

Szczepienia koni

Jerzy Kita¹, Krzysztof Anusz², Magdalena Zaleska¹

z Katedry Nauk Klinicznych¹ oraz Katedry Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego² Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Rozprzestrzenianie się wysoce zaraźliwej choroby w dużych populacjach koni zwykle trwa tygodnie, a nie kilka dni. Możliwe więc jest jej zwalczanie i kontrola już po wybuchu. Nawet w przypadku grypy szerszącej się bardzo gwałtownie, nowe przypadki występują w okresie od 3 do 4 tygodni, a pośrednie drogi szerzenia są ważniejsze niż zakażenia aerozolowe. To sprawia, że nowe wybuchy choroby mogą być ograniczane poprzez skuteczny nadzór, używanie szybkich testów

nie, nowe przypadki występują w okresie od 3 do 4 tygodni, a pośrednie drogi szerzenia są ważniejsze niż zakażenia aerozolowe. To sprawia, że nowe wybuchy choroby mogą być ograniczane poprzez skuteczny nadzór, używanie szybkich testów

do diagnostyki zakażonych zwierząt, izolowanie zakażonych zwierząt przez 14 dni, ograniczenie zarówno bezpośrednich, jak i pośrednich kontaktów pomiędzy zwierzętami podatnymi na zakażenie i używanie skutecznych szczepionek w ogniskach choroby (1, 2).

Szczepienie przeciwko chorobom zakaźnym przenoszonym bezpośrednio jest skuteczne tylko wtedy, kiedy podlega mu większość zwierząt w stadzie. Wysoka odporność stada pośrednio zabezpiecza nie szczepione, podatne zwierzęta. Ta koncepcja jest szczególnie bliska epidemiologii chorób zakaźnych ludzi, ale poma-

¹ Komisja podkreśliła, że następne spotkanie ekspertów odnośnie do programów nadzoru nad dzikimi ptakami powinno się odbyć na początku września br.

Equine vaccination

Kita J.¹, Anusz K.², Zaleska M.¹ • Department of Clinical Sciences¹ and Department of Food Hygiene and Public Health², Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw Agricultural University.

Vaccination, along with management measures, is considered a primary method to control infectious diseases. This paper reviews current protocols for equine vaccination. Traditionally live and inactivated vaccines are in use but new strategies employing recombinant, vectored and DNA vaccines approach. System of vaccine strains selection has been implemented offering new approach to the surveillance of most important equine infectious diseases. Development of new adjuvants and antigen presentation systems allows to induce prolonged protective immune response with the use of inactivated vaccines. However, in a number of diseases immunization has shown its limitations. Endemic infections occur often in foals with failure of passive transfer. In these conditions maternal antibody level is too low to protect the foal but may still be high enough to block the development of active immune response after vaccination. It is now expected that rapid progress in the technology of antigen screening and understanding of equine immune system will help to design of many new vaccines to prevent, control and possibly eradicate equine infectious diseases.

Keywords: horse, vaccination, infectious diseases.

ga również lepiej zrozumieć epidemiologię bezpośrednio przenoszonych chorób zakaźnych koni i znaczenie szczepień w ich zwalczaniu i kontroli. Dokładnego określenia wpływu szczepień na stado można dokonać, wykorzystując dodatkowo informacje na temat trwania odporności matczynej, wieku zwierząt ulegających pierwszemu zakażeniu, czasu trwania siewstwa zarazka przez zakażone zwierzęta i trwania odporności po naturalnych zakażeniach i szczepieniach, średniej długości czasu przebywania zwierząt w stadzie lub w grupie oraz częstotliwości kontaktów w grupie (2).

Zebranie odpowiednich danych epidemiologicznych umożliwia wyznaczenie części stada lub grupy, która musi być skutecznie szczepiona. Matematyczne modelowanie odporności na poziomie stada pozwala na wprowadzanie alternatywnych metod kontroli chorób. Są to programy uwzględniające raczej celowane szczepienia w grupach wysokiego ryzyka niż jednolitą strategię szczepień w całej populacji oraz szczepienia interwencyjne w ogniskach choroby.

Należy unikać stosowania szczepionek multiwalentnych. Trudno wtedy ułożyć najbardziej skuteczne programy szczepień, czyli zapewnić wytworzenie najbardziej wydajnej, najdłuższej i występującej w najbardziej odpowiednim czasie odpor-

ności. Należy pamiętać, że konie są zagrożone wieloma chorobami, w różnym czasie ich życia i w różnych okolicznościach zależnych od wieku, sposobu utrzymania i użytkowania. Przykładowo odporność po szczepieniu przeciwko tężcowi trwa przez lata, a odporność przeciwko influencji miesięce. Ponadto źrebięta są bardziej zagrożone tężcem niż młode konie wyścigowe, natomiast nie podlegają wysokiemu ryzyku zakażenia wirusem influencji. Tak więc, optymalny czas szczepienia przeciwko tym chorobom nie jest jednakowy.

Skuteczność szczepionki nie może być określona na podstawie jednej obserwacji klinicznej. Hipoteza musi być sprawdzona odpowiednimi metodami naukowymi. Wyniki badań serologicznych są źródłem jedynie pośredniej informacji na temat odporności osiągniętej po szczepieniu (3). Dopiero zakażenie doświadczalne zarówno koni szczepionych, jak i nie szczepionych dostarcza mocnych dowodów skuteczności szczepionki. Trudno jednak przewidzieć jaka ona będzie w przypadku zakażenia naturalnego. Pewność uzyskuje się dopiero po serii badań epidemiologicznych lub nawet po seriach badań zarówno doświadczalnych, jak i epidemiologicznych.

