

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

6

ROČNÍK 12 (XL)
PRAHA,
ČERVEN 1967
CENA 10 Kčs

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝCH
INFORMACÍ MZVŽ

Řídí 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 Lís, MVDr. Andrej Mačička, MVDr. Ladislav Polák, CSc., doc. MVDr. Oldřich Svoboda, doc. MVDr. ing. 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 MZVŽ, Praha 1967

Vědecký časopis **VETERINÁRNÍ MEDICÍNA** uveřejňuje studie, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství a výživy. 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 хозяйства и питания. 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 Food. 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 Landwirtschaft und Ernährung. 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 la domaine de médecine vétérinaire. Publié par l'Institut des renseignements scientifiques et techniques du Ministère de l'agriculture et de l'alimentation. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7

VÝZNAMNÉ ŽIVOTNÉ JUBILEUM AKADEMIKA BRAUNERA

Dňa 22. apríla 1967 dožíva sa akademik Brauner 60 rokov. Je to v živote každého človeka významné jubileum aj so zreteľom na zhodnotenie toho, čo na svojej životnej ceste vykonal pre prospech rozvoja celej spoločnosti.

Narodil sa v Jelenci v roku 1907, okres Nitra. Maturoval na klasickom gymnáziu v Komárne v roku 1925. štúdium na Vysoké škole veterinárskej v Brne musel prerušiť na dva roky pre nedostatok finančných prostriedkov a ťažkú chorobu matky. Po vykonaní vojenskej prezenčnej služby pokračoval v štúdiu, ktoré dokončil v roku 1934. Na doktora Veterinárnej medicíny bol promován na Vysoké škole zverolékarskej v Brne v roku 1936.

Veterinárnu prax začal ako súkromný veterinárny lekár v obci Kollárovo, okr. Komárno, kde ho po troch rokoch po uprázdnení miesta obvodného veterinára menovali obvodným veterinárom. Túto funkciu vykonával až do roku 1946.

Už v mladom veku bol často svedkom sociálneho útlaku a nespravedlivosti, ktoré ho stále viac približovali k politickému socialistickému uvedomeniu. V roku 1935 vstúpil do KSČ.

Počas praktickej veterinárskej činnosti pocítoval náš jubilant túžbu po laboratórnej a vedeckej práci. Na Vysoké škole veterinárnej v Budapešti osvojil si vedecko-odborné znalosti v tlmení sterility hospodárskych zvierat, ktoré úspešne uplatňoval v komárňanskom okrese.

V marci roku 1946 bol s. dr. Brauner prijatý do Štátneho diagnostického veterinárneho ústavu v Bratislave a bol služobne pridelený do Štátneho diagnostického a séroterapeutického ústavu v Ivanoviciach na Hanej (terajšia Bioveta n. p.), aby sa zaoberal výrobou očkovacích látok a osobitne sa zamerával na prípravu vakcín proti moru hydiny, ktorú veľmi postrádalo najmä Slovensko. Túto úlohu splnil úspešne a za vykonanú prácu sa mu dostalo morálneho a finančného uznania.

V roku 1950—1955 zapodieval sa s. dr. Brauner úspešne výrobou protimorového séra, adsorbátových vakcín proti nákazlivej obrne a červienke ošipaných ako aj výrobou H vakcín proti moru hydiny. Zaslúžil sa o zavedenie týchto biopreparátov do terénu a zníženie strát v živočišnej produkcii na tieto nákazy. Ďalej sa v tomto období pokúsil aj o prípravu novej vakcíny proti cholere hydiny na kuracích zárodkoch, a o vakcínu proti obrne ošipaných, pripravovanou z laboratórne pasážovaného vírusu.

Za zásluhy o zavedenie očkovacích látok do terénu ako aj kontrolu biopreparátov proti slintačke bola s. dr. Braunerovi v máji 1952 priznaná hodnosť laureáta štátnej ceny.

Najvyššie stranické a vládne orgány po zhodnotení činnosti s. dr. Braunera menovali ho v januári 1953 akademikom ČSAZV, v júni 1953 akademikom SAV a v apríli 1962 členom korešpondentom ČSAV. Súčasne ho poverili významnými funkciami v týchto Akademiách. Ďalej bola uznaná činnosť akademika Braunera aj v menovaní za člena korešpondenta Nemeckej akadémie pôdohospodárskych vied v r. 1957. V januári 1959 sa stal akademik Brauner predsedom novozriadenej pobočky ČSAVP pre Slovensko a druhým podpredsedom ČSAZV od decembra 1961 do 1. apríla 1962.

Z dokumentácie o vedeckej a publikačnej činnosti akademika Braunera zreteľne sa rysuje jej intenzita v jednotlivých rokoch. Najvýznamnejšou z jeho vedec-

kých publikácií v posledných rokoch sú práce o imunoprofylaxii červienky, vírusovej obrny ošipáných a o problematike Aujeszkého choroby.

Rozsiahlu organizačnú činnosť prejavil ako jeden z vedúcich činiteľov poľnohospodárskej vedy v ČSSR, ktorú vykonával na úseku rozvoja rôznych jej odvetví a osobitne vo veterinárnej medicíne najmä pri príprave koncepcie jednotlivých veterinárnych odvetví pre budúcnosť.

S uznaním treba kvitovať zásluhy menovaného o vybudovanie Biovety v Nitre, výchovu kádrov na tomto pracovisku, jeho školiťelskú a prednášateľskú činnosť. Rozhodnutím z 25. júna 1963 bol menovaný prezidentom republiky profesorom pre obor epizootológie.

Akademik I. Brauner už za prvej republiky sa prejavil ako pokrokový človek, zameraný na komunistickú ideológiu, v ktorej zotrval aj v ťažkých rokoch okupácie južného Slovenska.

Jeho pokrokový a vedecký profil je zrejmý z viacerých skutočností. Je to predovšetkým fakt, že sa zaslúžil v ekonomicky komplikovaných situáciách o produkciu a rozvoj očkovacích látok proti prvoradým chorobám domácich zvierat, takže veľmi prispel ku zvýšeniu živočíšnej výroby.

Taktiež sa odsvedčil ako člen Vedeckého kolégia biologických základov poľnohospodárstva pri ČSAV od roku 1962 a terajšieho Vedeckého kolégia teoretických základov poľnohospodárstva ČSAV od roku 1967. Podpredsedom Vedeckého kolégia špeciálnej biológie SAV bol od roku 1964 a jeho predsedom sa stal od 1. 1. 1967.

Akademik Brauner je aktívnym členom rôznych vedeckých rád a komisií výskumných ústavov, veterinárnych fakúlt, takže účinne pomáha k rozvoju a činnosti týchto vedecko-výskumných zariadení rôznych rezortov.

V roku 1964 bola udelená akademikovi Braunerovi spolu s dr. Škodom CSc. a dr. Zuffom CSc. štátna cena K. Gottwalda. Táto skutočnosť znovu je dôkazom prínosu jeho činnosti a kolektívnej práce pre rozvoj našej vedy a ekonomiky vôbec, v zmysle progresívnom a na medzinárodnej úrovni.

Je žiadúce, aby sme charakterizovali nielen vedecko-výskumnú a organizačnú činnosť nášho jubilanta, ale aj jeho ľudský profil. V tomto smere je záver jednoznačný, lebo pre dobré ľudské vlastnosti, priateľský vzťah k ľuďom a nekonfliktnosť získal si mnoho priateľov a priaznivcov v našom štáte aj v zahraničí.

