

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

9

ROČNÍK 11 (XXXIX)
PRAHA,
ZÁŘÍ 1966
CENA 10 Kčs

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝCH
INFORMACÍ MZLH

Vědecký časopis

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král, (předseda), člen korespondent ČSAV akademik Ivan Brauner, doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., prof. MVDr. Tomáš Gdovin, MVDr. Martin Lis, MVDr. Andrej Mačička, MVDr. Ladislav Polák, CSc., doc. MVDr. Oldřich Svoboda, doc. MVDr. inž. Jan Vlček, pplk. MVDr. Miroslav Vojáček, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, CSc., MVDr. Ladislav Zima, MVDr. Alojz Žuffa, CSc.

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací MZLH, Praha 1965

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství a lesního hospodářství. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по научному исследованию в области ветеринарной медицины. Издает Институт научно-технической информации Министерства сельского и лесного хозяйства. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Слезска 7.

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Institute of Scientific and Technical Information of the Ministry of Agriculture and Forestry Management. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7

Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben vom Institut für wissenschaftlich-technische Informationen des Ministeriums für Land- und Forstwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion Praha 2, Slezská 7

Le journal scientifique VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publie les études, analyses et traités scientifiques concernant les tâches de recherches résous dans le domaine de médecine vétérinaire. Publié par l'Institut des renseignements scientifiques et techniques du Ministère de l'agriculture et des forêts. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7

■ Charakteristické onemocnění selat po odstavu, popsané v Irsku Shanksem (1938) jako „neobvyklý stav postihující zažívací orgány prasat“, bylo postupně označováno řadou pojmů jako edémová nemoc, choroba odstávčat, kolitoxikóza, hemorhagická gastroenteritis, enterotoxický kolibacilární syndrom a kolienterotoxemie. Přehled literárních údajů zveřejněných o této chorobě až do konce r. 1963 zpracovali u nás Salajka a Gilka (1964).

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Ve vývoji názorů na etiologii kolienterotoxemie měly stěžejní význam některé poznatky, jako zjištění, že při kultivaci ze střeva prasat uhynulých na edémovou nemoc byly izolovány zpravidla čisté porosty hemolytických koliformních zárodků (Gregory 1955); možnost zařadit tyto kmeny *Escherichia coli* podle O-antigenů k některé ze čtyř séro skupin, a to 08, 0138, 0139 a 0141 (Sojka, Lloyd, Sweeney 1960); experimentální reprodukce syndromu edémové nemoci u prasat i. v. podáním extraktů z *E. coli* izolovaných z nemocných kusů (Erskine, Sojka, Lloyd 1957).

Při studiu koliflory prasat s kolienterotoxemií bylo zjištěno, že vysoký obsah hemolytických kmenů *E. coli* v zažívadlech je nejen u nemocných jedinců, ale i u zvířat spolu s nimi ustájených (Willinger 1964). Hemolytické kmeny *E. coli* lze najít v různých věkových kategoriích prasat. Willinger (1964) je nalézal nejčastěji u odstávčat (u 68 %) a méně často u sajících selat a prasat starších (u 20 %). U odstávčat převažují hemolytické kmeny *E. coli* ve druhém týdnu po odstavu, což trvá několik dní a pak zase vymizí (Zimmerhackel 1963). Za příčinu převládnutí hemolytických kmenů *E. coli* u této kategorie prasat pokládají někteří autoři (Kretzschmar 1961, Willinger 1964) změny v podmínkách odchovu spojené s odstavem, jako je např. změna krmiva a způsobu krmení, změna stáje, změna v obsluhujícím personálu, změna v počasí apod. Kumulace těchto změn s dalšími zatěžovacími zásahy, jako jsou kastrace, vakcinace, odčervování, koupele, transport, jsou pokládány za příčinu stressu, který podmiňuje vznik kolienterotoxemie (Weinland 1964).

Ve střevní flóře jsou vedle sebe různé sérotypy *E. coli*, které nezůstávají stálými symbionty, ale mohou být nahrazeny jinými. Zatímco u zdravých jedinců s apatogenními kmeny je možný výskyt více sérotypů vedle sebe, při onemocnění známými patogenními typy bývá přítomen jen jediný (Kaufmann, Perch 1943, Willinger 1964).

Smith (1963) studoval hemoliziny u kultur *E. coli* a uvádí, že hemoliziny sérotypů *E. coli* patogenních pro prasata je filtrabilní (označil je jako alfa) a je antigenní. U jiných kultur nalézal hemolizin neoddělitelný od buněk (označený beta), který je neantigenní a nefiltrabilní. V běžné populaci prasat zjistil průkazné titry protilátek neutralizujících alfa-hemoliziny.

Názory na imunologické poměry u kolienterotoxemie se různí. Někteří autoři referovali o možnosti séroterapie (Bouckaert, Oyaert, Sierens 1960, Gregory 1960, Heß, Suter 1958, Lemcke, Bellis, Hirsch 1957, Timoney 1957), jiní zase upozorňují na neantigenní povahu toxického faktoru v extraktech z kultur *E. coli* (Gitter, Lloyd 1957, Sweeney, Sojka, Lloyd 1960) nebo na zvláštní vnímavost k onemocnění u zvířat s vysokým titrem protilátek proti sérotypům *E. coli* specifickým pro kolienterotoxemii (Gitter, Lloyd 1957, Pascucci, Varani, Testi 1962).

Buxton, Thomlinson (1961), Thomlinson, Buxton (1962, 1963), Thomlinson (1963) uvádějí, že u většiny prasat se vyskytují v zažívacích v malém množství sérotypy *E. coli* sdružené s edémovou nemocí a hemoragickou gastroenteritidou. Tato zvířata se stávají hypersenzitivní vůči uvedeným zárodkům absorpci malých dávek polysacharidu uvolněného z jejich těl. Změna v dietě a prostředí může vyvolat značné pomnožení hemolytických *E. coli* ve střevě. Dochází k absorpci relativně velkého množství bakteriálních polysacharidů ze střeva, a to vede u prasat k anafylaktickému šoku, což se projevuje charakteristickými symptomy a lézemi edémové choroby a hemoragické gastroenteritidy.

Willinger (1964) uvádí, že při sérologickém vyšetřování nezjistil žádnou přítomnost aglutininů proti *E. coli* séroskupin 0138 a 0141 u kusů uhynulých či nemocných, ani u zdravých prasat s vysokým obsahem hemolytických *E. coli* v trusu. V následujících týdnech života nedošlo u těchto prasat k vzestupu aglutininů proti homologním kmenům.

U selat je možná alergizace prostřednictvím kolostra nejen proti heterologním bílkovinám (Sizaret, Reculard, Caraes, Virat 1964 a, b, c), ale i proti antigenům bakteriálním (Hoerlein 1957). Avšak účinek protilátek předávaných prasnici selatům není omezen jen na kolostrum. Podle některých zjištění se uplatňuje obzvláště proti střevním infekcím výrazně mléko matek po celou dobu kojení (Butko 1963, Miller a kol. 1962, Portmann 1962). Owen a kol. (1961) předpokládají, že kontinuální příjem imunních globulinů v mléce matek se uplatňuje jako koproantilátky.

Na význam aktivně tvořených koproantilátek při enterálních infekcích poukazoval již v r. 1919 Adam (cit. Sedláček, Rische 1961). Z úkazů, že tyto protilátky bývají prokazatelné ve stolici dříve než v cirkulující krvi, bylo dedukováno, že jsou produktem specifického imunizačního procesu lokalizovaného ve sliznici střevní.

Experimentální reprodukce kolienterotoxemie u prasat perorálním podáváním kultur *E. coli* se dosud nezdařila. Řadou autorů (cit. Salajka, Gilka 1964) uváděné experimentální případy vyvolané parenterální aplikací extraktů z obsahu zažívacích nemocných kusů nebo extraktů z kultur *E. coli* jsou sice podobné přirozeným případům nemoci, avšak ve všech těchto případech šlo o šok buď endotoxinový, nebo anafylaktický. Mezi těmito dvěma druhy šoku není rozdíl po stránce klinické a patologicko-morfologické (Weil, Spink 1957).

VLASTNÍ PRÁCE

Ve vlastní práci byla zeměřena pozornost na některé okolnosti mající vztah k etiopatogeneze kolienterotoxemie prasat. Jsou to zejména:

1. sérologické určení O-antigenů většího počtu kmenů *E. coli* izolovaných z terénních případů kolienterotoxemie selat po odstavu;

2. informativní vyšetření imunitního stavu prasnic a selat v chovech s výskytem kolienterotoxemie;

3. sledování změn v enterální koliformní flóře selat po odstavu za podmínek vyloučení řady faktorů označovaných za příčinu převládnutí patogenních hemolytických sérotypů *E. coli* u selat v tomto období;

4. soustavné vyšetřování sérologické odezvy na *E. coli* u prasat v souvislosti s krátkodobým převládnutím patogenního sérotypu *E. coli* v enterální flóře u selat po odstavu.

MATERIÁL A METODIKA

Kmeny *E. coli* pro sérotypizaci byly založeny z hemolytických koliformních porostů vykultivovaných ze střevního traktu a z mezenterálních mizních uzlin 656 selat uhynulých krátce po odstavu, u nichž podle klinického a patomorfologického nálezu bylo vysloveno podezření na kolienterotoxemii.

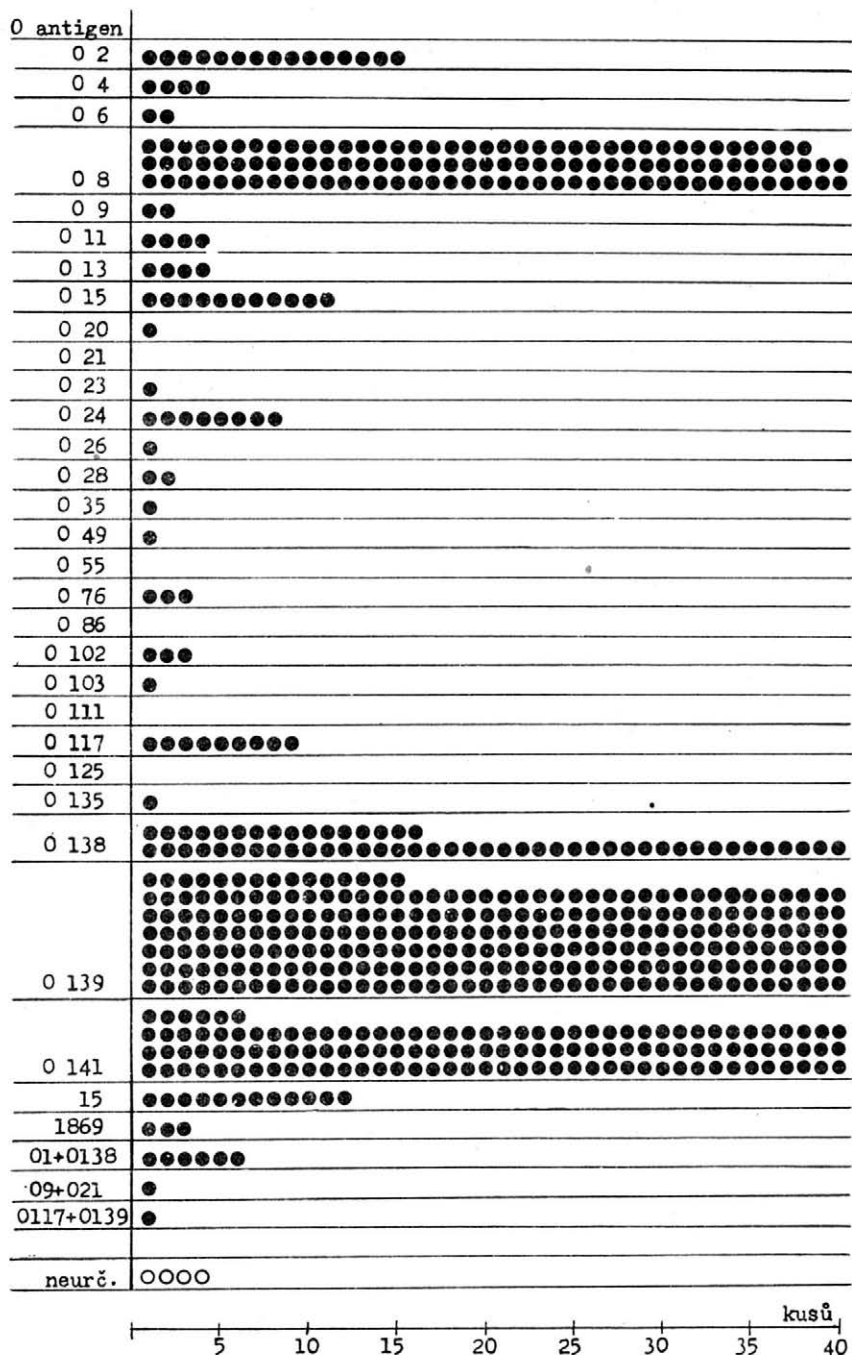
Vzorky krve pro vyšetření imunologické odezvy byly odebrány punkcí ušní žíly u 110 prasnic a 120 selat ve čtyřech chovech se stacionárním výskytem kolienterotoxemie. V sérech byl vyšetřován titr aglutininů proti O-antigenům a K-antigenům čtyř sérotypů *E. coli* specifických pro kolienterotoxemii prasat.

Sérotypizace kmenů *E. coli* a sérologické vyšetřování aglutininů v sérech prasat byly prováděny pomalou aglutinací metodikami podle Edwardse a Ewinga (1957). Aglutinační séra a srovnávací materiál byly stejné jako v předchozí práci (Salařka 1966).

Pro sledování koliformní flóry u selat po odstavu byl založen pokus na třech vrzích selat chovaných tak, že byla vyloučena většina faktorů označovaných za příčinu převládnutí hemolytických kmenů *E. coli* v zažívadlech těchto zvířat v období po odstavu. Kastrace kanečků byla provedena ve věku tři týdnů. Příkrmování selat před odstavem a krmení po odstavu bylo provedeno stejným způsobem s použitím krmiva o stejném složení. Selata byla odstavena ve stáří 8 týdnů tak, že byla ponechána v původních kotečích; přemístěny byly prasnice. Úbytek mateřského mléka byl nahrazen egalizovaným mlékem v dávce $\frac{3}{4}$ l na kus a den. Ošetřující osoba zůstala stejná. Jediná změna, kterou selata mohla pocítit, byl odchod prasnic-matek a s tím související náhrada mateřského mléka mlékem kravským.

V porostech ze vzorků trusu odebíraných z rekta selat po 19 dnů ode dne odstavu byl sledován poměr koliformních kolonií hemolytických a nehemolytických. Podle jejich zastoupení bylo denně od každého kusu zakládáno 5 kmenů z izolovaně vyrostlých kolonií. Sérologické vyšetření O-antigenů u takto získaných 2170 koliformních kultur bylo provedeno pomalou aglutinací s použitím osmi sér, kterými bylo možno určit somatické antigeny *E. coli* 02, 06, 08, 023, 0117, 0138, 0139 a 0141.

U uváděných tří vrhů pokusných selat byl v období od narození až do stáří



Graf 1. Kolienterotoxemie odstávčat. Frekvence séro skupin *E. coli* podle O-antigenů ze 656 případů onemocnění.

20 týdnů prováděn jednou týdně odběr krve. U sér ze všech odběrů u těchto selat a z několika odběrů u jejich matek byla vyšetřena hladina aglutininů proti O-antigenům a K-antigenům *E. coli* sérotypu 0139 : K82(B) a sérotypu stájového 0141 : K85(B).

VÝSLEDKY

A. AGLUTINAČNÍ URČENÍ O-ANTIGENŮ U KMENŮ *E. coli*

Tato typizace byla provedena u 713 kmenů izolovaných ze 656 terénních případů kolienterotoxemie. Jelikož u případů, kde bylo typováno více kmenů, byly zjištěny vždy shodné O-antigeny, je hodnocen každý kus jen jedním kmenem. Výsledek typizace je uveden na grafu 1.

Použitím 51 aglutinačních sér bylo z celkového počtu 656 případů zařazeno 652 případů (99,4 %) ke 25 různým séro skupinám *E. coli* podle O-antigenů. Převážná část případů — 87,4 % (555 kusů) byla zařazena ke 4 séro skupinám, a to: 0139 — 39 % (255 kusů), 0141 — 19,2 % (126 kusů), 08 — 18 % (118 kusů) a 0138 — 8,5 % (56 kusů). U malé části případů — 14,7 % (97 kusů) bylo možno zjistit některý z jiných 21 O-antigenů nebo ojedinělé kombinace 2—3 antigenů. 26 séry z používaných 51 nebyl aglutinován ani jediný kmen. Tato séra nejsou převážně v grafu uvedena. Nezařazeny zůstaly 4 případy (tj. 0,6 %).

B. IMUNOLOGICKÁ ODEZVA NA SÉROTYPY *E. coli* TYPICKÉ PRO KOLIENTEROTOXEMII

Kromě variabilních hodnot titrů aglutininu proti sérotypům 08 : K88(L), 0138 : K81(B) a 0141 : K85(B) byly ve všech případech zjištěny výrazné hladiny aglutininů proti sérotypu 0139 : K82(B). Na grafu 2 jsou uvedeny záznamy z protokolu o vyšetření aglutininu proti antigenům *E. coli* 0139 : K82(B) v lokalitě JZD Mistřice, kde byla u kusů uhynulých na kolienterotoxemii opětovně izolována hemolytická monokultura *E. coli* 0139 : K82(B).

U všech prasnic tohoto stáda byly zjištěny výrazné titry (1 : 40—320) aglutininů proti antigenu K82(B) a u většiny i proti antigenu 0139. U selat v raném postnatálním období jsou rovněž dosti vysoké hladiny aglutininů anti K82(B), které s postupujícím věkem klesají a ve stáří kolem 8 týdnů nabývají opět vyšších hodnot. U čtyř devítitýdenních selat před uhynutím na kolienterotoxemii byly zjištěny aglutininy proti K-antigenu stájového typu *E. coli* ještě v ředění 1 : 40 až 1 : 80. Aglutininy proti somatickému antigenu byly prokazatelné jen v nižším ředění.

Stejně výsledky byly získány i v jiných lokalitách s výskytem kolienterotoxemie selat po odstavu (VÚO Kroměříž, JZD Branišovice, VÚVL Brno).

C. KOLIFORMNÍ FLÓRA SELAT V OBDOBÍ PO ODSTAVU

Výsledky získané při sledování těchto poměrů u tří vrhů selat jsou uvedeny na grafech 3 a 4.

