

JERZY NOWACKI, STANISŁAWA LEWANDOWSKA*,
MICHAŁ KONOPA, JACEK PRZYMUS

Badania nad nieszkodliwością i skutecznością żywej szczepionki przeciw listeriozie dla jagniąt

Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

* Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. C. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Celem badań było sprawdzenie właściwości uodporniających oraz wykluczenie ewentualnej zjadliwości wybranych szczepów listerii dla jagniąt. Wcześniejsze badania wykazały immunogenność i niezjadliwość tych szczepów dla myszy, królików i dorosłych owiec (1, 2).

Materiał i metody

Badania wykonano na 30 jagniętach rasy merynos polski w wieku około 3 miesięcy, klinicznie zdrowych i serologicznie ujemnych w odczynie aglutynacji z antygenem *L. monocytogenes*.

Do uodpornienia jagniąt użyto łącznie 2 żywych szczepów *L. monocytogenes* (serotyp 1 — szczep nr 6/73 i serotyp 4b — szczep nr 10/73) o określonych właściwościach immunogennych dla zwierząt laboratoryjnych. Zawiesinę 48h hodowli o gęstości 10^8 /ml podano 24 jagniętom podskórnie po 3 ml i 2 jagniętom dożylnie po 0,3 ml. Pozostałych 4 jagniąt nie uodporniono. Celem sprawdzenia odporności jagnięta zakażono 48h hodowlą o gęstości 10^8 /ml zjadliwych szczepów *L. monocytogenes* (serotyp 1 — szczep 65/78 i serotyp 4b — szczep 105/81) w ilości 5 ml podskórnie i 1 ml dożywkowo na zwierzę. Spośród jagniąt uodpornionych — 8 zakażono po 1 miesiącu, 9 po 3 miesiącach i 9 po 6 miesiącach od uodpornienia.

Jagnięta badano klinicznie, hematologicznie i serologicznie dwukrotnie przed uodpornieniem i następnie okresowo powtarzano badania po uodpornieniu i zakażeniu. W badaniach immunologicznych postęgowano się odczynem aglutynacji — OA, oznaczaniem limfocytów esterazododatnich oraz testem rozetowym EA (2).

Wyniki i omówienie

W Polsce najczęściej występuje serotyp 1, a rzadziej serotyp 4b *L. monocytogenes*. Badania nad szczepionką dla owiec oparto więc na serotypie 1 (2). Chcąc poszerzyć ochronne działanie szczepionki do uodpornienia zastoso-

wano 2 serotypy (1 i 4b) i równocześnie prześledzono ich nieszkodliwość dla jagniąt.

Badaniem klinicznym po podaniu szczepów immunogennych stwierdzono tylko u niektórych jagniąt krótkotrwały wzrost temperatury ciała średnio o 1°C .

U jagniąt zakażonych po 1, 3 i 6 mies. od uodpornienia stwierdzono w okresie pierwszego tygodnia po zakażeniu podwyższenie temperatury ciała, a u niektórych posmutnienie i słaby apetyt. Jagnięta kontrolne — nie uodpornione, a zakażone wykazywały nasilone objawy kliniczne, a 2 z nich padły wśród objawów nerwowych po 4—6 tyg. od zakażenia.

Badaniem hematologicznym stwierdzono wzrost ilości monocytów u jagniąt nie uodpornionych w 3 i 6 tyg. po zakażeniu (tab. 4).

Badaniem serologicznym u jagniąt uodpornionych i zakażonych po 1 miesiącu (tab. 1) stwierdzono pojawianie się przeciwciał anty-O w niskich mianach po uodpornieniu. Po zakażeniu zanikają przeciwciała O, natomiast pojawiają się przeciwciała anty — H, przy czym ich najwyższy wzrost przypada od 4 tyg. po zakażeniu. Wzrost limfocytów T obserwowano w 1 tyg. po uodpornieniu. Natomiast najwyższy procent limfocytów B wykazanych w teście EA zaznaczył się między 4 a 16 tyg. po zakażeniu.

