

**ISPITIVANJE ZAŠTITNOG DEJSTVA DVOVALENTNE  
INAKTIVISANE VAKCINE PRIPREMLJENE OD SEROTIPOVA  
1/2a i 4b *Listeria monocytogenes* NA MIŠEVIMA\***  
*INVESTIGATIONS OF PROTECTIVE EFFECTS OF BIVALENT  
INACTIVATED VACCINE PREPARED FROM SEROTYPES 1/2a  
AND 4b *Listeria monocytogenes* ON MICE*

D. Bacić, Sonja Obrenović, M. Kirovski, B. Dimitrijević, Sonja Radojičić,  
M. Valčić, M. Mirilović\*\*

*Cilj ovog istraživanja bio je da se na laboratorijskim belim miševima proveri zaštitno dejstvo inaktivisane dvovalentne vakcine pripremljene od serotipova *L. monocytogenes* 1/2a i 4b. Nakon provere sterilnosti i toksičnosti pripremljene vakcine miševi su podeljeni u 6 grupa sa po 10 životinja. Prva i druga grupa miševa su dobile vakcinu bez saponina (vakcina A), a treća i četvrta grupa vakcinu sa saponinom (vakcina B). Miševi pete i šeste grupe nisu vakcinisani i služili su kao negativna kontrola. Dve nedelje nakon vakcinacije izvršena je revakcinacija oglednih grupa, osim kontrolnih. Dve nedelje nakon revakcinacije izvršena je veštačka infekcija svih grupa sa serotipovima *L. monocytogenes* 1/2a i 4b.*

*Za vreme ispitivanja (60 dana) uginula su 4 miša iz vakcinisanih grupa. Miševi kontrolnih grupa su počeli da uginjavaju nakon 7. dana, a poslednji miš je uginuo 14 dana posle infekcije.*

*Pregledom preparata iz parenhimatoznih organa uginulih miševa obojenih po Gramu dokazano je prisustvo *L. monocytogenes*. Zasejavanjem homogenizata parenhimatoznih organa na triptozni agar urađena je reizolacija i dobijena je čista kultura *L. monocytogenes*. Upotrebom specifičnih antiseruma potvrđeni su serotipovi 1/2a i 4b. S obzi-*

\* Rad primljen za štampu 26. 09. 2011. godine

\*\* Dr sci. med. vet. Dragan Bacić, docent, dr sci. med. vet. Sonja Obrenović, asistent, Katedra za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine; mr sci. med. vet. Marko Kirovski, Veterinarski zavod, Zemun; mr sci. med. vet. Blagoje Dimitrijević, asistent, Katedra za bolesti papkara; dr sci. med. vet. Sonja Radojičić, redovni profesor, Katedra za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela; dr sci. med. vet. Miroslav Valčić, redovni profesor, Katedra za zarazne bolesti životinja i bolesti pčela; dr sci. med. vet. Milorad Mirilović, docent, Katedra za ekonomiku i statistiku, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Srbija

rom na ukupan broj vakcinisanih miševa u ogledu i procenat uginuća (10%), može se reći da je ispitivana vakcina sa saponinom imala zadovoljavajući zaštitni efekat.

*Ključne reči: L.monocytogenes, inaktivisana vakcina, miš*

## **Uvod / Introduction**

Listerioza je zarazna bolest ljudi i životinja koju izaziva gram-pozitivna, fakultativno intracelularna bakterija *Listeria monocytogenes* (Pamer, 2004). Listerije su široko rasprostranjene u prirodi (ubikvitarni mikroorganizam) i osim kod životinja izolovane su iz zemljišta, otpadnih voda, silaže, povrća, namirnica animalnog porekla i dr. (Cooper i Walker, 1998).

Listerije mogu da se nađu na sluzokoži ždrela, u vaginalnoj sluzi i raznim unutrašnjim organima zdravih jedinki. Rezervoari u prirodi su divlji glodari (miševi, pacovi i kunići). U prirodnim uslovima infekcija se prenosi ekskrementima, pobačenim plodovima, placentom urinom, mlekom, iscetkom iz polnih organa i preko nekih rodova krpelja (Wagner i sar., 2000).