V den odstavu a v nejbližších následujících dnech byly v porostech ze vzorků trusu zjištěny pouze nehemolytické koliformní kolonie. Během druhé poloviny prvního týdne po odstavu se objevily u všech selat hemolytické porosty

označení prasnic											
4	07	10	11	12	13	16	17	23	24	28	29
30	31	37	39	40	41	46	58	59	61	90	93
94	96	97	204								
titr											
10	20	40	80	160	320	640	1280				
10	20	40	80	160	320	640	1280				

Prasnice :
aglutininy anti *E. coli*
0 139 : K 82(B)

stáří a označení selat

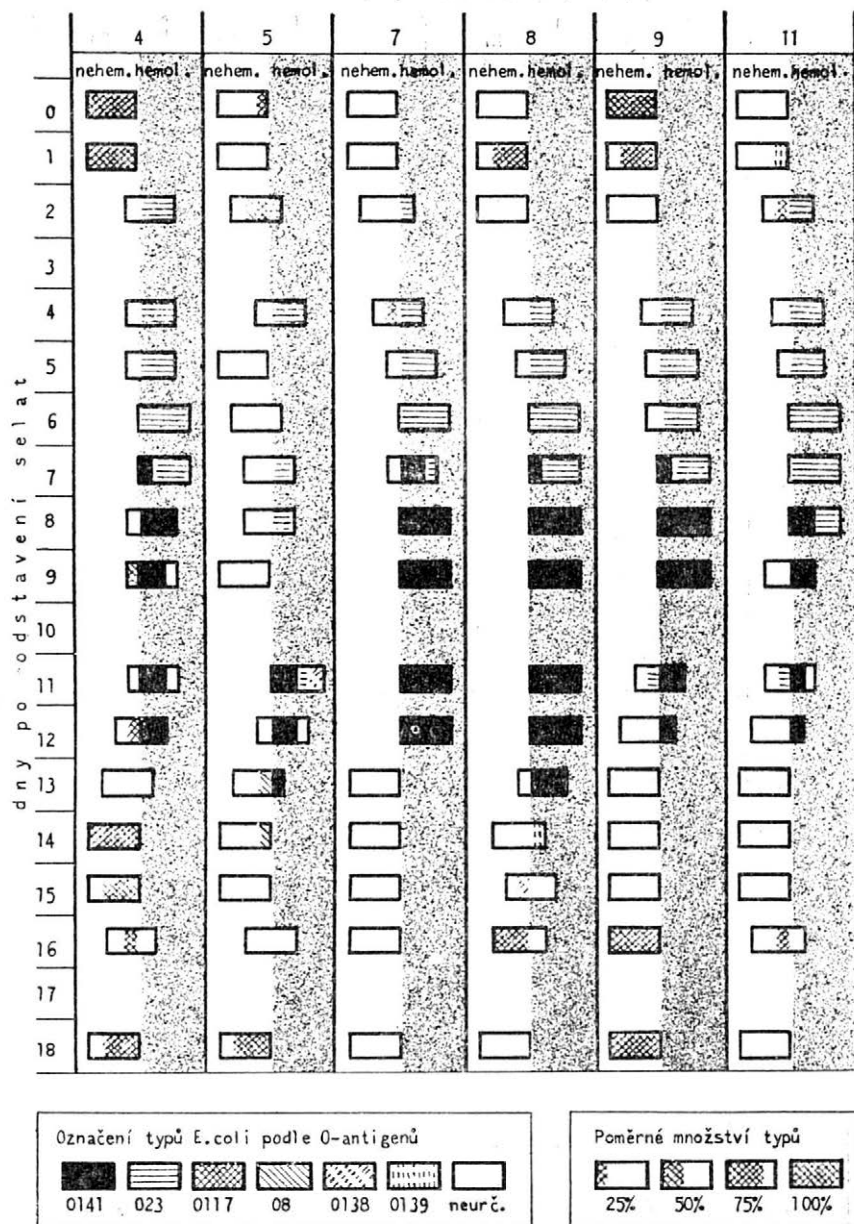
1 týden	2 týden	3 týden	4 týden	5 týden	6 týden	7 týden	8 týden	10 týden	12 týden
300 a b	4/9 a b	30 a b	11 a b	37 a b	13 a b	24 a b	4/8 a b	28 a b	b.č. a b
10	20	40	80	160	320	640	1280		
10	20	40	80	160	320	640	1280		

Selata :
aglutininy anti *E. coli*
0 139 : K 82(B)

selata tři dny před uhybnutím na kolienterotoxemi :

9 týdnů	54	58	61	63
	+	+	+	+
	+	+	+	+
	+	+	+	+
	+	+	+	+
	+	+	+	+
	+	+	+	+
	+	+	+	+
	+	+	+	+
	+	+	+	+

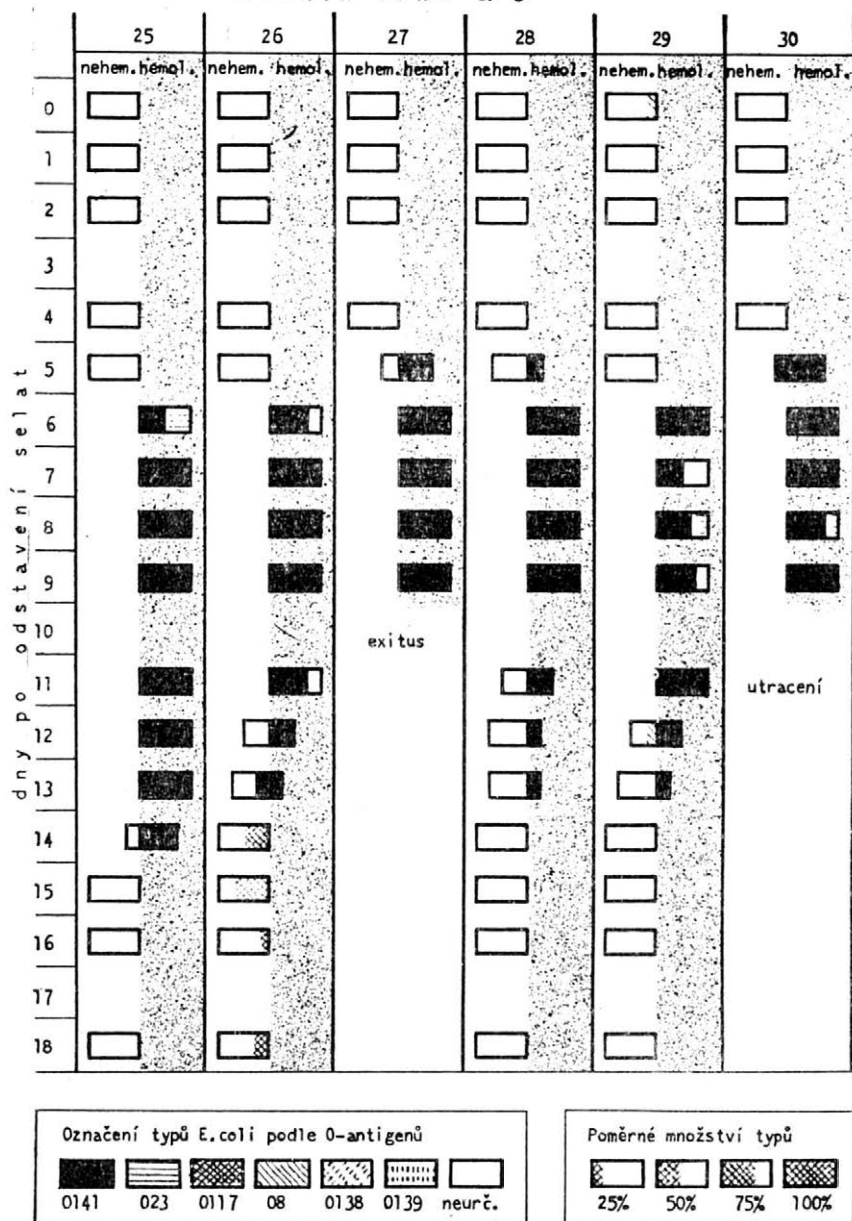
Graf 2. Kolienterotoxemie odstávčat. Sérologické vyšetření prasnic a selat s antigeny stáje specifického sérotypu *E. coli*. Chov prasat s enzootickým výskytem kolienterotoxemie u odstávčat (JZD Mistřice).



Graf 3. Dynamika koliformní flory v rektu selat v období po odstavu. Střídání různých sérotypů nehemolytických a hemolytických kmenů *E. coli* ve vrhu bez klinických příznaků kolienterotoxemie.

E. coli, které na několik dnů ve druhém týdnu úplně převládly a na počátku třetího týdne po odstavu opět vymizely. U selat ve vrhu č. 1 (graf 3) se v této době vystřídaly dva hemolytické sérotypy *E. coli*. Nejprve to byl sérotyp se somatickým antigenem 023 a pak sérotyp s antigenem 0141.

Selata vrhu č. 3



Graf 4. Dynamika koliformní flóry v rektu selat v období po odstavu. Střídání různých sérotypů mehemolytických a hemolytických kmenů *E. coli* u vrhu, v němž došlo k onemocnění kolienterotoxemií.

Stejně poměry byly zjištěny i u vrhu č. 2.

Ve vrhu č. 3 (graf 4) převládá ihned sérotyp s antigenem 0141. V tomto vrhu onemocnělo 9. den po odstavu sele č. 27 za příznaků typických pro kolien-

terotoxemii a následujícího dne uhynulo. V 11. den onemocnělo stejně sele č. 30 a bylo utraceno. U ostatních selat všech tří vrhů se v tento den projevilo nechutenství, doprovázené u několika kusů ve vrhu č. 3 vrávoravou chůzí. K dalším ztrátám již nedošlo, ačkoli nebyly provedeny žádné léčebné zákroky.

U selat po odstavu docházelo ke střídání různých sérotypů *E. coli* ve čtyřaž pětidenních intervalech. Při objevení se hemolytických sérotypů je nápadné jejich převládnutí až na monokulturu ve srovnání s poměry ve dnech jiných, kdy bylo možno u některých selat prokázat 3–4 sérotypy *E. coli* současně vedle sebe.

D. SÉROLOGICKÁ ODEZVA NA *E. coli* U PRASAT V SOUVISLOSTI S KRÁTKODOBÝM PŘEVLÁDNUTÍM PATOGENNÍHO SÉROTYPU *E. coli* V ENTERÁLNÍ FLÓRE V OBDOBÍ PO ODSTAVU

U všech 28 selat uváděných tří pokusných vrhů bylo prováděno jednou za týden sérologické vyšetření na přítomnost aglutininů proti antigenům *E. coli* 0139 : K82(B) a 0141 : K85(B), a to v období od narození až do stáří 20 týdnů. Na grafu 5 je uveden výsledek těchto vyšetření u jednoho namátkou vybraného kusu, který charakterizuje poměry u celého 28členného souboru těchto prasat. Všechna selata měla ihned po narození průkazné hladiny aglutininů proti somatickým antigenům 0139 a 0141 a proti povrchovému antigenu K82(B). Hladiny těchto protilátek postupně během tří týdnů klesaly. Od 8. týdne došlo opět k jejich zvýšení.

Aglutinyiny proti antigenu K85(B) se objevily teprve v 11. týdnu věku, tedy za 8–10 dnů po onemocnění v souvislosti s výskytem sérotypu *E. coli* 0141 : K85(B).

DISKUSE

V etiologii kolienterotoxemie selat po odstavu se i v ČSSR uplatňují hemolytické kmeny *E. coli* stejných sérotypů jako v jiných zemích. Svědčí o tom nález kmenů *E. coli* se somatickými antigeny 0139, 0141, 08 a 0138 u převážné většiny (87,4 %) z vyšetřovaných 656 selat uhynulých na kolienterotoxemii.

V chovech prasat s výskytem kolienterotoxemie lze zjistit u prasnic a selat výrazné titry aglutininů proti antigenům *E. coli* sérotypu 0139 : K82(B). Rovněž u selat před uhynutím na kolienterotoxemii byly tyto protilátky prokázány. Stejně sérologické nálezy zjistili i Bouckaert a kol. (1960) a Gitter, Lloyd (1957). Avšak někteří autoři (Buxton, Thomson 1961, Willinger 1964) uvádějí negativní výsledky při vyšetřování sér prasat z terénu na přítomnost aglutininů proti sérotypům *E. coli* specifickým pro kolienterotoxemii.

U prasat, která prodělala přirozenou infekci sérotypem 0141 : K85(B) a která měla prokazatelné aglutinyiny před onemocněním jen proti somatickému antigenu 0141, bylo možno prokázat i aglutinyiny proti povrchovému antigenu K85(B), a to za 10 dnů po převládnutí uváděného sérotypu *E. coli* v rektu. Je to zjištění odlišné od údajů Willingera (1964).

Dočasná převaha hemolytické kultury *E. coli* sérotypu specifického pro kolienterotoxemii se objevila u prasat po odstavu i v případě vyloučení téměř všech vnějších faktorů označovaných za příčinu této dysmikrobie. Jediným faktorem, který odstraněn nebyl, mohlo být náhlé odejmutí mateřského mléka obsa-

Sele č. 28 z vrhu č. 3, nar. 17.4.1965.

Titř aglutinini proti antigenům *E. coli*

		0141 : K85(B)						0139 : K82(B)					
		titř											
		10	20	40	80	160	320	10	20	40	80	160	320
dny odběru krve	18.4.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	21.4.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	26.4.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	3.5.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	10.5.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	17.5.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	24.5.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	31.5.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	7.6. x	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	14.6. *	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	21.6. *	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	28.6.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	5.7.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	12.7.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	19.7.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	26.7.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	2.8.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	9.8.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	16.8.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	23.8.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	30.8.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
		prasnice											
		10.4.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
		19.7.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
		30.8.	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##

x odstav 10.6. ; * onemocnění 21.6.

Graf 5. Sérologická odezva na *E. coli* u selat. Aglutininy proti povrchovému antigenu K85(B) se objevily v séru selete po krátkodobém převládnutí patogenního sérotypu *E. coli* 0141 : K85(B) v enterální flóře v období po odstavu.

hujícího specifické protilátky proti *E. coli* sérotypu 0139 : K82(B), event. i jiných sérotypů.

Okolnost odejmutí mateřského mléka jeví se jako dominantní pro vznik uváděné dysmikrobie při kolienterotoxemii v tom smyslu, že po dobu sání je růst stájově specifických patogenních kmenů potlačován protilátkami v mléce. Při odstavu je toto bakteriostatické agens odstraněno, takže patogenní stájově specifický sérotyp *E. coli* není v množení tlumen.

Přítomnost protilátek v krvi selat, podmíněná nejprve jejich příjmem prostřednictvím kolostra, může být pokládána za doklad pasivní sensibilizace selat proti druhově patogenním sérotypům *E. coli*. Mimořádně častý nález protilátek proti *E. coli* sérotypu 0139 : K82(B) se jeví nápadným v souvislosti s rovněž mimořádně častým nálezem tohoto sérotypu u kusů uhynulých na kolienteroto-

xemii a dále v souvislosti s úkazem, že tento zvlášť patogenní sérotyp není nacházen u kolienteritid selat novorozených.

Klinický průběh a patomorfologický nález u kolienterotoxemie prasat svědčí pro šok (S a l a j k a, G i l k a 1964. W e i l, S p i n k 1957). Možnosti sensibilizace a možnost ingesce značného množství endotoxinu podporují názor, že jde o šok anafylaktický nebo endotoxinový.

Ať již jde o jeden, nebo druhý z těchto dvou druhů šoku, mají oba pro svůj vznik jednu společnou podmínku, a to je enormní množství zárodků některého patogenního sérotypu *E. coli* v zažívadlech selat po odstavu. Jejich pomnožení může být podmíněno vymizením protilátek ve střevě, přijímaných s mlékem matky a účinkujících jako koproantilátky (O w e n a kol. 1961). Tyto protilátky mohou být během sání nepřímou příčinou útlumu aktivní tvorby koproantilátek proti těmto typům *E. coli* (K a u f f m a n n, P e r c h 1943). Jelikož hemolytické kmeny *E. coli* mají společný antigen, alfa hemolysin, a u prasat je uváděn častý výskyt protilátek proti této substanci (S m i t h 1963), není vyloučena zkřížená útlumová reakce mezi hemolytickými kmeny.

Vymizení patogenních sérotypů ze zažívadl selat po kritickém období může být způsobeno aktivní tvorbou specifických koproantilátek, jejichž důsledkem je objevení se specifických aglutininů proti dotčenému sérotypu *E. coli* v krevním séru.

SOUHRN

Sérologickou typizací hemolytických kmenů *E. coli* ze 656 případů kolienterotoxemie selat po odstavu byly určeny O-antigeny u 99,4 % kmenů. Většina případů (87,4 %) byla zařazena ke čtyřem séro skupinám se somatickými antigeny 0139 (39 %), 0141 (19,2 %), 08 (18 %) a 0138 (8,5 %).

V chovech s výskytem kolienterotoxemie prasat byly prokázány vysoké hladiny aglutininů proti sérotypu *E. coli* 0139 : K82(B).

Změna ve střevní flóře selat po odstavu, charakterizovaná objevením se hemolytických kmenů *E. coli*, není závislá na kumulaci řady změn v držení selat, ale pro její vznik stačí samotné vyřazení mléka matky. Přirozená několikanásobná infekce střeva selat kmenem *E. coli* 0141 : K85(B) ve stáří 9 týdnů byla doprovázena tvorbou specifických protilátek.

Převládající hemolytických, druhově patogenních sérotypů *E. coli* u selat ve druhém týdnu po odstavu ukazuje na souvislost s vymizením specifických imunoglobulinů ze střeva, přijímaných kontinuálně v období sání v mléce matek. Vymizení těchto sérotypů *E. coli* z enterální flóry lze vysvětlit aktivní lokální tvorbou specifických protilátek.

Došlo dne 30. 12. 1965

Technická spolupráce: Z. Šarmanová, A. Ráboňová.

Literatura

1. BOUCKAERT, J. H. - OYAERT, W. - SIERENS, R.: Gutödem beim Schwein. = „Dtsch. tierärztl. Wschr.“ 67, 1960, 349-351. — 2. BUTKO, M. P.: Immune milk. = „Trudy vsesojuz. Inst. vet. sanit.“ 22, 1963, 110-141. In: Vet. Bull. 34, 1964, 337-338. — 3. BUXTON, A. - THOMLINSON, J. R.: The detection of tissue-sensitizing antibodies to *Escherichia coli* in oedema disease, haemorrhagic gastro-enteritis and in norm. pigs. = „Res. vet. Sci.“ 2, 1961, 73-88. — 4. EDWARDS, P. R. - EWING, W. H.: Identification of Enterobacteriaceae. Minneapolis, Burgess Publishing Company, 1957,

- s. 179. — 5. ERSKINE, R. G. - SOJKA, W. J. - LLOYD, M. K.: The experimental reproduction of a syndrome indistinguishable from oedema disease. = „Vet. Rec.“ 69, 1957, 301-303. — 6. GILKA, F. - NESVADBA, J. - SALAJKA, E.: Enterotoxemie prasat vyvolaná hemolytickou variantou *Esch. coli*. = „Veterinářství“ IX, 1959, 48-51. — 7. GITTER, M. - LLOYD, M. K.: Haemolytic *Bact. coli* in the „bowel oedema“ syndrome. II. Transmission and protection experiments. = „Brit. vet. J.“ 113, 1957, 212-218. — 8. GREGORY, D. W.: Role of beta hemolytic coliform organism in edema disease of swine. = „Vet. Med.“ 50, 1955, 609-610. — 9. GREGORY, D. W.: Experimental edema disease (hemolytic *Escherichia coli* toxemia) in pigs and in mice. = „Am. J. vet. Res.“ 21, 1960, 88-94. — 10. HESS, E. - SUTER, P.: Die Ödemkrankheit des Schweines. = „Schweiz. Arch. Tierheilk.“ 100, 1958, 653-664. — 11. HOERLEIN, AB.: The influence of colostrum on antibody response in baby pigs. = „J. Immunol.“ 78, 1958, 112-117. — 12. KAUFFMANN, F. - PERCH Beate: Über die Coliflora des gesunden Menschen. = „Acta Pathol. Microbiol. Scand.“ 20, 1943, 201-219. — 13. KRETZSCHMAR, Ch.: Untersuchungen zur Coli-Enterotoxämie des Schweines. = „Mh. Vet. Med.“ 16, 1961, 891-901. — 14. LEMCKE, R. M. - BELLIS, D. B. - HIRSCH, A.: Preliminary observations on the relation of *Escherichia coli* to gut oedema of baby pigs. = „Vet. Rec.“ 69, 1957, 601-603. — 15. MILLER, E. R. - HARMON, B. G. - ULLREY, D. E. - SCHMIDT, D. A. - LUECKE, R. W. - HOEFER, J. A.: Antibody absorption, retention and production by the baby pigs. = „J. Anim. Sci.“ 21, 1962, 309-314. — 16. OWEN, B. D. - BELL, J. M. - WILLIAMS, C. M. - OAKES, R. G.: Effect of porcine immune globulin administration on the survival and serum protein composition of colostrum-deprived pigs reared in a non isolated environment. = „Canad. J. Anim. Sci.“ 41, 1961, 236-252. — 17. PASCUCI, S. - VARANI, A. - TESTI, F.: La „gastroenterite emorragica di coli emolitici“ dei suinetti. Osservazione e prove sperimentali. = „Vet. ital.“ 13, 1962, 933-954. — 18. PORTMANN, A.: Action des anticorps sur la croissance d'*Escherichia coli*. Presence de ces anticorps dans le lait de vache. = „Ann. Inst. Pasteur“, 103, 1962, 141-158. — 19. SALAJKA, E.: Příspěvek k problematice escherichios (koliinfekci) u selat v raném postnatálním období. = „Vet. Med.“ 11, 1966, 283-294. — 20. SALAJKA, E. - GILKA, F.: Koli-enterotoxemie prasat. = „Stud. inf. ÚVTI, řada Veterinářství, 1964, č. 4-5, s. 124. — 21. SEDLÁK, J. - RISCHÉ, H.: Enterobacteriaceae Infektionen. Leipzig, VEB Georg Thieme 1961, s. 480. — 22. SHANKS, P. L.: An unusual condition affecting the digestive organs of the pig. = „Vet. Rec.“ 50, 1938, 356-357. — 23. SIZARET, P. - RECLARD, P. - CARAES, Y. - VIRAT, B.: Aetiology of primary serum shocks. II. Demonstration of antibodies to horse serum in allergic piglets; nature of the antibodies; hypotheses on the sensitization of the mothers. = „Ann. Inst. Pasteur“ 105, 1963, 971-984. In: Vet. Bull. 34, 1964a, 205. — 24. SIZARET, P. - RECLARD, P. - CARAES, Y. - VIRAT, B.: Aetiology of certain „primary“ serum shocks. III. Reproduction of the phenomenon in guinea pigs and swine. = „Ann. Inst. Pasteur“ 105, 1963, 1103-1121. In: Vet. Bull. 34, 1964b, 338. — 25. SIZARET, P. - RECLARD, P. - CARAES, Y. - VIRAT, B.: Aetiology of certain „primary“ serum shocks. IV. Demonstration and explanation of the presence of horse antigens in a swine erysipelas vaccine. Demonstrations of these antigens in two other vaccines. = „Ann. Inst. Pasteur“ 106, 1964, 95-107. In: Vet. Bull. 34, 1964c, 280. — 26. SMITH, H. W.: The haemolysins of *Escherichia coli*. = „J. Path. Bact.“ 85, 1963, 197-211. — 27. SOJKA, W. J. - LLOYD, M. K. - SWEENEY, E. J.: *Escherichia coli* serotypes associated with certain pig diseases. = „Res. vet. Sci.“ 1, 1960, 17-27. — 28. SWEENEY, E. J. - SOJKA, W. J. - LLOYD, M. K.: Demonstrable antigens and a toxic factor in oedema disease of swine. = „Res. vet. Sci.“, 1, 1960, 260-263. — 29. THOMLINSON, J. R. - BUXTON, A.: A comparison of experimental anaphylactic shock in guinea-pigs with naturally-occurring oedema disease and haemorrhagic gastro-enteritis in pigs. = „Res. vet. Sci.“ 3, 1962, 186-202. — 30. THOMLINSON, J. R. - BUXTON, A.: Anaphylaxis in pigs and its relationship to the pathogenesis of oedema disease and gastroenteritis associated with *Esch. coli*. = „Immunology“ 6, 1963, 126-139. — 31. THOMLINSON, J. R.: II. Observations on the pathogenesis of gastro-enteritis associated with *Escherichia coli*. = „Vet. Rec.“ 75, 1963, 1246-1256. — 32. TIMONEY, J. F.: Oedema disease in swine. = „Vet. Rec.“ 69, 1957, 1160-1171. — 33. WEIL, M. H. - SPINK, W. W.: A comparison of shock due to endotoxin with anaphylactic shock. = „J. Lab. Clin. Med.“ 50, 1957, 501-515. — 34. WEINLAND, K. M.: Edema disease of swine. = „MSU Veterinarian“ 24, 1964, 68-69. — 35. WILLINGER, H.: Untersuchungen über das Auftreten hämolyserender Colibakterien beim Schwein und deren Beziehung zur Ödemkrankheit. = „Wiener tierärztl. Mschr.“ 51, 1964, 361-381, 441-466. — 36. WITTIG, W.: Untersuchungen über das Vorkommen verschiedener *Escherichia coli*-

-Serogruppen bei der Coli-Enterotoxämie des Schweines. = „Arch. Exp. Vet. Med.“ 17, 1963, 461-482. — 37. ZIMMERHACKEL, W.: Untersuchungen über Ausscheidung von beta-häm. E. coli bei Absatzferkeln. Ein Beitrag zur Coli-Enterotoxämie des Schweines. = „Mh. Vet. Med.“ 18, 1963 (Zusatzheft) 1-10.