Želáme úprimne v mene všetkých príslušníkov veterinárneho lekárstva a v mene všetkých jeho priateľov rôznych profesií, ktorí sú s ním v intimnom kontakte a s ktorými úzko spolupracuje, aby mnoho rokov zostal v plnej aktivite a ďalej úspešne rozvíjal vedecko-výskumnú ako aj organizačnú činnosť a prispieval k rozvoju veterinárneho lekárstva a podieľal sa na pokrokoch celej našej spoločnosti.

Úprimne mu blahoželáme k jeho šesťdesiatinám a najmä prajeme, aby sa dlhé roky dožil vo svojom rodinnom kruhu mnoho šťastných, spokojných a radostných dní, ako aj udalostí, ktoré môže poskytnúť človeku život vôbec.

Končíme naše blahoželanie citáciou stáročia platnou: „Ad multos felicesque annos“.

MVDr. F. N i ž n á n s k y, člen korešp. SAV

1. VÝSKYT AUJESKEHO CHOROBY V CHOVOCH OŠÍPA-
NÝCH, OČKOVANÝCH VAKCÍNOU BUK

Venované môjmu učiteľovi I. akademikovi I. Braunerovi k jeho 60. narodeninám

■ Očkovanie modifikovaným vírusom BUK vyvoláva u ošipovaných dlhodobú imunitu, sprevádzanú prítomnosťou neutralizujúcich protilátok (NP — Škoda a spol. 1964). V očkovaných chovoch sa efekt vakcinácie prejavil priaznivo (Škoda a spol. 1966) a v očkovanej oblasti zaznamenala krivka výskytu nákazy v r. 1963 až 1966 výrazný pokles.

Popritom sa však v priebehu r. 1963 až 1966 zaznamenali v 7 z 92 očkovaných chovov Západoslovenského kraja za 6—13 mesiacov po uskutočnení posledného očkovania prípady ochorenia ošipovaných na Aujeszkeho chorobu (Au. ch.). Ak máme hodnotiť efekt hromadnej vakcinácie živou vakcínou BUK na základe výskytu nákazy v očkovaných chovoch, t. j. v chovoch, v ktorých sa v minulosti očkovali všetky alebo len určitá časť zvierat, bude dobre vychádzať zo skúseností pri sledovaní epizootológie prirodzených vzplanutí v chovoch ošipovaných, t. j. prirodzeného preorenia, resp. imunizácie zvierat.

V tejto súvislosti sú zaujímavé údaje, zhrnutné na tab. I., vypracovanej v spolupráci s dr. Z. Grunertom z Veterinárneho ústavu v Bratislave (Škoda a Grunert, 1966). Rozoberá sa v nej výskyt Au. ch. v Západoslovenskom kraji v r. 1955—1964, t. j. v najzamorenejšej oblasti ČSSR. V uvedenom období sa tu vyskytlo 481 vzplanutí v 294 chovoch v 256 obciach. V 35 % chovoch sa nákaza opakovala, a to priemerne 2 krát, v 6 chovoch dokonca viac ako 4 krát. Na týchto 35 % chovov pripadá 60 % všetkých vzplanutí. V priebehu jedného kalendárneho roka sa nákaza opakovala v 33 chovoch; v priebehu 12 mesiacov od prvého vzplanutia došlo k opakovaniu až v 91 prípadoch, t. j. v 50 % všetkých opakovaní, resp. 30 % prvých vzplanutí. V iných chovoch opakoval sa výskyt za 13—24 mesiacov a v mnohých prípadoch pozdejšie ako za 2 roky. Zaujímavé je tiež zistenie, že 55 krát sa nákaza opakovala v rovnakom ročnom období, t. j. v tom istom mesiaci, ako sa vyskytla prvý raz, resp. o mesiac skôr alebo neskôr.

VLASTNÁ PRÁCA

Z uvedeného vyplýva, že v prirodzených podmienkach sa nákaza za určitých okolností v chovoch ošipovaných opakuje. Na jednej strane to kontrastuje so zistením, že prekonanie klinicky manifestačnej či latentnej infekcie zanecháva u ošipovaných doživotne pretrvávajúce NP (Škoda a spol. 1963); tieto sa všeobecne považujú pri mnohých vírusových chorobách temer za index imunity. Tu však treba podotknúť, že to neplatí napr. práve pri herpese, ochorení, vyvolanom vírusom, patriacim do tej istej skupiny ako Au. vírus. Na druhej strane to poukazuje na skutočnosť, že v určitých lokalitách sa opakovane vytvárajú tožné ekologické podmienky a vzťahy, vedúce k manifestnému výskytu Au. ch.

I. Výskyt Aujeszkeho choroby hospodárskych zvierat v Západoslovenskom kraji
v r. 1955–1964

	Počet zamorených obcí	256
	Počet zamorených chovov	294
	Počet vzplanutí	481
A.	Počet zamorených chovov	294 = 100 %
	Počet chovov, kde sa nákaza vyskytla	
	1krát	190 = 65 %
	opakovane	104 = 35 %
	2krát	53 = 18 %
	3krát	31 = 10 %
	4krát	14 = 5 %
	viac ako 4krát	6 = 2 %
B.	Počet vzplanutí	481 = 100 %
	Počet vzplanutí v chovoch, kde sa nákaza vyskytla	
	1krát	190 = 40 %
	Počet vzplanutí v chovoch, kde sa nákaza opakovala (počet chovov 104)	291 = 60 %
	Počet opakovaných vzplanutí	187
C.	Počet opakovaných vzplanutí	187 = 100 %
	v priebehu kalendárneho roku	33 = 17 %
	v priebehu 12 mesiacov	91 = 49 %
	v priebehu 13–24 mesiacov	38 = 20 %
	v priebehu viac ako 2 rokov	58 = 31 %
D.	Počet opakovaných vzplanutí	181 = 100 %
	a) v tom istom kalendárnom mesiaci	23 = 18 %
	b) (v tom istom kalendárnom mesiaci ± 1 mesiac)	55 = 29 %

Údaje, ktoré sa nám podarilo zozbierať, neodpovedajú dosť presvedčivo na otázku, či pri všetkých opakovaných vzplanutiach nákazy ochoreli len medzičasom získané nové ošpané, ktoré pri prvom vzplanutí nákazy v chove neboli, neboli ani očkované, a teda nedala sa u nich predpokladať imunita. V tomto ohľade treba brať ďalej do úvahy aj to, že údaje o opakovaní nákazy sa týkajú chovov, a nie objektov; je teda možné, že považujeme za opakovanie nákazy výskyt nákazy v objekte B za 6 mesiacov po výskyte v objekte A, i keď v skutočnosti tu nejde o opakovanie nákazy, ale skôr o doznenie nákazy v chove, resp. o zachvátenie aj tej jeho časti, ktorá sa pri prvom vzplanutí vyhla infekcii. Táto nepresnosť však iste podstatne nenarušá celkový obraz o opakovanom výskyte Au. ch. v prirodzených podmienkach. V niektorých prípadoch, najmä pri opakovaní nákazy po kratšom časovom odstupe — do 12 mesiacov — dokázateľne ochoreli aj cicianky od prasníc, u ktorých sa predpokladala imunita. Je samozrejmé, že kým prvé vzplanutie bývalo spojené s veľkými stratami, druhé a ďalšie sa obmedzovali zväčša na niekoľko málo jedincov, resp. vrhov.