Badaniem serologicznym u jagniąt uodpornionych i zakażonych po 3 miesiącach (tab. 2) obserwowano najwyższy wzrost przeciwciał O od 3 do 12 tyg., a przeciwciał H od 4 do 12 tyg. po uodpornieniu. Po zakażeniu miana przeciwciał H były wyższe od O. Wzrost limfocytów T obserwowano w 1 tyg. po uodpornieniu

Tab. 1. Średnie wartości mian aglutynacyjnych (A), monocytów (M), limfocytów T i B u jagniąt uodpornionych i zakażonych po 4 tyg. pałeczkami *L. monocytogenes*

Oznaczenie	Antygen	Badania													
		przed uodpornieniem		po uodpornieniu				po zakażeniu							
		miesiące													
		I	II	I	II	III	IV	I	II	III	IV	V	VI	VII	
		tygodnie													
		1	0	1	2	3	4	1	2	4	8	12	16	24	
A	O	0	0	20	5	20	65	40	30	14	10	0	0	0	
	H	0	0	0	0	0	0	20	60	120	160	160	135	80	
M		8	9	9	9	5	4	10	6	6	7	6	6	5	
T		65	61	73	53	55	63	57	55	64	60	69	66	64	
B (test EA)		20	24	32	23	30	44	53	58	62	67	65	69	48	

Tab. 2. Średnie wartości mian aglutynacyjnych (A), monocytów (M), limfocytów T i B u jagniąt uodpornionych i zakażonych po 12 tyg. pałeczkami *L. monocytogenes*

Oznaczenie	Antygen	Badania													
		przed uodpornieniem		po uodpornieniu						po zakażeniu					
		miesiące													
		I	II	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI
		tygodnie													
1	0	1	2	3	4	8	12	1	2	3	4	8	16		
A	O	0	0	15	30	71	82	80	68	85	96	68	32	28	20
	H	0	0	0	0	5	128	193	176	136	147	158	138	136	125
M		6	8	7	8	5	5	7	5	8	4	6	4	5	11
T		62	63	72	54	53	57	56	59	72	60	64	67	65	60
B (test EA)		25	25	34	32	29	38	63	68	54	57	47	43	36	38

Tab. 3. Średnie wartości mian aglutynacyjnych (A), monocytów (M), limfocytów T i B u jagniąt uodpornionych i zakażonych po 24 tyg. pałeczkami *L. monocytogenes*

Oznaczenie	Antygen	Badania																	
		przed uodpornieniem		po uodpornieniu								po zakażeniu							
		miesiące																	
		I	II	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	I	II	III	IV	V	VI	VII	
		tygodnie																	
1	0	1	2	3	4	12	16	20	24	1	2	3	4	8	12	16			
A	O	0	0	20	30	20	82	120	95	60	67	31	43	52	89	69	31	30	
	H	8	5	0	8	12	66	92	176	180	170	126	128	149	158	162	166	112	
M		7	6	9	9	10	6	5	8	7	8	11	9	9	6	7	8	6	
T		52	59	70	52	51	53	61	64	70	58	61	53	58	53	51	61	58	
B (test EA)		27	26	25	28	29	45	62	39	37	39	46	42	49	40	43	36	35	

Tab. 4. Średnie wartości mian aglutynacyjnych (A), monocytów (M), limfocytów T i B u jagniąt kontrolnych nie uodpornionych, a zakażonych pałeczkami *L. monocytogenes*

Jagnięta	Oznaczenie	Antygen	Badania													
			przed zakażeniem							po zakażeniu						
			miesiące													
			I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V	VI	VII		
			tygodnie													
4	3	2	1	0	1	2	3	6	8	12	16					
przeżyły	A	O	0	0	0	0	0	0	20	0	20	60	80	40	20	
		H	0	0	0	0	0	0	0	40	40	80	100	40	20	
	M	6	7	8	6	8	8	7	14	12	5	5	10			
	T	65	60	58	59	65	47	52	60	70	64	61	68			
B (test EA)	22	25	20	25	29	59	60	65	62	71	30	34				
padły po 6 tyg. od zakażenia	A	O	0	0	0	0	0	40	10	0	40	-	-	-		
		H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-		
	M	9	8	9	7	9	6	5	6	8	-	-	-			
	T	61	64	58	59	55	54	53	53	58	-	-	-			
B (test EA)	11	12	20	13	30	46	58	55	52	-	-	-				

i w 1 tyg. po zakażeniu. Najwyższy procent limfocytów B wykazanych w teście EA zaznaczył się w 8 i 12 tyg. po uodpornieniu i w pierwszych tygodniach po zakażeniu.

