obfity wzrost *Pseudomonas aeruginosa* i ziarniaków. U królików padłych stwierdzono ogniska zapalne w płucach, z których izolowano *Pasteurella multocida*. Surowice królików, które dotrwały do końca immunizacji, nie aglutynowały plemników, a w podwójnej dyfuzji z plazmą knura jedna surowica dała słabą linię precypitacyjną.

U królików w grupie drugiej po podaniu dawek immunizacyjnych zaobserwowano identyczne objawy kliniczne i zmiany sekcyjne, jak u królików w grupie pierwszej. Identyczne były również wyniki badań bakteriologicznych treści guzów. Surowice tej grupy królików nie aglutynowały plemników, a w podwójnej dyfuzji z plazmą nasienia wszystkie surowice dawały jedną słabą linię precypitacyjną.

U królików z grupy trzeciej nie obserwowano zmian klinicznych. Surowice uzyskane po okresie immunizacji nie aglutynowały plemników ani nie dawały linii precypitacyjnych w teście podwójnej dyfuzji z plaz-

mą knura. W surowicy dwóch królików z tej grupy, które reimmunizowano, stwierdzono w podwójnej dyfuzji słabe, obłoczkowe linie precypitacyjne.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Uzyskane efekty immunizacji w grupach pierwszej i drugiej, jak również immunizacji i reimmunizacji w grupie trzeciej, nie są zadowalające. W grupie pierwszej i drugiej nie uzyskano immunosurowic dających intensywne linie precypitacyjne oraz swoistą aglutynację plemników. W badaniach bakteriologicznych nasienia knurów, użytego dla tych grup królików, stwierdzono wzrost saprofitycznej flory bakteryjnej w ilości około 185 000 w jednym ml nasienia. Dalszy wzrost koncentracji drobnoustrojów zapewne pojawił się w następstwie odwirowania nasienia. Toteż wydaje się, że niezadowalające wyniki immunizacji w tych grupach są skutkiem zbyt dużej koncentracji drobnoustrojów w podawanych dawkach immunizacyjnych. Izolowanie z chorobowo zmienionych tkanek królików pałeczki ropy błękitnej, jak również obserwowane u immunizowanych zwierząt objawy kliniczne i zmiany anatomo-patologiczne, zdaje się to potwierdzać. Podane podskórnie wraz z plemnikami bakterie, których nie można było się pozbyć, w dogodnych warunkach wielokrotniły swoją liczebność. Drobnoustroje występujące w tej ilości mogły obniżyć własności antygenowe plemników i uniemożliwić wywołanie u królików swoistej reakcji immunologicznej. Chociaż ogniska zapalne w tkance łącznej zostały zlokalizowane, wystąpienie ostrych objawów klinicznych już po pierwszych iniekcjach wskazuje, że były one następstwem infekcji tymi drobnoustrojami. Można również przypuszczać, że spowodowały one do tego stopnia system obrony immunologicznej królików, iż słabe antygenowo białka plemników nie zdolały spowodować odpowiedzi immunologicznej.

W trzeciej grupie królików w plazmie użytej do immunizacji zanieczyszczenie drobnoustrojami wynosiło tylko 8600 bakterii w 1 mililitrze. Toteż w grupie tej nie zaobserwowano zmian klinicznych ani anatomo-patologicznych. Brak efektów immunizacji królików można by zatem przypisać albo zbyt małej ilości podanego białka, bowiem użyta do immunizacji plazma zawierała tylko 2,96 g⁰/_o białka całkowitego, albo słabej antygenowości białek nasienia użytego do immunizacji. Reasumując należy stwierdzić, że wynikię podczas immunizacji królików trudności i niezadowalającą jakość uzyskanych immunosurowic można przypisać zakażeniu nasienia saprofityczną florą bakteryjną, której przy normalnym toku postępowania nie udało się wyeliminować, jak również prawdopodobnie słabej antygenowości białek nasienia knurów. Dalsze badania w celu uzyskania pełnowartościowych immunosurowic są w toku.

PIŚMIENNICTWO

1. Boettcher B., Judith Hay: Proc. of the Intern. Symp. of Immunology of Spermatozoa and Fertilization. Varna 1967. Bulg. Acad. Sci. Press, Sofia 1969.
2. Ministerstwo Rolnictwa, Departament Weterynarii: Instrukcja w sprawie sposobu badania i oceny przydatności rozplodowej buhajów. Z dnia 24 grudnia 1968 r. (Wet. J. 11/8/68). PWRiL, Warszawa 1969.
3. Rühmke P.: Proc. of Int. Symp. of Immunology of Spermatozoa and Fertilization. Varna 1967. Bulg. Acad. Sci. Press, Sofia 1969.

Здзислав Добкович

ТРУДНОСТИ В ИММУНИЗАЦИИ КРОЛИКОВ
ПОЛНЫМ СЕМЕНЕМ И ПЛАЗМОЙ ХРЯКА

Резюме

В опыте использовали 12 кроликов, которые были разделены на три группы. В первой группе кроликам давали четырехкратно сперматозоиды хряков в концентрации $1,5-1,7 \times 10^9$ сперматозомдов в одной дозе, трехкратно промытых физиологической жидкостью. Во второй кроликам давали такие же количества, не промытых сперматозоидов. Третью группу кроликов иммунизировали путем внутримышечной инъекции плазмы семени хряка.

Не получено соответствующей иммунологической реакции. Слабые эффекты иммунизации следует объяснять слишком сильной инфекцией семени в первой и второй группе, а в третьей группе — слишком малыми количествами полного даваемого в одной фазе белка или его слабой антигенностью.

Zdzisław Dobkiewicz

DIFFICULTIES OF IMMUNIZATION OF RABBITS
WITH FULL SEMEN AND PLASMA OF A BOAR

Summary

In the respective experiment 12 rabbits were used, divided into three groups. The first group of rabbits was given four times boar spermatozoa in the concentration of $1.5-1.7 \times 10^9$ spermatozoa in one dose, rinsed threefold with physiological fluid. The second group of rabbits was given the same quantity of non-rinsed spermatozoa. The third group was immunized by means of the intramuscular administration of the boar semen plasma.

No appropriate immunological response has been obtained. The weak immunization effects can be explained by too strong infection of semen in the first and second group, while in the third group they can be ascribed to little full protein quantities administered in one dose, or to a weak antigenicity of the protein.

*Lek. wzt. Zdzisław Dobkiewicz
Zakład Higieny Weterynaryjnej w Opolu
Pracownia Fizjologii i Patologii Rozrodu
45-951 Opole, ul. Buczka 1*