Takýto záver o opakovaní výskytu nákazy po prirodzenom premorení chovu stavia imunoprofylaxiu, založenú na používaní živej vakcíny, pred pomerne ťažkú úlohu. Ak prirodzené premorenie chovu nestačí zabrániť opakovaniu výskytu ná-

II. Prehľad o výskyte Aujeszkeho choroby v chovoch očkovaných vakcínou BUK v r. 1961–1965

	Počet očkovaných chovov	Počet chovov, v ktorých sa p. v. vyskytla Au. ch.
1. Zdravé chovy (ochranné očkovanie)	49	5
2. Zamorené chovy		
a) ochranné očkovanie	37	1
b) núdzové očkovanie	6	1
Spolu (a + b)	43	2
Spolu (1 + 2)	92	7

III. Porovnanie výskytu Aujeszkeho choroby v chovoch očkovaných vakcínou BUK a v chovoch neočkovaných

	Neočkované chovy	Očkované zamorené chovy
Počet chovov, v ktorých sa nákaza vyskytla ¹⁾	294 = 100 %	43 = 100 %
Počet chovov, v ktorých sa nákaza opakovala	104 = 35 %	2 = 5 %

¹⁾ V Západoslvenskom kraji v r. 1955–1965

kazy, a to s pravdepodobnosťou 30 % v priebehu 1 roku, možno to očakávať od vakcinačného zásahu pomocou vírusu síce živého, ale laboratornými manipuláciami oslabeného a aj inak vo svojich biologických vlastnostiach zmeneného? Podľa našich doterajších skúseností môžeme povedať, že áno. Čiastočnú odpoveď na túto otázku dávajú tab. II. a III., kde sa porovnáva výskyt Au. ch. v chovoch očkovaných a neočkovaných so zameraním na opakovanie nákazy.

Už vpredu sme povedali, že v čase, keď sa ešte neočkovovalo vakcínou BUK, zaznamenal sa opakovaný výskyt nákazy v 104 chovoch, t. j. v 35 % prípadov. Naproti tomu v 43 chovoch, ktoré sa očkovali vakcínou BUK ako zamorené (núdzovo v čase panovania nákazy alebo ochranné po jej zániku; v mnohých z týchto chovov sa robilo v čase očkovania sérologické vyšetrenie, pri ktorom v každom prípade značná časť prasníc mala v krvi NP), vyskytla sa nákaza po očkovaní len 2 krát, t. j. v 5 % prípadov. Dochádza tu síce ku skresleniu percentuálneho prepočtu, a to tým, že časť zamorených chovov vykazovala v minulosti nielen jednorazový, ale aj opakovaný výskyt nákazy, čo by znížilo predpokladaných 35 %; rozdiel je však natoľko výrazný, že by i potom ostal preukazný.

V 49 chovoch sa očkovovalo ochranné v pravom slova zmysle, t. j. prv, než sa v nich Au. ch. vyskytla. V 22 z týchto chovov sa robilo v čase očkovania sérologické vyšetrenie, ktoré vyznelo vždy negatívne. Všetky tieto chovy ležia v enzooticky zamorenej južnej oblasti Západoslvenského kraja. Nedá sa povedať, v koľkých by sa bola nákaza vyskytla, keby sa nebolo očkovovalo. Napriek očkovaniu sa vyskytla v 5 chovoch. Tri z nich ležia v oblasti veterinárneho strediska Podunajské Biskupice, osobitne vystaveného výskytu Au. ch., keďže leží v enzooticky zamorenom okrese Bratislava-vidiek a v susedstve rovnako zamorených okresov Galanta a Dunajská Streda (Grünert, Škoda 1964). Práve z dôvodu veľkého ohrozenia sa táto oblasť vybrala pre pokusné očkovanie v 18 chovoch JRD a ŠM vakcínou BUK r. 1962.

IV. Prehľad chovov ošipovaných, v ktorých sa vyskytla Aujeszského choroba po očkovaní vakínou BUK

Chov	Dátum		Druh očkovania ¹⁾	Interval medzi očkovaním a výskytom nákazy	Stav prasnice pri prepuknutí nákazy	Počet postihnutých vrhov	V postihnutých vrhoch uhynulo z celkového počtu ciciakov, resp. odstávčiat	Nachádzali sa v chove pri prepuknutí nákazy neočkované prasnice?
	posledného očkovania	výskytu nákazy						
JRD Vlky	14. 9. 62	30. 3. 63	O	6,5 mes.	83	7	48/56	nie ²⁾
JRD N. Lipnica	12. 9. 62	16. 4. 63	Oz	7 mes.	170	3	12/16	nie
ŠM Rusovce	15. 9. 62	2. 5. 63	O	7,5 mes.	320	15	47/70 ³⁾	áno, premenné a kúpené
ŠM Rusovce	3. 5. 63	22. 6. 64	N	13,5 mes.	300	5	20/35	áno, premenné a kúpené
JRD Most	13. 6. 63	28. 7. 64	O	12,5 mes.	330	4	18/33	áno, kúpené ⁴⁾
ŠM Slov. Pole	10. 8. 63	10. 5. 64	N	9 mes.	800	2	10/14	áno, kúpené a vlastný odchov
JRD Z. Bystrica	10. 11. 64	3. 3. 65	O	4 mes.	390	—	10/10 odstávčiat	nie
JRD Kalinkovo	9. 4. 65	27. 10. 65	O	6,5 mes.	150	—	4/4 odstavčiat	nie

1) Oz = ochranné očkovanie v zamorenom chove; N = núdzové očkovanie; O = ochranné očkovanie v zdravom chove.

2) V priebehu 3 týždňov pred prepuknutím nákazy sa oprasilo 30 z 91 prasnic (turnusové prาสenie).

3) 7 neočkovaných jednorazových prasnic zmetalo.

4) V priebehu 2 mesiacov pred prepuknutím nákazy bolo do chovu dodané 180 prasnic z 18 rozličných chovov Západoslovenského kraja, ktoré neboli očkované.

Čo aj nepripisujeme údajom v tab. I.—III. absolútnu preukaznosť, svedčia pre zníženie výskytu Au. ch. v očkovanej oblasti. Na druhej strane však práve uvedené prípady ukazujú, že v zamorených chovoch a v zamorenej oblasti v neočkovaných chovoch nestačí na likvidáciu nákazy jednorazové očkovanie. V lokalitách s podmienkami, vhodnými pre opakovaný výskyt Au. ch., môže dôjsť po určitom časovom odstupe napriek jednorazovému očkovaniu k opakovanému výskytu nákazy a v zamorenej oblasti sa nákaza môže zavliecť aj do chovov, v ktorých je časť zvierat očkovaná. Pri rozboře situácie v jednotlivých chovoch uvidíme, čo sa pri tom uplatňuje osobitne priaznivo pre vznik nákazy.

Prehľad chovov, v ktorých sa Au. ch. vyskytla za 6—12 mesiacov po očkovaní, je na tab. IV. V chove ŠM Rusovce sa nákaza vyskytla opakovane v priebehu 2 rokov, takže očkovanie r. 1963 pri výskyte nákazy sa na tab. IV. uvádza ako núdzové. V chove ŠM Slovenské Pole sa v r. 1963 očkovalo núdzovo pri veľmi zlom priebehu nákazy (straty činili 400 ciciakov), takže výskyt nákazy v r. 1964 je súčasne opakovaním nákazy v prirodzene pred 9 mesiacmi premorenom chove.