К вопросу этиопатогенеза колиэнтеротоксемии поросят после отъема

Путем серологической типизации гемолитических штаммов E. coli из числа 656 случаев колиэнтеротоксемии после отъема определялись O-антигены у 99,4 % штаммов. Большинство случаев (87,4 %) относилось к 4 серогруппам с соматическими антигенами 0139 (39 %), 0141 (19,2 %), 08 (18 %) и 0138 (8,5 %).

В стадах с колиэнтеротоксемией свиней был обнаружен высокий уровень агглютининов по сравнению с серотипом E. coli 0139 : K 82 (B).

Изменения кишечной флоры поросят после отъема, отличающиеся наличием гемолитических штаммов E. coli, не зависят от кумуляции ряда изменений содержания поросят, для их возникновения достаточно уже отмена материнского молока. Естественное заражение кишок поросят в продолжение нескольких дней штаммом E. coli 0141 : K 85 (B) в возрасте 9 недель сопровождалось образованием специфических антител.

Преобладание гемолитических патогенных в видовом отношении серотипов E. coli у поросят на второй неделе после отъема свидетельствует о взаимозависимости с исчезновением специфических иммуноглобулинов, непрерывно принимаемых с материнским молоком в период подсоса. Исчезновение этих серотипов E. coli из кишечной флоры можно объяснить активным местным образованием специфических антител.

On the Views on the Etiopathogenesis of Coli-enterotoxaemia in Piglets after the weaning

By means of serological typing of haemolytic Esch. coli strains from 656 piglets suffering after the weaning from colienterotoxaemia, O-antigens were ascertained in 99.4 % of these strains. The majority of cases (87.4 %) was classified under 4 serogroups with somatic antigens 0139 (39 %), 0141 (19.2 %), 08 (18 %), and 0138 (8.5 %).

High levels of agglutinins against the Esch. coli serotype 0139 : K82(B) were demonstrated in the herds with the occurrence of colienterotoxaemia of pigs.

The change in the intestinal microflora of piglets after the weaning characterized by the appearance of haemolytic E. coli strains does not depend on the cumulation of a lot of changes in connection with the keeping of piglets, but the withdrawing of mother milk itself is sufficient to make the change arise. A natural, for several days lasting infection of the intestine of piglets at their age of 9 weeks with the E. coli strain 0141 : K85(B) was accompanied by the formation of specific antibodies.

The prevailing of haemolytic serotypes of E. coli pathogenic for the respective species in piglets in the 2nd week after the weaning points to the connection with the disappearing of specific immunoglobulins from the intestine received continually with mother milk during the sucking period. The disappearing of these serotypes of E. coli from the intestinal microflora may be explained by an active local formation of specific antibodies.

Beitrag zu den Ansichten auf die Ätiopathogenese der Coli-enterotoxämie der Ferkel nach dem Absetzen

Mittels der serologischen Typung der hämolytischen Stämme der E. coli von 656 Fällen der Coli-enterotoxämie der Ferkel nach dem Absetzen wurden die O-Antigene bei 99,4 % Stämmen festgestellt. In den meisten Fällen (87,4 %) wurde sie zu 4 Serogruppen mit somatischen Antigenen 0139 (39 %), 0141 (19,2 %), 08 (18 %) und 0138 (8,5 %) eingereiht.

In Zuchten mit der Coli-enterotoxämie der Schweine wurden hohe Niveaus der Agglutinine gegen den Serotyp des E. coli 0139 : K82(B) nachgewiesen.

Eine Veränderung in der Darmflora der Ferkel nach dem Absetzen, die durch das Erscheinen der hämolytischen Stämme der *E. coli* charakterisiert ist, ist nicht von der Kumulation einer Reihe von Änderungen der Ferkelhaltung abhängig, aber für ihre Auftretung reicht das alleinige Ausschalten der Muttermilch. Die natürliche, einige Tage ausdauernde Infektion des Ferkeldarmes durch *E. coli*, Stamm 0141:K85(B) im Alter von 9 Wochen wurde von der Bildung spezifischer Antikörper begleitet.

Das Vorwiegen der hämolytischen pathogenen Serotypenarten der *E. coli* bei Ferkeln in der zweiten Woche nach dem Absetzen weist auf den Zusammenhang mit dem Verschwinden der spezifischen Immunglobuline aus dem Darms, welche kontinuierlich im Zeitabschnitt des Saugens mit der Muttermilch aufgenommen werden. Das Verschwinden dieser Serotypen der *E. coli* aus der enteralen Flora kann man durch die aktive lokale Bildung der spezifischen Antikörper erklären.

Adresa autora:

MVDr. Eduard Salajka, prom. chemik, Výzkumný ústav veterinárního lékařství,
Brno - Medlánky

PŘÍSPĚVEK KE STUDIU SPECIFICKÉ KOLOSTRÁLNÍ IMUNITY U TELAT OD KRAV VAKCINOVANÝCH PROTI SLINTAVCE A KULHAVCE

II. SDĚLENÍ: PRŮKAZ IMUNITY PROTEKČNÍM TESTEM
A AKTIVNÍ TVORBA IMUNITY U TELAT PO VAKCINACI
V ČASNÉM POSTNATÁLNÍM OBDOBÍ

■ V předcházející práci (Šrubař, Jiranová 1966) jsme popsali přenos specifických protilátek z krav vakcinovaných proti slintavce adsorbátovou vakcínou na telata. V práci bylo rámcově poukázáno i na vztahy mezi hladinou protilátek v krvi dojnic, v kolostru a v krevním séru telat.

V této práci sdělujeme výsledky studia významu specifické kolostrální imunity při infekci telat virem Slak a při tvorbě aktivní imunity po vakcinaci adsorbátovou vakcínou.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Na solidní imunitu 3–6 dní starých telat, pocházejících od hyperimunizovaných krav, upozornil již v r. 1898 Löffler. Domníval se, že přenos protilátek se uskutečňuje intrauterinně.

Otázkou praktického významu specifické kolostrální imunity telat, zejména z hlediska vzniku aktivní imunity po vakcinaci, se zabýval v r. 1963 Graves. V pokusech na 2 telatech prokázal, že telata s kolostrální imunitou nereagují na vakcinaci aktivní tvorbou protilátek, pokud v krvi kolují specifické protilátky, přijaté z kolostra. Naproti tomu stejně stará telata od neočkovaných, neimunních dojnic vytvářejí po očkování protilátky.

Podobné výsledky byly zjištěny i při jiných nákazách. Mádr (1957) např. prokázal, že u telat od brucelózních krav po očkování v období kolostrální imunity živým kmenem B 19 nejen nedochází ke zvýšení hladiny specifických protilátek, ale naopak z krve dokonce vymizí. U stejně starých telat od zdravých krav (tj. bez specifické kolostrální imunity), vzniká po vakcinaci stejným antigenem protilátková odpověď.

K stejným závěrům dospěl při studiu reaktivity telat od brucelózních a zdravých krav na brucelózní antigen i Bisping (1962). Podobné práce s imunizací telat proti salmonelóze prováděla Malinina (1965). Také ona potvrdila, že telata od vakcinovaných krav vytvořila v období specifické kolostrální imunity po vakcinaci příslušné protilátky.

Z těchto, ale i z řady dalších prací by tedy vyplývalo, že imunologické procesy, které u mládat nejsou ostatně ani příliš intenzivní, jsou v období specifické kolostrální imunity tlumeny patrně kolostrálními protilátkami v krvi mládat.

K velmi zajímavým, nebo až překvapujícím výsledkům vzhledem k uvedeným poznatkům dospěli Dražan s Hejličkem (1964) při studiu kolostrální imunity při tuberkulóze u selat. Selata, očkováná v období specifické kolostrální imunity kmenem BCG vykazovala při pozdější infekci *Mycobacterium bovis* mnohem lepší odolnost než očkováná selata bez kolostrální imunity. Z toho lze tedy usuzovat, že kolostrální imunita je velmi složitým biologickým jevem, s určitými zláštnostmi při jednotlivých nákazách.

METODIKA

Význam specifické kolostrální imunity u telat ve vztahu k reakci na slintavkový antigen byl studován na různých starých telatech od imunizovaných a neočkovaných krav jednak experimentální infekcí telat, jednak vakcinací telat s následnou proovrkou imunity.

Experimentální infekcí byl prověřován vliv kolostrálních protilátek na 13 telatech ve stáří 16–86 dní a na telatech kontrolních od nevakcinovaných krav (viz tab. I).

I. Přehled pokusných telat použitých ke studiu

a) reaktivity na virus slintavky a kulhavky

Původ telat		Stáří telat při infekci ve dnech:
od vakcinovaných krav — počet	od nevakcinovaných krav — počet	
3		16–25
4		40–50
3		56–66
3		78–86
	5	18–25
	2	64–67
	2	92–93

b) imunity po vakcinaci telat od očkových a neočkovaných krav

Původ telat		Stáří telat ve dnech při:		
od vakcinovaných krav — počet	od nevakcinovaných krav — počet	vakcinaci	infekci	porážce
3		15–20	36–41	42–47
3		35–56	56–77	62–83
3		51–72	72–86	78–92
	3	20–21	41–42	47–48
	3	44–46	65–67	71–73
	4	69–72	90–93	96–99

Reaktivita telat na antigen, obsažený ve vakcíně byla studována na 9 telatech se specifickou kolostrální imunitou a na 10 telatech od neočkovaných krav (viz tab. I).

Pokusným telatům byla odebírána krev k vyšetření na přítomnost virusneutralizačních protilátek podle následujícího schématu:

- a) telatům infikovaným ve stáří 3 týdnů — jen před experimentální infekcí.
- b) telatům infikovaným ve stáří 6, 9 a 12 týdnů — 3 týdny před experimentální infekcí (vakcinovaným telatům byla krev odebírána před očkováním) a v den experimentální infekce. Kromě toho telatům se specifickou kolostrální imunitou, infikovaným ve stáří 9 a 12 týdnů ještě 46 dní před experimentální infekcí.

Metoda zjišťování hladiny protilátek je popsána v práci Š r u b a ř - J i r a n o v á (1966).

Telata byla očkována ve stáří 15—71 dní bivalentní adsorbátovou vakcínou (0, A) podkožně, dávkou 10 ml. Za 3 týdny po imunizaci byla telata infikována natřením virové suspenze typu A (10 000 ID₅₀/1 ml) na sliznici dutiny ústní.

Po infekci byl sledován zdravotní stav telat a po jejich porážce patologicko-anatomický nález.

VÝSLEDKY

Výsledky pokusných infekcí a hladina virusneutralizačních protilátek u telat od vakcinovaných i neočkovaných krav jsou přehledně uvedeny v tabulce II a III.

Všechna 3 telata první skupiny se specifickou kolostrální imunitou, infikovaná ve stáří 16—25 dnů byla solidně chráněna proti viru Slak. Solidní imunita byla prokázána i u telat starších např. u telete č. 8 ve stáří 42 dnů, u telete č. 194 ve stáří 49 dnů, u telete č. 195 ve stáří 56 dnů a u telete č. 93 ve stáří 66 dnů. Kolem 40. dne stáří však již některá telata po infekci onemocněla lehčí formou slintavky. Určitá chráněnost však byla zjištěna ještě u telat ve stáří do 86 dnů. Z našich pokusů vyplývá, že u většiny telat se specifickou kolostrální imunitou se protilátky prokazovaly až do dvouměsíčního stáří telat a že až do tohoto stáří byla telata dobře chráněna před onemocněním slintavkou.

Kontrolní telata od neimunizovaných krav, infikovaná ve stáří od 18 do 93 dnů virem Slak, onemocněla a nákaza u nich proběhla jako celkové těžké onemocnění.

Z tohoto celkového hodnocení tedy vyplývá, že telata od vakcinovaných krav, které byly očkovány nejméně 5 měsíců před porodem, jsou zpravidla po dobu dvou měsíců imunní vůči experimentální infekci virem Slak. U některých telat se kolostrální imunita udržela ještě déle než 2 měsíce. Ojedinelá telata však onemocněla lehce již ve stáří 40 dnů.

U telat se specifickou kolostrální imunitou, očkovaných ve stáří od 15 do 65 dnů, a za 3 týdny po vakcinaci infikovaných virem Slak typu A jsme zjistili, že u telat těchto věkových kategorií se po vakcinaci netvoří ještě dobrá imunita. Lze tak soudit z průběhu reakce telat na experimentální infekci. Reakce se u těchto telat v podstatě nelišila od průběhu reakce nevakcinovaných telat se specifickou kolostrální imunitou.

II. Výsledky experimentální infekce telat od očkovaných a neočkovaných krav

Číslo telete:	Maxim. titr protilátěk v krevním séru telete v pokusném období od narození do infekce	Titř protilátěk v krevním séru telete před infekcí	Infekce telete ve stáří dnů:	Intenzita onemocnění	Výsledky experimentální infekce
a) telata s kolostrální imunitou od očkovaných krav:					
509	0	0	16	0	Bez horečky a lokálních změn, tj. imunní
913 b	32	32	25	0	Bez horečky a lokálních změn, tj. imunní
913 j	16	16	25	±	Horečka, bez lokálních změn, tj. částečně imunní
164	8	4	40	+	Horečka a malé lokální změny, tj. částečně imunní
8	90,5	90,5	42	±	Bez horečky, malé lokální změny, tj. částečně imunní
194	8	4	49	0	Bez horečky a lokálních změn, tj. imunní
479	32	5,6	50	+	Horečka a malé lokální změny, tj. částečně imunní
195	128	5,6	56	±	Horečka, bez lokálních změn, tj. částečně imunní
93	8	4	66	±	Bez horečky, malé lokální změny, tj. částečně imunní
228	8	0	66	+++	Horečka a větší lokální změny, tj. částečně imunní
152	32	0	78	++	Horečka a lokální změny, tj. částečně imunní
234	0	0	86	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavé
192	8	0	86	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavé
b) telata bez specifické kolostrální imunity (od nevakcinovaných krav):					
495	0	0	18	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavé
721	0	0	22	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavé
158	0	0	23	+++	Horečka a větší lokální změny, tj. částečně imunní
493	0	0	25	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavé
344	0	0	25	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavé
32	0	0	64	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavé
57	0	0	67	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavé
606	0	0	92	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavé
329	0	0	93	+++	Horečka a větší lokální změny, tj. částečně imunní

Poznámka: ± neurčité symptomy onemocnění (horečka bez patologicko-anatomického nálezu nebo bez horečky s malým patologicko-anatomickým nálezem)
 + horečka a malé lokální změny
 ++ horečka a lokální změny
 +++ horečka a větší lokální změny
 ++++ generalizace

III. Výsledky imunizace různě starých telat od očkovaných a neočkovaných krav (imunita prověřena pokusnou infekcí)

Číslo telete	Maxim. titr proti-látek v séru telete v pokusném období od narození do infekce	Vakci-nace telat ve stáří dnů:	In-fekce telat ve stáří dnů:	Titr proti-látek v krev-ním séru telete		Intenzita onemo-cnění	Výsledky experimentální infekce
				před vakci-nací	před in-fekcí		
a) telata se specifickou kolostrální imunitou, očkovaná proti Slak 3 týdny před experimen-tální infekcí:							
217	8	15	36	8	—	0	Bez horečky a lokálních změn, tj. imunní
44	11,6	18	39	11,6	5,6	±	Bez horečky, malé lokální změny, tj. částečně imunní
37	64	20	41	64	64	0	Bez horečky a lokálních změn, tj. imunní
60	8	35	56	8	4	+++	Horečka a větší lokální změny, tj. částečně imunní
63	5,8	45	66	5,8	5,8	+	Horečka a malé lokální změny, tj. částečně imunní
360	45,2	50	71	4	0	+++	Horečka a velké lokální změny, tj. částečně imunní
189	8	51	72	0	0	+++	Horečka a velké lokální změny, tj. částečně imunní
123	64	62	83	0	0	+++	Horečka a velké lokální změny, tj. částečně imunní
481	11,6	65	86	0	0	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavé
b) telata bez specifické kolostrální imunity, očkované proti Slak 3 týdny před experimen-tální infekcí:							
9	0	20	41	0	0	+	Horečka a malé lokální změny, tj. částečně imunní
324	0	20	41	0	0	+++	Horečka a velké lokální změny, tj. částečně imunní
817	0	21	42	0	0	++	Horečka a lokální změny, tj. částečně imunní
758	0	44	65	0	0	±	Horečka bez lokálních změn, tj. částečně imunní
835	0	44	65	0	0	±	Horečka bez lokálních změn, tj. částečně imunní
76	0	46	67	0	0	++	Horečka a lokální změny, tj. částečně imunní
73	0	69	90	0	0	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavá
776	0	69	90	0	0	+	Horečka, malé lokální změny, tj. částečně imunní
239	0	69	90	0	0	++	Horečka a lokální změny, tj. částečně imunní
391	0	72	93	0	0	++++	Generalizace, tj. zcela vnímavá

Telata bez specifické kolostrální imunity, která byla očkována ve stáří od 20 do 72 dnů a po uplynutí 3 týdnů po vakcinaci infikována virem Slak typu A, však rovněž dávala velmi nespolehlivé a nepravidelné výsledky v tvorbě aktivní imunity.

DISKUSE

Výsledky pokusné infekce telat od vakcinovaných krav odpovídají empirickým poznatkům z praxe, kde se rovněž velmi často zjišťuje značná rezistence telat v průběhu epizootie Slak v zamořených hospodářstvích. V takových podmínkách, mláďata vakcinovaných zvířat buď vůbec ne onemocní, anebo hynutí mláďat ustává v době, kdy nemocné samice začínají kolostrem předávat mláďatům specifické protilátky. V našich experimentálních podmínkách byla telata dobře chráněna proti onemocnění do stáří 40 dnů resp. i starší telata, pokud však měla hladinu protilátek vyjádřenou ještě titrem alespoň 1 : 16. Značnou odolnost však vykazovala i telata do stáří 6 týdnů, u nichž již před infekcí nebyly zjištěny v krevním séru virusneutralizační protilátky. U telat 9 týdnů starých však nulové hodnoty titru dokládají značnou vnímavost k onemocnění. Zdá se, že ukazatelem doby, po kterou je tele chráněno, může být hladina počátečního titru specifických protilátek.

Druhá část pokusu, která měla objasnit možnosti vzniku imunity u telat s kolostrální imunitou po očkování inaktivovanou adsorbátovou vakcínou, odpovídá v podstatě rovněž zkušenostem z praxe, zejména pak v tom, že telata od vakcinovaných krav očkováná v prvních týdnech po narození bývají často při vzplanutí nákazy nedostatečně imunní. Při zavlečení slintavky do stáje s různě starým vakcinovaným skotem, bývá často mladý skot a odstavená telata vhodným terénem k pomnožení viru Slak. I v experimentálních podmínkách u vakcinovaných telat se specifickou kolostrální imunitou aktivní protilátková odpověď na vpravený slintavkový antigen ve včasném postnatálním období je příliš slabá. Nedostatečná imunita se ovšem vytvořila i u stejně starých telat od neočkovaných krav z čehož lze usoudit, že u telat do stáří 72 dnů probíhají imunobiologické reakce na inaktivovaný virový antigen proti slintavkové vakcíně vůbec nedostatečně, přičemž se u telat od vakcinovaných krav patrně na nedostatečných imunitních procesech uplatňuje i neutralizace inaktivovaného virového antigenu účinkem specifických kolostrálních protilátek.

Tvorba aktivní imunity u telat od nevakcinovaných i vakcinovaných krav, očkovaných ve stáří od 20 do 72 dnů inaktivovanou adsorbátovou vakcínou je tedy následkem ještě nedostatečně rozvinuté imunobiologické reakce velmi nespolehlivá a nepravidelná.

ZÁVĚR

V práci byla studována reaktivita různě starých telat se specifickou kolostrální imunitou a reaktivita stejně starých telat od nevakcinovaných krav na experimentální infekci virem Slak, resp. na inaktivovanou protislintavkovou vakcínu. Bylo zjištěno že:

1. Telata se specifickou kolostrální imunitou (od vakcinovaných krav, očkovaných alespoň 5 měsíců před porodem) byla ve všech případech do stáří 40 dnů imunní, avšak i u ostatních telat byla zjištěna dobrá imunita i ve stáří 42–66 dnů. Ve stáří kolem 2 měsíců a více se zjišťovala odolnost vůči Slak jen u telat s prokazatelnými specifickými protilátkami.