Odpowiedź immunologiczną konia na szczepienie może być obniżona przez wiele czynników, wśród których ważną rolę odgrywa proces prezentacji antygenów związany z głównym układem zgodności tkankowej – MHC (major histocompatibility complex). Innym ważnym czynnikiem jest immunosupresja wynikająca z różnych stanów chorobowych, ze stosowania leków, w tym przede wszystkim kortykosteroidów. Obniżają one przede wszystkim odpowiedź immunologiczną związaną z powstawaniem przeciwciał klas IgG₁ i IgG₂. Prawdopodobnie jednak najważniejszym czynnikiem gospodarza wpływającym na skuteczność szczepień jest wiek zwierzęcia. Stosunkowo dokładnie badano jego wpływ u koni młodych. Mniej wiadomo na ten temat w odniesieniu do koni starszych. Z całą pewnością należy unikać u nich stosowania szczepionek atenuowanych, ponieważ żywy zarazek może być groźny dla starszego organizmu. Bezpieczne są natomiast szczepionki inaktywowane, z których większość powinna być starszym koniom podawana corocznie lub nawet częściej (4). Wydaje się, że wiek może nie być czynnikiem osłabiającym odpowiedź immunologiczną poszczepienną, jeśli w szerszym zakresie stosowane będą szczepionki DNA. Zachęcające wyniki uzyskano, stosując szczepionkę DNA przeciwko zakaźnemu wirusowemu zapaleniu tętnic (EAV), kiedy to zarówno poszczepienne miano przeciwciał, jak i czas trwania swoistej poszczepiennej humoralnej odpowiedzi immunologicznej, nie różniły się u koni 6-letnich, a nawet 21-letnich (5).

Niedobory immunologiczne sprzyjają chorobom układu oddechowego źrebiąt w wieku od 1 do 6 miesiąca życia. Szczególnie groźne w tym okresie jest zakażenie *Rhodococcus equi*, które przyjmuje postać epidemiczną. Obecnie stosowana immunoprofilaktyka to podawanie osocza od hiperimmunizowanych koni lub stosowanie autoszczepionek u klaczy ciężarnych i źrebiąt. Nie można jednoznacznie stwierdzić, czy zakażenia układu oddechowego u młodych koni są związane z określonym niedoborem immunologicznym, czy też z normalną, związaną z wiekiem podatnością na zakażenie niedojrzałych immunologicznie źrebiąt (6).

Źrebięta syntetyzują immunoglobuliny od momentu urodzenia, ale ich wytwarzanie nie osiąga odpowiedniego poziomu do 2 miesiąca życia. Ponadto w pierwszych tygodniach życia odpowiedź immunologiczna źrebiąt jest hamowana przez obecne jeszcze biernie przekazane przeciwciała matczyne. Miano przeciwciał matczynych przeciwko wielu ważnym patogenom obniża się poniżej poziomu hamującego odpowiedź immunologiczną około 2–3 miesiąca życia. Czasami okres ten jest dłuższy, np. w przypadku przeciwciał przeciwko wirusowi influencji może trwać nawet 6 miesięcy. Wielokrotnie obserwowano, że nawet jeśli programy szczepień koni rozpoczynano w 6 miesiącu życia lub później, to nie zawsze odpowiedź immunologiczna była satysfakcjonująca. Odnotowano również powstawanie u źrebiąt wielokrotnie szczepionych w okresie trwania efektu biernie przekazanych przeciwciał matczynych antygenowo swoistej tolerancji immunologicznej, która może trwać przez wiele miesięcy. Wydaje się jednak, że stan taki może być przełamany poprzez stosowanie u młodych zwierząt szczepionek o odpowiedniej konstrukcji, która zapewnią skuteczną prezentację antygenów, często wspomaganą przez kostymulatory (6).

Podsumowując, należy podkreślić znaczenie pobrania siary przez źrebięta i w tym kontekście pamiętać, że szczepienie klaczy na 2 do 6 tygodni przed porodem przy użyciu inaktywowanych szczepionek maksymalizuje w niej miano przeciwciał. Obecnie wielu autorów twierdzi, że źrebięta powinno się szczepić w 6 miesiącu życia, a jeśli to możliwe nawet po 9 miesiącu życia. Prowadzone są badania nad nowymi szczepionkami i technikami szczepień, które pomagałyby przełamywać supresyjne działanie przeciwciał matczynych. Pewne efekty osiągnięto po zastosowaniu szczepionek DNA, szczepionek w postaci kompleksów immunostymulujących – ISCOM (immune stimulating complexes) czy też żywych szczepionek łączonych z różnymi adiuwantami (7).

Rodzaje szczepionek

Szczepionki atenuowane zawierają żywe zarazki o osłabionej patogenności, które mogą nadal replikować się w organizmie konia. Generują one szerokie spektrum odpowiedzi immunologicznej, w tym związaną zarówno z przeciwciałami, jak i limfocytami T cytotoksycznymi. Odporność ta jest długotrwała, a jej wytworzenie wymaga podania mniejszej liczby dawek szczepionki niż w przypadku szczepionek inaktywowanych. Szczepionki te mogą być jednak niebezpieczne u gospodarzy z niedoborami immunologicznymi i u źrebnych klaczy. Rozważane jest również niebezpieczeństwo rewersji patogenności atenuowanych drobnoustrojów i możliwość zanieczyszczenia szczepionki innymi patogenami.

Żywe szczepionki atenuowane generują wytwarzanie białek, które pobudzają limfocyty T cytotoksyczne. Szczepionki te uzyskuje się przez atenuację wirusów w hodowlach komórkowych lub przez wykorzystywanie temperaturowrażliwych mutantów. Użycie spontanicznie zmutowanych wirusów stwarza potencjalne niebezpieczeństwo rewersji ich zjadliwości. Dlatego prowadzone są badania, w których określone mutacje uzyskiwane są przy użyciu technik rekombinacji DNA. Osiąga się wtedy przewidywalne efekty i w konsekwencji nie jest możliwa rewersja. Przykładem takich badań są prace nad przygotowaniem doświadczalnych szczepionek przeciwko EHV-1 z delecjami genów kodujących określone białka (8).

