

6 ZUSAMMENFASSUNG

Aus Wüstenmäusen (*Meriones unguiculatus*) gewonnene *Babesia divergens*-Isolate wurden bei Kühlraten von 1°C/min bis 250°C/min und in einem Zwei-Schritt-Verfahren (mit einer 30-minütigen Equilibrierungszeit bei -30°C) eingefroren. Als Kryokonservierungsmittel wurden Glycerol, Polyvinylpyrrolidon 40 (PVP) und Dimethylsulfoxid (DMSO) in unterschiedlichen Konzentrationen verwendet.

Nach Lagerung in flüssigem Stickstoff für 10 - 20 Tage wurden die Proben bei 40°C in einem Wasserbad aufgetaut. Vor und nach Kryokonservierung wurden infizierte Erythrozyten Wüstenmäusen intraperitoneal inokuliert. Aus den ermittelten Präpatenzen wurde die Infektiosität nach Kryokonservierung berechnet.

1. Die höchste Infektiosität von 38 % bis 53 % wurde nach Kryokonservierung mit 3 M DMSO bei einer Kühlrate von 10°C/min erreicht.
2. Die Verdünnung der Inokulationsdosen von 10^8 auf 10^6 Parasiten/ml ist nach Kryokonservierung unter diesen Bedingungen ohne einen weiteren Infektiositätsverlust möglich.
3. Die Verwendung von 3 M DMSO bei einer Kühlrate von 30°C/min ergab eine Infektiosität von ca. 10 % bis 38 %.
4. Bei der Kryokonservierung mit 2 M DMSO und Kühlraten von 100°C/min sowie 196°C/min blieben ca. 23 % Infektiosität erhalten.
5. Die Infektiosität der mit Glycerol eingefrorenen Parasiten betrug höchstens 1 %, die der mit PVP eingefrorenen höchstens 3,4 %.

Vor Einführung einer kryokonservierten Vakzine müssen die mit Wüstenmäusen erzielten Ergebnisse am Rind überprüft werden. Sollten ähnliche Ergebnisse bei der Vakzinierung von Rindern erreicht werden, wäre eine kryokonservierte *B. divergens*-Vakzine wirtschaftlich.

7 SUMMARY

Hentrich, Brigitte (1992):

Cryopreservation of a *Babesia divergens* live vaccine
Med. Vet. Diss., School Vet. Med., Hanover, Germany

Blood from jirds (*Meriones unguiculatus*) infected with *Babesia divergens* was frozen to -196°C using cooling rates of $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to $250^{\circ}\text{C}/\text{min}$ and a two-step cooling rate (with an equilibration period of 30 min at -30°C).

The cryoprotectants glycerol, polyvinylpyrrolidone 40 (PVP) and dimethyl sulfoxide (DMSO) were used at different concentrations. Aliquots were stored in liquid nitrogen for 10 to 20 days and thawed in a water bath at 40°C . Infectivity of infected red cells before and after cryopreservation was tested by intraperitoneal inoculation of jirds. The prepatent periods recorded were used to calculate the infectivity of the inocula.

1. The highest infectivity of 38 % to 53 % was recorded from blood cryopreserved with 3 M DMSO and frozen at $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.
2. Parasites cryopreserved under those conditions could be diluted 100-fold, i.e. from 10^8 to $10^6/\text{ml}$, without loss of infectivity.
3. An infectivity of about 10 % to 38 % was obtained using 3 M DMSO and a cooling rate of $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$.
4. Cryopreservation with 2 M DMSO and cooling rates of $100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ and $196^{\circ}\text{C}/\text{min}$ resulted in an infectivity of about 23 %.
5. Using glycerol as cryoprotectants, no more than 1 % infectivity, and using PVP, no more than 3,4 % infectivity were recorded under any of the conditions tested.

Prior to introduction, the cryopreserved vaccine will have to be tested in cattle. Provided similar results are obtained, this would represent an economic vaccine.