Diagnóza sa vo všetkých prípadoch stanovila na základe typických klinických príznakov a bola potvrdená laboratórnym vyšetrením. Dr. Z. Grunert izoloval na Veterinárnom ústave v Bratislave z ošipaných každého chovu Au. vírus.

Jednotlivé prípady, uvedené v tab. IV treba doplniť týmito podrobnosťami:

a) V chove JRD Vlky sa oprasilo v priebehu posledných 3 týždňov pred vznikom nákazy 30 z 83 prasníc, čo je vyše dvojnásobok normálneho sledu obratu stáda, ak je praseň rozdelené rovnomerne na celý rok. 1. 4. 1963, t. j. v čase výskytu nákazy, bolo v laktácii 42 prasníc (= 51%). Z prevádzkových dôvodov zavádzali tu v tom čase skupinové (turnusové) praseň. Ukazuje sa, že toto chovateľské opatrenie sa môže nepriaznivo uplatniť pri vzniku a šírení Au. ch., ako sme to pozorovali aj v neočkovaných chovoch. Podľa údajov chovu boli všetky prasnice pred pol rokom očkované a od očkovania neboli do chovu dodané nové prasnice.

V čase výskytu Au. ch. sme v tomto chove vyšetrili sérologicky 13 prasníc, 24 ciciakov a 2 kance (tab. V). Prasnice, v ktorých vrhoch sa vyskytla Au. ch., mali vyššie hladiny NP ako prasnice so zdravými vrhmi. Je pravdepodobné, že vysoké titry NP u prasníc s chorými vrhmi sú prejavom anamnestickej reakcie. Jednoduché a dvojtyždňové ciciaky v zdravých vrhoch mali NP v stredných titroch; dvojtyždňové až trojtyždňové ciciaky však už mali len nízke alebo nijaké titry NP, a to v 3 zdravých aj v troch chorých vrhoch; len v jednom chorom vrhu 3-týždňových ciciakov boli pomerne vysoké titry NP. Tieto vysoké titry mohli byť zapríčinené tým, že od infekcie uplynul pomerne dlhý interval (inkubačný čas + niekoľko dní klinického ochorenia); nepovažujeme za pravdepodobné, že by boli ochoreli ciciaky s takými vysokými titrami NP. Nízke alebo nijaké titry NP u dvojtyždňových až trojtyždňových ciciakov sú v súlade s pozorovaním, že práve u ciciakov tohto veku sa vyskytli prvé prípady ochorenia. Z celkového počtu 280 ciciakov uhynulo 48, t. j. 17 %; v postihnutých vrhoch z 56 ciciakov uhynulo 48, t. j. 86 %.

Aj keď teda ochranné očkovanie prasníc v tomto chove na jeseň 1962 vyvolalo u prasníc dobrú sérologickú odpoveď, ako o tom svedčilo vyšetrenie sér v decembri 1962 (8 prasníc malo titer NP priemerne 1:100), došlo v priebehu 6 mesiacov u väčšiny prasníc k poklesu titrov NP na stredné až nízke hladiny. Pri prepuknutí nákazy sa vírus zachytil na 2—3 týždňové ciciaky, u ktorých doznievala kolostrálna imunita.

b) V chove JRD Nová Lipnica ochoreli ciciaky vo 2 trojtyždňových dvojvrhoch (2 prasnice a ich ciciaky spolu v 1 koterii) a tri štvrtiny z nich uhynuli. Na základe prežitia polovice ciciakov jedného dvojvrhu a sérologického vyšetrenia, pri ktorom mali NP len 4 z 8 ciciakov tohto dvojvrhu, usudzujeme, že tu ochoreli len tri vrhy.

V. Sérologické vyšetřovanie ošípaných na JRD Vlky v čase výskytu Aujeszkeho choroby (1. 4. 1963)*)

Ošípané	Dni po oprasení	Titer NP u prasnice	Titer NP u jej ciciakov
A. Zdravé vrhy			
prasnica č. 1	0	16	
2	1	16	32, 16
3	1	32	128, 16
4	2	16	32, 16
5	2	16	
6	2	32	32, 16
7	16	2	0, 0, 2
8	19	128	4, 4, 2
9	21	4	0, 0, 2
B. Choré vrhy			
prasnica č. 10	21	128	128, 64
11	21	512	0
12	14	64	2
13	14	8	0, 0, 4
C. Kance 0.			
1		64	
Kance č.			
2		32	

*) V chove sa očkovalo vakcínou BUK v septembri 1962.

I keď sme ani tu, podobne ako v iných prípadoch, nemohli bezpečne identifikovať, či boli dotyčné prasnice očkované, vedúci chovu udával, že od očkovania neboli do chovu zaradené nové prasnice.

c) V chove ošípaných na ŠM Rusovce sa nachádzalo asi 80 kontrolovaných plemenných prasnic, 180 prasnic na produkciu odstavčiat pre výkrm a asi 60 premenných prasnic. Tieto posledné a kontrolované plemenné prasnice neboli očkované. Roku 1963 sa nákaza vyskytla dokázateľne najprv v dovezených kontrolovaných plemenných prasnic, temer súčasne u premenných prasnic a len po 10 dňoch ochoreli aj vrhy od prasnic, o ktorých vedúci chovu udával, že boli očkované. Evidencia zvierat ani tu nebola uspokojivá. Okrem ciciakov tu ochorelo aj niekoľko odstavčiat a 4 uhynuli.

Po roku sa v tomto chove situácia opakovala. Opäť sa tu v júni 1964 nachádzali prikúpené prasnice a mladé prasničky vlastného odchovu, ktoré neboli očkované. Tri mladé prasničky ochoreli za 10—15 dní po pôrode za typických príznakov Au. ch. a za niekoľko dní ochoreli aj ciciaky v ich vrhoch. V ďalších dvoch vrhoch ochoreli prasiatka bez toho, že by sa bolo pozorovalo klinické ochorenie ich matiek. Vrhy od imunizovaných prasnic vôbec neochooreli. Pri sérologickom vyšetrení mali choré prasnice vyššie titry NP ako zdravé prasnice s chorými prasatami. Choré ciciaky mali vo dvoch vrhoch nízke hladiny NP, v treťom vrhu boli bez protilátok. Očkované prasnice mali prevažne vysoké titry NP (viac ako 1 : 100), rovnako ako aj časť neočkovaných prasnic, t. j. tie, ktoré už prišli do styku s terénnym vírusom.

d) V chove JRD Most na Ostrove zvyšovali v lete r. 1964 stav prasnic, keďže zrušili výkrm a začali sa špecializovať na produkciu odstavčiat. V 18 chovoch Západoslvenského kraja s rozličnou epizootologickou anamnézou nakúpili v priebehu 2 mesiacov pred výskytom nákazy 180 prasnic, ktoré však po zaradení do chovu neočkovali. Asi 16 z nich pochádzalo z 2 chovov, v ktorých sa v minulosti vyskytla

Au. ch., ale v ktorých sa neočkovoalo. Ochoreli ciciaky v 4 vrhoch od neočkovaných prasníc. Na ďalšie takéto vrhy ani na vrhy od očkovaných prasníc sa nákaza nerozšírila.

e) Chov ŠM Slovenské Pole v okrese Galanta sa od r. 1961 náchádza v prestavbe. Boli tu vybudované dve prototypové budovy, jedna pre 300 prasníc s ciciakmi a druhá pre 500 prasníc v rozličnom štádiu gravidity a prasnice po odstave. V auguste 1963, keď väčšina prasníc bola ešte veľmi núdzovo umiestnená (Markove budy v poli, staré stodoly atď.), prepukla v chove Au. ch. a vyžiadala si straty asi 400 ciciakov. Vzhľadom k zlým zoohygienickým podmienkam sa po zániku nákazy zaviedlo očkovanie všetkých ciciakov a odstávčiat, a to tak, že každý mesiac sa očkujú medzičasom narodené ciciaky a vo veku 5—6 týždňov sa robí revakcinácia. Stav prasníc sa doplňoval nekontrolovateľným prikupovaním z rozličných chovov a výberom vlastných prasničiek; takýchto zvierat pribudlo do mája 1964 asi 100, ale neboli očkované.