2. Telata se specifickou kolostrální imunitou, očkováná ve stáří 15–65 dnů bivalentní adsorbátovou vakcínou proti Slak nevytvořila po vakcinaci dostatečnou imunitu.

3. Prověrka imunity očkovaných telat bez specifické kolostrální imunity ve stáří 20–72 dnů ukazuje, že vakcinace u nich je velmi nespolehlivá a výsledky v tvorbě aktivní imunity jsou nepravidelné.

Došlo dne 30. 12. 1965

Literatura

1. BISPING, W.: Die Kolostralimmunität und ihre Auswirkungen auf die Brucelloseschutzimpfung bei Kälbern. = „Rindertuberkulose u. Brucellose“, 11, 1962, č. 4, s. 51-64. — 2. DRAŽAN, J. - HEJLIČEK, K.: Příspěvek ke studiu kolostrální imunity při tuberkulóze u selat. = „Veterinární medicína“, 6, 1964, s. 407-414. — 3. GRAVES, J. H.: Transfer of Neutralizing Antibody by Colostrum to Calves Born of Foot- and- Mouth Disease Vaccinated Dams. = „J. Immunol.“, 91, 1963, s. 251-256. — 4. LÖFFLER, F.: 1898, cit. podle BEREZNY, F. - RICHTER, J. - SZENZ-IVANYI, M.: Über die Immunität neugeborener Kälber gegen Maul- und Klauenseuche. = „Acta vet. Hung.“, 7, 1957, s. 391-396. — 5. MÁDR, V.: Reaktivita telat na brucelózní zárodky. Diskusné príspevky. = Pokroky vo výskume brucelózy. Bratislava, SAV, 1957, s. 231. — 6. MALININA, T. P.: Obrazovanie postvaccinálnych paratifozy-ných aglutinínov u teliat. = „Veterinarija“, 42, 1965, č. 4, s. 33-34. — 7. ŠRUBAŘ, B. - JIRANOVÁ, M.: Příspěvek ke studiu specifické kolostrální imunity u telat od krav vakcinovaných proti slintavce a kulhavce. I. Průkaz seroneutralizačních protilátek. = „Vet. medicína“ 5, 1966, s. 303-310.

К вопросу изучения специфического молозивного иммунитета у телят от вакцинированных против ящура коров — II-сообщение — Доказательство иммунитета путем защитного теста и активное образование иммунитета у телят после их вакцинирования в ранний период после рождения

В работе изучалась реагируемость телят различного возраста со специфическим молозивным иммунитетом, а также реагируемость телят того же возраста, происходящих от невакцинированных коров на экспериментальную инфекцию вирусом ящура или на инактивированную противоящурную вакцину. Было установлено, что:

1. Телята со специфическим молозивным иммунитетом (от вакцинированных коров, получивших прививку по меньшей мере за 5 месяцев до отела) до возраста 40 дней во всех случаях были иммунными, однако и у остальных телят в возрасте 42—66 дней был установлен хороший иммунитет. В возрасте 2 месяцев и больше устойчивость к вирусу ящура наблюдалась лишь у телят со специфическими антителами.

2. Телята со специфическим молозивным иммунитетом, которым делали прививку в возрасте 15—66 дней двухвалентной адсорбатовой вакциной против ящура, после вакцинации не приобрели достаточного иммунитета.

3. Проверка иммунитета привитых телят без специфического молозивного иммунитета в возрасте 20—72 дня показывает, что вакцинация у них очень ненадежна и результаты образования активного иммунитета нерегулярны.

On the Studies concerning Specific Colostral Immunity in the Calves of Cows Vaccinated against Foot-and-Mouth Disease — Report II. Demonstration of Immunity with the Help of the Protection-Test, and Active Immunity Formation in Calves following the Vaccination in the Early Postnatal Period

In this work the author studied the reactivity of calves of different ages possessing specific colostral immunity, and the reactivity of calves equally aged of non-vaccinated cows to the experimental infection with the foot-and-mouth disease virus, or to an inactivated vaccine against foot-and-mouth disease. It was ascertained that:

1. The calves possessing specific colostral immunity (the calves of vaccinated cows inoculated at last 5 months before the parturition) were all immune up to their age of 40 days, however also in the other calves a fairly good immunity was found even at the age 42—66 days. At the age of about 2 months and more the resistance against foot-and-mouth disease was found only in calves with significant specific antibodies.

2. The calves possessing specific colostral immunity that had been inoculated against foot-and-mouth disease with bivalent adsorbed vaccine when 15—65 days old, did not form any sufficient immunity after the vaccination.

3. The immunity-screening of the inoculated calves possessing no specific colostral immunity at the age of 20—72 days indicates that their vaccination is very unreliable, and that the results of an active immunity formation are irregular.

Beitrag zum Studium der spezifischen kolostralen Immunität der Kälber von Kühen, die gegen die Maul- und Klauenseuche vakziniert wurden — II. Mitteilung — Nachweis der Immunität mittels des Protektions-Testes und die aktive Bildung der Immunität bei Kälbern nach der Vakzination im zeitlichen postnatalen Zeitabschnitt

In der Arbeit wurde die Reaktivität von verschieden alten Kälbern mit einer spezifischen Kolostral-Immunität und Reaktivität von Kälbern gleichen Alters von nicht vakzinierten Kühen auf die experimentelle Infektion mittels des Maul- und Klauenseuchevirus, bzw. auf die inaktivierte Vakzine gegen die Maul- und Klauenseuche studiert. Es wurde folgendes festgestellt:

1. Die Kälber mit spezifischer Kolostral-Immunität (von vakzinierten Kühen, die mindestens 5 Monate vor dem Abkalben geimpft wurden), waren in allen Fällen bis zum Alter von 40 Tagen immun, aber auch bei übrigen Kälbern wurde eine gute Immunität im Alter von 42—66 Tagen festgestellt. Im Alter von ungefähr 2 Monaten und mehr haben wir die Widerstandsfähigkeit gegen die Maul- und Klauenseuche nur bei Kälbern, die nachweisbare spezifische Antikörper besitzen, festgestellt.

2. Kälber mit spezifischer Kolostral-Immunität, die im Alter von 15—65 Tagen, mit der bivalenten Adsorbat-Vaccina gegen die Maul- und Klauenseuche geimpft wurden, bildeten nach der Vakzination keine ausreichende Immunität.

3. Die Überprüfung der geimpften Kälber ohne der spezifischen Kolostral-Immunität im Alter von 20—72 Tagen zeigte, daß ihre Vakzination sehr unverlässlich ist und die Ergebnisse der Bildung der aktiven Immunität unregelmäßig sind.

Adresa autora:

MVDr. Bohumil Šrubař, VŠZ, veterinární fakulta, katedra epizootologie a veřejného veterinářství, Brno, Palackého 1-3

■ Cesta spermií pohlavními orgány samice až po kraniální části vejcovodů trvá, ať už po inseminaci, či po koitu zpravidla několik hodin. Během této doby jednak množství spermií odumírá, na druhé straně jsou však zbylé spermie aktivovány a získávají tak penetrační schopnost. Mechanismus této tzv. kapacitace není však dosud zcela objasněn.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Podle Changa (1959) probíhá kapacitace v uteru, a to jak u samic v říji, tak i u samic infantilních a kastrovaných. Podobně soudí Williams a kol. (1964). Rovněž Lunca (1962), který přidával děložní extrakt do spermatu, zjistil zvýšení březosti po I. inseminaci. O vlivu bakterií, jejichž množství v infikovaném spermatu po dobu jeho uskladnění obvykle stoupá, existují zprávy poněkud rozdílné. Podle Zvereva (1964) vývoj mikrobů snižuje fertilitu spermií, podle Poláka (1961) je tento úkaz pozorován až při velmi silných infekcích a Hruška s kol., (1963) zjistil, že pouze rod *Enterobacteriaceae* zvyšuje spotřebu O_2 spermiemi a zpomaluje jejich pohyblivost. Podle Jablonského (1963) mikroby pohlcují značné množství O_2 a využívají fruktózu.

V souvislosti s výše uvedenými skutečnostmi jsme se zabývali metabolickými změnami u spermií za působení sekretů jednotlivých částí pohlavních orgánů krav v období říje (Čermák 1965). Zjistili jsme, že sekrety vejcovodů, dělohy a pochvy udržely, během pětihodinové expozice, respirační hodnoty spermií na stejné výši, zatímco u folikulární tekutiny a kontrolních pokusů nastal jejich pokles.

Fruktolýza byla stejná u všech pokusných skupin. Úbytek bílkovin se projevil pouze u dvou skupin, jež vykazovaly silnou mikrobiální infekci. V ostatních pokusech se množství bílkovin zvýšilo. Sekret vejcovodů, dělohy a vestibula působil stimulačně na množení mikrobů v ředěném spermatu. Vliv folikulární tekutiny se v tomto směru neprojevil.

V předložené práci se zabýváme stejnou problematikou, avšak řešenou u plemenic v luteální fázi pohlavního cyklu.

MATERIÁL A METODIKA

Semeny bylo získáváno od dvou býků s normálním krmením a exploatačním režimem běžným v plemenářském provozu. Ihned po odběru byla zjištěna koncentrace spermií v ejakulátu, procento spermií živých, hladina fruktózy a bílkovin, rezistence spermií a mikrobiální znečištění spermatu. Od zkoušky dehydrogenace bylo, stejně tak jako od měření pH, vzhledem k jejich menšímu významu pro uvedený účel, upuštěno. Po odebrání vzorků nutných ke zkouškám bylo sperma předředěno žloutkocitrátovým ředidlem běžného složení a po zjištění koncentrace spolu s procentem živých spermií bylo doředěno tak, aby v 1 ml bylo 300,000,000 pohyblivých spermií. Ředěné sperma jsme rozdělili zpravidla na pět dílů: první díl byl ponechán jako kontrolní, k druhému byla přidána neředěná folikulární tekutina v množství 0,2 ml na 1 ml semena, ke třetímu hlen z vejcovodů ředěný 1:3 sterilním fyziologickým roztokem, opět v množství 0,2 ml/1 ml semena. Ke čtvrtému dílu jsme přidali hlen z dělohy a k pátému hlen z pochvy — oba ve stejném ředění a množství jako u předchozího třetího dílu. Uvedené sekrety byly získávány z pohlavních orgánů čerstvě poražených krav a jalovic pohlavně dospělých. v říji, bez patologicko-anatomického nálezu. Genitálie byly vždy rozříznuty po délce a hranou sterilního podložního sklička stírán hlen ze sliznice dělohy a předsíně poševní. Hlen z vejcovodů byl po jejich vyptívání vytlačen do zkumavky a stejně tak i tekutina z nabodnutých Graafových folikulů. Hlen z vejcovodů, dělohy a pochvy jsme ředili fyziologickým roztokem jednak z důvodů konzervačních a potom hlavně proto, abychom získali jeho tekutou (tedy nikoliv lepkavou) konzistenci. Sekret byl ředěn ve všech případech a vždy ve stejném poměru (1 díl původního sekretu + 2 díly fyziologického roztoku). Takto naředěné hleny včetně folikulární tekutiny jsme uchovávali po dobu nejdále 3 dnů v chladnici při teplotě 0° — $+10^{\circ}$ C. Celkem bylo použito genitálií od 20 krav a jalovic, s nimiž bylo provedeno 45 pokusů, takže se sekrety každé plemene byly vykonány 2—3 pokusy. 21 pokusů bylo kontrolních. Sperma obou plemenů se v pokusech střídalo.

Jakmile byly všechny díly ejakulátu připraveny výše popsaným způsobem, odebrali jsme znovu vzorky ke stanovení % živých spermií, rezistence, množství mikrobů, hladiny fruktózy a bílkovin. Po 1 ml z každého dílu bylo odpipetováno k měření respirace. Nádoby Warburgových manometrů, v nichž bylo dýchání měřeno, byly ponořeny ve vodní lázni 38° C s maximálními výkyvy $\pm 0,2^{\circ}$, obvykle však $\pm 0,1^{\circ}$ C. Doba expozice byla stanovena na 5 hodin. Vycházela jednak z předpokladu optimální oplozovací lhůty (od odběru do skončení pokusu uběhlo vždy cca 7 hodin) a jednak z výsledků předběžných pokusů. Při delší expoziční době totiž hodnoty měření byly velmi často pro úplnou nekrospermii nulové. Respirace byla sledována od 0 do 0,30 hodin a od 4,30 do 5 hodin s odečítáním po 10 minutách. Po pěti hodinách bylo jak ředěné sperma kontrolní, tak i sperma v prostředí sekretu sliznic pohlavních orgánů podrobeno stejným zkouškám jako na začátku pokusu. Získané hodnoty byly potom přepočítány na počet 10^9 spermií (živých) na začátku, s velkým podílem mrtvých však na konci pokusu) a výsledky porovnány s kontrolami za použití variačně statistického vyhodnocení.

POUŽITÉ METODY

Fruktóza v semeni byla stanovována fotokolorimetricky, reakcí podle Manna, celková hladina bílkovin polarograficky v amoniakálním prostředí, za přítomnosti trojmocného kobaltu. Vyhodnocování polarogramů bylo prováděno v relativních hodnotách, tj. na základě vzdálenosti v mm, v níž protíná úsečku křivka následující po charakteristické bílkovinné dvojlně. Jako výsledek byl hodnocen úbytek či přibývání výšky po 5 hodinách na rozdíl od hodnot počátečních. V tabulkách je úbytek značen znaménkem — a přibývání +.

Množství mikrobů (celkem) jsme zjišťovali metodou podle Kazdy (Polák 1961). Živé spermie byly počítány v nativním preparátu ředěném citrátem sodným tak, aby byly jednotlivě počítatelné. Preparát prohlížen mikroskopem s fázově kontrastním zařízením a počítáno průměrné procento pohyblivých spermií z 20 zorných polí. Hustota spermií byla zjišťována pomocí fotokolorimetru, zkouška rezistence na základě odolnosti spermií vůči zvyšovanému objemu 10% roztoku NaCl. Respiraci spermií, tj. spotřebu kyslíku a výdej kysličníku uhlíčitého jsme měřili ve Warburgově přístroji. Rychlost třepání manometrů byla upravena na 95—100 kyvů za mi-

nutu. Variačně statistické hodnocení výsledků bylo prováděno pomocí následujících hodnot:

$$\text{aritmetický průměr } M = \frac{\Sigma(x)}{n}$$

$$\text{hodnota B} = \Sigma(x)^2 - M \cdot \Sigma(x)$$

$$\text{směrodatná odchylka } \sigma = \sqrt{\frac{B}{n-1}}$$

$$\text{střední chyba průměru } \sigma_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

$$\text{variační koeficient } v = \frac{1}{M} \cdot 100 \sigma$$

$$\text{průkaznost podle t testu} = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\sigma m_1^2 + \sigma m_2^2}} \quad \begin{matrix} \text{(pro stejný} \\ \text{počet případů)} \end{matrix}$$

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\frac{B_1 + B_2}{n_1 + n_2} \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}}} \quad \text{(pro nesterýný počet případů)}$$

POKUSY A JEJICH VÝSLEDKY

V tabulkách I.—IV. je uveden vývoj metabolismu O_2 a CO_2 od 0 do 0,30 hodin a od 4,30 do 5,00 hodin jednak u kontrolního spermatu pouze ředěného a jednak u spermatu s přidáním sekretu tubárního, děložního a vestibulárního. Kromě toho jsou v tabulkách popsány výsledky z měření metabolismu fruktózy, bílkovin, změny v počtu pohyblivých spermií, jejich rezistence a množení bakterií během expoziční doby.

Přidání hlenu z vejcovodů, dělohy a vestibulu se projevilo takto: v první půlhodině nebyla zaznamenána průkazná změna respiračních hodnot spermatu u žádného ze jmenovaných sekretů. Ke konci pokusu však byla naměřena průkazně vyšší spotřeba O_2 i výdej CO_2 u semena s přidavkem sekretu tubárního (PO_2 , $CO_2 = 0,01$), sekretu vestibulárního (PO_2 , $CO_2 = 0,01$) i děložního ($PO_2 = 0,02$, $PCO_2 = 0,01$). U spermatu kontrolního došlo ke konci pětihodinové respirační doby k výraznému snížení hodnot výměny obou plynů. Rozdíly jsou statisticky významné ($PO_2 = 0,01$, $PCO_2 = 0,01$). V hodnotách respiračního kvocientu nebylo zjištěno rozdílů u žádné pokusné skupiny.

Přeměna fruktózy byla na stejné úrovni jak u kontroly, tak i u všech ostatních ejakulátů v prostředí jednotlivých sekretů. Průměrný index fruktolýzy u všech pokusů je 1,37.

Pokud se týká metabolismu bílkovin, byla jejich syntéza u kontrolních ředěných ejakulátů 2,84. Průkazně vyšší byla pouze u semena s přidavkem hlenu z dělohy. Úbytek bílkovin však nastal u spermatu obsahujícího hlen z vejcovodů.

Během pětihodinové expozice ubylo v kontrolní skupině průměrně 71 % pohyblivých spermií. Průkazně nižší úbytek byl zaznamenán pouze u spermií s děložním hlenem ($P = 0,01$).

Snížení rezistence bylo nejvyšší v kontrolní skupině a průkazně nižší ve spermatu s obsahem hlenu tubárního ($P = 0,02$) a uterinního ($P = 0,01$) kromě spermatu s obsahem hlenu vestibulárního. Ve všech případech došlo během pokusu k výraznému pomnožení mikrobů. Zvýšení je všude signifikantní ($P = 0,01$). Přitom na začátku pokusu bylo ve všech skupinách stejné množství mikrobů.

I. Kontrola

Metabolismus O_2 a CO_2 během 5 hodin (10^9 spermií)								Přeměna fruktózy/ 10^9 sper- mií	Přeměna bílkovin	Úbytek živých spermií za 5 hod.	Úbytek rezist. za 5 hod.	Vývoj mikroflóry během 5 hod.	
Pokus	Býk	0—0,30 hod.			4,30—5,00 hod.			úbytek frukt. v mg	úbytek či přibývání v relat. hodn.	ztráta po- hyblivosti v %	v tisících	počet mikro- bů na zač. v tisících	úbytek či množení za 5 hod. v tisících
		O_2	CO_2	RQ	O_2	CO_2	RQ						
1.	R	67,6	75,4	1,11	15,6	10,8	0,67	8,32	-73	66	10	190	500
2.	R	72,8	53,8	0,73	0	0	0	16,63	-33	69	30	150	300
3.	R	20,8	26,9	1,29	15,6	0	0	9,99	+49	78	30	210	-75
4.	R	77,9	53,8	0,69	46,7	37,7	0,80	5,66	-86	73	35	285	580
5.	R	25,9	26,9	1,03	10,4	16,2	1,55	5,99	-	80	30	1 185	1 515
6.	R	46,8	66,6	1,42	10,4	26,9	2,58	2,33	+39	50	30	610	2 870
7.	R	46,8	107,7	2,30	36,4	32,3	0,89	11,65	+26	80	15	150	840
8.	Š	89,0	84,7	0,95	39,6	36,9	0,93	4,99	+9	85	35	-	-
9.	R	54,4	53,1	0,97	24,7	15,9	0,64	9,99	+33	80	15	990	600
10.	Š	10,4	0	0	58,2	16,2	0,27	0	-	70	45	570	1 410
11.	Š	62,4	59,2	0,95	10,4	53,5	5,10	13,32	-16	70	20	2 970	-2 460
12.	Š	72,8	86,2	1,18	26,0	26,9	1,03	1,66	-	60	15	200	340
13.	R	77,9	91,5	1,17	5,2	0	0	8,49	+39	65	0	300	4 700
14.	R	67,6	52,2	0,77	20,8	37,7	1,81	8,65	-29	35	12,5	600	210
15.	R	67,6	64,6	0,95	31,2	32,3	1,04	10,65	+13	80	30	1 305	3 695
16.	R	46,8	59,2	1,26	26,0	20,0	0,76	5,66	m129	55	15	60	360
17.	R	62,4	64,7	1,03	26,0	10,8	0,41	10,98	+16	70	7,5	720	-20
18.	Š	72,8	64,6	0,88	62,4	16,2	0,25	1,66	-33	70	25	0	150
19.	R	63,2	43,1	0,68	10,4	20,0	2,00	6,66	-26	90	40	300	0
20.	R	46,8	48,4	1,03	0	0	0	-	-26	85	20	0	2580
21.	R	57,2	48,5	0,84	57,2	37,7	0,65	11,65	+23	80	25	165	415
Σ		1209,9	1231,1	21,23	533,2	448,0	21,38	154,93	+54	1491	485	10 960	18 500
M		57,6	58,6	1,01	25,4	21,3	1,01	7,37	+ 2,84	71,0	23,1	548	925
B		9949	11253	3,42	7079	4539	27,28	407	7379	3394	2639	8 934 820	40 071 645
σ		22,2	23,7	0,42	18,8	15,0	1,6	4,4	18,9	13,0	11,5	668	1 415
σm		4,8	5,1	0,09	4,1	3,2	0,3	0,96	4,1	2,8	2,5	145,8	336
v		38,5	40,4	41,58	74,04	70,32	158,4	59,7	66,54	18,30	49,8	121,9	152,8