Obecnie dostępne żywe atenuowane szczepionki dla koni to szczepionka przeciwko wirusowemu zapaleniu tętnic i dwie szczepionki do stosowania donosowego – przeciwko zakażeniu *Streptococcus equi* i przeciwko zakażeniu wirusem grypy koni. Żywa modyfikowana szczepionka przeciwko zakażeniu *S. equi* (Fort Dodge) wytworzona została poprzez chemiczną mutagenезę paciorkowca końskiego. Podawana jest donosowo i dzięki temu unika się reakcji zapalnej po jej podaniu, która powszechnie występuje po parenteralnych podaniach szczepionek przeciwko zakażeniu *S. equi* (8, 9). Należy pamiętać, że jeśli stosuje się inne szczepionki domięśniowo, które nie powodują powstawania ropni w miejscach iniekcji, to donosowe szczepienie przeciwko *S. equi* powinno być wykonane po tych szczepieniach, a nie jednocześnie z nimi. Jest to związane z możliwością zanieczyszczenia tych szczepionek przez aerozol szczepionki przeciwko zakażeniu *S. equi*, co może wywołać powstawanie ropni po domięśniowym podaniu szczepionki. Donosowa szczepionka przeciwko grypie koni (Fort Collins) zawiera temperaturowrażliwy żywy atenuowany wirus grypy. Jest bezpieczna, skuteczna

i generuje ten sam profil odpowiedzi immunologicznej, który obserwowany jest po naturalnym zakażeniu wirusem grypy. Odporność utrzymuje się do 6 miesięcy po podaniu źrebiętom pojedynczej donosowej dawki (8).

Wysoką immunogenność wykazują szczepionki rekombinowane z wektorem. Technologia rekombinacji DNA wykorzystuje bakterie i wirusy jako wektory immunogennych antygenów polipeptydowych lub epitopów peptydów innych patogenów. Technika ta jest bardziej skomplikowana w przypadku bakterii. Wektory wprowadzają materiał genetyczny kodujący antygeny patogenu do komórek gospodarza, co w konsekwencji prowadzi do wytwarzania białek i prezentacji antygeny. Podstawowym warunkiem zastosowania tej technologii jest wiedza na temat immunogenności antygenów określonego patogenu. Prototypowym wektorem wirusowym jest wirus krowianki, np. opisano rekombinant wirusa krowianki prezentujący glikoproteinę EHV-1. Również EHV-1 może być wektorem szczepionek rekombinowanych, zarówno zwierzęcych, jak i ludzkich (10). Stwierdzono bowiem, że przeciwciała przeciwko herpeswirusom ludzkim 1 i 5 nie neutralizują EHV-1.

Innym wektorem jest wirus ospy kanarków, który jest w stanie zakażać komórki ssaków, ale nie wytwarza prowirusa i jest używany jako wektor genów EHV-1 i wirusa grypy. Skonstruowano również żywą szczepionkę rekombinowaną przeciwko zakażeniu wirusami EHV-4 i grypy koni, w której zastosowano rekombinant EHV-4 ze specyficznymi delecjami (8).

Szczepionki inaktywowane są niepatogenne i łatwe w przygotowaniu. Wymagają stosowania wielu dawek i regularnego wywoływania efektu booster, a ich skuteczność często zależy od odpowiednich adiuwantów. U koni najczęściej stosowane są szczepionki zawierające cały inaktywowany patogen. Bakterie inaktywuje się najczęściej fenolem, a wirusy formaliną lub β -propiolaktone. Pomimo ich wysokiej immunogenności, mają ograniczoną skuteczność w zapobieganiu chorobom układu oddechowego. W tym kontekście szczególną uwagę przykłada się do stosowania w ich składzie odpowiednich adiuwantów.

Szczepionki białkowe mogą zawierać naturalnie wytwarzane składniki patogennych np. białko M w szczepionce przeciwko zakażeniu *S. equi*, które nie jest patogenne i wywołuje mniej nasilone miejscowe reakcje po iniekcji niż całość produktów bakterierynych (9). Obecnie najczęściej stosowaną szczepionką białkową u koni jest anatomyczna tężcowa, która jest przygotowywana poprzez inaktywację formaliną toksyny tężcowej i łączona z adiuwantem (wodorotlenek glinu).

Rekombinowane szczepionki podjednostkowe mogą zawierać rekombinowane polipeptydy lub peptydy zawierające pojedyncze epitopy antygenowe. Technologia rekombinacji DNA doprowadziła do syntetycznego wytwarzania wielu swoistych antygenów odpowiedzialnych za rozwój odporności przeciwko określonym patogenom. Oczyszczone białka są słabo immunogenne i nie mogą być dobrze prezentowane przez MHC bez użycia odpowiednich adiuwantów. Krytycznym momentem w przygotowaniu szczepionki podjednostkowej jest wiedza o tym, które antygeny patogena są immunogenne i pobudzają odporność chroniącą przed zakażeniem. Jeśli mamy do czynienia np. z rekombinowanym białkiem to powinno ono podlegać systemowi ekspresji, który pozwala na uzyskanie immunogenności charakterystycznej dla naturalnego białka (8). Przykładowo ekspresja genu HA wirusa grypy koni w układzie bakulowirusa generowała produkt białkowy, który nie był immunogenny u myszy i koni. Natomiast ekspresja tego samego genu bezpośrednio poprzez użycie szczepionki DNA wywoływała u tych gatunków zwierząt odpowiedź immunologiczną chroniącą przed doświadczalnym zakażeniem.

Szczepienia szczepionkami DNA wywołują *in vivo* syntezę białek antygenowych, i to w sposób identyczny do występującego w przypadku naturalnego zakażenia. Ta endogenna produkcja powoduje prezentację antygenów cytotoksycznym limfocytom T CD8⁺, jak również limfocytom T pomocniczym CD4⁺. Szczepienia szczepionkami DNA pobudzają odpowiedź immunologiczną związaną zarówno z limfocytami T cytotoksycznymi, jak i przeciwciałami. Szczepionki DNA są bardziej immunogenne od szczepionek żywych, przy niskich kosztach i minimalnym ryzyku działań ubocznych. Prace doświadczalne wykazały, że wytwarzają skuteczne zabezpieczenie przeciwko zakażeniu wirusem grypy i EHV-1 (8).