V máji 1964 došlo v matečníku k značnému hynutiu ciciakov a odstávčiat, pričom sa len z 2 z 11 na vyšetrenie poslaných zvierat izoloval Au. vírus. Podľa pôvodnej sprievodnej zprávy uhynulo vyše 300 ciciakov; veterinárna služba vykazuje straty 110 ciciakov následkom Au. ch. Pri našej návšteve dňa 20. 5. 1964 sme však nijaké ciciaky s príznakmi čo len zďaleka pripomínajúcimi Aujeszkeho chorobou nevideli a kŕmiči i veterinári vtedy súhlasne tvrdili, že nervové príznaky pozorovali len u ciciakov vo dvoch vrhoch a u niekoľkých odstávčiat. Je isté, že v neprehľadnej situácii v tomto chove, kde bolo na ploche niekoľko metrov štvorcových skoncentrovaných temer 800 neidentifikovateľných prasníc (od októbra 1964 sa zaviedlo tetovanie a evidencia) s rozličnou minulosťou, boli vhodné podmienky pre uchytenie sa vírusu. Je však otázne, koľko zo strát, ktoré tu boli normálne dosť veľké, možno pripísať na vrub Au. vírusu. V tab. IV uvádzame to, čo sme sami zistili, i keď si uvedomujeme, že je to do určitej miery jednostranné stanovisko.

f) V chovoch JRD Záhorská Bystrica a JRD Kalinkovo boli postihnuté len odstávčatá. V obidvoch prípadoch išlo o pomerne vysoké stavy prasníc, ktoré boli všetky zaočkované; nové, neimúnne prasnice sa v týchto chovoch nenachádzali. Ochoreli a uhynuli, resp. boli núdzovo zabití len odstávčatá vo veku 3—5 týždňov po odstave, t. j. v čase, keď už u nich odznela alebo doznievala kolostrálna imunita. Straty boli veľmi malé. Čo sa týka pôvodu nákazy, treba počítať s jej zavlečením, keďže v minulosti sa tu nákaza nevyskytla.

DISKUSIA

Vo všeobecnosti možno poznamkať, vyplývajúce z pozorovaní o výskyte Au. ch. v očkovaných chovoch, zhrnúť do týchto bodov:

1. Ani raz neochoreli očkované prasnice, ciciaky alebo odstávčatá. Nemáme tu na mysli ochorenie po očkovaní (ani toto sa, samozrejme, nevyskytlo), ale po určitom období, tak, že by sa dalo hovoriť o prelomení alebo o nevytvorení imunity.

2. Spravidla išlo o ochorenie ciciakov.

- a) Vo väčšine prípadov ochoreli ciciaky vo vrhoch od neočkovaných prasníc, dovezených do chovu alebo zaradených do plemenitby po uskutočnení hromadného očkovania v chove. V chove JRD Most to boli len také vrhy, v chove ŠM Rusovce ochoreli pri obidvoch výskytoch nákazy takéto vrhy prvé a v chove ŠM Slovenské Pole to boli pravdepodobne tiež len takéto vrhy. Prasnice ochoreli niekoľko dní pred ochorením mláďat alebo súčasne s nimi; už v čase klinického ochorenia mali nízke hladiny protilátok.

b) V troch chovoch ochoreli vrhy od prasníc, ktoré boli očkované; väčšina týchto prasníc mala v čase ochorenia ciciakov nízke hladiny neutralizujúcich protilátok. Treba však počítať aj s možnosťou, že niektoré prasnice, i keď majú vysoké hladiny protilátok, neodovzdajú ich kolostrálnou cestou svojmu potomstvu, ako sa to zistilo napr. pri červienke ošípaných. Takéto ciciaky by predstavovali v očkovanom chove vnímavé zvieratá. Ich počet však bude veľmi malý a sami sme takýto prípad pri vyšetrovaní desiatok vrhov od imúnnych prasníc nikdy nepozorovali.

c) Podľa výšky hladín protilátok v očkovaných chovoch možno rozdeliť prasnice, a podľa toho aj novonarodené ciciaky, do troch skupín: s nízkymi hladinami do 1 : 10, so stredne vysokými do 1 : 50 a s vysokými 1 : 100 a viac. Ak je podozrenie pretrvávania neutralizačných protilátok u ciciakov asi 10 dní, je zrejme, že po uplynutí 2—4 týždňov od uľahnutia ciciaky s počiatočnými titrami 1 : 2 až 1 : 8 budú bez protilátok, alebo ich budú mať vo veľmi nízkych titroch, t. j. stanú sa vnímavými voči infekcii.

Na počiatku našich úvah o dôsledkoch imunizácie prasníc a kolostrálneho prenosu protilátok (= imunity) na ich potomstvo vo vzťahu k ochrane chovu voči prirodzenej infekcii sme nedocenili praktický význam existencie uvedených troch druhov vnímavých ciciakov v očkovanom chove. Zdá sa, že sme sa príliš spoliehali na celkovú imunitu stáda, v ktorom sa očkovalo a dokázateľne má protilátky viac ako 90 % jedincov. Ukazuje sa, že aj malé percento vnímavých ciciakov môže predstavovať z nákazového hľadiska nebezpečný záchytný bod pre terénny vírus.

3. Vo dvoch chovoch (ŠM Rusovce a Slovenské Pole) sa vyskytlo okrem ochorenia ciciakov aj ochorenie odstavčiat za typických nervových príznakov, končiace u väčšiny zvierat vyzdravením. V chovoch JRD Záhorská Bystrica a Kalinkovo obmedzilo sa ochorenie len na odstávčatá, ktoré uhynuli alebo boli núdzovo zabití. Toto riešenie, t. j. núdzové zabitie chorých zvierat, ak ich počet nie je vysoký, treba považovať za správnejšie, ako vyčkanie vyzdravenia a ich ponechanie v chove.

4. Prehľad o počtoch postihnutých vrhov a uhynutých ciciakov a odstavčiat na tab. IV svedčí, že vo všetkých prípadoch bol priebeh nákazy neobyčajne mierny. Straty na ciciakov v neočkovaných chovoch bývajú spravidla vyššie. V posledných rokoch sa síce stretávame občas s podobným miernym priebehom Au. ch. aj v neočkovaných chovoch ošípaných, čo súvisí skôr so znížením virulencie terénnych vírusových kmeňov ako s premorením chovov, avšak spravidla bývajú straty predsa len vyššie. Zníženie strát v očkovaných chovoch je pochopiteľné, keď vírus sa tu síce zachytil vo vnímavých vrhoch, ale neprešiel na súsedné imúnne vrhy.