Prema podacima iz literature listerioza je raširena u celom svetu, uključujući i Srbiju, a osim čoveka oboljeva i preko 50 životinjskih vrsta (Seeliger i Jones, 1986).

Listerioza je kod ljudi prvi put opisana 1920. godine. Manifestuje se pojavom meningitisa, ređe encefalitisa, a kod gravidnih žena dovodi do pojave abortusa ili rađanja mrtve ili slabo vitalne dece.

Na osnovu podataka Belgijske referentne laboratorije, listerioza se kod ljudi javlja sporadično, a incidencija na godišnjem nivou je 7 slučajeva na milion stanovnika (Mead i sar., 1999).

Na osnovu dobijenih rezultata laboratorijskih istraživanja dokazano je da serotipovi 1/2a i 4b *L. monocytogenes* dominiraju u Srbiji, kao i u zemljama u okruženju (Sofrenović i sar., 1964).

S obzirom na epizootiološku situaciju u Srbiji i imajući u vidu slab odgovor na antibiotsku terapiju pri pojavi kliničkih simptoma listerioze kao i rezistentnost uzročnika na antibiotike, cilj istraživanja bio je priprema i ispitivanje protektivnog dejstva sopstveno pripremljene adsorbat vakcine, sa i bez saponina, dobijene inaktivisanjem *L. monocytogenes* sa domaćeg epizootiološkog područja.

## **Materijal i metode rada / Material and methods**

Izolacija i serotipizacija izolovanih sojeva *L. monocytogenes* /  
*Isolation and serotyping of isolated strains of L. Monocytogenes*

Za pripremu vakcine korišćeni su lokalni izolati *L. monocytogenes* dobijeni iz uzoraka pobačenih fetusa i mozga uginulih ovaca po standardnoj proce-

duri (Doyle i Schoeni, 1986). Kao podloga za izolaciju bakterija korišćen je triptozni agar (Torlak, Beograd).

Serotipizacija izolovanih listerija je urađena metodom brze aglutinacije na predmetnoj pločici sa monospecifičnim anti O i anti H imunoserumima *L. monocytogenes* (Bioveta, Češka).

#### *Priprema vakcine / Preparation of vaccine*

Vakcina je pripremljena od *celih bakterijskih ćelija serotipova 1/2a i 4b L. monocytogenes*, inaktivisanih sa 0,4% formalinom uz dodatak aluminijum-hidroksida kao nosača. Polovina pripremljene vakcine je bila bez saponina i označena je kao vakcina A, a drugoj polovini je dodat saponin (0,1%) i obeležena je kao vakcina B. U 1 ml vakcina je sadržavala  $10^6$  cfu bakterijskih ćelija.

#### *Ispitivanje sterilnosti vakcine / Investigations of vaccine sterility*

U cilju ispitivanja sterilnosti, pripremljena vakcina je zasejana na hranljivi agar, 5% krvni agar i triptozni agar. Tokom 5 dana zasejane podloge su proveravane na prisustvo kolonija aerobnih i anaerobnih mikroorganizama.

#### *Ispitivanje toksičnosti vakcine / Investigations of vaccine toxicity*

Toksičnost pripremljene vakcine je ispitivana biološkim ogledom na belim miševima. Ispitivanje je sprovedeno na 10 miševa telesne mase 18–22 g, starosti 3–4 nedelje, koji su podeljeni u 2 ogledne grupe. Prva grupa je vakcinisana vakcinom A (bez saponina), a druga vakcinom B (sa saponinom). Vakcina je aplikovana supkutano (s/c) u količini od 0,3 ml. Biološki ogled je trajao 4 nedelje i za to vreme je praćeno opšte stanje oglednih životinja. Nakon biološkog ogleda životinje su žrtvovane, obdukovane u cilju procene patomorfoloških promena, a suspenzija parenhimatoznih organa je zasejana na hranljive podloge.

#### *Ispitivanje zaštitnog dejstva vakcine na miševima /*

##### *Investigations of vaccine protective effects on mice*

Ispitivanje protektivnog dejstva vakcine je izvedeno na 60 belih miševa, telesne mase 18 do 22 g i starosti 3–4 nedelje. Miševi su podeljeni u šest oglednih grupa sa po 10 životinja.

Prva i druga grupa vakcinisane su sa 0,2 ml inaktivisane bivakcine bez saponina (vakcina A), s/c u kolenoj nabor.