Jak już wspomniano, wzmocnienie immunogenności szczepionek uzyskuje się poprzez stosowanie adiuwantów. Jednym z najbardziej obiecujących jest kompleks immunostymulujący (ISCOM), który pobudza antygenowo swoistą odpowiedź immunologiczną, związaną z przeciwciałami i limfocytami T, w tym indukcją limfocytów T cytotoksycznych. Szereg prób ze szczepionkami ISCOM przeciwko grypie koni wykazało, że odporność poszczepienna może trwać nawet 15 miesięcy. Ważnym składnikiem adiuwantów ISCOM jest Quil A – składnik roślinnych saponin. Quil A jest również stosowany w wielu końskich szczepionkach, często w połączeniu z wodorotlenkiem glinu i chociaż nie jest tak skuteczny jak ISCOM, to jednak jego

dotadek zwiększa skuteczność działania adiuwacyjnego (7, 11).

Należy zwrócić uwagę na adiuwanty błon śluzowych. Są to bakteryjne egzotoksyny patogenów układu pokarmowego – toksyna cholery (CT) wytwarzana przez *Vibrio cholerae* lub termowrażliwa enterotoksyna *E. coli*. Podawanie na błony śluzowe stosunkowo małych ilości nieimmunogennych antygenów białkowych sprzężonych toksyną cholery pobudza wytwarzanie miejscowych przeciwciał klasy IgA. Toksyna cholery polepsza prezentację antygeny, pobudza różnicowanie się izotypów limfocytów T, stymuluje limfocyty T pomocnicze CD4⁺ i pobudza odpowiedź immunologiczną związaną z pamięcią immunologiczną na poziomie miejscowym i ogólnym. Odporność błon śluzowych ma podstawowe znaczenie w odporności na szerokie spektrum patogenów, w tym wirusowi grypy i *S. equi*. Generowanie odpowiedzi immunologicznej błon śluzowych związanej z powstawaniem przeciwciał IgA przy użyciu zabitych szczepionek jest trudne i jedynym efektywnym sposobem zwiększenia tej odpowiedzi jest zastosowanie adiuwantów błon śluzowych. Ostatnio zachęcające wyniki uzyskano po donosowych szczepieniach koni szczepionką inaktywowaną, w której antygeny wirusa grypy połączono z toksyną cholery (12).

Najczęściej stosowane szczepienia

Szczepienia przeciwko tężcowi

Szczepienia koni przeciwko tężcowi są stosowane powszechnie i uważa się, że zdecydowanie obniżają liczbę przypadków choroby. Pogląd ten nie jest jednak poparty badaniami epidemiologicznymi, np. w USA wnioski odnoszące się do skuteczności toksoidów są oparte na badaniach odpowiedzi serologicznej u zwierząt laboratoryjnych. Szczepionki są tam rejestrowane i dopuszczane do stosowania, jeśli wywołują odpowiedź serologiczną u świń morskich cztery razy wyższą niż konieczna do ochrony przed naturalnym zakażeniem. W literaturze światowej znajdujemy dwa opisy doświadczalnego wywołania toksemii u koni w przebiegu badań mających na celu ocenę skuteczności toksoidu (szczepionki) w zniesieniu zwiększonego napięcia mięśniowego. Należy zaznaczyć, że w tych doświadczeniach stosowano oczyszczoną toksynę. Osiągnięte wyniki sugerują, że seria 3 szczepień wywołuje odporność koni najmniej na 8 lat, jeśli nie na całe życie. Stwierdzono również, że prawidłowo zaszczepione konie pozostają odporne na zakażenie nawet wówczas, kiedy miano przeciwciał w surowicy spada poniżej wykrywalnego (13). W innych badaniach wykazano, że

konie są już odporne 8 dni po jednorazowym szczepieniu, nawet jeśli w tym okresie przeciwciała nie są jeszcze wykrywane (14). Te optymistyczne wnioski zostały nieco zweryfikowane wynikami badań epidemiologicznych na terenie USA, gdzie wykazano przypadki kliniczne choroby pośród szczepionych koni (15).

W badaniach nad skutecznością szczepionek przeciwko tężcowi koni wiele uwagi poświęca się problemom optymalnego czasu rozpoczynania szczepień, czasowi pomiędzy pierwszą i drugą immunizacją, terminowi i częstotliwości szczepień klaczy w okresie przedporodowym, długości trwania odporności po szczepieniu i różnorodności odpowiedzi immunologicznej koni na szczepionki produkowane przez różnych wytwórców.

Anusz i wsp. (16) przeprowadzili badania na 40 źrebnych klaczach w różnym wieku i 40 źrebkach urodzonych od tych klaczy. Klacze były szczepione przeciwko tężcowi anatoksyną tężcową dwukrotnie w odstępie miesiąca, a po roku otrzymywały dawkę przypominającą. Krew do badań swoistej odporności humoralnej (ELISA) pobierano od nich 2 miesiące i miesiąc przed porodem oraz miesiąc po porodzie. Źrebięta podzielono na 4 grupy. Zwierzęta w grupie kontrolnej nie były szczepione, a zwierzęta 3 grup doświadczalnych szczepiono odpowiednio w 2, 4 i 6 miesiącu życia, a następnie drugi raz 4 tygodnie później. Od wszystkich źrebek pobierano krew do badań swoistej odporności humoralnej 7 dni po porodzie, a następnie: od źrebek grupy kontrolnej (nie szczepione) w 2, 4 i 6 miesiącu życia; od źrebek 3 grup doświadczalnych (szczepione) w dniu 1 szczepienia, w dniu 2 szczepienia i 2 tygodnie po drugim szczepieniu. Stwierdzono pozytywną korelację pomiędzy koncentracją swoistych przeciwciał w surowicy krwi klaczy 2 miesiące przed porodem i ich potomstwa w ciągu pierwszych dni życia. Należy zaznaczyć, że odnotowano znaczny spadek tego poziomu u klaczy miesiąc przed porodem. Dwukrotne szczepienia źrebek anatoksyną tężcową wywołały znaczny wzrost mian przeciwciał w surowicach u wszystkich zwierząt szczepionych, niezależnie od okresu szczepienia. Jednak najwyższy wzrost stwierdzono u źrebek, u których szczepienie rozpoczynano w 4–5 miesiącu życia.