II. Sekret vejcovodů

Metabolismus O_2 a CO_2 během 5 hodin (10^9 spermií)								Přeměna fruktózy 10^9 spermií	Přeměna bílkovin	Úbytek živých spermií za 5 hod.	Úbytek rezist. za 5 hod.	Vývoj mikroflóry během 5 hod.	
Pokus	Býk	0—0,30 hod.			4,30—5,00 hod.			úbytek frukt. v mg	úbytek či přibývání v relat. hodn.	ztráta pohyblivosti v %	v tisících	počet mikrobů na zač. v tisících	úbytek či množení za 5 hod. v tisících
		O_2	CO_2	RQ	O_2	CO_2	RQ						
1.	R	35,5	18,4	0,51	47,3	104,2	2,20	2,08	—62	80	30	280	5 000
2.	Š	z technických důvodů neodečítáno						4,16	—12	73	25	630	3 180
3.	Š	90,7	118,3	1,30	142,5	184,0	1,29	13,7	—33	20	5	3 000	4 000
4.	Š	131,2	120,6	0,91	118,7	107,2	0,90	2,08	—	18	10	450	5 000
5.	R	7,3	6,5	0,89	73,0	71,2	0,97	18,7	—20	0	+7,5	2 000	3 000
6.	R	73,3	57,6	0,78	25,9	50,4	1,94	8,73	+33	30	20	2 505	2 500
7.	R	97,3	37,8	0,38	152,0	169,9	1,11	10,4	0	85	12,5	600	4 400
8.	R	68,7	46,9	0,68	199,9	227,7	1,13	11,2	+33	90	5	1 830	3 150
9.	R	13,0	0	0	31,6	0	0	11,2	+24	90	25	2 190	2 800
Σ		517,0	406,1	5,45	790,9	914,6	9,54	82,25	—37	486	125	13 485	33 030
M		64,6	50,8	0,68	98,9	114,3	1,19	9,13	— 4,11	54,0	13,9	1 498	3 670
B		13021	15040	1,0	27840	39263	3,16	248	1203	10534	1065	8 257 295	7 264 800
σ		43,1	46,3	0,37	63,0	74,8	0,67	5,9	13,0	38,8	12,3	10,5	1 018
σm		15,2	16,4	0,13	22,3	26,5	0,23	1,9	4,3	12,9	4,1	338,3	339
v		66,7	91,2	54,4	63,7	65,4	56,3	64,6	31,6	71,8	88,6	67,7	27,7

III. Sekret dělohy

Metabolismus O_2 a CO_2 během 5 hodin (10^9 spermií)								Přeměna fruktózy (10^9 spermií)	Přeměna bílkovin	Úbytek živých spermií za 5 hod.	Úbytek rezist. za 5 hod.	Vývoj mikroflóry během 5 hod.	
Pokus	Býk	0—0,30 hod.			4,30—5,00 hod.			úbytek fruktózy v mg	úbytek či přibývání v relat. hodn.	ztráta pohyblivosti v %	v tisících	počet mikr. na začátku v tisících	úbytek či množení 5 hod. v tisících
		O_2	CO_2	RQ	O_2	CO_2	RQ						
1.	Š	66,2	61,9	0,93	48,0	73,2	1,52	4,16	+79	68	20	3 300	1 800
2.	Š	75,0	80,4	1,07	156,2	170,9	1,09	12,4	+83	15	5	3 510	4 000
3.	R	50,0	33,5	0,67	54,7	69,2	1,26	7,9	—20	30	0,2	690	4 000
4.	R	93,7	73,7	0,78	112,5	60,3	0,53	5,40	+83	20	5	2 160	2 800
5.	R	81,2	80,4	0,99	39,2	45,1	1,15	4,57	+20	5	5	500	4 400
6.	Š	50,0	151,1	3,02	0	0	0	2,08	—16	70	0	675	165
7.	Š	91,4	77,4	0,84	13,1	12,9	0,98	2,08	—16	70	0	600	300
Σ		507,5	558,4	8,30	425,7	431,6	6,53	38,59	+213	278	35,2	11 535	17 465
M		72,5	79,7	1,18	60,8	61,6	0,93	5,51	+ 30,4	39,7	5,02	1 647	2 495
B		7795	7532	4,05	18173	18583	1,56	79,52	13028	4945	298,3	10 529 280	18 982 050
σ		36,3	35,4	0,82	55,2	55,6	0,50	3,64	46,7	28,6	7,0	1 327	1 779
σm		13,7	43,4	0,31	20,9	20,9	0,18	1,3	17,6	10,8	2,6	502,6	673
v		50,0	44,4	69,5	90,8	90,2	53,7	66,0	153,6	72,0	139,3	80,6	72,3

IV. Sekret vestibula

Metabolismus O_2 a CO_2 během 5 hodin (10^6 spermií)								Přeměna fruktózy (10^9 spermií)	Přeměna bílkovin	Úbytek živých spermií za 5 hod.	Úbytek rezist. za 5 hod.	Vývoj mikroflóry během 5 hod.	
Pokus	Býk	0—0,30 hod.			4,30—5,00 hod.			úbytek frukt. v mg	úbytek či přibývání v relat. hodn.	ztráta pohyblivosti v %	v tisících	počet mikr. na začátku v tisících	úbytek či množení za 5 hod. v tisících
		O_2	CO_2	RQ	O_2	CO_2	RQ						
1.	Š	73,3	86,8	1,07	42,7	55,3	1,29	2,08	+ 137	44	35	1 830	1 850
2.	R	z technických důvodů neodečítáno						2,08	+ 29	70	20	1 050	3 450
3.	R	110,1	118,3	1,18	64,7	85,4	1,31	7,07	+ 37	55	0,2	540	4 000
4.	R	65,3	58,0	0,88	156,7	154,8	0,98	9,98	— 41	65	5	4 440	1 000
5.	R	50,0	40,2	0,80	31,2	33,5	1,07	12,4	— 62	65	20	510	4 500
6.	R	65,3	51,6	0,79	97,9	96,7	0,98	11,2	— 62	65	20	450	4 500
7.	R	18,7	20,1	1,07	174,9	167,4	0,95	—	+ 29	75	14,8	270	4 700
8.	R	57,9	81,5	1,40	142,4	135,4	0,95	—	+ 4	80	9,8	630	4 300
Σ		440,6	456,5	7,19	710,5	728,5	7,53	44,81	+ 71	519	124,8	9 720	28 300
M		62,9	65,2	1,02	101,4	104,0	1,07	7,46	+ 8,6	64,8	15,6	1 215	3 537
B		4472	6449	0,33	19931	15328	0,18	103,1	11855	894	818,3	13 579 200	13 394 750
σ		27,2	32,7	0,22	57,6	50,5	0,17	4,5	41,1	11,2	10,7	1 392	1 386
σm		10,3	12,3	0,08	21,8	19,1	0,06	1,8	14,5	3,9	3,7	493,6	491
v		43,2	50,1	21,56	56,8	48,5	15,9	60,3	47,7	17,3	68,6	114,6	39,2

DISKUSE

Z popsaných výsledků pokusů je zřejmý jistý příznivý vliv sekretů téměř všech částí samičího genitálu v metestru na přežitelnost a rezistenci býčích spermií při tělesné teplotě, což souhlasí s pozorováními Changa (1959), Williamse (1964), Luncy (1962) a našimi pokusy se zvířaty v období estru (Čermák 1965). V respiračních pokusech na začátku a na konci expoziční doby bylo zjištěno, že u kontrolního ředěného spermatu klesla spotřeba O_2 a výdej CO_2 více než o polovinu, zatímco u spermatu v prostředí sekretů z genitálií samice se ke konci pokusu udržela na stejné výši jako na začátku. Inhibiční účinek v tomto směru ukázala pouze tekutina Graafových váčků v období předříjovém i estrálním a uterinní sekret získaný v době říje (Čermák 1965). Lze tedy soudit, že i respirace spermií je prostředím samičích pohlavních orgánů v převážné míře aktivována.

Zjištěný index fruktolýzy odpovídá Mannovým požadavkům (1,4 až 2 mg/hod.), avšak mezi jednotlivými pokusnými skupinami nebylo prokazatelných rozdílů. Úbytek fruktózy byl stejný jak u semen s vysokou, tak i nízkou respirační činností. Nebyl ani pozorován zřetelný vliv mikrobů na metabolismus fruktózy, jak uvádí ve své práci Jablonskij (1963). Nebyla rovněž zjištěna souvislost s metabolismem bílkovin. Nelze také říci, že by spermie vyčerpaly nejdříve všechny zásoby fruktózy a teprve potom přešly na jiné živiny. Tam, kde počáteční hladina fruktózy byla vysoká, zůstávala i ke konci pokusu ještě její určitá hladina v semeni. To znamená, že některé sekrety samičího genitálu ovlivnily pouze respiraci a nikoliv fruktolýzu, tj. spermie mohly čerpat energii rozkladem látek jednodušších (mastných kyselin, lipidů, sorbitolu ap.). Jinak mohly použít také bílkovin, což se v našem případě projevilo zvláště u ejakulátů silně infikovaných (s obsahem hleny z vejcovodů).

U třech pokusných skupin bylo zjištěno zvýšení obsahu bílkovin v semeni. Ve spermatu s obsahem hleny z vejcovodů však nastal jejich úbytek. Toto sperma také vykazovalo největší pomnožení mikrobů během expoziční doby, takže uvedený úbytek bílkovin lze vysvětlit jejich zvýšeným rozkladem bakteriálními enzymy. Pokud se týká samotného množení mikrobů, bylo toto prokazatelně vyšší ve všech případech. To znamená, že všechny sekrety působily stimulačně na jejich množení. V tomto směru je tedy jejich působení stejné jako na respiraci spermií.

ZÁVĚR

Život spermií v pohlavních orgánech samice je výrazně ovlivňován jejich sekrety. Měřením metabolických hodnot byla zjišťována respirace, fruktolýza, přeměna bílkovin a životnost býčích spermií při pětihodinové expozici v prostředí tělesné teploty a sekretů tubárních, uterenních a vaginálních získaných od krav v metestru. Všechny sekrety působily oproti kontrole stimulačně na respiraci spermií a množení mikrobů. Zůstaly však bez účinku na fruktolýzu. Úbytek bílkovin se projevil pouze ve skupině, která vykazovala silnou mikrobiální infekci. Životnost spermií (tj. pohyblivost a rezistence) se zvýšila pouze u ejakulátu s obsahem děložního hleny. U ostatních sekretů bylo pozorováno její snížení.

Došlo dne 24. 1. 1966

Literatura

ČERMÁK, O.: Metabolická aktivita spermií v sekretech pohlavních orgánů samice. = „Živočišná výroba“ (v tisku). — HRUŠKA, K. aj.: The effect of metabolites of one of the strains from the family enterobacteriaceae on respiration and anaerobic gas production of bull semen. = „Fortpflanz. Besam. Haustiere“, r. 7, 57-62, 1963. — CHANG, M. C.: Recent Progress in the Endocrinology of Reproduction. = „Academic Press Inc.“, New York, 1959. — JABLONSKI, V. A.: Mikrobne zabrudnenia spermy ta vplyv jeho na obmin rečovyn spermijiv, bubajiv-plidnykiv. = „Visnyk silskohosp. Nauki“, r. 6, 12, 99-101, 1963. — LUNCA, N. aj.: Influenta asupra fecundității vacilor a extractului uterin adăugat la sperma diluată. = „Lucrari stiintifice“, serie C, sv. 6, 71-76, 1962. — POLÁK, L.: Inseminace skotu, SZN, 1961. — WILLIAMS a kol.: Effect of female reproductive tract on spermatozoa, = „Trento“, sv. 3., 367-370, 1964. — ZVERAVA G. V.: Vplyv bakteriostatyčnych rečovyn na vyživania i zaplidsnuvalnu zdatnist spermijiv buhajiv. = „Tvarynnystvo Ukrainy“, r. 36, 7, 38-04, 1964.

Влияние секретов половых органов самок на обмен веществ сперматозоидов

Жизнь сперматозоидов в половых органах самки находится под сильным влиянием их секретов. Путем измерения метаболических величин определялись респирация, фруктолиз, обмен белков и жизнеспособность сперматозоидов быка при их пятичасовой экспозиции в среде телесной температуры и трубных, маточных и влагалищных секретов, полученных от коров в период между двумя течками. По сравнению с контролем все секреты действовали стимулирующе на дыхание и размножение микробов. Но они не действовали на фруктолиз. Убыль белков проявлялась лишь в той группе, у которой наблюдалась сильная микробная инфекция. Жизнеспособность сперматозоидов (т. е. подвижность и устойчивость) повысилась только у эякулятов, содержащих маточную слизь. У остальных секретов наблюдалось снижение жизнеспособности.

The Influence of the Female Genitals on the Metabolism of Zoospermia

The life of zoospermia in the female sexual organs is considerably influenced by their secretions. By determining the metabolic values of respiration, the fructolysis, the conversion of proteins and the vitality of bull zoospermia were being ascertained during a five hours' exposition in the milieu of body temperature and tubar, uterine and vaginal secretions obtained from cows in metester stage. In comparison with the control all secretions acted as a stimulant on the respiration and multiplication of the microbes. They, however showed no effect on the fructolysis. A decrease of proteins was only ascertained in the group showing a strong microbial infection. The vitality of zoospermia (i. e. motility and resistance) increased merely in ejaculations containing uterine mucus. In the other secretions there was being observed the decrease of their vitality.

Einfluß der weiblichen Genitalien-Sekrete auf den Stoffwechseln der Spermien

Das Leben der Spermien in den weiblichen Geschlechtsorganen wird durch ihre Sekrete markant beeinflusst. Mit der Messung der metabolischen Werte wurde die Respiration, Fruktolyse, der Eiweißstoffwechsel und die Vitalität der Bullen-

spermien bei fünfstündiger Exposition im Milieu der Körpertemperatur und der Tubar-, Uterin- und Vaginalsekreten, die von den Kühen im Metester gewonnen wurden, festgestellt. Sämtliche Sekrete wirkten im Vergleich zur Kontrolle stimulierend auf die Respiration und Vermehrung der Mikroben. Auf die Fruktolyse blieben sie jedoch ohne Einfluß. Die Herabsetzung der Eiweißstoffmenge kam nur in der Gruppe vor, die eine starke mikrobielle Infektion aufwies, zum Vorschein. Die vitalität der Spermien (d. h. die Beweglichkeit und Resistenz der Spermien) hat sich nur bei dem Ejakulat erhöht, das den Gebärmutterschleim enthielt. Bei den übrigen Sekreten wurde eine Herabsetzung der Vitalität beobachtet.

Adresa autora:

MVDr. Oldřich Čermák, CSc., Učiliště pro pracovníky plemenářské služby,
Boskovice

■ Ozařování invazních kultur larev hlístice *Syngamus trachea* rentgenovými nebo gama-paprsky má vliv na její další vývoj v těle hostitele. Vliv se projevuje tím, že ozářené larvy se (podle dávky ozáření) nevyvinou do dospělého stadia, event. je množství dospělých jedinců sníženo. Tím je redukována patogenita tohoto červa (spočívající hlavně v ucpání průdušnice zvířete množstvím červů a zadušení).

Hlavním důvodem aplikace ozářené kultury je to, že živý parazit vytváří v těle hostitele imunitní odezvu, která zabraňuje dalším invazím téhož parazita.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

V dostupné literatuře jsou jen ojedinělé práce, zabývající se imunitou či rezistencí vůči parazitózám ptáků.

Culbertson (1941) se zmiňuje o rezistenci kuřat vůči *Syngamus trachea*. Uvádí věk jako přirozený faktor rezistence vůči tomuto cizopasníku. Kuřata starší 10 týdnů jsou obvykle rezistentnější, než kuřata mladší, ačkoliv napadeny mohou být i roční slepice. Dieta s nedostatkem vápna způsobuje predispozici vůči invazi.

Olivier (1942) prokazoval získanou rezistenci vůči *Syngamus trachea* u krocanů a bažantů. Invadoval krocany invazními larvami a vajíčky. Po vyvinutí červů je invadoval novou dávkou vajíček a larev. Po uplynutí vhodné doby zjistil, že z této druhé invaze se nevyvinuli žádní červi. Při pokusech s bažanty prokázal, že rezistence vůči reinvazi syngamózou není závislá na přítomnosti červů v době reinvaze. Uvádá, že reinvadoval bažanty současně s kontrolami v době, kdy červi z 1. invaze již vymizeli. Zatím co u kontrol, předtím neinvadovaných, se objevilo silné zamoření syngamózou, byli u reinvadovaných bažantů zjištěni jen ojedinělé červi.

Šichobalova a Paružinskaja (1962) ozařovaly zralá vajíčka *Syngamus skrjabinomorpha* dávkami ionizačního záření od 2 do 15 kR. Bylo zjištěno, že s výškou dávky ozáření se nejen zpomaluje vývoj embryí, ale také se zvyšuje počet larev, neschopných vývoj dokončit. Při dávce 15 kR nebyl dokončen vývoj ani v jednom vajíčku. Také invazní schopnost a životnost larev, které se vyvinuly z ozářených vajíček je značně snížena. V roce 1963 zkoumaly možnosti imunizování kuřat proti askaridióze (*A. galli*) a došly k závěru, že pomocí radiační vakciny se vytváří v organismu kuřat relativní imunita, která se projevuje po čelení normálními larvami pronikavým snížením počtu vy-

vinuvších se parazitů. K ozáření kultur používaly rentgenových paprsků v dávce 15 kR. Tato dávka způsobila tak silnou inaktivaci larev askarid, že larvy po počátečním vývoji větším dílem opouštěly hostitelský organismus, aniž dosáhly pohlavně zralého stadia.

Varga (1964) uveřejnil práci, zabývající se účinkem paprsků X na vajíčka a larvy *Syngamus trachea*. Používal k tomu vajíček z trusu uměle invadovaných kuřat. Zjistil nápadnou citlivost tohoto parazita na paprsky X. Různými dávkami záření (5–80 kR) ozařoval rozrýhovaná vajíčka, obsahující 4–16 blastomer a zkoumal vliv ozáření na jejich embryonaci. V další fázi pokusů ozařoval invazní larvy a vajíčka s larvami, a to dávkami od 1 do 8 kR. Tyto ozářené larvy a vajíčka pak aplikoval kuřatům. V prvním případě zjistil, že dávka nejméně 20 kR úplně zastavuje další vývoj vajíček, ve druhém uvádí, že pro imunizační pokusy se zdají být nejvhodnější dávky ozáření larev mezi 4–5 kR.

MATERIÁL A METODIKA

A. INVAZNÍ MATERIÁL

a) PĚSTOVÁNÍ LAREV K INVAZÍM

1. Dospělé samice *S. trachea* se destruuji preparačními jehlami nebo skalpely a zalijí se fyziologickým roztokem v kádince do výše 10–20 mm.

2. Takto získaný materiál se inkubuje v termostatu při teplotě 26–27°C, denně se provzdušňuje pipetou s gumovým balonkem a dolévá se destilovanou vodou. Po 14–17 dnech se z uvolněných vajíček líhnou larvy, vhodné k invazi.

b) POČÍTÁNÍ VAJÍČEK A LAREV V KULTURÁCH A VÝPOČET DÁVKY NA 1 KUŘE

1. Změření obsahu kultury pipetou nebo stříkačkou, případně přidání fyziologického roztoku na určitý počet mililitrů.

2. Kultura se rozmíchá, napipetuje a nakape se 0,1 ml kultury na podložní sklo (rozděleně alespoň do tří kapek).

3. Mikroskopické stanovení počtu vajíček a larev ve všech kapkách.

4. V bodu 2 a 3 uvedené se opakuje desetkrát. Jednotlivé výsledky dávají po sečtení obsah larev a vajíček v 1 ml. Vynásobením celkovým počtem ml kultury vzniká cifra, udávající počet všech vajíček a larev v kultuře. Počet ml kultury se dělí počtem kuřat a výsledkem je počet vajíček a larev na 1 kuře.

Lze také použít vzorce $\frac{a \times b}{c}$ = počet vajíček a larev na 1 kuře, při čemž

a = počet ml kultury,

b = průměrný počet vajíček a larev v 1 ml kultury

c = počet kuřat

c) POSTUP PŘI INVAZÍCH

Kultury vhodné k invazi nebo vakcinaci se aplikují kuřatům po 12 hod. hlavou do volete pomocí injekční stříkačky se širší jehlou. Jehla má na konci kuličku namísto špičky a je obloukovitě zahnutá. Kulturu je nutno před nasátím do stříkačky dobře rozmíchat a mezi aplikací jednotlivým kuřatům neustále protřepávat.

B. TECHNIKA OZÁŘOVÁNÍ KULTUR

a) OZÁŘENÍ RENTGENEM

Dávky ozáření 4, 6, 8 a 10 kR byly provedeny na rentgenovém přístroji německé výroby, typ TUR 250, a to při intenzitě proudu 20 mA a 200 kV, vzdálenost OK

25 cm, aluminiový filtr 2,5 mm. Kultury byly ozářovány v 50 ml kádinkách, sloupec vody asi 10–15 mm.

Doba expozice:

4 kR	6 kR	8 kR	10 kR
7'30"	11'15"	15'00"	18'45"

b) OZÁŘENÍ KOBALTOVÝM ZÁŘIČEM Co^{60}

bylo provedeno u vyšších dávek ozáření vzhledem k silnějšímu zdroji záření. Příliv za 1 min byl 2500 RAD. Rozdíl mezi jednotkami RAD a R je zanedbatelný (1 RAD = 1,0417 R). Typ zářiče byl studnový, studna naplněna vodou do výše asi 3 m. Kultury se spouštěly k zářiči na dno studny v kontejneru z umělé hmoty, vodotěsně uzavřeném.