U jagniąt uodpornionych i zakażonych po 6 mies. (tab. 3) stwierdzono najwyższy poziom przeciwciał O między 4 a 16 tyg. po uodpornieniu. Po zakażeniu miana przeciwciał O utrzymywały się na niższym poziomie. Najwyższy poziom przeciwciał H obserwowano między 12 a 24 tyg. po uodpornieniu i w okresie po zakażeniu do 16 tyg. Wzrost limfocytów T zaznaczył się w pierwszym tyg. po uodpornieniu, zaś limfocytów B wykazanych

w teście EA od 4 tyg. po uodpornieniu i w ciągu całego okresu obserwacji po zakażeniu.

W grupie jagniąt nie uodpornionych, a zakażonych (tab. 4) najwyższe miana przeciwciał obserwowano w 6 i 8 tyg. po zakażeniu. U jagniąt nie uodpornionych, które padły po 6 tyg. od zakażenia — w 1 i 2 tyg. po zakażeniu pojawiły się jedynie przeciwciała O w bardzo niskich mianach. W teście EA stwierdzono wzrost limfocytów B w obu grupach jagniąt. Natomiast wzrost limfocytów T w 6 tyg. po zakażeniu wykazano u jagniąt, które przeżyły.

Odpowiedź immunologiczna była wyrażona najlepiej u zwierząt uodpornionych i następ-

nie zakażonych. Oceniając zaś dynamikę narastania przeciwciał u jagniąt po uodpornieniu i zakażeniu stwierdzono utrzymywanie się przez dłuższy czas przeciwciał anty H na poziomie mian dodatnich, natomiast miana przeciwciał anty O były z reguły niższe lub zanikały.

Na podstawie przeprowadzonych badań z żywymi szczepami *L. monocytogenes* nr 6/73 — serotyp 1 i nr 10/73 — serotyp 4b stwierdzono, że szczepki te podane w płynie fizjologicznym podskórnie w ilości 3 ml i dożylnie w ilości 0,3 ml na sztukę nie są zjadliwe dla jagniąt. Jagnięta uodpornione, a następnie zakażone podskórnie i równocześnie dożywkowo po 1, 3 i 6 miesiącach od uodpornienia zareagowały przejściowym podwyższeniem temperatury ciała i w nielicznych przypadkach mniej lub więcej nasilonymi objawami klinicznymi. Natomiast jagnięta kontrolne — nie uodpornione wszystkie chorowały, a 50% padło wśród objawów nerwowych.

Wnioski

1. Szczepki *L. monocytogenes* użyte do przygotowania szczepionki okazały się niezjadliwe dla jagniąt.
2. Badana szczepionka żywa cechowała się dobrymi właściwościami immunogennymi i może znaleźć zastosowanie w immunoprofilaktyce listeriozy jagniąt.

Piśmiennictwo

1. Nowacki J., Lewandowski S., Wachnik Z., Konopa M., Przymus J., Bromirska J.: *Medycyna Wet.* 38, 154, 1982.
2. Nowacki J., Lewandowska S., Konopa M., Przymus J.: *Medycyna Wet.* Ocena właściwości uodporniających żywego szczepu *L. monocytogenes* (serotyp 1) u owiec — oddano do druku 1984.

Adres autora: dr Jerzy Nowacki, ul. M. Reja 42/14, 50-338 Wrocław

Новацкий Е., Левандовская С., Конопа М., Пшимус Я. — Исследования безвредности и эффективности

ности живой вакцины против листериоза для ягнят

Цель исследований состояла в проверке иммунизационных свойств и исключения возможной вирулентности избранных штаммов листерий для ягнят. Более ранние исследования показали иммуногенность и невирулентность этих штаммов для мышей, кроликов и взрослых овец. Исследования выполнили на 30 ягнятах, из которых 26 иммунизировали, а затем в группах инфицировали через 1, 3 и 6 месяцев после иммунизации вирулентными штаммами *L. monocytogenes*. 4 ягнят, не иммунизированных, а лишь инфицированных, составило контроль.