Wielokrotnie w różnego rodzaju szczepionkach toksoid tężcowy łączony jest z antygenami obydwu podtypów wirusa grypy koni. Wobec tego hipiatrizy muszą dobrać prawidłowego wyboru szczepionki, biorąc pod uwagę aspekty praktyczne immunoprofilaktyki grypy koni i tężca koni. Kita i wsp. (17) przeprowadzili badania na 18 jednorocznych koniach półkrwi angloarabskiej, z których 6 zaszczepiono szczepionką Gripovac (Biowet, Pu-

ławy), 6 szczepionką Influtet (Biowet, Puławy), a 6 stanowiło grupę kontrolną. Obydwie szczepionki zawierają inaktywowane antygeny obydwu podtypów wirusa grypy, a Influtet również anatoksynę tężcową. Koni zaszczepiono dwukrotnie domięśniowo, w 0 i 28 dniu doświadczenia. Krew do badań pobierano 6-krotnie – w 0, 14, 28, 42, 98 i 105 dniu doświadczenia. Stwierdzono, że szczepionka Gripovac powinna być stosowana w sytuacjach wymagających szybkiego obniżenia potencjału epizootycznego zagrożonej populacji koni. Szczepionka Influtet może być stosowana w innych bezpiecznych uwarunkowaniach, np. do szczepień podstawowych młodych koni przeciwko grypie i tężcowi. Wnioski te wynikają z obserwacji, że anatoksyna tężcowa znajdująca się wraz z antygenami obydwu podtypów wirusa grypy w szczepionce Influtet wpływa niekorzystnie na immunogenność tej szczepionki, przede wszystkim w odniesieniu do podtypu A/1 wirusa grypy.

Szczepienia przeciwko grypie

Szczepienia przeciwko grypie koni są prowadzone od 1960 r. Większość szczepionek zawiera inaktywowane wirusy lub są sporządzone z podjednostek. Na rynkach amerykańskim i kanadyjskim jest również dostępna szczepionka żywa atenuowana, zawierająca szczep A/equi/2/Kentucky/1/91 (H3N8), przeznaczona do podawania donosowego u koni powyżej 11 miesiąca życia. W Europie dostępna jest szczepionka podjednostkowa Equilis Equenza – T (Intervet) przeciwko grypie koni i tężcowi do podawania domięśniowego. Zawiera ona oczyszczone podjednostki HA i NA 3 szczepów wirusa: A/equi/1/Prague/56 (H7N7), A/equi/2/Newmarket/1/93 (H3N8). W skład szczepionki wchodzi także toksoid tężcowy oraz saponina jako adiuwant (11).

Zasady czynnego uodporniania nie uległy zmianie i źrebięta od klaczy zarówno nie szczepionych, jak i od szczepionych powinny otrzymać pierwszą dawkę szczepionki po ukończeniu 6 miesiąca życia. Jeśli zachodzi potrzeba szczepienia zwierząt młodszych niż 6 miesięcy, powinny one zostać poddane badaniu na obecność przeciwciał matczynych.

Przeciwciała te mogą interferować z antygenami szczepionkowymi. W żadnym przypadku nie powinno się szczepić źrebek młodszych niż 4-miesięczne. Szczepione po raz pierwszy dorosłe konie należy uodporniać dwukrotnie, w odstępie 4 tygodni. Dawkę przypominającą szczepionki wszystkie zwierzęta powinny otrzymywać co 6 miesięcy.

Opracowując nowe szczepionki przeciwko grypie koni należy brać pod

uwagę to, że od dłuższego czasu nie spotyka się przypadków wywołanych zakażeniem wirusem podtypu A/equi/1 (H7N7). Uznano więc, że brak wskazań do stosowania szczepu tego podtypu w aktualnych szczepionkach.

Nie ma także danych wskazujących na utrzymywanie się wśród koni szczepów podobnych do prototypowego wirusa grypy A/equi/2/Miami/63 (H3N8). Wydaje się, że w szczepionkach powinien on być zastąpiony innym, aktualnym szczepem. Większość wirusów grypy izolowanych od 1999 r. należy do podtypu A/equi/2/Newmarket/93. Wobec tego szczepionki, które zawierają szczepy linii europejskiej, takie jak: Newmarket/2/93, Suffolk/89 czy Borlange/91, spełniają warunek aktualności i mogą być stosowane. Jeżeli firma chce po raz pierwszy użyć w szczepionce wirusa linii europejskiej, powinna wykorzystać szczep wirusa A/equi/2/Newmarket/93. Eksperci wskazują jednak na bezwzględną konieczność stałego monitorowania populacji koni, gdyż najnowsze izolaty terenowe wykazują pewne różnice antygenowe w stosunku do szczepów prototypowych tak europejskich, jak i amerykańskich (18, 19, 20).

Zaleska i wsp. (21) wskazują na znaczną rolę mechanizmów odporności komórkowej w zabezpieczeniu koni przed zakażeniem wirusem grypy. Autorzy przeprowadzili badania na 12 jednorocznych koniach pełnej krwi angielskiej. Grupę badaną stanowiło 6 koni, które zaszczepiono dwukrotnie w 0 i 34 dniu doświadczenia szczepionką Equigrip (Merial) zawierającą antygeny obydwu podtypów wirusa grypy. Krew do badań hematologicznych, odporności komórkowej, swoistej odpowiedzi humoralnej pobrano siedmiokrotnie w 0, 17, 34, 53, 83, 117 i 123 dniu doświadczenia. W 117 dniu doświadczenia dokonano doświadczenia mieszaniną podtypów wirusa A/1 i A/2. 17 dni po pierwszym szczepieniu u wszystkich koni szczepionych wzrosły indeksy stymulacji limfocytów (test swoistej transformacji blastycznej limfocytów), podczas gdy u 4 spośród 6 koni nie szczepionych zmalały. Na uwagę zasługuje obserwacja, że w tym czasie nie stwierdzono jeszcze statystycznie istotnego wzrostu mian przeciwciał swoistych w surowicach koni szczepionych (test zahamowania hemaglutynacji, HI). Średnie logarytmów mian przeciwciał swoistych dla obydwu podtypów wirusa grypy były istotnie wyższe u tych koni dopiero po II szczepieniu, w 53 dniu doświadczenia niż u koni nie szczepionych. Pobudzenie aktywności immunologicznej limfocytów już 17 dni po pierwszym szczepieniu może mieć już pewne znaczenie zabezpieczające przed zakażeniem, pomimo jeszcze niskiego w tym czasie poziomu odporności humoralnej po-

