

JERZY NOWACKI, STANISŁAWA LEWANDOWSKA*

Uodpornianie jagniąt żywą szczepionką przeciw listeriozie z napowietrzanej hodowli bulionowej

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR,

pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

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

W swoistej profilaktyce listeriozy mają zastosowanie szczepionki atenuowane i inaktywowane. Uważa się, że skuteczne są przede wszystkim szczepionki żywe atenuowane, co ma związek z wewnątrzkomórkowym charakterem pasożytnictwa listerii. O zastosowaniu szczepionek żywych donoszą we Francji Morailon i Yalcin (4), w NRD Mayer i Steng (3) oraz Waschendorfer i Zirpel (10), w Związku Radzieckim Selivanov i wsp. (9), Kotylev i wsp. (2) oraz w Bułgarii Ivanov (1).

Dotychczasowe badania własne wykazały, że żywa niejadliwa szczepionka przeciwko listeriozie posiada dobre właściwości uodporniające dla owiec i jagniąt (5, 6). Badano też ewentualną rewersję szczepów użytych do produkcji szczepionki na świnkach morskich, białych myszkach i jagniętach nie stwierdzając uzjadliwienia się tych szczepów (7, 8). Technologia uzyskania szczepionki z hodowli agarowej na skalę przemysłową nastęrcza trudności. Postawiono więc zbadać właściwości uodporniające szczepionki stabilizowanej z hodowli bulionowej napowietrzanej.

Materiał i metody

Badania wykonano na 15 jagniętach rasy merynos polski w wieku około 3 miesięcy klinicznie zdrowych i serologicznie ujemnych w odczynie aglutynacji z antygenem *L. monocytogenes*.

Do przygotowania szczepionki stabilizowanej użyto liofilizowanych szczepów *L. monocytogenes* nr 6/73 serotyp 1 i nr 10/73 serotyp 4b. Listerie hodowano w bulionie tryptozowym napowietrzanym w ciągu 48 h w temp. 28°C. Hodowlę bulionową odwirowano (4 tys. obrotów przez 45 min.), a osad zawieszono w płynie fizjologicznym o pH 7,6, zawierającym 5% glicerolu i 2% sacharozy. Szczepionka zawierała w 1 ml 10⁸ pałeczek listerii. Do uodpornienia jagniąt użyto też szczepionki przechowywanej przez 6 mies. w temperaturze 4–8°C. Miano szczepionki, która wyjściowo zawierała 2×10⁸ pałeczek listerii w 1 ml kontrolowano metodą Kocha co 4 tyg. Po 6 miesiącach ilość pałeczek w 1 ml obniżyła się do około 1,2×10⁷.

Jagnięta podzielono na 3 grupy. Pierwszej grupie podano podskórnie szczepionkę w dawce 5 ml, a drugiej 2 ml na sztukę. Trzecia grupa otrzymała szczepionkę przechowywaną przez 6 miesięcy w ilości 2 ml na sztukę. Celem sprawdzenia odporności jagnięta zakażano po 6 miesiącach od uodpornienia 48 h hodowlą zjadliwych szczepów *L. monocytogenes* (serotyp 1 — szczep 65/78 i serotyp 4b — szczep 105/81) w ilości 5 ml podskórnie na zwierzę.

Jagnięta badano klinicznie, hematologicznie i serologicznie przed uodpornieniem oraz 1, 2, 3, 4 tyg. i następnie w odstępach 4 tyg. po uodpornieniu i zakażeniu do końca obserwacji. Badania bakteriologiczne wymazów z nosa i odbytu wykonano przed uodpor-

nieniem oraz w odstępach tygodniowych w ciągu 16 tygodni po uodpornieniu. W badaniach immunologicznych posługiwano się odczynem aglutynacji — OA, oznaczaniem limfocytów esterazododatnich T oraz testem rozetowym EA. Po uboju diagnostycznym wykonano badania anatomopatologiczne, histopatologiczne i bakteriologiczne.

Wyniki i omówienie

Jagnięta po podaniu szczepionki zareagowały jedynie w pierwszej i drugiej grupie 1–2-dniowym podniesieniem temperatury ciała do 41,2°C, a w trzeciej 1 dniowym do 40,8°C. U wszystkich jagniąt zakażonych po 6 mies. od uodpornienia, poza 3–4-dniowym wzrostem temperatury ciała do 41,4°C, nie obserwowano innych odchyleń od normy.

