



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

254937
(11) (B1)

(51) Int. Cl.⁴
A 61 K 39/116

(22) Prihlášené 21 04 86
(21) {PV 2898-86.J}

(40) Zverejnené 12 02 87

(45) Vydané 15 11 88

(75)

Autor vynálezu

TRÁVNIČEK MILAN MVDr. CSc., DRAVECKÝ TOMÁŠ MVDr., PREŠOV,
PROCHÁZKA RADOMIL MVDr., VYŠKOV, BALAŠČÁK JURAJ MVDr. CSc.,
PETROVANY

(54) **Bivalentná vakcína proti nákazlivému chlamýdióvemu a paratýfovému zmetaniu oviec a spôsob jej výroby**

1

2

Bivalentná vakcína proti nákazlivému chlamýdióvemu a paratýfovému zmetaniu oviec s olejovým adjuvans je určená k imunizácii oviec a baranov proti týmto dvom ochoreniam. Obsahuje kmeň Chlamydia psittaci, ktorý bol izolovaný na území ČSSR a kmeň Salmonella abortus ovis izolovaný vo Veľkej Británii. Olejový adjuvans vhodne potencuje účinnosť vakcíny. Antigén Chlamydia psittaci sa pripravuje pomnožovaním tohoto mikróba na žltkových vakoch kuračích embrií, antigén Salmonella abortus ovis pomnožovaním salmonel v tekutej pomnožovacej pôde za použitia submerznej kultivácie. Na inaktiváciu oboch mikrobiálnych druhov sa používa formaldehyd v množstve 0,5 ml na 100 ml kultúry. Jedna vakcinačná dávka, ktorá predstavuje 4 ml vakcíny, obsahuje tieto množstvá účinných látok:

Chlamydia psittaci	50 µg
Salmonella abortus ovis	
	2 × 5,6 · 10 ⁹ mikróbov

Vynález sa týka bivalentnej vakcíny proti nákazlivému chlamýdiómu a paratýfovému zmetaniu oviec s olejovým solvens a spôsobu jej prípravy. V súvislosti s budovaním podnikov s veľkou koncentráciou oviec sú nutné účinné preventívne opatrenia pred infekčnými chorobami postihujúcimi tento druh zvierat. Tieto dve nákazy, ktoré patria medzi zoonózy, vyvolávajú u dospelých oviec aborty, u jahniat septické formy ochorenia s nasledujúcimi úhynmi. Chlamydia psittaci navyše vyvoláva u baranov orchitídy, epididymitídy a vesikulitídy, pričom plemenitý baran vylučuje spermiou virulentné baktérie Chl. psittaci. Chlamydia psittaci predstavuje jedného z dvoch reprezentantov rodu Chlamydia, pričom niektoré kmene sa vyznačujú výraznou afinitou ku gravidnému uteru (STORZ, J.: Chlamydia and Chlamydia-Induced Diseases, Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, USA, 1971, s. 171 až 207), kde vyvolávajú zápal placenty, čoho dôsledkom je u väčšiny infikovaných zvierat potrat (STAMP, J. T. a kol.: Enzootic abortion in ewes. I. Transmission of the disease. Vet. Rec., 62, 1950, s. 251—254; TRÁVNÍČEK, M. a kol.: Veterinářství, XXVIII, 1978, č. 12, s. 541). Ekonomická závažnosť chlamýdiových abortov je vysoká. V čerstvo infikovaných stádach môže abortovať 56,9 % gravidných bahnic (WACHENDÖRFER, G., VALDER, W. A.: Der Praktische Tierarzt, 1976, č. 7, s. 422—426) resp. až 80 % bahnic (HIEPE, Th.: Schafkrankheiten, VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 1970, s. 119). Živonarodené jahňatá od infikovaných matiek sa vyznačujú nízkou životaschopnosťou, väčšinou hynú do 48 hodín, resp. trpia na pneumónie, polyartritídy a keratokonjunktivitídy. Kmene Chlamydia psittaci, ktoré vyvolávajú aborty u oviec, môžu vyvolať aborty tiež u gravidných žien (JOHNSON, W. A. a kol.: Brit. Med. J. February, 1985, 290, s. 592—594), resp. systémové a orgánové onemocnenia (atypická pneumónia, tromboflebitída) predovšetkým u profesionálne exponovaných pracovníkov (Surveillance zoonóz, ORNITÓZY, SLOVENSKO, 1978, s. 1—6, vydáva Komisia vlády SSR pre koordináciu práce na úseku boja proti ochoreniam prenosným zo zvierat na ľudí). Salmonella abortus ovis vyvoláva u oviec paratýfové zmetanie, pričom v infikovanom stáde môže abortovať 40—60 % oviec (VRZGULA, L. a kol.: Choroby oviec, Príroda, Bratislava, 1973, s. 21; HIEPE, Th.: Schafkrankheiten, VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 1970, s. 142). V dôsledku komplikácií po aborte (retencia sekundín, endometritídy) uhynie v stáde až 5 % dospelých oviec. Nákaza postihuje aj narodené jahňatá, ktoré hynú na sepsu. Nakaziť sa môže aj človek. V súčasnej dobe sa v ČSSR na prevenciu infekčných potratov oviec vyrába monovalentná chlamýdiová vakcína bez adjuvansu ako aj vakcína proti paratýfovému nákazlivému zmetaniu kôbyl a oviec. Jedná sa o bujono-

vú kultúru dvoch bakteriálnych kmeňov Salmonella abortus equi a Salmonella abortus ovis, inaktivované teplom a konzervované fenolom. Vakcína je bez adjuvans a slúži k ochrannému očkovaniu chovných kôbyl a oviec proti paratýfovému zmetaniu. Vakcíny proti chlamýdiómu zmetaniu oviec sa vyrábajú v nasledujúcich európskych štátoch: Maďarsko — firma Phylaxia vyrába monovalentnú vakcínu s aluminium hydroxyd gelom. Vakcína v dávke 2 ml s. c. sa používa na prevenciu chlamýdiových abortov oviec. Francúzsko — firma IST (Institut de Sérothérapie de Toulouse) vyrába vakcínu Chlamystan. Jedná sa o monovalentnú vakcínu s olejovým adjuvans, ktorá sa používa na prevenciu chlamýdiových infekcií u oviec v dávke 2 ml s. c. a u hovädzieho dobytká v dávke 5 ml s. c. Anglicko — firma Wellcome vyrába monovalentnú vakcínu s olejovým adjuvans, určenú na prevenciu chlamýdiového abortu oviec v dávke 1 ml s. c. NDR — z literárnych údajov je známe (VALDER, A., WACHENDÖRFER, G.: Untersuchungen zur Wirksamkeit der Vakzination gegen den Chlamydien abort des Schafer, Deutsch. Tierärztl. Wschr., 82, 1975, 6, s. 220—225), že v NDR sa experimentálne použila monovalentná chlamýdiová vakcína bez adjuvans vyrobená v laboratórnych podmienkach. Proti paratýfovému zmetaniu oviec sa vyrába monovalentná vakcína v NDR a NSR, pričom v oboch prípadoch sa jedná o bujónovú kultúru kmeňov Salmonella abortus ovis, umŕtvených formalínom bez adjuvans. Používa sa na prevenciu paratýfového zmetania v dávke 5 a 10 ml s. c. Podľa dostupných informácií sa vo svete nevyrába vakcína proti nákazlivému chlamýdiómu a paratýfovému zmetaniu oviec s olejovým adjuvansom.

Chlamydia psittaci v organizme ovce vyvoláva v gravidnej maternici zápal plodových obalov, dôsledkom čoho je prerušenie spojenia medzi matkou a plodom a následne abort. Salmonella abortus ovis vyvoláva zápal uteru, celkový septický stav v organizme matky a plodu, čoho dôsledkom je odumretie plodu a jeho vypúdenie z tela matky.

Zloženie olejového solvens použitého v bivalentnej vakcíne je uvedené v ďalšom texte na str. 6. Obdobnú receptúru má aj olejové solvens z Biovety Nitra. Presné zloženie olejových solvens použitých vo vakcínach firiem Wellcome a I. S. T., tieto firmy v návodoch na použitie neuvádzajú, resp. ich z komerčných dôvodov utajujú. Firma Wellcome popisuje olejové adjuvans použité vo svojej vakcíne ako ľahký, tekutý parafín, firma I. S. T. len ako olejové adjuvans.

Podstatou vynálezu je bivalentná vakcína proti nákazlivému chlamýdiómu a paratýfovému zmetaniu oviec vyznačujúca sa tým, že obsahuje inaktivované elementárne

telieska kmeňa *Chlamydia psittaci* v množstve 50 μg na 4 ml vakcíny a inaktivované bakteriálne telá kmeňa *Salmonella abortus ovis* v množstve minimálne $2 \times 5,6 \cdot 10^3$ mikróbov na 4 ml vakcíny. Bivalentná vakcína sa vyznačuje tým, že obsahuje kmeň *Chlamydia psittaci* CAMP R-24 a kmeň *Salmonella abortus ovis* CCM 5611, ktoré sú uložené v Sbírcе patogenných mikroorganizmů, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, Hudcova 70. Táto bivalentná vakcína sa ďalej vyznačuje tým, že obsahuje zriedovač vo forme lipoidného adjuvans pufrovaný fyziologický roztok a konzervans. Podstatou vynálezu je tiež spôsob výroby vakcíny spočívajúci v tom, že kmeň *Chlamydia psittaci* sa pomnožuje na žltkových vakoch kuracích embryí po dobu 4 až 7 dní, po vybratí žltkových vakov nasleduje inaktivácia formaldehydom a homogenizácie a po odstredení purifikácie antigénu éterom. Kmeň *Salmonella abortus ovis* sa pomnožuje v mäsopeptonovom bujóne pri teplote 37 °C, potom sa inaktivuje formaldehydom a následne sa zmieša inaktivovaná kultúra *Salmonella abortus ovis* s adjuvansom a s koncentrovaným antigénom *Chlamydia psittaci* a po homogenizácii sa rozplňuje. Spôsob výroby sa vyznačuje tým, že olejový adjuvans sa zmieša v rovnakom objemovom pomere s inaktivovanou kultúrou *Salmonella abortus ovis*.

Vakcína podľa vynálezu je určená k aktívnej imunoprofylaxii gravidných oviec ak aktívnej imunoprofylaxii plemenných baranov. Medzi výhody, ktoré uvedená vakcína prináša, patrí:

- súčasné pôsobenie proti dvom závažným infekčným ochoreniam, ktoré sú radené medzi zoonózy,
- zlepšenie stability vakcíny v dôsledku použitia olejového adjuvans,
- vyššia úroveň chránenosti zvierat proti obidvom nákazám v dôsledku použitia olejového solvens,
- radikálne zníženie výskytu abortov u oviec, vyvolávaných chlamýdiami a salmonellami a súčasné zníženie úhynov jahniat do 48 hodín po narodení,
- zníženie možnosti traumatizácie gravidných oviec, pretože počet manipulácií so zvieratami sa zníži zo 4 monovalentných vakcín na 2 u vakcíny bivalentnej,
- v porovnaní s nákladmi na výrobu monovalentných vakcín, sú náklady na výrobu bivalentnej vakcíny nižšie.

Vakcína predstavuje suspenziu inaktivovaných elementárnych teliesok *Chlamydia psittaci* a inaktivovaných bakteriálnych tiel *Salmonella abortus ovis* v pufrovanom fyziologickom roztoku, konzervované formaldehydom a olejovým zriedovačom. Komponenty na prípravu bivalentnej vakcíny proti nákazlivému chlamýdióvemu a paratýfovému

mu zmetaniu oviec s olejovým adjuvansom:

1. Kmeň *Chlamydia psittaci* CAMP R-24, izolovaný v ČSSR, pôvodné označenie EP4 4/85 Dehrad.
2. Kmeň *Salmonella abortus ovis* CCM 5611 izolovaný vo V. Británii, pôvodné označenie: NCTC 10241, J. Taylor, CPHL London.
3. Kuracie embryá 5—7dňové, získané z nasadových vajec podľa ČSN.
4. Pufrovaný fyziologický roztok o pH 7,2, 0,25 sacharózový roztok vo fosfátovom pufrí, 1 M roztok chloridu sodného.

A. Pufrovaný fyziologický roztok o pH 7,2
a) príprava fosfátového pufru:

1. 0,15 M roztok hydrofosforečnanu sodného ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$)
53,79 g
destilovaná voda 1 000,0 ml
2. 0,15 M roztok dihydrofosforečnanu draselného
20,41 g
destilovaná voda 1 000,00 ml

Na dosiahnutie pufru o pH 7,2 zmiešame roztoky č. 1 a 2 v nasledujúcom pomere:

roztok č. 1	14,3 ml
roztok č. 2	5,7 ml
	20,0 ml
	pufru o pH 7,2

b) príprava fyziologického roztoku:

- NaCl (chlorid sodný) 8,5 g
destilovaná voda 1 000,0 ml

Fyziologický roztok upravujeme pufrom až po dosiahnutie pH 7,2.

B. 0,25 M sacharózový roztok vo fosfátovom pufrovanom fyziologickom roztoku — príprava:

- sacharóza 85,6 g
pufrovaný fyziol. roztok o pH 7,2 1 000,0 ml

C. 1 M roztok chloridu sodného (NaCl) — príprava:

- chlorid sodný 58,44 g
destilovaná voda 1 000,00 ml

5. Streptomycín 200 m. j. na 1 ml pufrovaného fyziologického roztoku, Gentamycín 0,2 mg na 1 ml pufrovaného fyziologického roztoku.
6. Formaldehyd podľa ČSN (36—38 % roztok p. a.) 686236.

7. Zriedčovač a solvens — zloženie:

Olej vazelínový medicínálny Al Čsl 3	24 000 g
Lanolín Čsl 3	8 000 g
Tween 80 (Polyoxyethylene sorbitan monooleate, n ca.20) HLB 15,0;	
d20 1,07 MWca 1 300	1 600 g
Voda redestilovaná	66 400 g

Popis príkladu prevedenia:

K namnoženiu *Chlamydia psittaci* (elementárnych teliesok) sa používajú embryonované kuracie vajcia 5–7 dňové. Embryá sa infikujú 20 % hmot. suspenziou pripravenou zo žltkových vakov infikovaných kmeňom *Chlamydia psittaci* v 0,25 M sacharózom pufrovanom fyziologickom roztoku o pH 7,2 do žltkových vakov. Množstvo inokula je 0,2 až 0,4 ml na 1 embryo. Embryá uhynuté v prvých 3 dňoch vyradzujeme. Embryá uhynuté vo 4., 4. resp. 6. dni (na 7. deň sa všetky embryá vyberajú) sa spracujú nasledovne:

Vyberú sa žltkové vaky, ktoré sa odvažia. Pripraví sa 20 % hmot. suspenzia žltkových vakov s 1 M roztokom NaCl, pričom na každých 100 ml suspenzie sa pridá 0,5 ml formaldehydu. Materiál sa homogenizuje v mixéri počas 3 minút. Zhomogenizované žltkové vaky sa uložia do chladničky pri +4 stupňoch Celzia na 72 hodín. Nasleduje centrifugácia pri 15 000 ot./min. po dobu 30 minút. Odstráni sa tuk a supernatant. Sediment sa resuspenduje v dostatočnom množstve fyziologického roztoku (1/2 pôvodného objemu) rozmiešaním. Suspenzia sa naleje do deliaceho lievika a pridá sa 1,5-násobok objemu éteru. Dobré sa pretrepe a uloží sa do chladničky cez noc. Dôjde k diferenciácii fáz. Používa sa vodná fáza, ktorá obsahuje elementárne telieska *Chlamydia psittaci*. Zbytky éteru sa odstránia prebublávaním vzduchom. Nasleduje ďalšia centrifugácia pri 15 000 ot./min. po dobu 30 minút. Sediment sa resuspenduje v 1/2 pôvodného objemu vo fyziologickom roztoku. Suspenzia v deliacom lieviku sa znova zmieša s éterom. Na separáciu jednotlivých vrstiev stačia teraz 2–3 hodiny. Nasleduje vybublávanie éteru a záverečná centrifugácia pri 12 000 ot./min. počas 30 minút. Sediment sa nariedi fyziologickým roztokom tak, aby vznikol ľahko zakalený roztok. Z takto nariadeného antigénu pripravíme 3 až 5 riedení v pomeroch 1 : 4, 1 : 8, 1 : 16, 1 : 32 a 1 : 64. Nasleduje meranie hodnôt extinkcie na spektrofotometri pri vlnovej dĺžke 420. Antigén sa meria oproti pufrovanému fyziologickému roztoku o pH 7,2. Nasledným výpočtom za použitia koeficientu pre *Chlamydia psittaci* nastavíme obsah účinnej látky na 1 mg na 1 ml. Obsah účinnej látky vo vakcinačnej dávke — 50 µg na 4 ml sa dosiahne nasledným riedením pomocou solvensu.

Príprava antigénu *Salmonella abortus o-*

vis. Lyofilizovaný vakcinačný kmeň *Salmonella abortus ovis* sa po otvorení ampulky rehydratuje v 0,2 ml masopeptonového bujónu a vyočkuje sa kľučkou na masopeptonový agar a na Endov agar, kde sa inkubuje 24 hod. pri 37 °C. Na ďalšie pomnožovanie kmeňa *Salmonella abortus ovis* sa používa tekutá pomnožovacia pôda nasledujúceho zloženia:

Enzymatický kazeinový hydrolyzát

Imuna	10,0 g
Kyslý kazeinový hydrolyzát	10,0 g
Sójový pepton	5,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Destilovaná voda ad	1 000,0 ml

Z Endo agaru sa kľučkou preniesie kultúra do násad s obsahom 50 ml vyššie popísanej tekutej pomnožovacej pôdy. Po 6 hodinovej inkubácii pri 37 °C sa násada naočkuje do 10 litrových fliaš s obsahom 3 000 mililitrov tekutej pomnožovacej pôdy za prísne sterilných podmienok (nalianie cez plameň), fľaše sa po výžihaní hrdla starostlivo uzavru. Po premiešaní sa kultivujú 2 hodiny staticky pri 37 °C a potom nasleduje submerzná kultivácia na trepačke 18 hodín pri 37 °C. Po kultivácii sa urobí odber vzoriek z každej kultivačnej fľaše na stanovenie počtov mikróbov a na kontrolu čistoty kultúry. Narastená kultúra sa po odbere vzoriek inaktivuje formaldehydom v množstve 0,5 ml na 100 ml kultúry po dobu 24 hodín pri 37 °C. Stanovenie čistoty kultúry sa urobí vyočkováním na masopeptonový agar, Endov agar, agar s brilantovou modrou a galaktózou. Stanovenie počtu mikróbov sa robí pomocou spektrofotometra. 1 ml narostenej kultúry obsahuje minimálne 5,6 . 10⁹ jedincov *Salmonella abortus ovis*.

Zmiešanie antigénov *Chlamydia psittaci* a *Salmonella abortus ovis* a pridanie olejového solvensu. Inaktivovaná kultúra *Salmonella abortus ovis*, ktorá obsahuje v 1 ml minimálne 5,6 . 10⁹ mikróbov sa zmieša s rovnakým objemom olejového solvensu (pomer 1 : 1). Na každý liter takto pripravenej vakcíny sa pridá 12,5 ml koncentrovaného antigénu *Chlamydia psittaci* (obsah účinnej látky 1 mg v 1 ml) čím sa dosiahne výsledná koncentrácia 50 µg na 4 ml vakcíny. Výsledná koncentrácia antigénov bude v 1 vakcinačnej dávke, t. j. v 4 ml nasledovná:

<i>Salmonella abortus ovis</i>	2 × 5,6 . 10 ⁹ mikróbov
<i>Chlamydia psittaci</i>	50 µg

Kontrola hotovej vakcíny:

a) Skúška sterility:

Vakcína sa vyočkuje na krvný agar, Endov agar a thioglykolátový bujón, ktoré počas 48 hodinovej inkubácii pri 37 °C musia ostať sterilné.

b) Skúška inaktivácie:

Vakcína o objeme 0,2 ml sa injikuje do žltkových vakov 5—7 dňových kuracích embryí, pričom v priebehu 5 dní nesmie dôjsť k pomnoženiu Chlamydia psittaci. Vakcína sa vyočkuje 2% na šikmý mäsopeptonový agar, 0,5 % hmot. hovädzí bujón a glukózový agar, ktoré sa inkubujú 7 dní pri 37 °C a súbežne 10 dní pri izbovej teplote. Počas tejto inkubácie

nesmie dôjsť k narasteniu Salmonella abortus ovis.

c) Skúška neškodnosti:

2 králikom sa aplikuje s. c. dvojnásobná dávka, t. j. 8 ml vakcíny. Posúdenie po 10 dňoch. Vakcína musí byť neškodná. V mieste aplikácie môže vzniknúť reakcia, ktorá behom 14 dní mizne. Nesmie byť narušený celkový zdravotný stav. Doterajšie výsledky:

Králiky

Počet kusov	Dávka	Spôsob podania	Dni									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
6	8 ml	s. c.										neg.
6	4 ml	s. c.										neg.
Ovce												
8	4 ml	s. c.										neg.
10	8 ml	s. c.										neg.

d) Skúška neškodnosti je založená na vzostupe hladín protilátok u zdravého králiku voči antigénu Chlamydia psittaci a Salmonella abortus ovis. Králikom sa aplikuje 4 ml vakcíny s. c. Po 10 dňoch sa urobí revakcinácia tou istou dávkou. Po ďalších 14 dňoch sa kardiálnou punkciou odoberá krv a zisťujú sa hladiny protilátok. Na detekciu chlamýdiových

protilátok používame metódu reakcie väzby komplementu, na detekciu salmonelových protilátok metódu pomalej skúmavkovej aglutinácie. Za účinný považujeme antigén, voči ktorému sa vytvoria protilátky minimálne v riedení 1 : 16, resp. rozdiel proti iniciálnym titrom musí byť v priemere 2 riedenia. Doterajšie výsledky:

Králiky — aplikovaná kompletná vakcína

Králik číslo	Dávka	Spôsob podania	Chlamýdie — protilátky		pred vakc.	po vakc.
			pred vakc.	po vakc.		
1	4 ml	s. c.	0	32	0	160
2	4 ml	s. c.	0	32	0	80
3	4 ml	s. c.	0	32	0	40
4	4 ml	s. c.	0	32	0	80

Aplikovaný len chlamýdiový antigén s olejovým adjuvansom —

1	2 ml	s. c.	0	32	0	10
2	2 ml	s. c.	0	64	0	10

Aplikovaný len salmonelový antigén s olejovým adjuvansom —

1	2 ml	s. c.	0	8	0	40
2	2 ml	s. c.	0	8	0	20

Ovce — aplikovaná komplexná vakcína

Ovca číslo	Dávka	Spôsob podania	Chlamýdie — pred vakc.	protilátky po vakc.	Salmonelly — pred vakc.	protilátky po vakc.
1	4 ml	s. c.	16	64	0	40
2	4 ml	s. c.	8	32	10	40
3	4 ml	s. c.	16	64	10	20
4	4 ml	s. c.	16	32	10	20
5	4 ml	s. c.	8	32	10	40
6	4 ml	s. c.	8	64	20	40
7	4 ml	s. c.	16	256	10	40
8	4 ml	s. c.	0	16	0	20
9	4 ml	s. c.	8	128	10	80
10	4 ml	s. c.	16	64	10	40
11	4 ml	s. c.	32	128	10	80
12	4 ml	s. c.	16	64	10	40

e) Stanovenie pH sa nastaví na $7,0 \pm 0,3$.

f) Vzhľad vakcíny: Vakcína predstavuje mliečne bielu zakalenú olejovitú tekutinu bez sedimentu a vločiek.

Vakcína bola pokusne vyrobená a overená v rámci laboratórneho overovania u králikov a oviec (viď vyššie uvedené výsledky). V rámci laboratórneho overovania sa použili vakcinačné výsledky. V rámci laboratórneho overovania sa použili vakcinačné dávky 2, 4 a 8 ml s. c. kvôli zisteniu znášanlivosti vakcíny a sledovaniu postvakcinačných titrov. V priebehu overovania neboli zistené žiadne postvakcinačné reakcie ani u oviec ani u králikov. Vzostup protilátok u oviec voči obidvom antigénom poukazuje na dobrú chránenosť, ktorú vakcína vyvoláva. Navyše je možné počítať u chlamýdiového antigénu aj s bunkovou zložkou imunity. Vzostup protilátok u králikov poukazuje na vhodnosť týchto zvierat pri testovaní účinnosti vakcíny.

Z čelených pokusov bol zatiaľ urobený predpokus na stanovenie dávky pre vlastnú čelenú. V predpokuse sa použil homológny kmeň, ktorý bol podaný i. v. v dávke 2 a 4 cm³ a s. c. v dávke 2 a 4 cm³. Pokus zatiaľ nie je ukončený, bude pokračovať v najbližšom prípušťacom období oviec. V predpokuse sa sledovali nasledujúce ukazovatele: TRIAS, sérologické vyšetrenie pomocou RVK, hematologické vyšetrenie, Skin-test a klinické sledovania.

Klinické overovanie vakcíny proti chlamýdiómu a paratýfovému zmetaniu oviec sa vykonávalo podľa metodiky schválenej ÚSKVBL v Brne. Vlastné overovanie sa robilo v dvoch chovoch oviec a to na JRD Veľký Lipník, okr. Stará Ľubovňa a JRD Drienov, okr. Prešov. Výsledky overovania sú nasledujúce:

JRD Veľký Lipník, okr. Stará Ľubovňa

Biologický pokus na 20 ks oviec vykonaný 20. 5. 1986. Bola podaná vakcína podľa návodu. Žiadne lokálne resp. celkové zmeny zdravotného stavu neboli pozorované. Bola podaná dávka 10 ml s. c. Vakcinácia — bolo vakcinovaných 200 bahníc po synchronizácii. Vakcinácia sa urobila 28. 5. 1986, súčasne bol urobený odber krvných vzoriek na zistenie iníciačných hladín protilátok u 30 ks. Revakcinácia — sa vykonala 18. 6. 1986 taktiež u všetkých 200 ks bahníc a súčasne sa urobil odber krve od 30 ks individuálne označených zvierat. Ďalšie odbery krvných vzoriek sa urobili po 2 a 4 mesiacoch po revakcinácii.

Výsledky sérologických vyšetrení (titre) za použitia KFR a antigénu Chl. psittaci sú uvedené vo zvlášťnej Správe o klinickom overovaní vakcíny.

Kontrolnú skupinu predstavovalo 312 ks oviec, ktorým bo o podané placebo (adjuvans bez antigénu) a ktorá bola držaná oddelene od pokusnej skupiny. Výskyt abortov v uvedených skupinách bol nasledujúci:

	Počet oviec	Počet abortov	%	Príčina
skup. vakk.	200	4	2,0	neinfekčná
skup. kontr.	312	27	8,33	Chl. psittaci

Porovnanie výskytu abortov s minulou sezónou je nasledujúce:

	Počet oviec	Počet abortov	%	Príčina
1985-86	557	39	7,0	Chl. psittaci
1986-87	312	27	8,33	Chl. psittaci
Kontr. skup.	200	4	2,0	neinfekčná

Hodnotenie

Dynamika tvorby protilátok po podaní chlamýdiového antigénu mala výrazný vzostup po prvej látke. Druhá dávka tieto hladiny čiastočne udržala. Výšky hladín protilátok u chlamýdiových vakcín však nie je v priamej úmernosti s protektívnym účinkom vakcíny, pretože tu zohráva hlavnú úlohu bunková zložka imunity. U protilátok voči antigénu salmonel bol vzestup protilátok najvyšší po 1. dávke, kým 2 mesiace po revakcinácii sme zaznamenali mierny vzostup.

Samotná vakcína bola znášaná ovcami bez akýchkoľvek lokálnych či celkových reakcií. Prípadné zdravotné poruchy nesúviseli s podaním vakcíny. Výskyt abortov vo vakcinovanej skupine a skupine kontrolnej, resp. v chove v predchádzajúcej sezóne svedčí pre kladný efekt po vakcinácii.

JRD Drienov, okres Prešov

Biologický pokus na 20 ks oviec vykona-

	Počet oviec	Počet abortov	%	Príčina
skup. vakk. (okotené)	174	2	1,14	neinfekčná
skup. kontr.	270	13	4,81	nezistená inf. etiológia

Porovnanie výskytu abortov s minulou sezónou je nasledujúce:

	Počet oviec	Počet abortov	%	Príčina
1985-86	464	26	5,60	Chl. psittaci
1986-87	270	13	4,81	nezistená inf. príčina
kontr. skup.	174	2	1,14	neinfekčná

Hodnotenie

Vzostup protilátok voči antigénu Chl. psittaci bol výraznejší po 2. dávke. Hladiny protilátok po 4 mesiacoch po revakcinácii sa výrazne znížili. Protektívny účinok chlamýdiových vakcín je založený predovšetkým na bunkovej zložke imunity. U protilátok voči salmonelovému antigénu sme zaznamenali vzostup už po prvej dávke vakcíny.

Vakcína bola znášaná ovcami veľmi dobre podobne ako v lokalite Veľký Lipník. Ne-

ný 17. 6. 1986. Bola podaná vakcína podľa návodu. Žiadne lokálne resp. celkové zmeny zdravotného stavu neboli pozorované.

Vakcinácia — bolo vakcinovaných 274 ks bahníc po synchronizácii. Vakcinácia sa urobila 26. 6. 1986, súčasne bol urobený odber krvným vzorkám na zistenie iniciálnych hladín protilátok u 30 ks individuálne označených oviec.

Revakcinácia — sa vykonala 21. 7. 1986 u všetkých vakcinovaných kusov. Súčasne sa urobil odber krvných vzoriek od 30 individuálne označených oviec.

Výsledky sérologických vyšetrení (titre) za použitia KFR a antigénu Chl. psittaci sú uvedené vo zvlášťnej Správe o klinickom overovaní vakcíny.

Kontrolou skupinu tvorilo 270 ks oviec, ktorým bolo podané placebo (adjuvans bez antigénu) a ktorá bola držaná oddelene od pokusnej skupiny. Výskyt abortov v uvedených skupinách bol nasledujúci:

zaznamenali sme žiadne lokálne či celkové reakcie. Zníženie výskytu abortov u vakcinovanej skupiny v porovnaní so skupinou kontrolnou a predchádzajúcou sezónou svedčí o protektívnom účinku vakcíny.

Postvakcinačná bunečná imunita sa hodnotila iba na malom súbore zvierat a tak výsledky t. č. nie sú smerodajné. Výsledky testovania 4 antigénov na modelových zvieratách (morča, myš) za použitia Skin-testu podľa FAYE a kol. (1974) sú nasledovné: v kožnom teste zo štyroch testovaných kme-

ňov najintenzívnejšie reagoval vakcinačný kmeň — šírka indurácie 6—9 mm, čo predstavuje 4. stupeň stupnice podľa Faye. Ako kontroly boli použité:

1. Tuberkulínový alergén v množstve 50 μ g.
2. Antigén pripravený z neinfikovaného žltkového vaku.

PREDMET VYNÁLEZU

1. Bivalentná vakcína proti nákazlivému chlamýdióvemu a paratýfovému zmetaniu oviec vyznačujúca sa tým, že obsahuje inaktivované elementárne telieska Chlamydia psittaci v množstve 50 μ g na 4 ml vakcíny a inaktivované bakteriálne telá kmeňa Salmonella abortus ovis v množstve minimálne $2 \times 5,6 \cdot 10^9$ mikróbov na 4 ml vakcíny a adjuvans v množstve 2 ml na 4 ml vakcíny.

2. Bivalentná vakcína podľa bodu 1, vyznačujúca sa tým, že obsahuje kmeň Chlamydia psittaci CAPM R-24, ktorý v organizme ovce vyvoláva zápal plodových obalov čoho následkom je abort.

3. Bivalentná vakcína podľa bodu 1, vyznačujúca sa tým, že obsahuje kmeň Salmonella abortus ovis CCM 5611, ktorý v organizme ovce vyvoláva septický stav matky a plodu a jeho odúmrt', čoho následkom je abort.

4. Bivalentná vakcína podľa bodov 1 až 3 vyznačujúca sa tým, že obsahuje pufovaný fyziologický roztok a konzervans a zriedovač vo forme lipidného adjuvans.

5. Spôsob výroby bivalentnej vakcíny pro-

ti nákazlivému chlamýdióvemu a paratýfovému zmetaniu oviec, podľa bodov 1 až 4, vyznačujúci sa tým, že kmeň Chlamydia psittaci sa pomnožuje na žltkových vakoch kuracích embryí po dobu 4 až 7 dní, po vybratí žltkových vakov nasleduje inaktivácia formaldehydom a homogenizácia a po odstránení purifikácia antigénu éterom a kmeň Salmonella abortus ovis sa pomnožuje v tekutej pomnožovacej pôde za použitia submerznej kultivácie pri teplote 37 °C, potom sa inaktivuje formaldehydom a následne sa zmieša inaktivovaná kultúra Salmonella abortus ovis s adjuvansom a s koncentrovaným antigénom Chlamydia psittaci a po homogenizácii sa rozplňuje.

6. Spôsob výroby podľa bodu 5 vyznačujúci sa tým, že k infekcii 5—7 denných kuracích embryí sa používa 10—20 % hmot. suspenzie infikovaných žltkových vakov v dávke 0,2 ml na jedno kuracie embryo.

7. Spôsob výroby podľa bodu 5, vyznačujúci sa tým, že sa olejový adjuvans zmieša v rovnakom objemovom pomere s inaktivovanou kultúrou Salmonella abortus ovis.