szczepiennej. Po doświadczalnym zakażeniu zarówno u koni szczepionych, jak i nie szczepionych nie stwierdzono istotnego wzrostu mian przeciwciał. Natomiast 6 dni po doświadczalnym zakażeniu stwierdzono istotny wzrost indeksów stymulacji limfocytów zarówno u koni szczepionych, jak i nie szczepionych. Jednak u koni uprzednio szczepionych indeksy stymulacji limfocytów wzrosły istotnie wyżej.

Szczepienia przeciwko żółzom

Wykazano, że stosowanie komercyjnej domięśniowej szczepionki przeciwko *Streptococcus equi* zmniejsza częstość występowania i wpływa na łagodniejszy przebieg choroby. Po szczepieniu obserwuje się jednak ostre odczyn miejscowe, w tym tworzenie się ropni w miejscu iniekcji (9, 20).

Pozytywne efekty uzyskano po zastosowaniu u koni rekombinowanej szczepionki podjednostkowej składającej się z 3 syntetycznie wytworzonych białek, charakterystycznych dla komórek *S. equi* wywołującego żółz. Jednoczesne szczepienie donosowe i podskórne tych koni wywołało u nich znaczny wzrost koncentracji IgA na błonach śluzowych oraz swoistych przeciwciał w surowicy (22). W ocenie skuteczności tej szczepionki wykorzystano również doświadczenia zakażenia i stwierdzono obniżenie częstości występowania oraz zmniejszenie nasilenia objawów klinicznych. W Polsce szczepionka donosowa jest niedostępna, stosowane są natomiast podawane domięśniowo autoszczepionki. Ocenę ich skuteczności opierano dotychczas jedynie na obserwacjach klinicznych (20).

W najbliższym czasie zostanie wprowadzona szczepionka żywa Equilis Strep E zawierająca delecyjny mutant *S. equi* szczep TW928 (Intervet). Szczepionka jest przeznaczona do szczepień podśluzówkowych (wprowadzenie szczepionki pod śluzówkę górnej wargi). Szczepienie podstawowe rozpoczyna się w wieku 4 miesięcy (dwukrotne szczepienie w odstępie 4 tygodni).

Szczepienia przeciwko herpeswirusowemu (EHV-1) ronieniu kłaczy

Odpowiedź immunologiczna na zakażenie herpeswirusami ma zarówno charakter humoralny, jak i komórkowy. Nadal nie wiadomo jak współdziałanie tych dwóch typów odporności może zapobiegać ronieniu. Biorąc pod uwagę patogenę choroby należałoby przypuszczać, że inaktywowane szczepionki nie powinny skutecznie chronić przed zakażeniem, ponieważ nie stymulują odporności komórkowej. Zaskakuje więc, że badania, w których użyto komer-

cyjnej inaktywowanej szczepionki, wykazały działanie ochronne przeciwko ronieniu u kłaczy kucy walijskich zakażonych doświadczalnie wirusem EHV-1 (20).

W USA jedyna szczepionka dopuszczona na rynek jest szczepionką inaktywowaną. Specjaliści amerykańscy twierdzą, że mniejsza liczba przypadków ronień po szczepieniach może wynikać również z doskonalenia postępowania ogólnego w profilaktyce tej choroby.

Pełną ocenę szczepień ogranicza według nich brak akceptowanego modelu zakażenia doświadczalnego. Pewnym rozwiązaniem byłoby sprawdzenie skuteczności szczepień w ogniskach naturalnych zakażeń. Podsumowując należy stwierdzić, że choć wybuchy choroby występowały u szczepionych zwierząt, to jednak jeszcze więcej zwierząt byłoby objęte, gdyby nie stosowano programu szczepień. Obecnie większość kliników prowadzi szczepienia w sytuacjach wysokiego ryzyka (8, 20).

Szczepienia przeciwko wściekliznie

Stosowane u koni szczepionki przeciwko wściekliznie są skuteczne i bezpieczne. Twierdzi się tak, pomimo że opisano jedynie kilka doświadczalnych zakażeń. W trakcie jednego z nich stwierdzono serokonwersję u szczepionych koni, jak również przedłużony okres inkubacji, przy czym kliniczne objawy wystąpiły zarówno u zwierząt szczepionych, jak i kontrolnych. W doświadczeniu zastosowano tak zwaną szczepionkę testową zawierającą minimalną efektywną dawkę antygeny. W trakcie innego doświadczalnego zakażenia wykazano 12-miesięczny okres ochronny u koni szczepionych. Trzeba jednak pamiętać, że w szeregu doniesień opisywano wściekliznę u koni szczepionych.

Alternatywę dla konwencjonalnych szczepionek przeciwko wściekliznie stosowanych u dużych ssaków, mogą stanowić szczepionki DNA. Modelowe badania takiej szczepionki łączonej z różnymi adiuwantami prowadzono na kucach. Stwierdzono możliwość uzyskania silnej serokonwersji po dwóch szczepieniach podstawowych (23).