Badaniem hematologicznym wykazano wzrost liczby limfocytów w pierwszych 3–4 tyg. po uodpornieniu u jagniąt grupy pierwszej, którym podano największą dawkę szczepionki (tab. 1).

Badaniem serologicznym stwierdzono we wszystkich trzech grupach jagniąt podniesienie poziomu aglutynin O jedynie po zakażeniu zjadliwymi szczepami do 1:160. Natomiast wyraźny wzrost aglutynin H obserwowano we wszystkich trzech grupach jagniąt w 3–4 tyg. po uodpornieniu i w ciągu całego okresu obserwacji po zakażeniu. Należy podkreślić, że miana aglutynin H były w każdym przypadku wyższe niż 0. W teście EA stwierdzono procentowy wzrost liczby limfocytów B we wszystkich grupach zwierząt od 3–4 tyg. po uodpornieniu i następnie przez cały okres obserwacji po zakażeniu (tab. 1–3).

Badaniem anatomopatologicznym i histopatologicznym po uboju diagnostycznym dokonanym w 9 miesiącu po uodpornieniu i 3 miesiącu po zakażeniu nie wykazano zmian swoistych dla listeriozy.

Badaniem bakteriologicznym przyżyciowo w posiewach z wymazów z nosa i odbytu nie stwierdzono pałeczek listerii. Poubojowo izolowano jedynie formy L listerii w 2 przypadkach z węzłów chłonnych.

W podsumowaniu badań serologicznych należy podkreślić, że przy niskim poziomie przeciwciał O, przeciwciała H występowały zawsze w wyższych mianach po uodpornieniu i utrzymywały się również po zakażeniu. Podobne wyniki uzyskano we wcześniejszych badaniach u

Tab. 1. Średnie wartości mian aglutynacyjnych (A), leukocytów (L), limfocytów (Lmf), monocytów (M), limfocytów T i B u jagniąt grupy I

Oznaczenie	Antygen	Badanie (tyg)															
		przed		po uodpornieniu								po zakażeniu					
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	I	II	III	IV	V	VI	
		0	1	2	3	4	8	12	16	20	24	1	2	3	4	8	12
A	O	5	10	10	20	10	5	5	15	35	40	60	80	90	105	30	50
	H	0	60	65	160	112	75	65	90	60	85	140	150	200	130	240	160
L		8,5	7,2	8,1	8,9	7,6	7,3	6,9	7,5	7,8	7,5	7,8	8,1	8,8	8,5	8,9	7,6
Lmf		52	55	59	62	65	58	43	48	50	46	53	42	58	56	58	60
M		10	9	10	6	8	11	12	8	8	9	7	5	6	9	10	14
T		49	44	47	34	38	42	48	63	59	52	45	54	42	58	53	67
B (test EA)		20	21	36	27	35	52	49	62	63	64	67	58	58	48	71	68

Tab. 2. Średnie wartości mian aglutynacyjnych (A), leukocytów (L), limfocytów (Lmf), monocytów (M), limfocytów T i B u jagniąt grupy II

Oznaczenie	Antygen	Badanie (tyg)															
		przed		po uodpornieniu								po zakażeniu					
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	I	II	III	IV	V	VI	
		0	1	2	3	4	8	12	16	20	24	1	2	3	4	8	12
A	O	5	10	6	43	17	14	6	17	20	26	97	84	99	111	37	43
	H	5	23	23	135	120	84	61	86	40	57	120	109	154	120	97	114
L		6,9	7,3	7,8	7,5	8,1	7,9	7,1	6,9	7,3	7,5	7,9	8,1	8,8	8,6	8,9	7,4
Lmf		59	66	60	63	61	55	61	46	55	57	59	54	59	56	61	63
M		10	11	5	11	10	12	12	8	8	7	10	7	11	9	10	8
T		50	42	44	43	48	50	54	60	59	55	43	57	55	55	50	62
B (test EA)		25	25	35	40	47	55	50	57	65	72	73	65	68	40	66	63

Tab. 3. Średnie wartości mian aglutynacyjnych (A), leukocytów (L), limfocytów (Lmf), monocytów (M), limfocytów T i B u jagniąt grupy III