Doba ozáření:

15 kR	20 kR	25 kR	30 kR
6'	8'	10'	12'

Ozářování oběma způsoby bylo prováděno na Biofyzikálním ústavě v Brně. Pro přesné odměření času byly používány stopky. Kultury byly přepravovány v plechové krabici vystlané vatou, nahřáté nejméně 1 hod. před transportem na kultivační teplotu. Přeprava tam i zpět trvala asi 1 hod. Kádinky byly po dobu přepravy i při ozářování překryty polyetylenovou folií, připevněnou na hrdlo kádinky gumovým prstencem.

C. PRINCIP POKUSŮ S VAKCINOU

Při pokusech s ozářenými kulturami byla vždy invazní kultura rozdělena na 2 části; jedna z nich byla ozářena a aplikována pokusným kuřatům (dále jen „vakcina“), druhá, neozářená, kontrolním kuřatům.

Obvykle bylo vakcinováno dávkou ozářených larev 30 kuřat, z toho 10 kuřat pro ST (safety test), 20 kuřat pro test imunogenity. Současně bylo k ST nainvadováno 10 kuřat neozářenou kulturou jako kontroly.

Za dvacet dní od začátku pokusu, tj. v době, kdy u normální invaze jsou v průdušnici kuřat dospělí červi, bylo vždy zabito 10 vakcinovaných a 10 kontrolních kuřat pro ST a spočítáni červi v průdušnici (tj. páry červů) jednotlivých kuřat.

Současně byla provedena čelenž, tj. následná invaze neozářenou kulturou u zbylých 20 vakcinovaných kuřat. Také k těmto kuřatům bylo invadováno 20 kontrolních kuřat, stejně starých, dosud intaktních (test imunogenity), u dávky záření 15 kR 10 kuřat.

Za dalších 20 dnů byla pokusná i kontrolní kuřata zabita a spočítáni červi stejně jako u ST.

Do pokusů byla zařazována kuřata plemene Leghorn ve stáří 7–15 dnů. Starší se nehodila proto, že invadatelnost kuřat při používaném způsobu invaze přibývajícím věkem klesá.

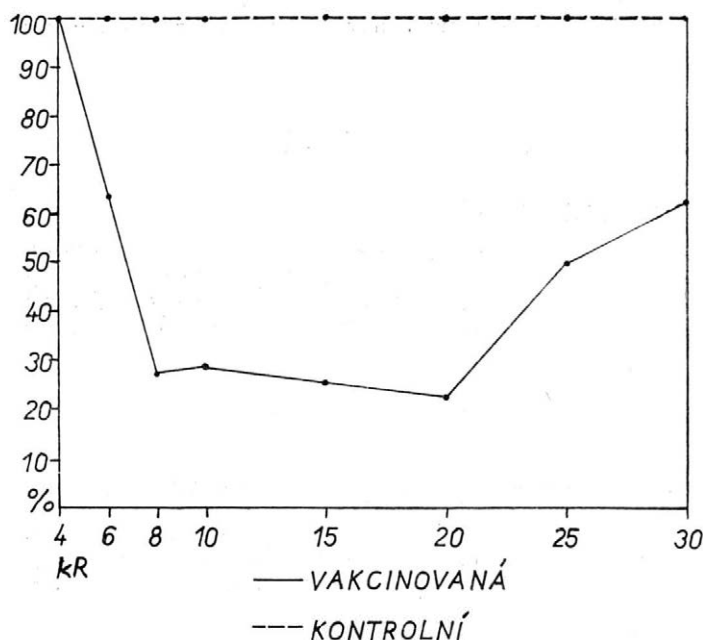
Při hodnocení ST byla brána v úvahu absolutní čísla vzhledem k tomu, že všechny kontroly byly 100% zamořeny.

Test imunogenity byl hodnocen jednak rovněž v absolutních číslech při stejné procentu zamoření kontrol, jednak v poměrných číslech, vypočítaných při převedení všech kontrol na 100% zamoření, a to podle vzorce $a : b = 100 : x$, přičemž $a = \%$ zamoření kontrol, $b = \%$ zamoření pokusných kuřat (tab. II, graf 1).

Podobně byl vypočítán v poměrných číslech i průměr počtu červů na 1 kuře (tab. II, graf 2), kdy zvolený počet červů kontrol je 1,0.

U tohoto testu byl proveden ještě další pokus, v němž byly sledovány a hodnoceny výsledky při různé době čelenže po vakcinaci od 5 do 40 dnů. V každý určený den bylo čelenžováno 25 kuřat, dalších 25 bylo kontrolních. Jinak byl pokus stejný jako předešlý.

Kultury, používané k vakcinaci a invazím, obsahovaly průměrně 94 invazních larev a 686 embryonovaných vajíček *S. trachea* na 1 kuře.



1. Poměrné. % zamoření pokusných kuřat ve srovnání s kontrolními (test imunogenity)

II. Test imunogenity

Vakcinovaná:

Dávka záření v kR	Pitva kuřat		Počet dvojic červů			Zamoření v %	
	počet celkem	počet posít.	celkem	Ø na 1 kuře	poměr na 1 kuře	skutečné	poměrné
4	20	11	17	0,85	0,85	55,0	100,0
6	20	7	7	0,35	0,35	35,0	63,6
8	20	3	9	0,45	0,45	15,0	27,3
10	20	4	4	0,20	0,06	20,0	28,6
15	20	2	2	0,10	0,06	10,0	25,0
20	20	1	1	0,05	0,06	5,0	22,5
25	20	4	6	0,30	0,37	20,0	50,0
30	20	5	6	0,30	0,37	25,0	62,5

VÝSLEDKY

Pokusy byly rozvrženy na dvě části:

- Zkouška neškodnosti vakciny (safety test)
- zkouška účinnosti vakciny (test imunogenity).

a) ZKOUŠKA NEŠKODNOSTI VAKCINY

V tomto pokusu bylo sledováno zamoření kuřat po podání živé vakciny z invazních kultur *Syngamus trachea*, na něž bylo působeno různými dávkami záření.

I. Safety test

Vakcinovaná:

Kontrolní:

Dávka záření v kR	Pitva kuřat		Počet dvojic		Zamoření v %	Pitva kuřat		Počet dvojic		Zamoření v %
	počet celkem	počet posit.	celkem	Ø na 1 kuře		počet celkem	počet posit.	celkem	Ø na 1 kuře	
4	9	8	18	2,0	88,9	10	10	121	12,1	100
6	8	6	8	1,0	75,0	10	10	121	12,1	100
8	10	0	0	0	0	10	10	121	12,1	100
10	10	0	0	0	0	16	16	250	15,6	100
15	10	0	0	0	0	10	10	120	12,0	100
20	10	0	0	0	0	10	10	145	14,5	100
25	10	0	0	0	0	10	10	145	14,5	100
30	10	0	0	0	0	10	10	145	14,5	100

Cílem pokusu bylo zjistit nejnižší dávku ozáření kultur, potřebnou k tomu, aby se po aplikaci takové vakciny nevyvinuli v průdušnici kuřat dospělí jedinci *S. trachea*. Při ozařování bylo použito dávek od 4 do 30 kR (kilorentgenů), tak jak je to uvedeno v tabulce č. 1.

Kontrolní:

Pitva kuřat		Počet dvojic červů			Zamoření v %	
počet celkem	počet posit.	celkem	Ø na 1 kuře	poměr na 1 kuře	skutečné	poměrné
20	11	20	1,0	1,0	55,0	100,0
20	11	20	1,0	1,0	55,0	100,0
20	11	20	1,0	1,0	55,0	100,0
20	14	70	3,5	1,0	70,0	100,0
10	4	18	1,8	1,0	40,0	100,0
20	8	16	0,8	1,0	40,0	100,0
20	8	16	0,8	1,0	40,0	100,0
20	8	16	0,8	1,0	40,0	100,0

EXTENSITA INVAZE (MNOŽSTVÍ NAPADENÝCH KUŘAT):

Při nejnižší dávce 4 kR bylo z 9 pokusných kuřat 8 pozitivních, což se rovná rovná kontrolnímu pokusu s neozářenou kulturou (88,9 % proti kontrolám). U nejbližší vyšší dávky 6 kR bylo pozitivních už jen 6 z 8 pokusných kuřat; procento zamoření je zde nižší, než u dávky 4 kR (75 %).

INTENZITA INVAZE (POČET ČERVŮ NA 1 KUŘE):

Při porovnání výsledků pitvy pokusných a kontrolních kuřat se jeví u těchto dvou dávek záření značné snížení množství červů v průdušnici ve prospěch

vakcinovaných; zatímco u kontrolních kuřat je intenzita invaze 12,1 dvojic červů na kuře, je u dávky 4 kR toto množství sníženo na jednu šestinu (2 dvojice na kuře), u dávky 6 kR dokonce na jednu dvanáctinu (1 dvojice na kuře).

U ostatních dávek ozáření, tj. od 8 do 30 kR došlo k úplnému útlumu vývoje červů k dospělosti. V průdušnici pokusných kuřat nebyli nalezeni červi ani za 20 dní po vakcinaci.

Kontrolní kuřata u všech dávek záření byla 100% zamořena.

b) ZKOUŠKA ÚČINNOSTI VAKCINY

1. IMUNITA KUŘAT PŘI RŮZNÝCH DÁVKÁCH OZÁŘENÍ KULTUR

V pokusu bylo sledováno zamoření kuřat, kterým byly podány jednak živé vakciny z invazních kultur *S. trachea*, ozářených různými dávkami radiace, jednak normální neozářené kultury (čelenž), a to vždy po uplynutí 20–22denní lhůty.

Pokus měl ukázat, která dávka ozáření kultur je nejvhodnější k vyvolání účinné imunity vůči čelenžové invazi.

Bylo započato s nízkými dávkami záření, kde byl předpoklad, že výsledek pokusu nebude ozařováním kultur vzhledem ke kontrolám příliš ovlivněn. Jak je zřejmo z tabulky čis. II., nebyl u počáteční dávky 4 kR výsledek ovlivněn vůbec, hodnotíme-li počet pozitivních kuřat pokusných proti kontrolním (je v obou případech stejný). Průměrný počet dvojic červů na 1 kuře (0,85) je o málo nižší než u kontrol (1,0).

U vyšší dávky záření 6 kR je výsledek pokusu příznivější. Poměr pozitivních kuřat ke kontrolním je 7 : 11; z celkového počtu pokusných je o 20 % méně pozitivních, než u kontrol. Počet dvojic červů na kuře je proti kontrolám (1,0) snížen na třetinu (0,35).

Další dávka záření 8 kR vykazuje již podstatné snížení počtu pozitivních pokusných kuřat, tj. zhruba jen čtvrtinu zasažených zvířat proti kontrolám. Množství dvojic červů je zde zvýšeno proti dávce 6 kR; vzhledem ke kontrolám je to necelá polovina (0,45).

Při dávce 10 kR bylo sice zjištěno o 1 pozitivní kuře více, než u dávky 8 kR, bereme-li však v úvahu, že u kontrolních kuřat je procento zamoření vyšší (70,0 %) než u kontrolních nižších dávek (55,0 %), lze dávku 10 kR vzhledem k tomuto kritériu považovat při nejmenším za stejně účinnou jako dávku 8 kR. Pokud se však týká množství dvojic červů na 1 kuře, je počet značně nižší, než u předešlých dávek (0,20).

U dávky 15 kR byla už jen 2 kuřata pozitivní ze 20 čelenžovaných, tj. 10 %. Je ovšem nutno brát v úvahu, že i procento zamoření kontrolních kuřat je zde nižší.

Dávka 20 kR měla nejnížší hodnoty ze všech dosud uvedených. Ze 20 kuřat bylo pozitivní jen jedno a byl nalezen jen 1 pár červů. Procento zamoření kontrol je zde stejné jako u předešlé dávky.

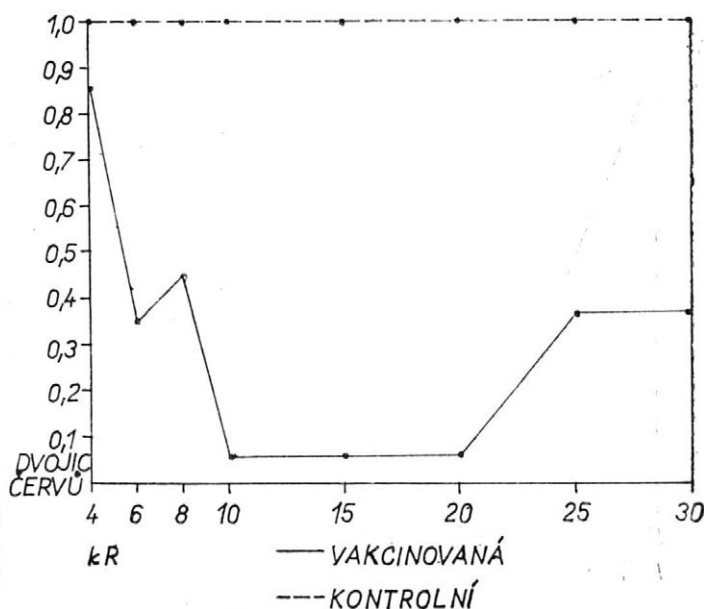
U dávky 25 kR je zřejmé opět zvýšení počtu zasažených kuřat na 4 ze 20. Také celkové množství dvojic červů je zvýšeno na 6 párů.

Nejvyšší použitá dávka ozáření 30 kR vykazuje další zvýšení počtu pozitivních kuřat na 5 ze 20, celkový počet dvojic červů zůstává stejný jako u předešlé dávky.

U tohoto testu se objevila nestejná procenta zamoření u kontrolních kuřat. Vznikla proto, poněvadž nebylo z technických důvodů možno provést celý pokus najednou.

Předpokládáme-li, že nestejně procento zamoření kontrol čelenže má vliv i na procento zamoření pokusných kuřat, je nutno početně převést všechny kontroly na 100 % a úměrně k tomu vypočítat poměrné procento zamoření pokusných kuřat (viz tab. II a graf 1). Z grafu i tabulky je patrné, že zvyšováním dávek záření procento pozitivních kuřat prudce klesá až k dávce 8 kR, kde se udržuje s mírně klesající tendencí téměř na stejné výši až k dávce 20 kR. Vyšší dávky než 20 kR vykazují opět zvýšení.

Převédeme-li podobným způsobem množství dvojic červů na 1 kuře u kontrol na zvolený počet 1,0 a úměrně k tomu přepočteme i množství dvojic červů u pokusných kuřat, vznikne při grafickém znázornění křivka, ze které je patrný nejnížší počet červů u dávek 10, 15 a 20 kR (viz graf 2 a tab. II.). Tento počet je u všech tří dávek stejný. Všechny ostatní hodnoty jsou vyšší.



2. Poměrný počet dvojic *S. trachea* na 1 kuře ve srovnání s kontrolními (test imunogenity)

2. IMUNITA KUŘAT PŘI RŮZNÉ DOBĚ ČELENŽE PO VAKCINACI

V pokusu byla sledována tvorba imunity kuřat vůči *Syngamus trachea* v průběhu 5 až 40 dní po vakcinaci. Bylo použito celkem 250 kuřat, z toho 125 pokusných a 125 kontrolních. Dávka ozáření kultury byla 20 kR.

Čelenž pokusných kuřat byla provedena postupně 5., 10., 20., 30. a 40. den po vakcinaci u 25 kuřat v každé skupině; současně bylo invadováno vždy 25 kuřat kontrolních. Pokus byl zachycen v tabulce čís. III a znázorněn v grafu 3.

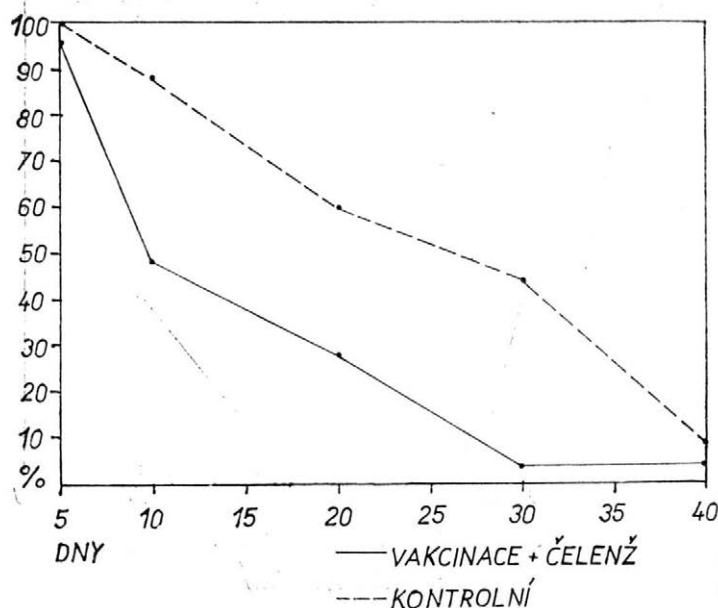
Hodnotíme-li výsledky podle počtu zamořených kuřat, nejví čelenž po 5 dnech téměř rozdílu proti kontrolám. Vyčísleno v procentech je zamoření pokusných kuřat 96 %, kontrolních 100 %.

Čelenž po 10 a 20 dnech má již příznivější výsledek. V obou případech se u pokusných kuřat vyvinuť červi zhruba v polovině případů proti kontrolám (48 % proti 88 % a 28 % proti 60 %).

III. Zamoření kuřat po vakcinaci, čelenžovaných v průběhu 40 dní

Počet dní po vakcinaci	Počet invazních larev	Počet kuřat				Počet dvojic červů			
		zamořených		zamoření v %		celkem		Ø na 1 kuře	
		VA + CH	kontrolní	VA + CH	kontrolní	VA + CH	kontrolní	VA + CH	kontrolní
5	40	24	25	96,0	100,0	160	318	6,40	12,70
10	57	12	22	48,0	88,0	22	113	0,90	4,50
20	40	7	15	28,0	60,0	11	27	0,40	1,10
30	89	1	11	4,0	44,0	1	14	0,04	0,56
40	59	1	2	4,0	8,0	1	5	0,04	0,20

VA + CH = vakcinace s čelenží



3. Zamoření kuřat v % po vakcinaci, čelenžovaných v průběhu 40 dní

Nejpříznivější výsledek byl u skupiny, čelenžované 30 dní po vakcinaci, kdy bylo zjištěno jen 1 pozitivní kuře proti 11 kontrolním, tj. 4 % proti 44 %.

Výsledek čelenže 40 dní po vakcinaci byl při hodnocení poměru pokusných kuřat ke kontrolním podobný, jako u výsledků po 10 a 20 dnech, kde byla zamořena zhruba polovina pokusných kuřat proti kontrolám (4 % proti 8 %). Počet pozitivních kuřat vzhledem ke stoupající přirozené resistenci byl snížen až na 1 kuře proti 2 kontrolním. V grafu je dobře patrná snižující se invadovatelnost kuřat z křivky kontrolních kuřat.

Výsledky pokusu vzhledem k počtu dvojic červů v průdušnici kuřat jsou poněkud kolísavé, pokud se týká vzájemného poměru kuřat pokusných a kontrolních. Avšak už při první čelenži (5 dní) je zjištěna u pokusných kuřat jen polovina množství dvojic červů proti kontrolním. U druhé (10 dní) a poslední

(40 dní) čelenže je u pokusných jen pětina dvojic červů proti kontrolám. U třetí (20 dní) čelenže měla kontrolní kuřata 2,5krát více dvojic než pokusná. Nejpriznivější výsledek byl zjištěn u čelenže, provedené 30 dní po vakcinaci. U pokusných kuřat byla jen 1 dvojice proti 14 dvojicím u kontrolních.

Termín 30 dní po vakcinaci je tedy nejvýhodnější nejen vzhledem k procentu zamoření kuřat po čelenži, ale i vzhledem k množství dvojic červů v průdušnici.

DISKUSE

Varga (1964) vyslovil v závěru své práce názor, že pro imunizační pokusy by byly nejvhodnější larvy *Syngamus trachea*, ozářené dávkou 4–5 kR. Naše pokusy však dokazují, že optimální dávka ozáření je vyšší (20 kR).

V práci Šichobalové a Paružinské (1962), jež invadovaly kuřata různě ozářenými vajíčky *Syngamus skrjabinomorpha* je uvedeno, že při ozáření vajíček dávkou 10 kR byly zjištěny v průdušnici průměrně 3 páry červů na 1 kuře za 12 dní po aplikaci (bez čelenže). V jiném pokusu zjistily u téže dávky ozáření (10 kR) 1 pozitivní kuře z 15 pitvaných, a to za 24 až 33 dní po aplikaci. V našich pokusech nebyli zjištěni červi už při dávce ozáření 8 kR (u safety testu), pokud lze zde srovnávat dva různé druhy syngamidů; kuřata byla pitvána za 20 dní po vakcinaci.

SOUHRN

V pokusech s vakcinací kuřat proti syngamóze bylo zjištěno, že nejnižší dávka ozáření invazních kultur, zabraňující proniknutí a vývoji červů *Syngamus trachea* v průdušnici kuřat, je 8 kR. Šíře zkoušené řady dávek byla od 4 do 30 kR. Vakcína je neškodná v rozmezí od 8 do 30 kR.

Při posouzení účinnosti vakciny z pokusů vyplývá, že optimální dávka ozáření, při níž byla vakcína nejúčinnější, je 20 kR, pokud se týká počtu pozitivních kuřat po čelenži. Optimální imunita při této dávce záření byla zjištěna 30. den po vakcinaci. Hodnoceno vzhledem k počtu dvojic červů v průdušnici po čelenži byly zjištěny nejnižší počty u dávek 10, 15 a 20 kR.