5. Pôvod nákazy sa ani v jednom prípade nepodarilo zistiť. V chovoch JRD Vlky a Nová Lipnica síce obidva výskyty časovo dosť súviseli, ale priestorovo sú tieto chovy od seba vzdialené a nedošlo k výmene zvierat alebo k nejakému dokázateľnému kontaktu. V súseďných obciach, resp. chovoch sa nákaza nevyskytla ani pred, ani po uvedených 8 výskytoch nákazy ani v jednom prípade. Zamorenie potkanmi je všade priemerné, v chove ŠM Rusovce ich bolo v čase obidvoch výskytov neobyčajne mnoho. Do chovu JRD Most sa nákaza pravdepodobne dovliekla prísunom prasníc z chovov, v ktorých sa v minulosti Au. ch. vyskytla.

6. Tri z 8 vzplanutí, o ktorých je reč v tejto stati, boli v skutočnosti opakovaním výskytu nákazy (JRD Nová Lipnica, ŠM Rusovce r. 1964 a ŠM Slovenské Pole), a to v rozmedzí približne 1 roku. Tieto prípady sa zaraďujú do skupiny tých, čo svedčia pre štacionárnosť výskytu Au. ch., t. j. pre trvalú existenciu ekologických podmienok, vytvárajúcich predpoklady pre opakovaný výskyt nákazy. V tomto ohľade sa možno uplatňuje výskyt potkanov, refazové infekcie ošípaných, dlhodobé vírusonosičstvo u ošípaných a ďalšie, dnes ešte neznáme činitele.

ZÁVER

V r. 1961—1965 sa očkovalo vakcínou BUK ochranné v 86 chovoch a núdzovo v 6 chovoch, t. j. spolu v 92 chovoch Západoslovenského kraja.

V r. 1963 až 1965 sa za 6—13 mesiacov po poslednom očkovaní vyskytla Aujeszkého choroba v 7 chovoch, a to r. 1963 v troch, r. 1964 v troch, r. 1965

vo dvoch. R. 1966 (do 30. 9.) sa nákaza nevyskytla ani v jednom z uvedených 92 očkovaných chovov.

Poznatky, získané rozborom uvedených prípadov upozorňujú v prvom rade na význam prítomnosti vnímavých zvierat — neočkovaných prasníc a neimúnnych ciciakov — v chove, ležiacom v enzooticky zamorenej oblasti a teda vystavenom útoku terénnych vírusov, nachádzajúcich sa možno v prírode alebo cirkulujúcich v populácii ošipaných.

V troch chovoch svedčilo opakovanie výskytu pre štačionárnosť nákazy. V jednom prípade svedčili okolnosti pre zavlečenie nákazy do čistého chovu zvieratami zo zamorených chovov.

Treba zdôrazniť, že v zamorenej oblasti možno nákazu účinne tlmiť len pravidelným doočkovaním všetkých nových zvierat, prichádzajúcich do chovu.

Došlo dňa 18. 10. 1966

Literatúra

1. GRUNERT Z., ŠKODA R.: Epizootológia Aujeszkého choroby v ČSSR. 1. História a zemepisné rozšírenie. 1964 = „Vet. Med.“ 9, 351-360. — 2. ŠKODA R., BRAUNER I., SÁDECKÝ R., SOMOGYIOVÁ J.: Imunizácia proti Aujeszkého chorobe živou vakcínou. 2. Imunizácia ošipaných v laboratórnych podmienkach. 1964 = „Acta virol.“ 8, 123-134. — 3. ŠKODA R., BRAUNER I., SÁDECKÝ E., SOMOGYIOVÁ J., JAMRICHOVÁ O.: Imunizácia proti Aujeszkého chorobe živou vakcínou. 3. Imunizácia ošipaných vakcínou BUK v terénnych podmienkach. 1966 = „Vet. Med.“ 11, 85-95. — 4. ŠKODA R., SÁDECKÝ E., MOLNÁR J.: Sérologická imunita proti Aujeszkého chorobe u prasníc po prirodzenom ochorení. 1963 = „Veterinářství“ 13, 205-208. — 5. ŠKODA R., GRUNERT Z.: Epizootologie der Aujeszkyschen Krankheit in der ČSSR. 2. Vorkommen wiederholter Ausbrüche der Seuche in der Westslowakei in den Jahren 1955-1964. 1966 = „Arch. exp. Veterinärmed.“ 20, 427-434.

Иммунизация против болезни Ауески живой вакциной —

4. Появление болезни Ауески в стадах свиней, вакцинированных вакциной BUK

В 1961—1965 гг. проводилась профилактическая вакцинация вакциной BUK в 86 стадах и вынужденная — в 6 стадах, т. е. в общем в 92 стадах Западнословацкой области.

В 1963—1965 гг. спустя 6—13 месяцев от последней прививки болезнь Ауески появилась в 7 стадах, а именно в 1963 г. в трех, в 1964 г. — в трех и в 1965 г. — в двух стадах. В 1966 г. (до 30. 9.) болезнь Ауески не появилась ни в одном из приведенных 92 вакцинированных стад.

Данные, полученные путем анализа приведенных случаев, в первую очередь свидетельствуют о значении наличия восприимчивых животных — невакцинированных свиноматок и неиммунных сосунков — в стаде, находящемся в энзоотически зараженной области, и следовательно, подверженном поражению местными вирусами, находящимися или в природе, или циркулирующих в популяции свиней.

В трех стадах повторное появление болезни свидетельствовало о стационарности заболевания. В одном случае заболевание было вызвано занесением инфекции в здоровое стадо животными из зараженных стад.

Следует подчеркнуть, что в зараженной области можно инфекцию эффективно ликвидировать только путем регулярного дополнительного вакцинирования всех новых животных, поступающих в стадо.

Immunization against Aujeszky's Disease with Live Vaccine

4. The Occurrence of Aujeszky's Disease in Pig Herds Vaccinated with BUK Vaccine

In the years 1961—1965 a protective vaccination with BUK vaccine was applied to 86 herds and emergency vaccination to 6 herds, i. e. altogether to 92 herds in western Slovakia.

In the years 1963–1965 the Aujeszky's disease occurred in 7 herds within 6–13 months after the last vaccination, i. e. in 1963 in three herds, in 1964 in three herds, and in 1965 in two herds. In 1966 (up to the 30th of September) the infection did not occur in any of the mentioned 92 vaccinated herds.

The analysis of the mentioned cases draws attention to the importance of the presence of susceptible animals — non-vaccinated sows and non-immune piglets — in a herd in a region with enzootic occurrence of the disease and so exposed to the attack of field viruses present in the natural environment or circulating in the pig population.

In three herds the repeated occurrence indicated the stationarity of the infection. In one case the circumstances indicated the spread of the infection to a free herd by animals originating in infected herds.

It must be pointed out that in infected areas it is possible to effectively suppress the infection only by means of regular vaccination of all new animals added to the herds.

Immunisierung gegen die Aujeszky'sche Krankheit mit lebender Vakzine

4. Vorkommen der Aujeszky'schen Krankheit in den mit der BUK-Vakzine geimpften Schweinezuchten

In den Jahren 1961 bis 1965 wurde die Vakzine BUK in 86 Schweinezuchten prophylaktisch und in 6 zur Notimpfung angewendet, d. h. insgesamt in 93 Zuchten des Westslowakischen Bezirkes.

In den Jahren 1963 bis 1965 trat in 6 bis 13 Monaten nach der letzten Impfung die Aujeszky'sche Krankheit in 8 Zuchten auf, und zwar im Jahre 1963 in drei, im Jahre 1964 in drei und im Jahre 1965 in zwei Zuchten. Im Jahre 1966 (bis zum 30. 9.) kam in keiner der angeführten 92 geimpften Zuchten die Krankheit vor.

