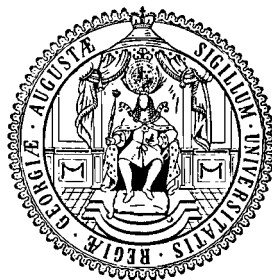


GÖTTINGER BEITRÄGE ZUR LAND- UND FORSTWIRTSCHAFT
IN DEN TROPEN UND SUBTROPEN

Heft 88

Sayda Mahgoub Elbashir

Production of Vaccine against Haemorrhagic Septicaemia
(HS) with Göttingen Bioreactor Technology using Local
Sudanese *Pasteurella multocida* Strains B and E



Göttingen 1993

V Summary

Preliminary bacteriological and biochemical studies together with pathogenicity tests of local isolates of *P. multocida* strains B and E used in haemorrhagic septicaemia vaccine production were performed in order to determine their stability. Nutritional requirements of both strains under static conditions were defined, and the best nutritional combination was chosen for further investigation under continuous culture.

Confirmatory studies on the pathogenesis of both strains of *P. multocida* followed by reisolation were indicative for the stability of the organism in terms of the reported characteristics.

Optimization studies for evaluation of the optimal cultivation conditions of *P. multocida* using the Göttingen bioreactor were found to be 37.5 °C, pH 7.4, aeration 400/ml, 300 r min⁻¹ stirring, dilution rate 0.17 h⁻¹. Growth assessment was carried out by several methods but the viable cell count was found to be the most reliable one. Further studies on the composition of long chain cellular fatty acids of *P. multocida* strain B continuously cultivated on different types of media under the optimal conditions were investigated.

The experimental production of *P. multocida* vaccine from both strains under the optimal conditions of cultivation using pasteurized medium sterilized separately with the nutriclave, was considered to be satisfactory and economical for this purpose and with a high growth yield.

The mouse model proved to be the most satisfactory and reliable for evaluation of the developed immunity.

The preparation of different types of monovalent vaccines from each strain with and without adjuvant resulted in a variable protection rate (from 8.3-100 %) when

challenged with a homologous strain while heterologous challenge indicates the lack of cross protection. The most suitable vaccine which stimulate protection against both strains was found to be the bivalent vaccine. Oil adjuvant vaccine prepared from a mixture of cell and filtrate suspended in Montanide ISA 206 resulted in the highest protection rate. Stability studies on the oil adjuvant vaccines under different storage temperatures showed that Montanide ISA 206 remains homogeneous for six months at 4-8 °C storage temperature.

Successful and encouraging results following the establishment of the system for *P. multocida* strains B and E vaccine production in Sudan resulted in a quantitative improvement leading to reduction of the volume per vaccine dose from 5 ml to 1 ml which facilitates storage and transportation. Another advantage of the use of the filtrated washed vaccine is the elimination of any hazard of vaccine shock which may accompany the conventional products.

The tested adjuvant vaccines were found to be safe and without any side effects when experimented in calves of local breeds. The aluminium precipitated bivalent *P. multocida* vaccine could replace the oil adjuvant receive if it considered being too expensive. Further confirmatory immunological studies on the development, duration and level of induced immunity amongst local cattle breeds together with the stability and storage quality of the different types of vaccine will be considered in future research.

VI Zusammenfassung

Erste bakteriologische und biochemische Untersuchungen zusammen mit Pathogenitätstest der lokal isolierten *P. multocida*-Stämme B und E, die in der HS-Impfstoffproduktion eingesetzt werden, wurden durchgeführt um die Stabilität der beiden *P. multocida*-Isolate zu bestimmen. Desweiteren wurden die Nährstoffansprüche der beiden Stämme unter statischen Bedingungen definiert; die beste Nährstoffkombination wurde für weitergehende Untersuchungen in der kontinuierlichen Kultur gewählt.

Bestätigende Studien bezüglich der Pathogenität der beiden Stämme von *P. multocida* gefolgt von Re-Isolationen waren Anzeichen für die Stabilität der Organismen in Bezug auf die beschriebenen Charakteristiken.

Die Studien zur Bestimmung der optimalen Kulturbedingungen ergaben für *P. multocida* im Göttinger Bioreaktor folgende Parameter: Temperatur 37,5 °C, pH 7,4, Belüftungsrate 400 ml/min, Rührgeschwindigkeit 300 U/min, Verdünnungsrate 0,17 h⁻¹. Verschiedene Meßmethoden wurden zur Wachsumbestimmung herangezogen, aber die Bestimmung der Lebendzellzahl erwies sich als die am besten geeignete.

Desweiteren wurden Untersuchungen bezüglich Zusammensetzung der langkettigen zellulären Fettsäuren von *P. multocida*-Stamm B, der kontinuierlich auf unterschiedlichen Medien und mit optimierten Wachstumsparametern kultiviert wurde, durchgeführt.

Bei der experimentellen Produktion von *P. multocida*-Impfstoffen der beiden Stämme unter optimierten Wachstumsbedingungen mit Pasteurella-Medium, welches separat in einem Mediumautoklaven sterilisiert wurde, konnte festgestellt werden, daß das Medium bei dieser Anwendung das sicherste und billigste mit einer hohen Wachstumsrate war.

Bei der Herstellung von monovalenter Vakzine der unterschiedlichen Typen erbrachte die inaktivierte filtrierte Kultur von jedem Stamm mit oder ohne Adjuvans sehr unterschiedliche Schutzraten (von 8,3-100%), wenn mit einem homologen Stamm belastet wurde, während bei dem heterologen Belastungstest eine Kreuzimmunität nicht nachgewiesen wurde. Die brauchbarste Vakzine, die gegen beide Stämme schützend wirkte, war der bivalente Impfstoff.

Dabei hatte die Öladjuvansvakzine, die aus einer Mischung der Bakterienzellen und dem Filtrat in Montanide ISA 206 erstellt wurde, die höchste Schutzrate.

Untersuchungen zur Stabilität der Öladjuvansvakzine bei unterschiedlichen Lagertemperaturen zeigten, daß die Vakzine mit Montanide ISA 206 bei einer Lagertemperatur von 4-8 °C sechs Monate homogen blieb. Zur Beurteilung der entwickelten Immunität war das Mäusemodell das sicherste und genaueste.

Durch die erfolgreichen und ermutigenden Resultate erfolgte die Einführung des Systems zur *P. multocida*-Stamm B und E Impfstoffproduktion im Sudan, wobei die quantitative Verbesserung zu einer Reduktion des Impfstoffvolumens von 5 ml auf 1 ml führte, was zur Vereinfachung von Lagerung und Transport beiträgt.

Ein anderer Vorteil des Einsatzes eines durch Filtration gewaschenen Impfstoffs liegt in der Vermeidung eines Impfschocks, der eine herkömmliche Vakzine begleiten kann.

Die getestete Adjuvansvakzine war sicher und ohne Nebenwirkungen beim Einsatz in Kälbern lokaler Rassen. Eine bivalente Aluminiumpräzipitat-*P. multocida*-Vakzine kann eingesetzt werden, wenn die Öladjuvansvakzine als zu teuer eingestuft wird. Weitere immunologische Untersuchungen zur Dauer und Höhe der induzierten Immunität bei lokalen Rinderrassen zusammen mit Stabilität und Lagerqualität für die verschiedenen Vakzinetypen sollen Bestandteil zukünftiger Forschungsprogramme sein.