Szczepienie przeciwko wirusowemu zapaleniu mózgu i rdzenia

Szczepionki przeciwko zapaleniu mózgu i rdzenia są szczególnie popularne w USA, np. właściwie każdy producent wytwarza przynajmniej jedną szczepionkę przeciwko zakażeniu wirusem EEE (Eastern equine encephalitis). Już w 1969 r. przeprowadzono kontrolę skuteczności szczepień przeciwko WEE (Western equine encephalitis) i EEE w przebiegu doświadczalnych zakażeń odpowiednimi wirusami. Wszyst-

kie 6 zwierząt kontrolnych padło, a po 3 szczepione przeciwko WEE i EEE przeżyły. W doświadczeniu zastosowano inaktywowaną bivalentną szczepionkę tkankową przeciwko WEE i EEE (24).

W innych badaniach 21 koni, które zaszczipiono komercyjną triwalentną inaktywowaną szczepionką przeciwko WEE, EEE i VEE (Venezuelan equine encephalitis), zakażono doświadczalnie odpowiednimi wirusami w okresie od 3 do 12 miesięcy po szczepieniu. Wszystkie zwierzęta przeżyły doświadczalne zakażenie, przy czym zwierzęta kontrolne dla WEE nie zachorowały, 2 zwierzęta kontrolne dla EEE padły. W doświadczeniu nie stworzono grupy kontrolnej dla VEE (25).

Obiecujące są również wyniki skuteczności szczepień przeciwko VEE. W jednym z doświadczeń 18 zwierząt zakażono wirusem VEE, w tym 13 szczepionych i 5 kontrolnych. Doświadczalne zakażenia dokonano w od 3 do 4 tygodni po szczepieniu szczepionkami doświadczalnymi. Wszystkie zwierzęta szczepione przeżyły i żadne nie wykazało typowych objawów choroby, podczas gdy 4 zwierzęta spośród 5 kontrolnych padły, a 1 wykazało kliniczne objawy choroby (26).

Szczepienia przeciwko ehrlichiozie monocytarnej koni

Ehrlichioza monocytarna koni ((equine monocytic ehrlichiosis, gorączka Potomac) jest zespołem przebiegającym z objawami podwyższonej temperatury ciała, biegunką związaną z zapaleniem okrężnicy. W ciężkich przypadkach występuje zapalenie tworzący kopytowego, a klacze mogą ronić w drugie połowie ciąży. Choroba jest zakaźna, ale nie zaraźliwa.

Czynnikiem wywołującym ten zespół jest *Neorickettsia risticii* (d. *Ehrlichia risticii*). Badania serologiczne wskazują, że choroba występuje w USA, Kanadzie i Europie. W USA wszystkie dotychczas stosowane szczepionki pewną skuteczność. Szczególną uwagę skoncentrowano na badaniach skuteczności szczepionki zawierającej inaktywowaną zawieszinę riketsji z adiuwantem (27, 28). Konie szczepiono dwukrotnie w odstępie 21 dni, a doświadczalne zakażenie przeprowadzono 4 tygodnie po drugim szczepieniu. U wszystkich 13 zwierząt kontrolnych rozwinęły się objawy kliniczne choroby, natomiast u wszystkich 21 szczepionych nie doszło do rozwinięcia się tych objawów. Obserwacji tych nie potwierdzają jednoznacznie wyniki badań epidemiologicznych, w których szczepienie nie powodowało zmniejszenia występowania lub ostrości objawów klinicznych. W tym kontekście należy zwrócić uwagę na badania serologiczne odnoszące się do 2 komercyjnych szczepionek, które zastosowano u 41 koni (dwu- lub trzykrotne

szczepienie). U 36 z nich wykazano bardzo mały wzrost miana przeciwciał.

Szczepienia są również brane pod uwagę w zwalczaniu afrykańskiego pomoru koni, z uwzględnieniem możliwości stosowania zarówno szczepionki żywej atenuowanej, jak i komercyjnej szczepionki inaktywowanej (8, 20).

Prrowadzone są badania skuteczności szczepionek przeciwko zarażeniom *Babesia equi* (szczepionka zawierająca zabite merozoity wywołała u małą silną odpowiedź immunologiczną) i *Sarcocystis neuroana* (29, 30), a podejrzewa, że przyczyną tak zwanej choroby pastwiskowej u koni (ang. grass sickness) jest *Clostridium botulinum* przyczyniły się do rozwoju badań nad immunoprofilaktyką tej choroby (31).

Podsumowując powyższe informacje, należy stwierdzić, że:

1. U wszystkich koni powinna być stosowana profilaktyka swoista tężca, a nowo narodzone źrebięta najlepiej zabezpieczać poprzez szczepienie klaczy.
2. Czynne szczepienie źrebiąt powinno być rozpoczynane w wieku 6–9 miesięcy.
3. Należy do minimum ograniczyć liczbę szczepionek stosowanych u koni. Konie dorosłe i źrebięta nie powinny być szczepione przeciwko określonym chorobom w sytuacjach niskiego ryzyka i przy braku dowodów, że ich konsekwencje będą szkodliwe dla zwierząt.
4. Szczepienia przeciwko chorobom bezpośrednio lub pośrednio przenoszonym pomiędzy końmi powinny być przeprowadzane raczej na poziomie stada niż na poziomie indywidualnym.
5. Po rozpoczęciu programu szczepień zabezpieczający poziom odporności powinien być konsekwentnie utrzymywany przez cały okres ryzyka wystąpienia zakażeń.

Piśmiennictwo

1. Daly J. M., Newton J. R., Mumford J. A.: Current perspectives on control of equine influenza. *Vet. Res.* 2004, **35**, 411–423.
2. Park A. W., Wood J. L., Newton J. R., Daly J., Mumford J. A., Grenfell B. T.: Optimising vaccination strategies in equine influenza. *Vaccine* 2003, **21**, 2862–2870.
3. Zaleska M., Anusz K., Kita J.: Testy HI, ELISA, SRH i odporności komórkowej w ocenie szczepień przeciw grypie koni. *Medycyna Wet.* 1996, **52**, 769–772.
4. Fermaglich D. H., Horohov D. W.: The effect of aging on immune response. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2002, **18**, 621–630.
5. Giese M., Bahr U., Jakob N. J., Kehm R., Handermann M., Müller H., Yahlenkamp T. H., Spiess C., Schneider T. H., Schusse G., Darai G.: Stable and long-lasting immune response in horses after DNA vaccination against equine arteritis virus. *Virus Genes* 2002, **25**, 159–167.
6. Morein B., Abusugra L., Blomqvist G.: Immunity of neonates. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2002, **87**, 207–213.
7. Crouch C. F., Daly J., Hannant D., Wilkins J., Francis M. J.: Immune response and protective efficacy in ponies immunised with an equine influenza ISCOM vaccine containing an "American lineage" H3N8 virus. *Vaccine* 2004, **23**, 418–425.
8. Minke J. M., Audonnet J. Ch., Fischer L.: Equine viral vaccines: the past, present and future. *Vet. Res.* 2005, **35**, 425–443.