Die gewonnenen Ergebnisse und Erkrankungen weisen in erster Linie auf die Bedeutung der Anwesenheit empfänglicher Tiere — der umgeimpften Säue und nicht immunen Saugferkel — in Zuchten hin, welche in dem enzootisch verseuchten Gebiete liegen und daher dem Angriff der möglicherweise in der in der Natur vorkommenden oder in der Schweinepopulation zirkulierenden Terrainviren ausgestellt sind.

In drei Zuchten zeugte das wiederholte Vorkommen von einem stationären Charakter der Seuche. In einem Falle deuteten die festgestellten Umstände auf Einschleppung der Seuche durch Tiere aus verseuchten Zuchten hin.

Es muß hervorgehoben werden, daß man in verseuchten Gebieten die Seuche nur durch regelmäßiges Nachimpfen aller neuen, zugeführten Tiere wirksam bekämpfen kann.

Adresa autora:

MVDr. Rastislav Š k o d a, Virologický ústav ČSAV, Bratislava, Mlýnská dolina

J. Menšík
K. Jurmanová
J. Kocí

ÚČAST VIRU PI-3 PŘI RESPIRAČNÍCH INFEKČÍCH SKOTU VE VELKOKAPACITNÍCH ODCHOVNÝCH ZAŘÍZENÍCH

I. VZNIK A PRŮBĚH NAKAZY PO PRIROZENÉ INFEKCI
A FREKVENCE VIRU U TELAT 1-8 TÝDNU STARÝCH

Tuto práci věnujeme akademiku Ivanu Braunerovi k uctění jeho 60. narozenin

■ Z celého komplexu respiračních infekcí skotu byla jako samostatná nosologická jednotka vyčleněna tzv. přepravní choroba skotu („shipping fever of cattle“) (Gale a Smith 1958). Z nosních výplašků telat, která jevila příznaky přepravní choroby, izoloval myxovirus *Parainfluenzae* 3 (kmen SF-4) poprvé Reisinger a spol. (1959). Příznaky jako zrychlený dech, kašel, hlenovitý a hlenohnisavý výtok z nosu, slzení, zánět spojivek, nechutenství a zvýšená teplota, spolu s anamnézou o nedávné přepravě nebo o styku se zvířaty nedávno přepravovanými, umožnily zpravidla bezpečné stanovení klinické diagnózy.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Hoerlein a spol. (1959) zjistili, že podobný syndrom se často objevuje i u telat, která zůstala na farmách a která onemocněla za příznaků rhinitidy, lehkého kašle, zrychleného dechu, deprese a anorexie.

Nejčastější výskyt onemocnění byl pozorován ve výkrmnách, kde měla nákaza v některých případech jen mírný průběh s přechodným zvýšením teploty, jindy probíhala za těžkých příznaků respiračních i celkových. U většiny zvířat byl však zaznamenán signifikantní vzestup titru protilátek, a to i u telat, která neměla horečku a nejevila žádné příznaky onemocnění. Toto zjištění poukazovalo na značný počet subklinických případů a na velkou vnímavost telat k infekci.

Abinanti a spol. (1960) pozorovali onemocnění také u telat nakupovaných a přepravovaných ve stáří 2–3 dní. U těch, která uhynula do 48 hodin po vzniku onemocnění, byl virus prokázán v nosním a tracheálním sekretu i v plicní tkáni. Kromě toho na některých farmách izolovali virus z mladých telat, která sice jevila podobné příznaky, u nichž však chyběla obvyklá epidemiologická souvislost s přepravní chorobou.

Značný význam viru PI-3 při vzniku onemocnění spojeného s tvorbou rozsáhlých plicních změn připisují také Walker (1963) a Woods a spol. (1964).

První průkaz viru PI-3 v Evropě se podařil Bakosovi a Dinterovi (1960), kteří studovali příčiny onemocnění považovaného za slizniční chorobu („Mucosal disease“) a u nemocných telat zaznamenali signifikantní vzestup titru protilátek proti viru PI-3 a VD. O další izolaci viru PI-3 z případů onemocnění diagnostikovaného jako „Mucosal disease“ referovali Schiøtt a Jensen (1963).

Za původce enzootií respiračních onemocnění telat, které mesouvisely s přepravní chorobou, označil virus PI-3 Bögel (1961). Hromadný, v některých chovech až 100% výskyt serologicky pozitivních reagentů považuje za důkaz, že onemocnění vyvolané virem PI-3 je vysoce kontagiózní, ve stádě se rychle rozšíří na všechna vnímavá zvířata a může v krátkém čase postihnout řadu stád v rozsáhlém území.

V roce 1964 jsme sledovali výskyt respiračních onemocnění u telat ve 2 velkokapacitních odchovných zařízeních (T a VK), izolovali jsme několik kmenů hemad-

sorbujících virů a prokázali jejich identitu s referenčním kmenem myxoviru PI-3 (Menšík a spol. 1967). Cílem této práce bylo objasnit účast těchto virů při vzniku charakteristického respiračního syndromu, který postihuje velký počet ustájených zvířat a postupně získává charakter stájové nákazy.

MATERIÁL A METODIKA

Metody klinického a epizootologického vyšetření. V anamnestických údajích, které poskytli podnikoví veterinární lékaři, i při vlastním vyšetření byly zaznamenány údaje o vzniku a průběhu onemocnění v různých ročních obdobích a u zvířat různých věkových kategorií, stressové vlivy, které mohly způsobit vzplanutí latentní nákazy a pohyb zvířat v rámci teletníku a vzhledem k ostatním farmám v nasávací oblasti. Byl sledován zdravotní stav telat na produkčních farmách před přesunem do teletníku a v době přesunu, délka inkubační doby a příznaky onemocnění, lokální i celkové, zejména se zřetelem na klinický obraz postižení respiračního traktu, celkový stav zvířat a ztráty uhynutím a nutnými porážkami. U poražených a uhynulých telat byl hodnocen pitevní nález se zřetelem k rozsahu změn v plicích.

Metody virologického vyšetření. Odběr vzorků, zpracování materiálu, infekce a posuzování tkáňových kultur (TK) byly podrobně popsány v předešlé práci (Menšík a spol. 1967).

Vlastní vyšetření proběhlo v obou lokalitách ve 2 etapách. V lokalitě T v srpnu 1964 a v srpnu 1965, v lokalitě VK ve druhém pololetí r. 1964 a v době od března do srpna 1965. V lokalitě T se osvědčila pojízdná laboratoř (V₃S), vhodně vybavená pro práci s TK. Vzorky infekčního materiálu byly zpracovávány bezprostředně po odběru a bez předchozího zmrazení a byly očkovány na TK. Vzorky z lokality VK byly uloženy na suchém CO₂ a skladovány až do dne vyšetření při -70 °C.

VÝSLEDKY

LOKALITA T – VELKOKAPACITNÍ ZAŘÍZENÍ PRO CCA 18000 TELAT

Výběr telat pro svoz do VKT je regulován veterinárním lékařem v teletníku, který posuzuje zdravotní stav jednotlivých zvířat ještě na farmách v profylaktoriích. Telata jsou převážena ve věku 5–21 dní a umístěna v přijímacím pavilonu v individuálních koticích.

Zatím co celkový stav přisunovaných telat byl ve většině případů dobrý a zjevně nemocná zvířata byla výjimkou, objevily se první hromadné příznaky onemocnění již za 24–48 hodin po zástavu.