Treća i četvrta grupa vakcinisane su sa 0,2 ml inaktivisane bivakcine sa saponinom (vakcina B), s/c u kolenoj nabor.

Peta i šesta grupa nisu vakcinisane i služile su kao negativna kontrola.

Dve nedelje posle vakcinacije urađena je revakcinacija svih oglednih grupa, osim kontrolnih.

Miševi su držani izolovano, u prostoriji posebno namenjenoj tome, uz svakodnevno praćenje opšteg zdravstvenog stanja. Ogladne životinje su hranjene potpunom krmnom smešom za ovu vrstu i dobijale vodu *ad libitum*.

#### *Veštačka infekcija miševa / Artificial infection of mice*

Dve nedelje nakon revakcinacije urađena je veštačka infekcija tako što je miševima s/c aplikovano po 0,3 ml  $\times 10^6$  (cfu/ml) 24 h stare bujonske kulture *L. monocytogenes* serotipa 1/2a i 4b.

Miševima iz prve i treće grupe aplikovana je s/c bujonska kultura serotipa 1/2a, u količini od 0,3 ml (cfu/ml), druge i četvrte grupe s/c bujonska kultura serotipa 4b, u količini od 0,3 ml (cfu/ml), pete grupe s/c bujonska kultura serotipa 1/2a, u količini od 0,3 ml, šeste grupe s/c bujonska kultura serotipa 4b, u količini od 0,3 ml (cfu/ml).

Veštačko izazivanje infekcije imalo je za cilj proveru zaštitnog dejstva ispitivanih vakcina, za svaki soj pojedinačno. Kod miševa kontrolnih grupa, koji nisu vakcinisani, cilj je bio da se ispita patogeno dejstvo oba serotipa *L. monocytogenes*.

Tokom oglada miševi su posmatrani svakodnevno i pri tom su praćeni opšte stanje i promene u ponašanju. Nakon uginuća izvršena je obdukcija, a zatim i zasejavanje suspenzije parenhimatoznih organa na odgovarajuće hranljive podloge.

### **Rezultati / Results**

#### *Rezultati ispitivanja sterilnosti vakcine / Results of investigations of vaccine sterility*

Ni u jednoj od zasejanih podloga bojenjem po Gramu nije ustanovljen rast kontaminirajućih bakterija, što je potvrda sterilnosti vakcine.

#### *Rezultati ispitivanja toksičnosti vakcine / Results of investigations of vaccine toxicity*

Ispitivanja toksičnosti vakcine na miševima, koje je trajalo 4 nedelje, svi miševi su preživeli, bez pojave kliničkih simptoma i promene opšteg stanja. Nakon oglada miševi su žrtvovani, urađena je obdukcija, a na parenhimatoznim organima nije bilo patomorfoloških promena. Suspenzija parenhimatoznih organa je zasejavana na triptozni i krvni agar, i pri tome nije ustanovljen rast aerobnih i anaerobnih mikroorganizama.

#### *Rezultati zaštitnog dejstva inaktivisane dvovalentne vakcine /*

#### *Results of protective effects of inactivated bivalent vaccine*

Za vreme ispitivanja uginula su 4 miša iz vakcinisanih grupa. Jedan iz prve, dva iz druge i jedan iz četvrte ogledne grupe. Rezultati ispitivanja zaštitnog dejstva vakcine A (bez saponina) i B (sa saponinom) aplikovane u dozi od

0,2 ml x 10<sup>6</sup> cfu/ml nakon veštačke infekcije bujonskom kulturom *L. monocytogenes* serotip 1/2a i 4b u dozi od 0,3 ml prikazani su u tabeli 1.

Na tabeli 1 su prikazani procentualni rezultati zaštitnog dejstva vakcine A (bez saponina) i B (sa saponinom) kod vakcinisanih miševa, nakon veštačke infekcije patogenim sojevima *L. monocytogenes* ser 1/2a i 4b, kao i rezultati veštačke infekcije miševa koji nisu vakcinisani (kontrolna grupa).