Иммунологический ответ лучше всего был выражен у иммунизированных и затем инфицированных ягнят. Оценивая же динамику нарастания протител у ягнят после иммунизации и инфекции, отмечено удержание длительное время анти-H-протител на уровне положительных титров, титры же анти-O-протител были, как правило, ниже или исчезали. Исследуемые живые иммуногенные штаммы *L. monocytogenes* nr 6/73-серотип 1 и nr 10/73-серотип 4b, введенные подкожно и внутривенно, не были вирулентны для ягнят. Защитное действие живой вакцины удерживалось все время наблюдений (6 месяцев).

Nowacki J., Lewandowska S., Konopa M., Przymus J. — **Examinations on the efficacy and harmless of a live vaccine against listeriosis in lambs**

The purpose of the work was to assess the immune properties of the chosen strains of *Listeria* sp. and to exclude the possibility of their virulence for lambs. Previous investigations revealed their immunogenicity and avirulence for mice, rabbits and adult sheep. The examinations were performed on 30 sheep: 26 were immunized, divided into groups and challenged with a virulent strain of *Listeria monocytogenes* after 1, 3 and 6 months. Four lambs served as a control. Immune response was best expressed in animals immunized and then infected. It was found that the level of antibodies against antigen H following vaccination and infection of lambs persisted for a long time while against antigen O was lower or disappeared. The live strains under study i.e. *L. monocytogenes* No 6/73, serotype 1 and No 10/73, serotype 4b given subcutaneously and intravenously were avirulent for lambs. Protective action of the vaccine lasted for the whole period of observation i.e. six months.

MONGA D. P., TIWATI S. C., PRASED S.: Grzybicze roniczenia u koni. (Mycotic abortions in equines). *Mykosen* 26, 612—614, 1983 (12).

Treść żołądków 100 poronionych płodów klaczy przebadano mikroskopowo i hodowlanie na obecność grzybów. W 9 przypadkach te badania wypadły dodatnio. W trzech przypadkach izolowano *Aspergillus fumigatus*, w 3 *Candida tropicalis*, w 2 *C. albicans* i w jednym *Cryptococcus laurentii*. Tylko jeden przypadek roniczenia na tle zakażenia grzybiczego wystąpił u płodu poronionego w 5 miesiącu ciąży, pozostałe występowały u płodów poronionych w 8—10 miesiącu ciąży.

G.

VALBERG S. J., MC KINNON A. O.: Cellulitis u koni na tle zakażenia klostridiami: Analiza 5 przypadków. (Clostridial cellulitis in the horse: a report of five cases). *Can. vet. J.* 25, 67—71, 1984 (2).

Wszystkie przypadki cellulitis u koni wywołane przez drobnoustroje z rodzaju *Clostridium* zakończyły się padnięciem. Na czoło zmian chorobowych wysuwały się trzeszczące obrzęki i toksemia. W 4 przypadkach zakażenie rozwinęło się po stosowaniu inie-

kcji domięśniowych. Autorzy uważają, że jedynie wczesne rozpoznanie choroby i usunięcie martwych tkanek, miejscowe i ogólne zastosowanie penicyliny a także leczenie wspomagające polegające na dożylnym stosowaniu płynów, może przynieść zadowalające efekty terapeutyczne.

G.

ORT J. P.: Zmartwiające zapalenie jelit u cieląt zakażonych adenowirusem. (Necrotizing enteritis in a calf infected with adenovirus). *Can. vet. J.* 25, 72—74, 1984 (2).

Wirusowe zapalenie jelit zdiagnozowano u cielęcia rasy holsztyńskiej, które padło po 24 godzinach po wystąpieniu biegunki. Badania sekcyjne wykazały zgrubienie śluzówki końcowego odcinka jelit cienkich. Zgrubiałą śluzówkę pokrywały nekrotyczne błony. W treści okrężnicy występowały strzępki włókienka i krew. Krezkowe węzły chłonne były powiększone i obrzękłe. W komórkach śródbłonki naczyń krwionośnych jelit i krezkowych węzłów chłonnych występowały śródjadrowe ciała wtrętowe w których w mikroskopie elektronowym zidentyfikowano cząsteczki o budowie zbliżonej do adenowirusów.

G.