Došlo dne 30. 12. 1965

Technická spolupráce: Věra Juříčková

Literatura

1. CULBERTSON, J. T.: Immunity Against Animal Parasites. = „Morningside Heights Columbia University Press“ (New York) 1941: 187–212. — 2. OLIVIER, L.: Acquired Resistance to the Gapeworm *Syngamus trachea* in the Turkey and Ring-necked Pheasant. = „J. Parasit.“ 28, 1942: 20–21, 37 (Abstr.). — 3. ŠICHOBALOVÁ, N. P. - PARUŽINSKÁ, N. S.: Izučeniye radiočuvstvitel'nosti jajc singamusov - parazitov domašnich ptic. = „Trudy geImint. lab.“ (Moskva) 12, 1962: 317–324. — 4. VARGA, I.: Immunization Experiments with Irradiated Larvae. = „Acta vet. hung.“ 14, 1964: 4, 411–418. — 5. WILLOMITZER, J. - ZIEGLER, K.: Léčba syngamózy a imunitní pochody v hostitelském organismu při invazi *Syngamus trachea*. Závěrečná zpráva parazitologického oddělení VÚVL (Brno) 1965.

Вакцинация цыплят против сингамоза

В опытах с вакцинацией цыплят против сингамоза установлено, что самая низкая доза облучения инвазионных культур, препятствующих проникновению и развитию червей *Syngamus trachea* в трахее цыплят, 8 килолентенов. Диапазон опытного ряда доз был от 4 до 30 килолентенов.

Вакцина безвредна в пределах от 8 до 30 килорентгенов.

При оценке действия вакцины из опытов следует, что оптимальная доза облучения, при которой вакцина была наиболее действенна, 20 килорентгенов, что касается числа положительных цыплят после членжа. Оптимальный иммунитет при этой дозе облучения был установлен спустя 30 дней после вакцинации. При оценке в отношении числа пар червей в трахее после членжа были установлены самые низкие числа у доз 10, 15 и 20 килорентгенов.

Vaccination of Chickens against Syngamosis

In experiments with vaccination of chickens against syngamosis, 8000 r was found to be the lowest dose of irradiation of infective cultures that still prevented *Syngamus* larvae from penetrating into the trachea and inhibited the development of worms. The X-ray doses employed in the experiments ranged from 4000 to 30 000 r. In the range from 8000 to 30 000 r the vaccine was found to be innocuous.

The optimum effective dose of irradiation was 20 000 r as indicated by the number of positive chickens found after challenge. At this dose level, optimum immunity was recorded 30 days after vaccination. The counts of pairs of worms found in the tracheas after challenge were lowest at X-ray doses of 10 000, 15 000 and 20 000 r.

Vakzinierung der Hühner gegen Syngamosis

Bei den Versuchen mit der Vakzinierung der Hühner gegen Syngamosis wurde festgestellt, daß die niedrigste Bestrahlungsdosis der Invasionkulturen, die imstande war, die Eindringung von Larven und die Entwicklung der Würmer *Syngamus* trachea in die Trachea von Hühnern zu hemmen, 8000 r ist. Es wurden die Bestrahlungsdosen von 4000 bis 30 000 r geprüft. Im Bereich von 8000 bis 30 000 r ist die Vakzine unschädlich.

Die optimale wirksame Bestrahlungsdosis, wie sie aus der Zahl der positiven Hühner nach der Provokation erfolgt, ist 20 000 r. Bei dieser Bestrahlungsdosis wurde optimale Immunität 30 Tage nach Vakzinierung gefunden. Die niedrigste Zahl der Würmerpaare wurde bei Bestrahlungsdosen von 10 000, 15 000 und 20 000 r gefunden.

Adresa autora:

MVDr. Kamil Ziegler, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, odd. parazitologie, Brno-Medlánky

A. Žuffa
E. Wagner
V. Rajtar
J. Bogdan

ŠTÚDIUM VLASTNOSTÍ LAPINIZOVANÉHO VÍRUSU — KMEŇA SFA — PO OPAKOVANÝCH PASÁŽACH NA KRÁLIKOCH A OŠÍPANÝCH

■ Použitie akéhokoľvek bakteriálneho či vírusového kmeňa pre výrobu živej vakcíny si vyžaduje vedieť: 1. či predmetný kmeň možno ľubovoľne pasážovať v príslušnom mediu, na tkanivovom substráte alebo zvieratám používaných pre produkciu vakcíny bez nebezpečia zníženia, prípadne straty jeho imunogenity, a 2. či vlastnosti vakcinačného kmeňa sú natoľko stabilné, že ostanú nezmenené aj po opakovaných pasážach na prirodzene vnímavom druhu zvierat.

LITERÁRNY PREHLAD

Názory na stabilitu vlastností vírusov moru ošipaných atenuovaných dlhodobým pasážovaním na králikoch sa rôznia. Kým Biro a spol. (1957), Kádár a spol. (1957), Johnston (1956) a Leemann (1956) považujú zmenenú virulenciu lapinizovaných vírusov (LV — vzťahuje sa aj na lapinizovanú vakcínu) za ich trvalú a irreverzibilnú vlastnosť, nevylučujú Torrey a spol. (1961) a Young (1956) možnosť, že by mohli po určitom počte pasáží na ošipaných nadobudnúť pôvodnú virulenciu. Výsledky pokusov Jerábka (1964) svedčia pre to, že pasážovanie kmeňa SFA na ošipaných viedlo k narastaniu jeho virulencie.

Literárne údaje o tom, že pasážovanie LV na králikoch môže mať za následok stratu ich imunogenity sú zatiaľ ojedinelé. Práce Kornove (1963 a, 1963 b) a Kornove a Heckeho (1964) však dokazujú, že niektoré kmene môžu už po niekoľkých pasážach na králikoch stratiť imunizačnú schopnosť, pričom na druhej strane, niekoľkonásobné prepasážovanie na ošipaných vedie k takému zvýšeniu ich virulencie, že vyvolajú typické ochorenie morom. O výskyte slabovirulentných neimunizujúcich morových vírusov referovali aj Dunne a Luedke (1959).

Uvedené údaje nabádajú k tomu, aby LV používané pre účely ochranného očkovania boli podrobené dôkladnému štúdiu za účelom poznania ich biologických a imunologických vlastností; pre výrobu živých vakcín by sa mali použiť len kmene, ktoré splňujú stanovené požiadavky na neškodnosť a imunogenitu.

Účelom našich pokusov bolo: 1. zistiť či imunogenita kmeňa SFA, používaného pre výrobu LV ostáva zachovaná aj po prekonaní mnohonásobných pasáží na králikoch a 2. sériových pasážovaním vírusu na králikoch dosiahnuť ďalšie oslabenie jeho virulencie a získať tak pre účely ochranného očkovania neškodný, ale

prítom dobre imunizujúci vírus. Sledovanie virulencie vírusu po opakovaných pasážach na ošipáných malo nás informovať o stabilite jeho vlastností. O dosiahnutých výsledkoch referujeme v tejto práci.

MATERIÁL A METÓDY

Vírusy: Kmeň SFA sa u nás používa pre výrobu komerčnej LV. Pre vyvolávajúce infekcie sme použili kmeň Washington. Infekčná dávka, 1 ml neriezenej krvi odobratej na 6.—7. deň po infekcii, predstavovala asi 10^6 LD₅₀.

Pokusné zvieratá: Pasážovanie sme robili na dospelých králikoch ž. v. 2—3 kg, resp. ošipáných ž. v. 20—30 kg. Ošipané pochádzali z chovu v ktorom sa chovné zvieratá očkujú KVV, výkrmové ošipané sa proti moru neočkujú.

Pasážovanie vírusu na králikoch: Pre každú pasáž sme použili dva králiky; infikovali sme ich i. v. 2 ml 10 % suspenzie pripravenej zo sleziny králikov z predchádzajúcej pasáže. Po infekcii sme im merali telesnú teplotu 2 razy denne a na druhý deň (za 48 hod.) sme vždy jedného z nich vykrvácali, krv konzervovali uskladnením pri -20°C a slezinu použili na prípravu suspenzie pre ďalšiu pasáž. K vzostupu telesnej teploty nad 40°C došlo v ojedinelých prípadoch za 24 hod., spravidla však za 48 hod. Takýmto postupom prekonal kmeň SFA viac ako 200 králičích pasáží. Vírusom z každej 50. pasáže sme infikovali po šesť králikov a získaný vírus lyofilizovali rovnakým spôsobom ako pri výrobe komerčnej lapinizovanej vakcíny.

Pasážovanie vírusu na prasatách sme robili nasledovným spôsobom: ako východiskový vírus sme použili 100. králičiu pasáž kmeňa SFA; v každej nepárnej pasáži sme použili jedno, v každej párnej pasáži dve prasatá. Pre prvú pasáž sme použili bežnú vakcinačnú dávku vírusu, od 2. až do 6. pasáže 2 ml 20 % suspenzie zo slezín prasiat z predchádzajúcej pasáže odporazených na 7. deň po očkovaní; pred odporazením sa od prasiat odoberala krv s heparinom pre očkovanie králikov. Počnúc 6. pasážou sme vždy jednému prasaťu odobrali krv na 4. až 7. deň po očkovaní v množstvách po 20 ml a jednotlivými vzorkami krvi očkovali po dva králiky dávkou 2 ml i. v.; febrilná reakcia do 72 hod. po očkovaní svedčila pre prítomnosť vírusu vo vyšetrovanej krvnej vzorke. Vzorky krvi, ktoré aspoň u jedného z dvoch očkovaných králikov vyvolali vzostup teploty nad 40°C sme zmiešali a zmesou očkovali jedno, resp. dve prasatá pre ďalšiu pasáž. Vo všetkých prípadoch sme v každej párnej pasáži nechali jedno zviera na žive aby sme zistili, či očkovanie nevyvolá príznaky choroby, prípadne uhynutie. Výsledok vyvolávajúcej infekcie týchto zvierat mal potvrdiť, že išlo o pasážovanie morového vírusu.

Pokusným ošipánym sme merali telesnú teplotu denne 4—6 dní pred a 21 dní po očkovaní LV, resp. 14 dní po vyvolávajúcej infekcii. Teplotu do $40,5^{\circ}\text{C}$ sme považovali za zvýšenie za predpokladu, že vzostup nebol vyšší ako 1°C , nad $40,5^{\circ}\text{C}$ za horúčku ak vzostup bol vyšší ako 1°C a zvlášť hodnotili. Počty leukocytov sme zisťovali v deň očkovania a potom na 3., 5., 7., 9., 11. a 14. deň. Za leukopeniu sme považovali pokles bielych krviniek pod 10 000 v 1 cmm³.

Pri pitve uhynutých zvierat sme prítomnosť bakteriálnych zárodkov zisťovali vo všetkých parenchymatóznych orgánoch a mezenterických lymfatických uzlinách vyočkovaním na krvné agarové platne; v pozitívnom prípade sa robila identifikácia izolovaných zárodkov.

VÝSLEDKY

a. IMUNOGENITA KMEŇA SFA S ROZLIČNÝM POČTOM PASÁŽÍ NA KRÁLIKOCH

Za účelom zistenia, či kmeň SFA si zachová nezmenenú imunogenitu v priebehu dlhodobého pasážovania na králikoch, očkovali sme vírusom v 100., 150. a 200. králičej pasáži skupiny po 20 prasiat. V každom prípade sme 2 ampulky lyofilizovaného vírusu s obsahom po 1 ml, rozpustili v 100 ml pufovaného fyziologického roztoku (riedenie vírusu používané k ochrannému očkovaní) a z toho pripravili riedenia 10^{-1} až 10^{-4} . Neriedeným vírusom sme očkovali vždy po šesť, vírusom v riedeniach 10^{-1} až 10^{-4} po štyri ošipané dávkou 2 ml sc.; šesť spoluumiestnených prasiat ostalo vo všetkých prípadoch neošetrených ako kontroly. Za 6 týždňov sme zvieratá všetkých pokusných skupín infikovali. Získané výsledky sú zhrnuté na tab. I. Vidieť, že kmeň SFA vyvolal v 100., 150. a 200. králičej pasáži imunitu u očkovaných ošipaných do rovnakých riedení ako východiskový vírus, čo znamená, že si v priebehu sériového pasážovania na králikoch zachoval nezmenenú imunogénne schopnosť. Zo spoluumiestnených neočkovaných kontrol prežilo v každej skupine jedno zviera.

I. Imunogenita kmeňa SFA v 100., 150. a 200. králičej pasáži

Pasáž vírusu na králikoch	Pracovné riedenie vírusu	Počet očkovaných ošipaných	Výsledok vyvolávajúcej infekcie	Titer vírusu
SFA K — 100	10^0	6	6/6*	$10^{2,7}$
	10^{-1}	4	4/4	
	10^{-2}	4	4/4	
	10^{-3}	4	1/3**	
	10^{-4}	4	0/4	
Neočkované kontroly		6	1/6	
SFA K — 150	10^0	6	6/6	$10^{3,2}$
	10^{-1}	4	3/3	
	10^{-2}	4	4/4	
	10^{-3}	4	2/3	
	10^{-4}	4	0/4	
Neočkované kontroly		6	1/6	
SFA K — 200	10^0	6	6/6	$10^{3,3}$
	10^{-1}	4	4/4	
	10^{-2}	4	4/4	
	10^{-3}	4	2/4	
	10^{-4}	4	1/4	
Neočkované kontroly		6	1/6	

* — Čitateľ udáva počet imúnnych, menovateľ počet infikovaných zvierat

** — Po jednom prasati uhynulo pred infekciou

b. IMUNOGENITA KMEŇA SFA V 100., 150. A 200. KRÁLIČEJ PASÁŽI PRI SIMULTÁNNEJ APLIKÁCIÍ VEĽKÝCH DÁVOK OCHRANNÉHO MOROVÉHO SÉRA

V predchádzajúcich pokusoch s kmeňom SFA (Žuffa a spol. 1962) neovplyvnila pri simultánnom očkovaní ani veľká dávka ochranného séra vytvorenie aktívnej imunity. Cieľom zistenia, či si tento kmeň zachová rovnaké vlastnosti aj v priebehu ďalšieho pasážovania na králikoch, očkovali sme po osem prasiat bežnou vakcinačnou dávkou vírusu v 100., 150. a 200. králičej pasáži, z čoho v každej skupine dostali po štyri prasatá súčasne 1 ml a po štyri 2 ml ochranného morového séra na kg ž. v.; osem prasiat dostalo len ochranné sérum, a to opäť po štyroch kusoch v dávkach 1, resp. 2 ml na kg ž. v.; po štyri spolu umiestnené ošipané ostali neošetrené ako kontroly. Za 8 týždňov sme všetky ošipané podrobili vyvolávajúcej infekcii obvyklým spôsobom. Získané výsledky sú zhrnuté na tab. II.

II. Imunogenita kmeňa SFA v 100., 150. a 200. králičej pasáži pri simultánnom očkovaní s veľkými dávkami ochranného morového séra

Pasáž vírusu na králikoch	Dávka séra	Počet očkovaných zvierat	Výsledok vyvolávajúcej infekcie
K — 100	1 ml/kg ž. v.	4	0/4*
	2 ml/kg ž. v.	4	0/4
K — 150	1 ml/kg ž. v.	4	0/4
	2 ml/kg ž. v.	4	0/4
K — 200	1 ml/kg ž. v.	4	0/4
	2 ml/kg ž. v.	4	0/4
—	1 ml/kg ž. v.	4	2/4
	2 ml/kg ž. v.	4	1/4
Kontroly:		4	4/4

* — Čitateľ udáva počet uhynutých, menovateľ počet infikovaných zvierat

Vyvolávajúcu infekciu prežili všetky ošipané očkované simultánne vírusom a sérom bez ohľadu na počet pasáží, kým kmeň SFA na králikoch prekonal, resp. na inokulovanú dávku séra. Len u troch z nich došlo k vzostupu teploty nad 40° C s trvaním 1 deň u dvoch a 3 dni u jedného prasata. Zo štyroch prasiat, ktoré dostali len sérum v dávke 1 ml na kg ž. v. uhynuli dve, a zo skupiny očkovanej 2 ml séra na kg ž. v. jedno prasa. U tých, ktoré infekciu prežili, sa pozorovali príznaky nechutenstva a otupelosti doprevádzané horúčnatým stavom s trvaním 4 až 7 dní. Všetky kontaktné kontroly vyvolávajúcej infekcii podľahli. Získané výsledky svedčia jednak pre to, že kmeň SFA si aj po 200 pasážach na králikoch zachoval schopnosť vyvolať aktívnu imunitu pri simultánnom podaní veľkých dávok séra, jednak pre to, že aj za dva mesiace po podaní ochranného séra môže byť pasívna chránenosť takého stupňa, že približne u 50 % zvierat zabráni uhynutiu po infekcii virulentným vírusom.

c. OČKOVANIE OSEMTÝŽDNÝCH PRASÍAT KMEŇOM SFA V 100. A 200. PASÁŽI NA KRÁLIKOKH

V tomto pokuse sme chceli zistiť či, a do akej miery došlo k oslabeniu virulencie kmeňa SFA v priebehu sériového pasážovania na králikoch. Za tým účelom sme očkovali po 20 osemtýždňových prasiat vírusom v 100. a 200. králičej pasáži bez séra. Cicajúce prasatá boli presunuté do výrobného ústavu a ihneď očkované. Zvieratám obidvoch pokusných skupín sa merala telesná teplota a zisťoval počet bielych krviniek. Získané výsledky sú zhrnuté na tab. III.

III. Očkovanie 8-týždňových prasiat kmeňom SFA v 100. a 200. pasáži na králikoch

Pasáž vírusu na králikoch	Počet čkovaných prasiat	Počet horúčujúcich prasiat	Počet prasiat u ktorých sa zistila leukopenia	Počet prasiat u ktorých sa zistili klinické postvaktičné reakcie	Výsledok očkovania
SFA K – 100	20	6/20	8/20	9/20	1/20*
SFA K – 200	20	8/20	5/20	6/20	2/20

* – Čitateľ udáva počet uhynutých, menovateľ počet očkovaných zvierat

V pozorovacom čase 21 dní sme zistili u polovice prasiat prvej skupiny hnačku trvajúcu od 6. do 14. dňa, ktorá sa po tomto čase upravila bez akéhokoľvek dietetického alebo medikamentózneho zásahu; jedno z prasiat na 7. deň po očkovaní náhle uhynulo; výsledok pitvy aj bakteriologického vyšetrenia bol negatívny. V skupine prasiat očkovanej 200. králičou pasážou vírusu sa v období medzi 6. a 12. dňom pozorovala mierna inapetencia a príznaky hnačky u šiestich zvierat; na 5. deň po očkovaní uhynulo jedno a na 7. deň dve prasatá s pitevným nálezom akútneho zápalu žalúdka a čriev; bakteriologický nález bol negatívny. V skupine očkovanej 100. králičou pasážou vírusu sa dokázala leukopenia u 8 a termicky reagovalo 14 zvierat, z toho 8 zvýšením telesnej teploty a 6 horúčkou; febrilné reakcie trvali od 1 do 6 dní (v priemere 2,4 dňa). V skupine očkovanej vírusom v 200. králičej pasáži reagovali 2 prasatá zvýšením telesnej teploty a 8 prasiat horúčkou; leukopenia sa zistila u 5 prasiat. Trvanie febrilných reakcií nemožno presne časovo vymedziť vzhľadom na to, že už pri očkovaní sa u 11 prasiat zistili teploty od 40° C do 40,5° C.

d. STABILITA KMEŇA SFA V 100. PASÁŽI NA KRÁLIKOKH

Ako vidieť z tab. IV zachoval si kmeň SFA v priebehu 20 pasáží na ošipáných schopnosť rozmnožovať sa v organizme králikov a vyvolať u nich teplotné reakcie. U ošipáných použitých pre pasážovanie vírusu, odporázaných na 7. deň po očkovaní, sa nezisťovali patologicko-anatomické zmeny svedčiace pre mor. Výnimkou bolo prasa č. 16 z 13. pasáže, u ktorého sa zistilo hemorhagické pre-

IV. Pasážovanie kmeňa SFA na ošipovaných

Poradie pasáží na ošipovaných	Číslo prasiat	Teplotné reakcie u králikov očkovaných krvnými vzorkami odobratými za dni po očkovaní	
1	20	7. deň	1/2*
2	26 24	7. deň	2/2
3	30	7. deň	2/2
4	22 13	7. deň	2/2
5	49	7. deň	2/2
6	50 27	3. — 7. deň	7/10
7	29	3. — 7. deň	4/10
8	32 36	3. — 7. deň	6/10
9	100	3. — 7. deň	7/10
10	33 101	3. — 7. deň	5/10
11	04	4. — 7. deň	6/8
12	07 05	4. — 7. deň	4/8
13	06	4. — 7. deň	6/8
14	09 08	4. — 7. deň	6/8
15	IV.	4. — 7. deň	6/8
16	10 III.	4. — 7. deň	8/8
17	X.	4. — 7. deň	7/8
18	11 IX.	4. — 7. deň	7/8
19	60	5. — 7. deň	6/6
20	21 22	4. — 7. deň	8/8

* — Čitateľ udáva počet reagujúcich, menovateľ počet očkovaných králikov

V. Očkovanie ošipovaných očkovaných kmeňom SFA pasážovaným na ošipovaných

Pasáž vírusu na ošipovaných	Počet očkovaných ošipovaných	Počet horúčkujúcich ošipovaných (nad 40,5 °C)	Počet ošipovaných, u ktorých sa dokázala leukopenia	Výsledok očkovania	Výsledok vyvolávajúcej infekcie
K 100	10	4/10*	3/10*	0/10*	0/10**
K 100 P 2	5	3/5	3/5	1/5	0/5
K 100 P 4	5	3/5	3/5	0/5	0/5
K 100 P 6	5	0/5	3/5	0/5	0/5
K 100 P 8	5	2/5	3/5	0/5	0/5
K 100 P 10	10	6/10	4/10	0/10	1/10
K 100 P 12	4	2/4	2/4	0/4	0/4
K 100 P 14	4	3/4	4/4	0/4	0/4
K 100 P 16	5	3/5	5/5	0/5	0/5
K 100 P 18	5	3/5	5/5	1/5	0/4
K 100 P 20	10	7/10	10/10	0/10	0/10
Kontroly	10	—	—	—	8/10

Čitateľ udáva počet reagujúcich, resp. uhynutých, menovateľ počet očkovaných
* resp. infikovaných ** zvierat

siaknutie mezenterálnych a perirektálnych lymfatických uzlín, katarálny zápal žalúdka a čriev a výrazné infarkty na slezine.