Tabela 1. Rezultati ispitivanja zaštitnog dejstva vakcine A (bez saponina) i B (sa saponinom) aplikovane u dozi od 0,2 ml x 10<sup>6</sup> cfu/ml nakon veštačke infekcije bujonskom kulturom *L. monocytogenes* ser 1/2a i 4b u dozi od 0,3 x 10<sup>6</sup> cfu/ml

Table 1. Results of investigations of protective effects of vaccine A (without saponin) and B (with saponin) applied in doses of 0.2 ml x 10<sup>6</sup> cfu/ml following artificial infection with bouillon culture of ser 1/2a and 4b *L. Monocytogenes* in dose of 0.3 x 10<sup>6</sup> cfu/ml

Grupe miševa / Groups of mice	Vakcina A / Vaccine A		Vakcina B / Vaccine B		Kontrolna (nevakcinisana) grupa miševa / Control (nonvaccinated) group of mice	
	I (n=10)	II (n=10)	III (n=10)	IV (n=10)	V (n=10)	VI (n=10)
Broj uginulih miševa nakon veštačke infekcije <i>L. monocytogenes</i> ser 1/2a i 4b / Number of mouse deaths following artificial infection with <i>L. monocytogenes</i> ser 1/2a and 4b	1	2	0	1	10	10
% uginulih miševa / % dead mice	10	20	0	10	100	100

Miševi koji nisu vakcinisani počeli su da uginjavaju nakon 7. dana, a poslednji miš je uginuo 14. dana infekcije. Na obdukciji je zapaženo uvećanje jetre manjeg stepena, sa sitnim nekrotičnim žarištima, jaka hiperemija pluća i sluzokože creva.

Zasejavanjem homogenizata parenhimatoznih organa na triptozni agar je urađena reizolacija i dobijena čista kultura *L. monocytogenes* serotipa 1/2a i 4b.

## Diskusija / Discussion

Za vakcinaciju životinja protiv listerioze mogu da se koriste inaktivisane ili atenuisane vakcine dobijene od celih bakterijskih ćelija. U novije vreme korišćenjem tehnika molekularne biologije određen je proteinski profil vrste *L. monocytogenes* i postoje pokušaji da se naprave subjedinične vakcine. Međutim, efikasnost ovih vakcina još uvek nije potpuno ispitana i potrebna su dalja eksperimentalna istraživanja (Vazquez-Boland i sar., 2001).

Poznato je da listeriolizin O (LLO), koji nastaje kao odgovor na prisustvo različitih sojeva *L. monocytogenes*, može da indukuje zaštitni imunitet, ali ključni odnos između LLO i stvaranja zaštitnog imuniteta kod zaraženih jedinki nije dovoljno istražen (Carvalho i sar., 2001). U svom ispitivanju Xiong i sar. (1998) su dokazali da kod miševa koji su inficirani virulentnim sojevima *L. monocytogenes* dolazi do stvaranja protektivnog imuniteta, a aplikacijom mrtvih bakterija i nevirulentnih sojeva nije došlo do stvaranja imunskog odgovora. Kod miševa imunizovanih listeriolizinom i mrtvim bakterijama, uz upotrebu Freundovog adjuvansa, došlo je do stvaranja delimičnog zaštitnog imuniteta (Brocke i Hahn, 1991).

Istraživanja na velikom broju životinjskih vrsta ukazala su na to da postoji mogućnost kontrole listerioze primenom vakcina koje kao imunogene komponente sadrže avirulentne ili inaktivisane sojeve listerija (Ramaswamy i sar., 2007).

Ivanov i sar. (1977) su izveli uspešan eksperiment sa atenuiranom vakcinom, dobijenom od serotipova 1/2a i 4b *L. monocytogenes* uz dodatak 0,1 % saponina. Burdarov i sar. (1985) su izveli eksperiment na jagnjadi, zečevima i zamorčićima. Za vakcinaciju je korišćena mrtva vakcina od serotipova *L. monocytogenes* tip 1 i tip 4c, koja je dobijena inaktivacijom toplotom. Kod veštački inficiranih vakcinisanih životinja. Listerie su izolovane u sporadičnim slučajevima iz moždanog tkiva i parenhimatoznih organa, dok je kod veštački inficiranih nevakcinisanih životinja ovaj uzročnik izolovan tokom čitavog perioda ispitivanja. Autori su zaključili da se vakcinacijom eksperimentalnih životinja mrtvom vakcinom smanjuje smrtnost životinja.

Van Dijk i sar. (1980) su proučavali imunogenost inaktivisane vakcine na miševima i dokazali su da sa odgovarajućim adjuvansom može da se proizvede kvalitetna vakcina sa dobrim antigenim karakteristikama. Wirsing (1982) se složio sa ovim ispitivanjima, dodavši da se na ovaj način bolest može staviti pod kontrolu primenom formalinom inaktivisane vakcine.

### **Zaključak / Conclusion**

Rezultati naših ispitivanja su pokazali da serotipovi 1/2a i 4b *L. monocytogenes* ispoljavaju patogeni efekat nakon veštačke infekcije miševa kontrolnih grupa. Pripremljena inaktivisana vakcina sa saponinom, od serotipova 1/2a i 4b *L. monocytogenes* imala je zadovoljavajući zaštitni efekat, imajući u vidu da je nakon veštačke infekcije došlo do uginuća svega 10% vakcinisanih miševa. Poređenjem rezultata dobijenih nakon vakcinacije miševa oglednih grupa vakcinama sa saponinom i bez saponina utvrđeno je da dodavanje saponina najverovatnije povećava zaštitni efekat vakcine.

#### **NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:**

Rad je finansiran sredstvima Ministarstva prosvete i nauke R Srbije u okviru projekata: TR-20142 i TR-31088. / *The work was financed by funds of the Ministry for Education and Science of the Republic of Serbia within projects TR-20142 and TR-31088.*

## Literatura / References

1. Brocke S, Hahn H. Heat-killed *Listeria monocytogenes* and *L. monocytogenes* soluble antigen induce clonable CD4+ T lymphocytes with protective and chemotactic activities *in vivo*. *Infect Immun* 1991; 59(12): 4531-9.
2. Burdarov I, Savova-Burdarova S. Immunoprophylaxis of listeriosis in sheep with a killed vaccine. *Vet Med Nauki* 1985; 22(6): 13-9.
3. Carvalho LH, Hafalla JC, Zavala F. ELISPOT assay to measure antigen-specific murine CD8+ T cell responses. *J Immunol Methods* 2001; 252, 207-18.
4. Cooper J, Walker RD. Listeriosis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1998; 14: 113-25.
5. Doyle MP, Schoeni JL. Selective-enrichment procedure for isolation of *Listeria monocytogenes* from fecal and biologic specimens. *Appl Environ Microbiol* 1986; 51(5): 1127-9.
6. Ivanov I, Draganov M, Dikova Ts. Study on the active immunoprophylaxis of sheep listeriosis. Central Veterinary Research Institute, Sofia 1977; 324-9.
7. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 607-25.
8. Pamer EG. Immune responses to *Listeria monocytogenes*. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 812-23.
9. Ramaswamy V, Cresence VM, Rejitha JS, Lekshmi MU, Dharsana KS, Prasad SP, Vijila HM. Listeria – review of epidemiology and pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect* 2007; 40: 4-13.
10. Seeliger HPR, Jones D. Genus *Listeria* Pirie 1940, 383, 1235–1245. U.P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (ed.). *Bergey's manual of systematic bacteriology* 1986; vol. 2. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
11. Sofrenović Đ, Trbić B, Marković B, Movsesijan M. Listerioza gravidnih ovaca. *Vet Glasnik* 1964; 9: 873.
12. Van Dijk H, Hofhuis FMA, Berns EMJJ, Van der Meer C, Willers JMM. Killed *Listeria monocytogenes* vaccine is protective in C3H/HeJ mice without addition of adjuvants. *Nature* 1980; 286: 713-4.
13. Vazquez-Boland, J. A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Dominguez-Bernal, G., Goebel, W., Gonzalez-Zorn, B., Wehland, J. & Kreft, J. *Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants*. *Clin Microbiol Rev.* 2001; 14:584–640.
14. Wagner M, Melzner D, Bago Z, Winter P, Egerbacher M, Schilcher F, Zangana A, Schoder D. Outbreak of clinical listeriosis in sheep: evaluation from possible contamination routes from feed to raw produce and humans. *J Vet Med.* 2000; B 52: 278-83.
15. Wirsing V, Konig CW, Fischer H, Hof H. Failure of a killed *Listeria monocytogenes* vaccine to produce protective immunity, *Nature*, 1982; 297: 233-4.
16. Xiong H, Tanabe Y, Ohy S, Mistuyama M. Administration of killed bacteria together with listeriolysin O induces protective immunity against *Listeria monocytogenes* in mice. Department of Bacteriology, Niigata University School of Medicine, Japan, 1998.

ENGLISH

**INVESTIGATIONS OF PROTECTIVE EFFECTS OF BIVALENT INACTIVATED VACCINE PREPARED FROM SEROTYPES 1/2a AND 4b *Listeria monocytogenes* ON MICE**

**D. Bacić, Sonja Obrenović, M. Kirovski, B. Dimitrijević, Sonja Radojičić, M. Valčić, M. Mirilović**

The objective of these investigations was to check on laboratory white mice the protective effect of an inactivated bivalent vaccine prepared from serotypes 1/2a and 4b *L. monocytogenes*. Following verification of the sterility and toxicity of the prepared vaccine, the mice were divided into 6 groups with 10 animals in each group. The first and second group of mice were administered the vaccine without saponin (vaccine A) and the third and fourth group the vaccine with saponin (vaccine B). Mice of the fifth and the sixth group were not vaccinated and served as a negative control. Two weeks following vaccination, the experimental groups were revaccinated, with the exception of the two control groups. Two weeks following revaccination, all groups were artificially infected with serotypes 1/2a and 4b *L. monocytogenes*.

During the course of the investigations (60 days) a total of 4 mice died in the vaccinated groups. Mice of the control groups started dying after day 7, and the last mouse in these groups died 14 days after the infection. Examinations of preparations of parenchymatous organs of the dead mice stained according to Gram proved the presence of *L. monocytogenes*. Homogenates of parenchymatous organs were sown on tryptose agar for reisolation and a pure culture of *L. monocytogenes* was obtained. Through the use of specific antisera, serotypes 1/2a and 4b were confirmed. Considering the total number of vaccinated mice in the experiment and the percent deaths (10%), it can be said that the investigated vaccine with saponin had a satisfactory protective effect.

Key words: *L. monocytogenes*, inactivated vaccine, mouse

РУССКИЙ

**ИСПЫТАНИЕ ПРЕДОХРАНИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ДВУВАЛЕНТНОЙ ИНАКТИВАЦИОННОЙ ВАКЦИНЫ, ПОДГОТОВЛЕННОЙ ОТ СЕРОТИПОВ 1/2a И 4b *Listeria monocytogenes* НА МЫШАХ**

**Д. Баич, Соня Обренович, М. Кировски, Б. Димитриевич, Соня Радоичич, М. Валчич, М. Мирилович**

Цель этого исследования была, что на лабораторных белых мышах проверить предохранительное действие инактивационной двувалентной вакцины, подготовленной от серотипов *L. monocytogenes* 1/2a и 4b. После проверки стерильности и токсичности подготовленной вакцины мыши в 6 групп с по 10 животных. Первая и вторая группы мышей получили вакцину без сапониона (вакцина А) а третья и четвёртая группы вакцину с сапонином (вакцина Б). Мыши пятой и шестой групп не вакцинированы и служили как отрицательный контроль. Две недели после вакцинации совершена ревакцинация опытных групп, кроме контрольных. Две недели по-



сле ревакцинации совершена искусственная инфекция всех групп с серотипами *L. monocytogenes* 1/2a и 4b.

Во время продолжительности испытания (60 дней) околели 4 мыши из вакцинированных групп. Мыши контрольных групп начали околевать после 7 дней, а последняя мышь околела 14 дней после инфекции.

Осмотром препарата из паренхиматозных органов околелых мышей, окрашенных по Граму доказано присутствие *L. monocytogenes*. Засеиванием гомогенизатов паренхиматозных органов на триптозный агар сделана реизоляция и получена чистая культура *L. monocytogenes*. Употреблением специфических антисерумов подтверждены серотипы 1/2a и 4b. С учётом на совокупное число вакцинированных мышей в опыте и процент околеления (10%), можно сказать, что испытанная вакцина с сапонином имела удовлетворительный предохранительный эффект.

Ключевые слова: *L. monocytogenes*, инактивационная вакцина, мышь