Oznaczenie	Antygen	Badanie (tyg)															
		Przed		po uodpornieniu								po zakażeniu					
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	I	II	III	IV	V	VI	
		0	1	2	3	4	8	12	16	20	24	1	2	3	4	8	12
A	O	0	15	0	35	30	20	5	15	25	30	100	60	85	95	35	45
	H	0	10	35	120	80	60	75	65	60	60	75	110	200	120	160	110
L		7,3	7,1	6,9	8,0	7,7	7,1	6,8	7,5	6,9	7,2	7,8	8,2	7,9	8,9	8,3	7,8
Lmf		61	53	61	69	58	55	55	60	50	53	50	55	62	59	66	59
M		10	13	11	8	10	14	7	10	6	8	10	7	7	7	6	9
T		42	41	40	39	43	41	55	54	57	48	43	58	57	63	53	61
B (test EA)		27	28	33	27	39	56	55	54	60	60	73	73	71	36	63	63

owic dorosłych i jagniąt, u których zastosowano szczepionkę z hodowli agarowej tych samych szczepów (5, 6).

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że szczepionka z hodowli bulionowej napowietrzanej przechowywana przez 6 mies. wykazywała dobre właściwości ochronne w równym stopniu jak szczepionka świeżo przygoto-

wana. Dawka szczepionki 5 ml podskórnie na sztukę okazała się nieszkodliwa, a 2 ml wystarczająca do uodpornienia. We wcześniejszych badaniach szczepionka z hodowli agarowej podawana w płynie fizjologicznym owcom dorosłym (5) i jagniętom (6) również wykazywała właściwości uodporniające. Ze względu na sposób przygotowania wersja szczepionki z hodowli

bulionowej napowietrznej może być polecana do produkcji przemysłowej i zastosowania. Wartość szczepionki podnosi fakt wynikający z przeprowadzonych badań, że u uodpornionych jagniąt nie stwierdzano siewstwa i nosicielstwa.

Wnioski

1. Żywa szczepionka z hodowli bulionowej napowietrzanej może mieć zastosowanie w immunoprophylaktyce listeriozy.

2. U jagniąt po uodpornieniu nie stwierdzano nosicielstwa i siewstwa.

3. Odpowiedź immunologiczna po uodpornieniu wyraża się wyższym poziomem aglutynin H niż O.

Piśmiennictwo

1. Ivanov I., Dikova T.: Vet. Med. Nauk, Sof. 19, 3, 1982.
2. Kotylev O. A., Ismagilov J. N., Kaparovic T. V.: Učen. Zap. Kazan. vet. Inst. 101, 198, 1976.
3. Mayer H., Steng G.: Prakt. Tierarzt 56, 149, 1975.
4. Moraillon P., Yalcin N.: Rec. Med. vet. 143, 767, 1967.
5. Nowacki J., Lewandowska S., Konopa M., Przymus J.: Medycyna Wet. 40, 404, 1984.
6. Nowacki J., Lewandowska S., Konopa M., Przymus J.: Medycyna Wet. 40, 458, 1984.
7. Nowacki J., Lewandowska S., Przymus J.: Medycyna Wet. 41, 611, 1985.
8. Nowacki J., Lewandowska S., Przymus J.: Medycyna Wet. 41, 651, 1985.
9. Selivanov A. V., Kotylev O. A., Gedov N. K.: Veterinarija, Moskwa 12, 38, 1974.
10. Wachendörfer G., Zirpel H.: Prakt. Tierarzt 57, 362, 1976.

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

Нобацкий Е., Левандовская С. — Иммунизация ягнят живой вакциной против листериоза из аэрированной бульонной культуры

Исследования выполнили на 15 ягнятах. Для изготовления вакцины использовали лиофилизованные штаммы *L. monocytogenes* (серотипы 1 и 4 о). Листерии выращивали в триптозовом аэрированном бульоне в течение 48 ч в темп. 28°C. Бульонную культуру сепарировали, а осадок суспендировали в физиологической жидкости с pH 7,6, содержащей 5% глицерола и 2% сахарозы. Вакцина содержала в 1 мл 10⁸ палочек листерий. Первую группу ягнят иммунизировали подкожно дозой 5 мл, вторую — дозой 2 мл и третью — вакциной, хранимой в темп. 4—8°C 6 мес. в дозе 2 мл на голову. Челленж выполнили через 6 мес. после иммунизации.

Вакцина из бульонной аэрированной культуры, свежо изготовленная как и хранимая 6 мес., показывала хорошие защитные свойства. У животных, иммунизированных живой вакциной, не отметили носительства и севства.