9. Newton R., Waller A., King A.: Investigation of suspected adverse reactions following strangles vaccination in horses. *Vet. Rec.* 2005, **156**, 291–292.
10. Trapp S., von Einem J., Hofmann H., Kostler J., Wild J., Wagner R., Beer M., Osterrieder N.: Potential of equine herpesvirus 1 as a vector for immunization. *J. Virol.* 2005, **79**, 5445–5454.
11. Park A. W., Wood J. L., Daly J. M., Newton J. R., Glass K., Henley W., Mumford J. A., Grenfell B. T.: The effects of strain heterogeneity on the epidemiology of equine influenza in a vaccinated population. *Proc. Biol. Sci.* 2004, **271**, 1547–1555.
12. Soboll G., Nelson K. M., Leuthner E. S., Clark R. J., Drape R., Macklin M. D., Swain W. F., Olsen C. W., Lunn D. P.: Mucosal co-administration of cholera toxin and influenza virus hemagglutinin-DNA in ponies generates a local IgA response. *Vaccine* 2003, **21**, 3081–3092.
13. Lohrer J., Radvila P.: Active tetanus prevention in the horse and duration of immunity. *Schweiz Arch. Tierheilkd.* 1970, **112**, 307–314.
14. Heinig A.: Experimentelle untersuchungen uber den eintritt der immunitat nach einmaliger tetanus-schutzimpfung. *Arch. Exper. Vet. Med.* 1954, **8**, 394–403.
15. Green S. L., Little C. B., Baird J. D.: Tetanus in the horse: A review of 20 cases (1970 to 1990). *J. Vet. Intern. Med.* 1994, **8**, 128–132.
16. Anusz K., Piakalkiewicz W., Lis M., Kita J.: Specific passive immunity and the efficacy of vaccination of foals for tetanus. *Proceedings of the XVIII Nordic Veterinary Congress*, 4–7 August 1998, Helsinki, Finland, s. 151.
17. Kita J., Anusz K., Zaleska M., Lis M.: Humoralna odpowiedź immunologiczna po podaniu szczepionek Gripovac i Influetet przeciwko grypie koni. *Zycie Wet.* 1995, **70**, 303–305.
18. Daly J. M., Yates P. J., Newton J. R., Park A., Henley W., Wood J. L., Davis-Poynter N., Mumford J. A.: Evidence supporting the inclusion of strains from each of the two co-circulating lineages of H3N8 equine influenza virus in vaccines. *Vaccine* 2004, **22**, 4101–4109.
19. Heldens J. G., Van de Wouw J. C., Van Loon A. A.: An updated equine influenza vaccine and an equine influenza-herpesvirus combination vaccine containing an immunostimulant adjuvant provoke equal antibody levels in young foals throughout the primary vaccination course. *Vet. J.* 2002, **164**, 288–291.
20. Lunn D. P., Townsend H. G. G.: Equine vaccination. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2000, **16**, 199–225.
21. Zaleska M., Anusz K., Kita J.: Wpływ immunizacji przeciwko grypie koni na parametry odporności komórkowej. *Medycyna Wet.* 1995, **51**, 90–93.
22. Flock M., Jacobsson K., Frykberg L., Hirst T. R., Franklin A., Guss B., Flock J. I.: Recombinant *Streptococcus equi* proteins in challenge experiments and induce immune response in horses. *Infect. Immun.* 2004, **72**, 3228–3236.
23. Fischer L., Minke J., Dufay N., Baudu P., Audonnet J. C.: Rabies DNA vaccine in the horse: strategies to improve serological responses. *Vaccine* 2003, **21**, 4593–4596.
24. Hays M. B.: Definitive efficacy and safety testing for equine encephalomyelitis vaccine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1969, **155**, 374–376.
25. Barber T. L., Walton T. E., Lewis K. J.: Efficacy of trivalent inactivated encephalomyelitis virus vaccine in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1978, **39**, 621–625.
26. Spertzel R. O., Kahn D. E.: Safety and efficacy of an attenuated Venezuelan equine encephalomyelitis vaccine for use in Equidae. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1971, **159**, 731–738.
27. Ristic M., Holland C. J., Goetz T. E.: Evaluation of a vaccine for equine monocytic ehrlichiosis (Potomac horse fever). *W; Equine Infectious Diseases V. Proceedings of the Fifth International Conference*, Lexington, Kentucky 1988, ed 1. Newmarket, R and W Publications, 1988, s. 206–213.
28. Dutta S. K., Mattingly B. L., Shankarappa B.: Antibody response to *Ehrlichia risticii* and antibody reactivity to the component antigens in horses with induced Potomac horse fever. *Infect. Immun.* 1989, **57**, 2959–2962.
29. Kumar S., Malhotra D. V., Dhar S., Nichani A. K.: Vaccination of donkeys against *Babesia equi* using killed merozoite immunogen. *Vet. Parasitol.* 2002, **106**, 19–33.
30. Marsh A. E., Lakritz J., Johnson P. J., Miller M. A., Chiang Y. W., Chu H. J.: Evaluation of immune response in horses immunized using a killed *Sarcocystis neuroana* vaccine. *Vet. Ther.* 2004, **5**, 34–42.
31. Hedderson E. J., Newton J. R.: Prospects for vaccination against equine grass sickness. *Equine Vet. J.* 2004, **36**, 186–191.

Prof. dr hab. J. Kita, Katedra Nauk Klinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa