

Fowl cholera – Part 2.
Protection against fowl
cholera with vaccination
Literature review

Varga Zsuzsanna^{1*}
Horváth Ernő²

Zs. Varga^{1*}
E. Horváth²

1. MTA Agrártudományi Kutatóközpont
Állatorvos-tudományi Intézet
H-1143 Budapest, Hungária krt. 21.

*e-mail: varga.zsuzsa@agrar.mta.hu

2. NÉBIH Állatgyógyászati Termékek
Igazgatósága
Budapest

A baromfikolera – 2. rész

A baromfikolera elleni aktív védekezés vakcinázással

Irodalmi áttekintés

BAROMFI

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők a legjelentősebb bakteriális baromfibelegések közé tartozó baromfikolera elleni aktív védekezés magyarországi történetét foglalják össze, részletesen foglalkoznak a jelenleg Magyarországon használható oltóanyagokkal. Áttekintik az oltóanyag-fejlesztés során felmerülő, a hatékony immunizálást befolyásoló tényezőket a legújabb nemzetközi és hazai eredmények tükrében, különös tekintettel a hazai igényekre és sajátosságokra. Ismertetik a vakcinafejlesztés irányait, ezen belül élő oltóanyagok esetén érintik a megbetegítőképeség csökkentése melletti hatékonyság és szaporodásképeség megőrzésének problémakörét. Az egyes gének virulenciában és immunitásban betöltött szerepének megismerése folytán lehetőség nyílik a védettség kiváltásában szerepet játszó sejtalkotó részek és eljárások célzott vizsgálatára, a gének és az általuk kódolt fehérjék szelektív szerepének felismerésére és hasznosítására, a baktérium heterogenitásának a szerotípus-specifikus védelemre és gazdafaj-specifitásra gyakorolt hatásának vizsgálatára.

SUMMARY

The authors review the history of fowl cholera vaccination with special regards to the Hungarian situation. They also present the currently available vaccines in Hungary. The different vaccine development efforts and the difficulties of virulence reduction without losing the efficacy are discussed. Knowing the role of individual genes in protectivity helps to develop subunit vaccines with DNA or protein component, but heterogeneity of the bacterium and serotype specific protection connote difficulties of broad range application and host specificity.

A baromfikolera elleni vakcinakutatás igen hosszú múltra tekint vissza. Már az 1880-as években a ma alkalmazott védőoltások elvi alapját megalapozó LOUIS PASTEUR is a baromfikolera elleni védekezés kidolgozásán fáradozott, és a baktérium gyengített változatának beadásával igyekezett hatékony védelmet létrehozni a virulensebb kórokozó ellen. Ennek ellenére máig sem ismert pontosan sem a baktérium patomechanizmusa, sem az ellene való tartós hatású és széles körű védettséget nyújtó biztonságos immunizálási eljárás. Előbbiről a *Magyar Állatorvosok Lapja* korábbi számában (85) jelent meg a kérdést taglaló irodalmi áttekintés, az utóbbival kapcsolatos erőfeszítéseket jelen közleményünkben kívánjuk felvázolni.

BAROMFIKOLERA ELLENI AKTÍV VÉDELEM KIALAKÍTÁSÁNAK SZÜKSÉGESSÉGE ÉS NEHÉZSÉGEI

A *Pasteurella multocida* által okozott baromfikolera a legnagyobb kártételű baromfi-betegségek egyike

Az évszázadok óta ismert és világszerte izolálható *Pasteurella multocida* baktérium okozta baromfikolera a legnagyobb kártételt okozó baromfi-betegségek közé tartozik (15). Magyarországon 1997-ig bejelentési kötelezettség alá tartozott, de azóta is forgalmi korlátozás vonatkozik a betegségen átesett állományokra a 41/1997. (V. 28.) FM rendelet értelmében. Az átvészelt állományt nem lehet eladni, csak fokozott állatorvosi ellenőrzés mellett kifuttatni vagy állatorvosi felügyelet mellett tömésre kiadni. A betegség elleni hatékony védekezés a súlyos veszteségek és a baromfikolera ellen kifejlesztett vakcinák ellenére évtizedekig nem járt sikerrel. A helyzet tovább romlott a járványtani óvórendszabályok tekintetbevétele nélkül kialakított nagyüzemi baromfitelepek létrehozásakor. A nagyüzemekben kialakított zárt tartási rendszer a fertőző betegségek behurcolásának megakadályozásával azonban fokozatosan visszaszorította a baromfikolerás megbetegedéseket, és ez oda vezetett, hogy az 1980-as évekre a csirke- és pulykaállományokban csak ritkán fordult elő. Az esetszám csökkenésében a zárt tartási rendszer mellett komoly szerepe lehetett annak is, hogy a betegség tojáson át nem terjed. A csirke- és pulykaállományokban a védekezés a gyógykezelésről és vakcinázásról az állományok zárt és kisebb csoportokban való tartásának irányába tolódott, mint azt a Mezőgazdasági és Élelmezésügyi Minisztérium 1989-es irányelve is megfogalmazta (83). Ugyanakkor az extenzív, nyílt tartású vízibaromfi-állományokban a diagnosztikai intézetek statisztikája szerint még az 1991–93-as években is a leggyakoribb betegség volt (54). A zárt tartás okozta kedvező helyzet megértéséhez és szorgalmazásához Magyarországon nagyban hozzájárult SZÉCSÉNYI ISTVÁN azon alapvető megfigyelése, hogy heveny baromfikolera csak olyan állományban fordult elő, ahová a betegséget frissen behurcolták, vagy amelyben korábban már előfordult heveny baromfikolera (76, 77). A szabadtartású állományokban mindmáig kiküszöbölhetetlen a baromfi érintkezése a természetben élő vadmadarakkal és más potenciónalis *P. multocida* hordozókkal. Emellett a napjainkban fokozódó vásárlói igény a természetszerűen tartott „boldog baromfikra” ismét visszahozza a nyitott tartás következtében megjelenő fertőzési forrásokat. A betegség megfékezésére alkalmas antibakteriális szerek megfelelőek és szükségesek a heveny kártétel mérséklésére, de a baktériumok fokozódó antibiotikum-rezisztenciája következtében szükségessé váló minél ritkább és célzott antibakteriális szerhasználat szintén a hatékony vakcinák kifejlesztését támasztja alá.

A napjainkban ismét terjedő nyitott baromfi-tartás lehetővé teszi az érintkezést vadmadarakkal és egyéb *P. multocida* hordozókkal

Az immunizálás két klasszikus formája: (1) amikor legyengített élő kórokozóval; vagy (2) amikor előlt baktériummal oltják az állatokat. Régebben a vakcina hatékonyságát fokozandó, párhuzamosan passzív védelmet nyújtó immunszérum, ill. antibakteriális szerrel kombinált alkalmazás is javasolt volt. Emellett az elmúlt évtizedekben új fejlesztési irányként jelentek meg az ún. alegységvakcinák, ahol csak a baktérium valamely – a védelemért felelős – komponense kerül az oltóanyagba.

Az élő, legyengített kórokozó a természetes fertőzéshez hasonló immunvá-

laszt vált ki az állatokban, de nem okoz megbetegedést. A csökkent virulenciájú élő kórokozóval végzett vakcinázás esetén gondot jelentenek az állományban visszamaradó vakcinatörzs okozta recidivák. Az is előfordulhat, hogy az *in vivo* körülmények közötti átmeneti gyengülés után a törzs virulenciája ismét fokozódik. Újabban a virulenciát és anyagcserét szabályzó gének részbeni megismerésével a genetikai manipuláció széles tárházát felhasználva kísérleteznek a hatékony, de mégis biztonságos oltóanyag létrehozásán. Ekkor azonban azzal a kockázattal kell szembenézni, hogy a virulenciáért felelős gén módosításával jelentősen csökken vagy megszűnik a baktérium immunizálóképessége is (2, 37, 28, 40, 41).

A BAROMFIKOLERA ELLENI VÉDŐOLTÁS MAGYARORSZÁGI TÖRTÉNETE

ÉLŐ CSÍRÁT TARTALMAZÓ OLTÓANYAGOK

Magyarországon MANNINGER már 1918-ban attenuált élő baktériumokkal hozott létre oltóanyagot (49). Eleinte igen jónak bizonyult, de az évek folyamán veszített hatékonyságából. MOLNÁR véleménye szerint a jelenség oka az eredeti hatékony törzs észrevétlen elvesztése annak fenntartása során (56). Ennek ellenére a *Manninger-féle vakcina* még az 1954-ben, a Phylaxia Oltóanyag- és Tápszertermelő Vállalat kiadásában megjelent *Állatorvosi Zsebkönyv*ben is szerepel. A hatékonyság fokozása érdekében az aktív és passzív immunizálás előnyeit egyesítve a *Hegyeli-féle szenzibilizált oltóanyag* esetén lóban termelt baromfikolera-ellenes immunsavó beadásával párhuzamosan adták az élő vakcinatörzset, tartósabb védelmet remélve (36, 78). Ugyanott megtalálható az ugyancsak élő csírárt tartalmazó „*Húsleves vakcina*” is, ahol a MANNINGER módszere szerint agaron elszaporított és fiziológiás sóoldatba felvett tenyészet helyett húslevesben történt a vakcinatörzs termelése. Mindkét esetben csak még egészséges, de fertőzésveszélynek kitett állomány esetén javasolták az alkalmazást, és 6–8 hét védelmet prognosztizáltak. E készítmények kivonása után nem forgalmaztak Magyarországon élő baktériumot tartalmazó vakcinát.

ELÖLT KÓROKÓZÓT TARTALMAZÓ OLTÓANYAGOK

A kórokozó előlése megszünteti a virulencia visszanyerésének lehetőségét. Ugyanakkor számos új gond merül fel alkalmazásakor. Az általa kialakított védelem még gyengébb és még rövidebb ideig tart, tartós hatás eléréséhez rendszeresen ismételni kell a védőoltást. A létrehozott védelem is szűkebb spektrumú, csak szerotípus-specifikus védelmet biztosít, amely az igen változatos felépítést mutató *P. multocida* esetén komoly gondot okoz (46). Kísérletek folynak a szerológiai típusok között keresztvédtettséget kialakító vakcina kifejlesztésére is (2, 51, 64, 82).

Eltérő inaktíváló anyagok különbözőképpen hatnak a baktériumra, az inaktíválás módja és formája befolyásolja az immunogénitást, ill. a keletkezett ellenanyag natív baktériumfelismerő képességét. Különböző anyagokhoz adszorbeálva az antigének lassabban szabadulnak fel a szervezetben, és az így kiváltott elnyújtott immunhatás erősebb védelmet indukál (8, 12, 13). A védelem mellett számos nem kívánt mellékhatás is felléphet az oltás következtében. Már MANNINGER említi az állatok átmeneti étvágytalanságát, bágyadtságát és fokozott szomjúságát, s ez a kitétel napjainkig a vakcinák többségénél megtalálható, de átmeneti tojástermelés-csökkenés is kísérheti a vakcina alkalmazását. GAJDÁCS (29) tapasztalatai szerint ezek a tünetek tartós következmény nélkül rövid időn belül megszűnnek. Az ismétlődően a szervezetbe kerülő, nem kellően tisztított idegen anyagok azonban allergiás reakciót válthatnak ki a gazdaállatban. Ludakban a szervezetbe bevitt idegen anyagra adott válaszként álhártyás bélgyulladás figyeltek meg, de ez helyes takarmányozással és gyógykezeléssel megelőzhető volt (83). Tenyész-

**Hazánkban
MANNINGER már
1918-ban élő, attenuált
vakcinát hozott létre**

**Az előlt kórokozót
tartalmazó vakcina
rövidebb ideig tartó,
szűkebb spektrumú
védelmet biztosít**

A szerzők áttekintik a hazai inaktivált vakcinák történetét előállításuk módszere és hatékonyságuk alapján

lúdállományokban az évenként ismételt oltás következtében amyloidos vékonybélgyulladás kialakulását tapasztalták olajjal adjuvált vakcina használatakor, ami mind a magyar, mind a külföldi oltóanyagok esetén megfigyelhető volt (29, 74).

Az előlt oltóanyag kezdetben formalinos inaktiválással készült. Az első magyar, ún. Szász-féle vakcina 1917-ben jelent meg. Később a gyenge antigén- és védőhatás javítása érdekében az előlt baktériumot alumínium-hidroxid-gélhez adszorbeálták. 1951-től volt forgalomban a *Phylaxia csapadékos vakcinája*, amelyben formalinnal inaktiválták és alumínium-hidroxid-gélhez adszorbeálták az arabinózbontó, Schneider-féle I. és II. csoportba tartozó *P. multocida* törzseket, de ezek sem voltak képesek kielégítő védelem biztosítására (26, 76).

A hatékonyság fokozása érdekében a Phylaxia által kifejlesztett Szukvin szulfaquinoxalinnal kombinált vakcina esetén 8 magyarországi heveny baromfikolera járványból izolált *P. multocida* izolátum inaktivált keverékét (4 csirke, 2 kacska, 1 liba, 1 pulyka eredetű) turmixolták össze olajos szulfaquinoxalinnal (75, 86). Az oltóanyag használatát csak a már beteg vagy a betegségen már átesett állományok esetén javasolták. MÉSZÁROS (52) nagyüzemi állományok kezelési eredményeit elemezve igen nagyszámú eset alapján arra a következtetésre jutott, hogy a kedvező hatás a vakcinában található antibiotikum következménye volt, nem pedig az oltóanyagé, utóbbit később laboratóriumi kísérletek is igazolták (9). Ennek ellenére az oltóanyag 1967–1988 között forgalomban volt.

A hazai vakcinafejlesztés következő állomása az 1978–1988 között forgalmazott Pastovac vakcina volt. A formalinos inaktiválás helyett először etanollal, majd metanollal csapatták ki a baktérium fehérjéit (57), így a kicsapódás során kevésbé degradálódnak a fehérjék és a természeteshez jobban hasonlító fehérjeszerkezet szolgál az ellenanyagképzés alapjául. Az antigénhatás fokozása érdekében ló vagy szarvasmarha-vérsavófehérjéhez adszorbeálták az antigént. Először mellizomba, majd az értékes húсарu védelme érdekében a nyakbőr alá oltva is megfelelőnek találták a vakcina védőértékét. Az oltóanyag készítéséhez használt BK₁ jelzésű *P. multocida*-törzset hazai heveny baromfikolera-esetekből izolált törzsek közül választották ki. A vizsgált 98 izolátum azonos biokémiai és szerológiai tulajdonságokkal bírt, és ráfertőzés esetén védtek egymás ellen, közvetve bizonyítva ezzel az azonos törzstípus országos előfordulását heveny baromfikolerás megbetegedésekben. Az állatokat 2× immunizálva jó védőhatás mutatkozott, bizonyítva ezzel a vakcina alapját képező BK₁-törzs megfelelő antigenitását. A termelési kapacitást meghaladó igények miatt hatékonyabb antigénhasznosításra törekedve olajhoz adjuvált oltóanyagot állítottak elő, amellyel az adagonkénti antigénszükséglet negyedére csökkent.

A csapadékos vakcinák esetén a kialakuló gyenge védettség miatt nem tudtak ajánlást tenni a vakcina hatékonyságának igazolására, így csak az oltóanyag sterilizációs és ártalmatlansági vizsgálatát írták elő. A Pastovac alkalmazásakor a 14 napos eltéréssel 2× immunizált állomány 70%-ának 1 hétig kellett védettséget mutatni az immunizálatlan kontrollállatok 100%-át elpusztító virulens *P. multocida*-fertőzéssel szemben. Olajos Pastovac-kal 14 napos eltéréssel történő kétszeri oltás követően az első oltás után 28 nappal 100–300 LD₅₀-nek megfelelő fertőzéssel szemben az állatoknak 70%-os védettséget kellett elérni (10). A Magyarországon előállított vakcinákat a NÉBIH ÁTI akkori elődje az oltóanyag hatékonyságának ellenőrzésére a hazai izolálású ún. BK-törzsek keverékével (jelzésük: Orosháza, Kaposvár, Debrecen) fertőzte.

A korábbi vizsgálatok szerint Magyarországon a heveny baromfikolerás esetekben SCHNEIDER (70), CSONTOS és DERZSY (18), DERZSY (22), MURTI (58) és MÉSZÁROS (53) vizsgálata szerint az L-arabinózbontó törzsek szinte kizárólagos előfordulása volt megfigyelhető, így a hazai törzsekből készült vakcinák is természetesen ezt a törzstípust tartalmazták, és a védőhatás vizsgálatához is ugyanígy magyar törzset használtak. A hazánkba az 1990-es évek elején elsők között behozott

baromfikolera elleni külföldi vakcina, a *Nobi-vac FC vakcina* (Intervet B.V.) kapcsán felmerült, hogy véd-e a magyar BK jelű törzskeverék ellen. A vakcina ugyanis a Heddleston-féle 1-es szerotípus standard, referens törzsét (X-73) tartalmazta. A libákon végzett fertőzési kísérletben a vakcina az előírásnak megfelelő védelemet adott a Magyarországon izolált BK-törzskeverékkel végzett fertőzési kísérletben (HORVÁTH – személyes közlés).

Újabb oltóanyagot forgalmaztak az *Olajos Pastophylin* kifejlesztésével. A *Pastovac*-hoz hasonlóan metanolos kicsapást követően ló- vagy marhasavóhoz adszorbeálták az antigént és olajjal adjuválták, de antigénforrásként adagonként 4×10^{10} 1-es Heddleston szerotípusú *P. multocida*-törzset használtak. Az 1990-es évek elején a 3. és 4. Heddleston-szerotípus referens törzsét is beletették az oltóanyagba. A vakcina hatékonyságának ellenőrzésére ekkor már az USA vakcinaellenőrzési előírását alkalmazták (9CFR), melyben a fertőzést az 1-es szerotípus esetén házityúkon, a 3-as (P-1059) és a 4-es (P-1662) szerotípus esetén pulykán végezték. Az 1-es szerotípus esetén a fertőzést állatonként minimum 250, a 3-as és 4-es szerotípusok esetén pedig minimum 150 élő csírányi virulens baktériummal kellett végezni. A vizsgálat akkor volt értékelhető, ha a kontrollállatok legalább 80%-a elhullott, de az immunizált állatok közül legfeljebb 30% hullott el a két hétig tartó megfigyelés alatt. A *Pastophylin* 1978–2009 között volt forgalomban.

JELENLLEG FORGALOMBAN LÉVŐ BAROMFIKOLERA-VAKcinÁK

Magyarországon forgalombahozatali engedéllyel jelenleg két törzskönyvezett vakcina rendelkezik; a *Poulvac Pabac IV vakcina A.U.V.* és a *Cevac Landavax SC*. A *Poulvac Pabac IV vakcina A.U.V.* 4 különféle szerotípusú: 1-es (X-73), 3-as (P-1059), 4-es (P-1662) és az ún. 3 × 4-es (CU) törzset tartalmaz inaktivált és olajjal adjuvált

TÁBLÁZAT. Magyarországon forgalmazott baromfikolera-vakcinák

TABLE. Fowl cholera vaccines distributed in Hungary

Vakcina neve	Cél-állatfaja	Vakcina típusa és gyógyszer-formája	Vakcinatörzsek szerotípusa	Alkalmazás módja	Javasolt legkorábbi életkor	Javasolt oltások száma, ideje	Védelem várható időtartama
Forgalomba hozatali engedéllyel rendelkező Magyarországon törzskönyvezett készítmények:							
Poulvac Pabac IV vakcina A.U.V.	Házityúk, kacsá, pulyka	Inaktivált, emulziós injekció	A:1 (X73), A:3 (P1059), A:4 (P1062), A:3×4 (CU)	0,5 ml sc.	Kacsá: 3 hetes Házityúk, pulyka: 6 hetes	Két oltás 3, ill. 4 hét eltéréssel	Házityúk: 16 hét, kacsá: 9 hét a második oltás után Pulyka: 6 hét a második oltás után
Cevac Landavax SC vakcina A.U.V.	Mulard kacsá	Inaktivált, emulziós injekció	A:1 (X73), A:3 (P1059)	0,5 ml sc.	3 hetes	Két oltás 3 hét eltéréssel	16 hetes életkor
Eseti forgalomba hozatali engedéllyel rendelkező, Magyarországon nem törzskönyvezett készítmény:							
Gallimune Cholera vakcina A.U.V.	Házityúk, pulyka	Inaktivált, emulziós injekció	A:1, A:3, A:4	0,3 ml im. vagy sc.	Házityúk: 6–7 hetes, Pulyka: 5–6 hetes	Két oltás, ill. tenyészpulyka esetében 3. is 4–6 hét eltéréssel	40 hetes életkor

formában. A vakcinával az állatok immunizálását 3 hetes (kacsa) és 6 hetes (házityúk és pulyka) korban kell elkezdni. A vakcinának 70%-os védekezést kell mutatnia a virulens törzssel végzett ráfertőzéssel szemben. A hatékonysági vizsgálatokat az 1-es törzs kivételével pulykán végzik. 2013-ban kapott forgalombahozatali engedélyt a Cevac *Landavax SC* vakcina. Az inaktívált, olajadjuvánssal készült emulziós vakcina az 1-es (X-73) és 3-as (P-1059) Heddleston típusú referenstörzs tenyészetéből készül, amelyek mindegyike „A” buroktípusú. Kétszeri nyakbőr alatti oltása ajánlott mulard kacsák immunizálására, de a hatékonysági vizsgálatokat az előírás szerint csirkén és pulykán kell végezni, ahol a csirkék 80%-ának és a pulykák 65%-ának kell klinikai védekezést mutatni a virulens törzssel végzett ráfertőzéssel szemben. A vakcinák értékelésénél az Európai Gyógyszerkönyv előírásai az irányadóak (European Pharmacopoeia).

Ellátási hiány esetén vagy a törzsösszetétel miatti nem megfelelő hatékonyság esetén az EU bármely tagállamában engedélyezett baromfikolera elleni vakcinára lehet eseti forgalombahozatali engedélyt kérni. Ha ez sem jelent megoldást, akkor a telepen izolált kórokozóból előállított inaktívált telepspecifikus vakcina felhasználást lehet kérelmezni. Eseti forgalombahozatali engedéllyel időszakosan a *Gallimune Cholera* vakcinát forgalmazzák. Hosszabb ideig tartott, fokozottan veszélyeztetett pulykaállományoknál a védőoltás megismételhető.

A Magyarországon jelenleg forgalombahozatali engedéllyel rendelkező baromfikolera-vakcinák jellemzőit a [Táblázatban](#) foglaltuk össze.

TELEPSPECIFIKUS BAROMFIKOLERA-VAKCINÁK ELŐÁLLÍTÁSA

Lehetőség van telepspecifikus, inaktívált vakcinák előállítására a 94/2012 VM-rendelet alapján

Az inaktívált telepspecifikus vakcinák gyártási és felhasználási feltételeit a vidékfejlesztési miniszter 94/2012. (VIII. 30.) VM rendelete szabályozza. Az inaktívált telepspecifikus oltóanyagok minőségét vagy a GMP (Good Manufacturing Practice) körülmények közötti, vagy a miniszteri rendelet előírásainak megfelelő – ugyancsak a GMP követelményrendszeren alapuló – minőségű gyártás biztosítja. Az új szabályozás az eddigi tapasztalatok alapján még nem ítélt meg.

VAKCINÁK HATÉKONYSÁGÁNAK MEGÍTÉLÉSE

A Magyarországon jelenleg forgalmazott oltóanyagok elölt baktériumokat tartalmaznak. A standardizált oltóanyag alkalmazása a minőség mellett számos megválaszolandó kérdést vet fel. A vakcina hatékonyságát az 1-es Heddleston-szerotípus referenstörzse, az X-73 elleni védekezés mértéke alapján határozzák meg. A nemzetközi irodalom és a hazai tapasztalatok szerint jelentős különbségek mutatkozhatnak az e csoportba tartozó törzsek virulenciájában és egyéb jellemzőik tekintetében (84, 87). A több szerotípust magukban foglaló polivalens vakcinák hatékonysága is további vizsgálatra szorulna, mert míg baromfiban ezt megfelelőnek találták (1), borjaknál a hatékonyság csökkenéséhez vezetett (14).

Az eltérő vakcinázások hatásosságát vizsgálta AVAKIAN és mtsai, akik brojlercsirkéket vakcináltak 12 és 21 hetes korban. Élő *P. multocida*-törzset (CU), 2 kereskedelmi és 2 kísérleti olajos polivalens elölt baktériumkultúrát tartalmazó vakcinát, ill. az élő és elölt baktériumos vakcinázás egymást követő alkalmazását hasonlították össze. A csirkékben kialakult védőhatást 42, ill. 72 hetes korban virulens törzssel fertőzve vizsgálták. Általános következtetések szerint az élő vakcina mindenkor hatásosabb védelmet biztosított. A 42. héten virulens törzssel fertőzve az állatokat minden madár túlélte a fertőzést, amelyik mindkét alkalommal élő, ill. élő, majd elölt baktériumos vakcinázásban részesült. Az elölt baktériummal kezelt csoportoknál

Az élő vakcinákkal végzett oltás mindenkor hatásosabb védelmet biztosít

86%-os védelmet tapasztaltak, míg az oltatlan kontrollállatok 100%-a elpusztult. Az immunizálás után 72 héttel a vakcinázási módtól függetlenül gyengébb szintű volt az állatok védettsége, de az élő baktériumot tartalmazó vakcinával kétszer oltott állatok védettsége annak ellenére jobb volt, hogy nagyobb ellenanyag-szint volt kimutatható az előlt baktériummal oltott állatokban (6).

A BAROMFIKOLERA-VAKCIKUTATÁSBAN MUTATKOZÓ IRÁNYOK

ÉLŐ KÓROKOZÓT TARTALMAZÓ OLTÓANYAGOK

Élő vakcinák esetén avirulens, jól immunizáló, eltérő szerotípusok ellen egyaránt védő, lehetőleg egyedi alkalmazás helyett állománykezeléssel adható törzs lenne ideális. Az élő, attenuált oltóanyagok esetén korábban természetesen csökkent virulenciájú CU, MN, M-9 és M-3-G törzsből fejlesztették ki Észak-Amerikában a pulykaállományok immunizálására szolgáló 3-as Heddleston szerotípusú vakcinákat (21, 28, 40). Pulykák esetén a CU-törzsből készült vakcina ivóvízben adagolva kielégítő védelem kialakítására volt alkalmas (11, 16, 24, 25, 55, 60). Csirkeállományok esetén az ivóvízben adagolt vakcinával nem sikerült tartós protektív immunitást kialakítani (63). A Heddleston 1-es szerotípusú PM-1 törzsből csirkeállományok parenterális vakcinázására alkalmas oltóanyagot fejlesztettek ki (37, 69), de az élő vakcinatörzsek esetén továbbra sem sikerült tökéletesen kiküszöbölni az „avirulens” törzsek okozta elhullásokat, az állományban visszamaradó törzsek okozta testtömeg-gyarapodási lemaradást (40).

A fenti hátrányok ellenére az élő kórokozónál tapasztalt szerotípusok közötti keresztvédés miatt mindenképp fontos vakcinafejlesztési irány a megfelelő immunitást kialakító attenuált vakcinatörzs megtalálása, létrehozása. Ezen szempontok figyelembevételével alkották meg Ausztráliában mintegy 20 év alatt más baktériumokkal hasonló módon (*Mycoplasma synoviae*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Salmonella typhimurium* ellen) a *Vaxsafe-PM* vakcinát. Az erősen virulens X-73 *P. multocida*-törzs *aroA* génjének kiiktatásával (38, 39, 71) létrehozott PMP-1-törzs képtelen az aromás aminosavak és egyes aromás vitaminok előállítására. Ezek az alkotórészek a csirke sejtjeiben sem állnak rendelkezésre, ezért a mutáns törzs szaporodása korlátozott az élő szervezetben, és a makrofágok áldozatává válik. Miután azonban a szaporítás során a baktérium a táptalajból képes felszínéhez adszorbeálni ezeket a létfontosságú anyagokat, a szervezetbe kerülve még további 2 replikációs ciklusra és következményes immunizáló hatás kifejtésére képes. A vakcina 2012-ben először Ausztráliában, majd a nemzetközi piacon is forgalmazásra került, csirkék immunizálására ajánlják, pulykáknál ellenjavalt, vízi baromfiról pedig nem tesz említést a használati utasítás. Az oltóanyag hitelt érdemlő megítéléséhez és a hatékonyan védhető szárnyasok körének meghatározására minden bizonnyal várni kell néhány évet a hosszabb távú vakcinázási eredmények értékeléséig.

Ugyancsak kísérleti vakcinát állítanak elő a baktérium biofilmképzésének kihasználásával, ahol némileg az élő szervezethez hasonlító körülmények között szaporodnak a baktériumok. A különleges módon összetapadó baktériumközösség által termelt exopoliszacharidok jobban hasonlítanak az élő szervezetben termelődő baktérium által termelt „keresztvédő faktorra”, mint a mesterséges táptalajban növesztettek esetében. A más baktériumnál bevált módszert kihasználva kívánják a nagyobb tömegű burokanyagot és így immunogén antigént adó tenyésztési módot felhasználni. Olyan új, csak ilyen formátumban expresszáldó immunogén fehérjék is termelődnek, amelyek vakcinázásra használva fokozzák az immunhasztást. Az eljárás további előnye, hogy kis baktériumszám ellenére nagyobb tömegű antigén nyerhető (7, 42, 61, 62).

Az élő vakcinatörzsek alkalmazása esetén előfordulhatnak elhullások és romló testtömeg-gyarapodás

Az *aroA*-gén kiiktatásával korlátozott szaporodóképességű vakcinatörzset állítottak elő

A biofilmképzés kihasználásával az élő szervezetben szaporodó baktériumra jobban hasonlító antigén-szerkezetű vakcinát állítottak elő

Bakteriofágok segítségével genetikaianyag- és citoplazmamentes baktériumtestet hoztak létre

Az aleggységvakcinák egyik fajtájában az immunitás kiváltásáért felelős fehérjéket kódoló géneket juttatják expressziós vektorokkal a szervezetbe

A második csoportba a szintetikus peptidvakcinák, a harmadikba a rekombináns fehérje-aleggység-vakcinák tartoznak

Tartós, széles körű védeltséget biztosító vakcina előállítására még nem megoldott

A baktérium lízist indukáló *Escherichia coli* expresszált PhiX174 fág hordozta *Pasteurella*-specifikus lízisvektor a genetikai anyag és a citoplazma eltávolítása által kiüresített baktériumsejteket hozott létre. Ezzel az üres baktériummal egereket és nyulakat immunizálva a nyulakban ellenanyag-termelést, míg egerekben ezen túlmenően homológ fertőzőttség elleni 100%-os védeltséget tapasztaltak (50). Kísérletek folynak a baktérium külső membránhólyagait felépítő fehérjék immunizáló szerepét kihasználva is. „A” burok típusú, szarvasmarha eredetű *P. multocida*-törzs egerek intranasalis fertőzése során kifejezett nyálkahártya- és humorális immunválaszt indukált, amely még *Mannheimia haemolytica* iránti keresztvédeltséget is mutatott. Az immunitás kialakításában döntően külső membránfehérjéket (ompA, ompH és P6) azonosítottak (65).

Hatékony oltóanyag kifejlesztésére törekcszenek az immunitás kiváltásáért felelős baktérium-alkotórészekből készített aleggységvakcinák megalkotásával. A vakcinakészítéshez az immunitásban kulcsszerepet játszó géneket választanak ki (1, 2, 3, 4, 79). Ilyen irányú vizsgálatokat végeztek a baktérium külső felszínén található, a gazdaszervezettel érintkező és azzal kölcsönhatásba lépő, a burokalkotásban szerepet játszó, a membránfehérjéket kódoló, az anyagcserében szerepet játszó és a virulenciáért felelős immunválaszt provokáló génekkel (34, 35). Az ún. DNS-vakcinák esetén a gént kódoló DNS-t valamely expressziós vektorba (legegyszerűbben *Escherichia coli*-ba) kódolva a védendő célszervezetben termelődik meg az immunitást indukáló antigén (31, 32, 33). Az aleggységvakcinák másik csoportját alkotó szintetikus peptidvakcinák közé tartozik az X-73 törzs ompH szekvenciája alapján tervezett néhány szintetikus polipeptid, amelyekkel immunizált csirkék 70%-os védeltséget mutattak az eredendően letális X-73 fertőzéssel szemben (48, 82). Harmadik aleggységvakcina-típus a rekombináns fehérjealeggység-vakcinák típusa, amikor expresszálo vektorban, sokszor szintén *Escherichia coli*-ban expresszálják az oltóanyag alapjául szolgáló fehérjét. Az így előállított fehérje védőhatását egéren, ill. a megcélzott madárfajokban, elsősorban csirkén vizsgálták (5, 19, 30, 44, 45, 47, 59, 66, 67, 68, 72, 73, 80, 81, 88). A vakcinafelhasználás „célállatán” végzett vizsgálatok azért is fontosak, mert az egerekben kapott eredmény sokszor nem korrelál a csirkekísérletekben kapott eredménnyel (9, 23).

Legújabb vizsgálatok folynak növényi vektorban való fehérjetermeltetésre egyfelől az egyszerű, nagyobb tömegű antigén előállítására céljából, másfelől igen egyszerű lenne takarmánnyal minden tisztítás, koncentráció nélkül „megetetni” a vakcinát. Baromfikolera esetén a vasanyagcserében szerepet játszó erősen immunogén külső membránfehérjét, az ompH-t állították elő kísérleti körülmények között dohánynövényekben (43), ill. a szerológiai csoportok közötti keresztvédelést mutató lipopoliszaharid természetű PlpE gént szintén dohánysejtenyészetben és dohánynövényben expresszálták a sejtek átmeneti, ill. tartós genetikai módosításával (20). A kutatások korai stádiuma ellenére ígéretes kutatási irány a várható egyszerű termelés és aplikáció miatt.

A baromfikolera elterjedtségének és jelentőségének megfelelően világszerte ma is folyó vakcinakutatások ellenére elmondhatjuk, hogy az ígéretes próbálkozások ellenére a tartós és széles körű védeltséget biztosító oltóanyag előállítása még nem megoldott, további kutatásokra van szükség.

Az irodalom, az érdeklődők számára, a szerzőknél rendelkezésre áll.

Közlésre érk.: 2014. nov. 25.