Všetkých desať prasiat z 2. až 20. pasáže (po jednom prasati z každej 2. pasáže) očkovanie prežilo a odolalo následnej vyvolávajúcej infekcii.

V ďalšom pokuse sme očkovali vírusom z každej druhej prasačej pasáže (rovnaký diel zmesi vzoriek krvi odobratých na 4. až 7. deň po očkovaní a 20 % suspenzie zo sleziny) po päť, resp. desať prasiat ž. v. 25—30 kg dávkou 2 ml s. c.; desať prasiat ostalo neošetrených ako kontroly.

Po očkovaní uhynuli dve prasatá, a to po jednom v skupinách očkovaných vírusom v 2. (na 14. deň), resp. 18. (na 10. deň) prasačej pasáži. Pitvou sa v oboch prípadoch zistila gangréna pľúc, cirhóza pečene, akútny zápal tenkého a hrubého čreva a parazitárna invázia. Bakteriologicky so z prvého prípadu izolovali pasterely, z druhého nešpecifická bakteriálna mikroflóra. Na 7. až 12. deň po očkovaní sa u väčšiny zvierat pozorovalo nechutenstvo, malátnosť a hnačky, ktoré po uvedenom čase odznali bez ošetrenia. Nezaznamenali sa preukázateľné rozdiely vo výskyte termických reakcií u zvierat jednotlivých pokusných skupín. Leukopénia sa zistovala vo všetkých skupinách zvierat, ale u zvierat očkovaných vírusom vo vyšších pasážach na ošipovaných bola výraznejšia a počnúc 16. pasážou sa dokazovala u všetkých prasiat (tab. V).

Nakoľko si kmeň SFA aj po 20 pasážach na ošipovaných zachoval schopnosť rozmnožovať sa v organizme králikov a vyvolať u nich charakteristické febrilné reakcie a nevyvolal hynutie očkovaných vnímavých ošipovaných možno uzatvárať, že si zachoval vlastnosti modifikovaného vírusu. Mierny vzostup virulencie vírusu, počnúc 16. prasečou pasážou, sa prejavil pravidelným výskytom výraznej leukopenie u očkovaných ošipovaných.

DISKUSIA

Aj keď kmeň SFA, používaný pre výrobu komerčnej LV nevyvolával v rámci laboratórnych ani terénnych kontrolovaných pokusov u zdravých ošipovaných pri simultánnom podaní 15 ml ochranného protimorového séra žiadne, alebo len zanedbateľné postvákcinálne reakcie (Žuffa a spol. 1962), pri použití k ochrannému očkovaniu v širokom meradle sa vyskytli prípady nežiadúcich reakcií v chovoch s nízkou úrovňou hygieny, výživy a u zvierat postihnutých chronickými latentnými bakteriálnymi či vírusovými infekciami. Ďalšia atenuácia výrobného kmeňa SFA sa preto ukázala byť žiadúcou. Pokúsili sme sa o to cestou ďalších pasáží na králikoch. Očkovanie ciciakov 100. a 200. králičou pasážou tohoto kmeňa však nedovoľuje vyhodnotiť, do akej miery bola táto snaha úspešná. Teplotné reakcie, zaznamenané po očkovaní ciciakov nie sú pre takéto hodnotenie použiteľné, nakoľko už v čase očkovania sa u väčšiny z nich zistila teplota 40°C a viac. Pri výskyte hnačiek mohla okrem očkovania zohrať dôležitú úlohu zmena prostredia a najmä krmenia. Nakoľko sme ale u približne 30 % očkovaných ciciakov zaznamenali leukopeniu znamená to, že sme nedosiahli stanovený cieľ, tj. nezískali sme dobre imunizujúci ale pritom neškodný vírus. Dnes treba už považovať za prekonaný názor, že vznik leukopenie je nutným sprievodným zjavom tvorby imunity (Osborne 1958, Oláh 1960), nakoľko sú k dispozícii živé protimorové vakcíny, ktoré napriek dobrým imunizačným vlastnostiam nevyvolávajú žiadne postvákcinálne reakcie (Newborne a spol. 1961, Bognár a spol. 1963, Bass 1963, Aiken a spol. 1964, Janowski a spol. 1964).

Zachovanie imunizačnej schopnosti kmeňa SFA aj po mnohonásobných pasážach na králikoch je v súhlase s nálezmi Newberna a spol. (1961) a Aikena a spol. (1964), resp. Bassa a spol. (1963) a Loana a spol. (1964), ktorí pasážovali atenuované vírusy na tkanivových kultúrach. Tieto zistenia dokazujú, že Kornové údaje (1963a, 1963b) o strate imunogenity LV už po niekoľkých pasážach na králikoch a narastanie ich virulencie po niekoľkonásobnom prepasážovaní na ošipovaných možno vzťahovať len na kmene, s ktorými autor pracoval. Nemožno preto súhlasiť so zovšeobecňovaním týchto nálezov a tvrdením (Korn 1963b), že LV sú alebo príliš virulentné a zapríčínujú značné straty, alebo sa ďalšími pasážami na králikoch ich virulencia znižuje, pričom ale strácajú aj imunizačnú schopnosť, čo stavia výrobcov pred neriešiteľnú situáciu. Tieto zistenia však podčiarkujú potrebu dôkladného štúdia každého kmeňa pred tým, ako sa použije pre výrobu živkej vakcíny proti moru ošipovaných.

Schopnosť jednotlivých lapinizovaných kmeňov revertovať k vlastnostiam východiskového virulentného vírusu je rôzna. Zo štyroch kmeňov vyšetrovaných Torreom a spol. (1961) bolo potrebných u jedného 5, u jedného 9, u jedného 17 a u jedného 19 pasáží na prasatách, aby sa dostavili zjavné postvákcinálne reakcie. Prvé pozorované reakcie boli väčšinou mierne a krátkeho trvania; so stúpajúcim počtom pasáží prudkosť reakcií stúpala, pričom niektoré kmene nadobúdali patogénitu postupne, kým iné rýchlo. Bass a spol. (1963) považujú za stabilný vírus, ktorý nezmenil svoju virulenciu po 8 a Ose a spol. (1964) po 14 pasážach na ošipovaných. Výsledky pokusov Jeřábka (1964) nasvedčujú tomu, že pasážovanie kmeňa SFA na ošipovaných viedlo k narastaniu jeho virulencie, nedokazujú však znovuzískanie vlastností východiskového virulentného vírusu. Sami sme zistili, že kmeň SFA v 100. králičej pasáži si aj po 20 pasážach na ošipovaných napriek miernemu vzostupu virulencie zachoval vlastnosti modifikovaného vírusu. Navzájom čiastočne rozdielne výsledky možno vysvetliť jednak tým, že vírus s ktorým sme pracovali prekonal približne o 70 pasáží na králikoch viac ako vírus, ktorý použil Jeřábek (1964), jednak rozdielnou interpretáciou jednotlivých zistení. Po očkovaní ošipovaných LV sa u ojedinelých zvierat nevylučuje možnosť úhynu, resp. výskytu patologicko-anatomických zmien charakteristických pre mor. Ich objavenie nezáleží len na kvalite vakcíny, ale

aj na citlivosti očkovaných zvierat, ktorá vykazuje značné individuálne rozdiely. V našich pokusoch sa napr. u prasata z 13. pasáže zistili patologicko-anatomicke zmeny svedčiace pre mor, hoci u ošipáných použitých pre ďalšie pasáže sa takéto zmeny nepozorovali.

Aj v prípade, že by sa za experimentálnych podmienok podarila úplná reverzia lapinizovaného k východiskovému virulentnému vírusu, takáto zmena je sotva možná v podmienkach praktického používania LV u nás. Živá vakcína sa u nás používa len k ochrannému očkovaniu výkrmových ošipáných, a to simultánnou metódou, kedy nedochádza ani k dlhodobej perzistencii vírusu v organizme očkovaných, ani k jeho vylučovaniu, čo vylučuje možnosť kontaktného prenosu a tým sériového pasážovania s narastaním jeho virulencie.

ZÁVER

Kmeň SFA, používaný pre výrobu komerčnej lapinizovanej vakcíny proti moru ošipáných, si v priebehu 200 pasáží na králikoch zachoval nezmenené imunizačné vlastnosti; v 100., 150. a 200. králičej pasáži vyvolával imunitu do rovnakých riedení ako východiskový vírus. Pasážovanie vírusu na králikoch neovplyvnilo jeho schopnosť vyvolať aktívnu imunitu pri simultánnom podaní 1,0 resp. 2,0 ml ochranného séra na kg ž. v.

Aj po 20 pasážach na ošipáných si zachoval kmeň SFA vlastnosti modifikovaného vírusu. Došlo len k miernemu vzostupu jeho virulencie, ktorá sa počnúc 16. prasačou pasážou, prejavila pravidelným výskytom leukopenie u očkovaných ošipáných.

Došlo dňa 30. 12. 1965

Literatúra

1. AIKEN, J. M. - BLORE, I. C.: Immunology of newborn pigs: Response to lapinized hog cholera virus in colostrum-deprived and suckling pigs. = „Amer. J. vet. Res.“ 25, 1134-1140, 1964. — 2. BASS E. O. - RAY J. D.: Evaluation of a tissue culture hog cholera vaccine. = „J. Amer. vet. med. Ass.“ 142, 1112-1117, 1963. — 3. BIRO J., OLÁH P.: Kísérletek a nyúlhoz szokatott sertéspestisvírussal. = „Magy. állatorv. L.“ 12, 206-210, 1957. — 4. BOGNÁR K., MÉSZÁROS J.: Experiences with a lapinized hog cholera virus strain of decreased virulence. = „Acta vet. Acad. Sci. Hung.“ 13, 429-438, 1963. — 5. DUNNE H. W., LUEDKE A. J.: The pathogenesis of hog cholera. II. The virus eclipse phase and sensitization of the host. = „Am. J. vet. Res.“ 20, 619-624, 1959. — 6. JANOWSKI H., ZADURA J.: Immunological properties of the chinese lapinized hog cholera virus strain. III. Dissemination of the strain through the meat of vaccinated pigs. = „Bull. of the Vet. Inst. in Pulawy“ 8, 93-104, 1964. — 7. JEŘÁBEK J.: Studium stability biologických vlastností lapinizovaného viru moru prasat. II. Stabilita biologických vlastností lapinizovaného viru zpětně pasážovaného přes organismus prasete. = „ÚVTI MZLVH Vet. Med.“ 9, 415-422, 1964. — 8. JOHNSTON R. V.: New developments in hog cholera immunization. = „J. Amer. vet. med. Ass.“ 129, 142-146, 1956. — 9. KÁDÁR T. - KÖVES J. - MANNINGER R. - ÖSZ H.: Kísérletek vizsgálatok a sertéspestis lapinizált vírusának vedőoltásra való használatoságáról. = „Magy. állatorv. L.“ 12, 201-206, 1957. — 10. KORN G.: Verbreitung der Schweinepest unter Mitwirkung schwach virulenter Virusstämme. = „Monatshefte f. Tierheilk.“ 15, 97-106, 1963a. — 11. KORN G.: Über die Verbreitung lapinisierten Schweinepestvirusstämme im Seuchengeschehen in der Bundesrepublik. Kongressberichte des XVII. Welt-Tierärztekongresses Hannover, 1, 653-655, 1963b. — 12. KORN G. - HECKE F.: Nachweis eines sehr schwach virulenten nicht immunisierenden Schweinepestvirus nach Virulenzsteigerung im Verlauf von Tierpassagen. = „Zentralblatt f. Veterinärmed.“ 11, 40-50, 1964. — 13. LEE-MANN W.: La lutte contre la peste porcine en Suisse. = „Bull. Off. internat. Épidéziol.“ 46, 122-133, 1956. — 14. LOAN, R. W. - GUSTAFSON D. P.: Persistent infections subculturable swine buffy coat cells with hog cholera virus. = „Am. J. vet. Res.“ 25, 1120-1123, 1964. — 15. NEWBERNE J. W. - JOHNSTON R. V. - ROBINSON V. B. - YORK C. J. - SANDERS E. F.: Recent studies on the properties of a nonvirulent living hog cholera vaccine. = „Vet. Med.“ 54, 41-47, 1959. — 16. OLÁH P.: Lapini-

zált sertéspestis-virussal oltott sertések vér képének vizsgálata. = „Magy. állatorv. L.” 15, 363-367, 1960. — 17. OSBORNE J. C.: The succesful control of hog cholera virus leucopenia with Haemophilus pertussis bacterin. = „Am. J. vet. Res.” 19, 902-906, 1958. — 18. OSE E. E. - BERKMAN R. N. - ZIEGLER D. W. - DALE C. - HUGHES R. K.: Characterization of a new tissue culture hog cholera vaccine. = „Vet. Med.” 59, 606,609, 1964. — 19. TORREY J. P. - ZINOVER M. R. - AMTOWER W. C.: Hog cholera vaccination studies. = „Vet. Med.” 56, 244-249, 1961. — 20. ZUFFA A. - ZÁMEČNÍKOVÁ A. - WAGNER E. - LIEBENBERGER J. - FOLTÝN F.: Porovnávacie štúdium viacerých lapinizovaných kmeňov vírusu moru ošipáných so zreteľom na ich použitie pre imunizačné účely. = „Vet. Čas.” 11, 294-262, 1962. — 21. YOUNG SHOU SHEN: A preliminary report of the etiology of edema of newborn pigs. = „J. Amer. vet. med. Ass.” 121, 394-395, 1953.

Изучение свойств лапинизированного вируса — штамма SFA — после повторных пассажей на кроликах и свиньях

Штамм SFA, применяемый для производства коммерческой лапинизированной вакцины против чумы свиней, в ходе 200 пассажей на кроликах сохранил свои иммунизационные свойства. В 100, 150 и 200-ом кроличьих пассажах он вызывал иммунитет при такой же концентрации, как и исходный вирус. Пассажи́рование вируса на кроликах не помешало его способности вызывать активный иммунитет при одновременном введении 1,0 или 2,0 мл защитной сыворотки на кг. ж. в. Даже после 20 пассажей на кроликах штамм SFA сохранил свойства модифицированного вируса. Лишь немного увеличилась его вирулентность, которая с 16-го пассажа у вакцинированных свиней регулярно вызывала лейкопению.

Study on the Properties of the Lapinized Virus Strain SFA after Repeated Passages in Rabbits and Pigs

The SFA strain used for the production of a commercial lapinized vaccine against swine fever maintained its immunization properties unchanged in the course of 200 passages in rabbits. In the 100th, 150th and 200th rabbit-passage it induced the immunity up to equal dilutions as the initial virus did. The passaging of the virus in rabbits did not influence its ability to induce an active immunity when administered simultaneously with a dose of 1.0 or 2.0 ml of protective serum per 1 kg of body weight. After as many as 20 passages in pigs the SFA strain maintained the properties of a modified virus. Only a mild increase of its virulence set in that manifested itself in the regular occurrence of leucopenia in inoculated pigs starting with the 16th passage in pigs.

Studium der Eigenschaften des lapinisierten Virus-Stamm SFA — nach wiederholten Passagen auf Kaninchen und Schweinen

Beim Stamm SFA, der für die Erzeugung der kommerziellen lapinisierten Vakzine gegen die Schweinepest angewendet wird, blieben im Laufe von 200 Passagen auf Kaninchen die Immunisationseigenschaften erhalten; bei der 100., 150. und 200. Kaninchenpassage rief dieser Stamm eine Immunität in gleichen Verdünnungen wie das Ausgangsvirus hervor. Das Passagieren des Virus auf Kanninchen hat die Fähigkeit des Hervorrufens von aktiver Immunität bei simultaner Dosis von 1,0 bzw. 2,0 ml Schutzserum je 1 kg des Lebendgewichtes nicht beeinflusst. Auch nach 20 Passagen auf Schweinen blieben die Eigenschaften des modifizierten Virus des Stammes SFA erhalten. Es kam nur zu einer mäßigen Steigerung seiner Virulenz, die beginnend mit der 16. Schweinepassage durch ein regelmäßiges Vorkommen von Leukopenie bei geimpften Schweinen zum Vorschein kam.

Adresy autorov:

Doc. MVDr. Alojz Žuffa, CSc., MVDr. Eugen Wagner, Bioveta, n. p. Nitra
MVDr. Vojtech Rajtar, ÚSVÚ Štátna kontrola biopreparátov a liečiv, pobočka v Nitre
Doc. MVDr. Jozef Bogdan, VŠP, Veter. fakulta, katedra patologickej morfológie, Košice

OBSAH

Salajka E.: Příspěvek k názorům na etiopatogenesu kolienterotoxemie selat po odstavu	537
Šrubař B.: Příspěvek ke studiu specifické kolostrální imunity u telat od krav vakcinovaných proti slintavce a kulhavce	
II. sdělení — průkaz imunity protekčním testem a aktivní tvorba imunity u telat po vakcinaci v časném postnatálním období	551
Čermák O.: Vliv sekretů samičích genitálií na látkovou přeměnu spermií	559
Ziegler K.: Vakcinace kuřat proti syngamóze	569
Žuffa A., Wagner E., Rajtar V., Bogdan J.: Štúdium vlastností lapinizovaného virusu — kmeňa SFA — po opakovaných pasážach na králikoch a ošípaných	579

СОДЕРЖАНИЕ

Салайка Э.: К вопросу этиопатогенеза колиэнтеротоксемии поросят после отъема (548). — Шрубарж Б.: К вопросу изучения специфического иммунитета у телят от вакцинированных против ящура коров — II-сообщение — Доказательство иммунитета путем защитного теста и активное образование иммунитета у телят после их вакцинирования в ранний период после рождения (557). — Чермак О.: Влияние секторов половых органов самок на обмен веществ сперматозоидов (568). — Зиглер К.: Вакцинация цыплят против сингамоза (577). — Жужфа А., Вагнер Э., Райтар В., Богдан Й.: Изучение свойств лапинизированного вируса — штамма SFA — после повторных пассажей на кроликах и свиньях (588).

CONTENT

Salajka E.: On the Views on the Etiopathogenesis of Colienterotoxaemia in Piglets after the Weaning (549). — Šrubař B.: On the Studies concerning Specific Colostral Immunity in the Calves of Cows Vaccinated against Foot-and-Mouth Disease — Report II. Demonstration of Immunity with the Help of the Protection-Test, and Active Immunity Formation in Calves following the Vaccination in the Early Postnatal Period (557). — Čermák O.: The Influence of the Female Genitals on the Metabolism of Zoospermia (567). — Ziegler K.: Vaccination of Chickens against Syngamosis (578). — Žuffa A., Wagner E., Rajtar V., Bogdan J.: Study on the Properties of the Lapinized Virus Strain SFA after Repeated Passages in Rabbits and Pigs (588).
--

INHALT

Salajka E.: Beitrag zu den Ansichten auf die Ätiopathogenese der Colienterotoxämie der Ferkel nach dem Absetzen (549). — Šrubař B.: Beitrag zum Studium der spezifischen kolostralen Immunität der Kälber von Kühen, die gegen die Maul- und Klauenseuche vakziniert wurden — II. Mitteilung — Nachweis der Immunität mittels des Protektions-Testes und die aktive Bildung der Immunität bei Kälbern nach der Vakzination im zeitlichen postnatalen Zeitabschnitt (558). — Čermák O.: Einfluß der weiblichen Genitalien-Sekrete auf den Stoffwechsel der Spermien (567). — Ziegler K.: Vakzinierung der Hühner gegen Syngamosis (578). — Žuffa A., Wagner E., Raj-

tar V., Bogdan J.: Studium der Eigenschaften des lapinisierten Virus-Stamm SFA — nach wiederholten Passagen auf Kaninchen und Schweinen (588).

TABLE DES MATIÈRES

Salajka E.: Contribution aux conceptions relatives à l'étiopathogénèse de la coli-entérotoxémie des porcelets après le sevrage (res. An/549, Al/549). — Šrubař B.: Contribution à l'étude de l'immunité colostrale spécifique des veaux, provenant des vaches vaccinées contre la fièvre aphteuse. — Communication II. — Preuve d'immunité à l'aide d'un test de protection et formation active de l'immunité des veaux après une vaccination au stade postnatal précoce (res. An/557, Al/558). — Čermák O.: Influence des produits de sécrétion des appareils génitaux femelles sur le métabolisme des spermatozoïdes (res. An/567, Al/567). — Ziegler K.: Vaccination des poulets contre la syngamose (res. An/578, Al/578). — Žuffa A., Wagner E., Rajtar V., Bogdan J.: Etude des propriétés du virus lapinisé — du groupe SFA — après des passages réitérés, effectués sur les lapins et les porcs (res. An/588, Al/588).