Nowacki J., Lewandowska S. — Immunization of lambs with vaccine containing living strains of *Listeria monocytogenes*

The examinations were carried out on 15 lambs. For vaccine preparation there were used lyophilized strains of *L. monocytogenes* (serotype 1 and 4b). The bacteria were cultivated in aerated broth with tryptose for 48 hours at 28°C. The culture was centrifuged and the pellet was suspended in a 0.85% NaCl solution, pH 7.6, containing 5% glycerol and 2% saccharose. The vaccine possessed 10⁸ bacterial cells in 1 ml of the preparation. The first group of lambs was immunized with 5 ml of the vaccine given subcutaneously the second one with 2 ml, and the third group with 2 ml of the vaccine stored for 6 months at 4—8°C. The challenge was performed after 6 months since immunization. The fresh vaccine and the stored one proved to have good protective properties. Immunized animals with the vaccines did not carry the strains of *L. monocytogenes*.

PLANT J. W., EAMES G. J., SEAMAN J. T.: Zmiany serologiczne, bakteriologiczne i sekcyjne u tryków po zakażeniu różnymi drogami *Brucella ovis*. (Serological, bacteriological and parasitological changes in rams following different routes of exposure to *Brucella ovis*). Aust. vet. J. 63, 409—412, 1986 (12)

Badania przeprowadzono na 46 trykach rasy merynos w wieku 2 i 3 lat. Tryki zakażono przez kontakt z nasieniem zanieczyszczonym *B. ovis*. W tym celu owcom w okresie rui podano do pochwy 1 ml rozcieńczonego nasienia i owce pokrywano trykami dwukrotnie; nasienie podawano do worka napletkowego, do jamy nosowej lub do prostonicy. Ponadto część tryków zakażono do worka napletkowego 3 dobową hodowlą *B. ovis*. U 36 z 41 tryków pojawiły się w krwiobiegu swoiste przeciwciała aktywne w odczynie wiązania dopełniacza. Jednakże tylko u 9 z 36 tryków reagujących dodatnio w odczynie wiązania dopełniacza wystąpiły objawy kliniczne i zakażenie potwierdzono badaniem bakteriologicznym i badaniem sekcyjnym. Rozpoznanie zakażenia *B. ovis* u tryków jest więc możliwe w oparciu o badania kompleksowe obejmujące wywiad, badanie serologiczne, kliniczne i badanie nasienia. Dodatni wynik odczynu wiązania dopełniacza wskazuje przy tym jedynie na przebieg zakażenia. Badaniu bakteriologicznemu należy poddać wydzieliny gruczołów płciowych dodatkowych ponieważ od wszystkich zakażonych tryków *B. ovis* izolowano z pęcherzyków nasiennych.

G.

HENNESSY D. R., STEEL J. W., DASH K. M., LISLE K. A.: Potencjalizacja przeciwobaczej aktywności Oksfendazole w przypadku naturalnych zakażeń nicieniami opornymi na benzimidazol przy użyciu parabendazolu. (Potentiation by parabendazole of the anthelmintic activity of oxfendazole against natural infections of benzimidazole resistant nematodes). Aust. vet. J. 64, 28—29, 1987 (1)

W trakcie badania właściwości farmakokinetycznych benzimidazoli (BZ) wykazano, że łączne podanie oksfendazolu (OFZ) z parabendazolem opóźnia szybkość metabolizowania i wydalania OFZ. Badania przeprowadzone na owcach zarażonych na drodze naturalnej *Trichostrongylus colubriformis*, *Teladorsagia circumcincta* i *Nematodirus* sp., względnie *Haemonchus contortus* u których stosowano OFZ w dawce 5,0 mg/kg, 10,0 mg/kg względnie OFZ w dawce 5,0 mg/kg łącznie z PBZ w dawce 4,5 mg/kg wykazały, że łączne stosowanie OFZ z PBZ zwiększa skuteczność leczenia w przypadku nicieni opornych na benzimidazol. Liczba jaj wydalonych z kałem w przypadku zastosowania OFZ+PBZ obniża się w sposób podobny jak po zastosowaniu OFZ w dawce 10,0 mg/kg. Jednakże w przypadku parabendazolu (PBZ) należy liczyć się u owiec z jego działaniem ubocznym, zwłaszcza w dużych dawkach (30 mg/kg).

G.