Prvním příznakem onemocnění byl hojný serózní výtok z nosu, zpravidla oboustranný, který byl pozorován v některých turnusech u 50–80 % ustájených zvířat. U některých telat se současně s výtokem, u jiných později (za 5–6 dní po příchodu) objevil průjem, někdy mírný, často však těžký až profúzní, vyžadující léčbu. Za 3–7 dní po příchodu, někdy teprve ve druhém týdnu po zástavu byl pozorován spontánní kašel, zpočátku lehký a povrchní, později těžký, záchvatový s výhozem. Na podráždění hrtanu a trachey nebo ucpáním nosder byl vyvolán kašel v prvních 14ti dnech asi u 50 % zvířat. Současně s kašlem se postupně vyvíjela bronchopneumonie, která měla u 10–30 % postižených telat progresivní charakter a vedla ke vzniku zřetelných, často značně rozsáhlých plicních změn. Tyto změny byly provázeny zrychlením frekvence dechové, ztiženým dechem, namáhavým někdy bolestivým dýcháním, často kostoabdominálního typu. Telata byla malátná, ospalá se sníženou chutí k žrádлу měla nízké přírůstky často i ztráty na váze. U některých telat

I. Souhrn výsledků izolačních pokusů v I. a II. etapě

	Počet telat	Druh vyšetřeného materiálu	Počet vyšetřených vzorků	Z toho			
				pozitivních počet %		negativních počet %	
I. 1964	25	výtěry nosní	15	3	20	12	80
	10	plice	10	3	30	7	70
	9	sliznice trach.	15	9	60	6	40
II. 1965	34	výtěry nosní	37	6	16	31	84
	11	plice	9	3	33	6	67
	9	sliznice trach.	13	7	53	6	47
Celkem	98		99	31	31,3	68	67,7

mělo onemocnění prudký průběh a končilo uhynutím nebo nutnou porážkou. Ve většině případů pokračovalo ještě 2—3 měsíce jako chronický proces s převládajícím obrazem bronchopneumonie. V ojedinělých případech docházelo k exacerbací procesů projevujících se horečkou 40—40,5 °C, bolestivým namáhavým a vysilujícím kašlem, povrchním rychlým dechem a rozsáhlými změnami v plicích. Tyto případy často končily nutnou porážkou.

Celková nákazová situace se během roku 1964 a 1965 prakticky nezměnila a jak rozsah enzootie tak klinický obraz nákazy s výrazným respiračním syndromem byly stejné.

Přehled výsledků izolačních pokusů v obou etapách je uveden v tabulce I.

Shodný cytopatický efekt (CPE), projevující se zpravidla již v prvních 2 pasážích na primárních telecích ledvinách, poukazoval na častou frekvenci téhož viru u telat, stížených typickým respiračním syndromem. Přehled jednotlivých isolátů v I. a II. etapě je uveden v tabulce IIa a IIb.

LOKALITA VK

je teletník střední kapacity pro cca 800 telat, který je doplňován telaty ze 7 farem. Na 5 farmách se v průběhu pokusů nevyskytovaly žádné příznaky respiračního onemocnění, na 2 zbývajících farmách (H a K) byly však pozorovány u telat často již v prvních dnech po narození serózní až seromucinózní výtoky z nosu a ve 2. týdnu života sporadický lehký kašel. Po převedení do teletníku se pak u telat z postižených farem rozvíjelo onemocnění již v prvních dnech po zástavu. Byly pozorovány hojné oboustranné seromucinózní až hnisavé výtoky z nosu, kašel a na plicích charakteristické bronchopneumonické změny. U zdravých telat se objevovaly první příznaky onemocnění za 5—7 dní po expozici. Rozdíl v průběhu onemocnění se projevil také nižšími přírůstky a horším vývojem telat infikovaných na farmách a zjevně nemocných již při příchodu do teletníku.

V říjnu 1964 byl pozorován hromadný výskyt bronchopneumonií u 1—2 týdnů starých telat na farmě H. U většiny telat z této farmy mělo onemocnění v teletníku zvlášť těžký průběh a končilo v 30 % případů uhynutím nebo nutnou porážkou s charakteristickým pitevním nálezem. Ve většině případů byly nalezeny pneumonické změny různého stupně převážně v předních lalocích plicních.

Na jaře 1965 byl podrobně zhodnocen vývoj enzootie u telat, která byla přivážena po skupinách do teletníku ze 6 farem v době od 15. 3. do 17. 5. 1965. Telata byla vyšetřena buď přímo na farmách ještě před transportem, nebo bezprostředně po příchodu do teletníku.

Přehled o vývoji onemocnění v jednotlivých skupinách je v tabulce III.

U všech telat se během 10 dní po zástavu pohybovala teplota ve fyziologických hranicích. Předpokládaným zdrojem nákazy byla telata z farmy M. a K. Stejně jako v předchozím pozorovacím období byl u nich zaznamenán těžší průběh onemocnění s delší rekonvalescencí a charakteristickým nálezem na plicích (obr. 1 a 2).

Číslo	Druh materiálu	Stáří telete	Klinický stav nebo p. a. změny plicní	Bakteriologické vyšetření	Virologické vyšetření	
					CPE a HAD	pasáž
30	N. V.	34	výtok *** kašel vv	+	+	2
33	N. V.	19	výtok ** kašel vv	++	+	1
35	N. V.	31	výtok *** kašel vv	+	++	2
11	T. H.	48	bronchopneumonie <<<<	+	+++	1
12	PL.	18	Bronchopneumonie <<<	0	++	1
13	PL.	21	bronchopneumonie <<<	0	+++	1
24	T. D.	7	bronchopneumonie <<	+++	++	1
25	PL.	10	bronchopneumonie <<	+++	++	1
25	T. H.				++	1
25	T. D.				++	1
26	T. D.	14	bronchopneumonie <<<	+	++	1
27	T. H.	16	bronchopneumonie <<<	0	++	1
27	T. D.				++	1
28	T. H.	18	bronchopneumonie <<<	++	++	1
28	T. D.				++	1

Vysvětlivky:

N. V. — nosní výtěr nosní * serózní kašel: v na podráždění

T. H. — tracheální sliznice výtok ** serózně hlenovitý vv spontánní

T. D. — tracheální sliznice v horní 1/2 *** hlenohnisavý

v dolní 1/2 **** hnisavý

PL. — plíce

bronchopneumonie: < ojedinelá drobná ložiska

<< četná ložiska

<<< lobární

<<<< hnisavá

bakteriol. vyšetření: 0 negativní

+ slabá kontaminace

++ střední kontaminace

+++ silná kontaminace

virol. vyšetření: + stupeň

++ CPE a

+++ HAD

Přehled výsledků isolačních pokusů z lokality VK je uveden v tabulce IV a přehled jednotlivých isolátů v tabulce V.

Cytopatický efekt na primárních telecích ledvinách, pozorovaný při izolacích z obou lokalit, se projevoval zpočátku ložiskovým zakulacováním jednotlivých buněk, později vytvářením drobných ostrůvků zakulacených a degenerovaných buněk, s následujícím odpadáváním buněk od skla. V místech rozpadu zůstávaly ostrůvky sou-

IIb. Přehled hemagultinujících agens izolovaných v lokalitě I v srpnu 1965

Číslo	Druh materiálu	Stáří telete	Doba expozice (dni)	Klinický stav nebo p. a. změny plicní	Bakteriologické vyšetření	Virologické vyšetření	
						CPE a HAD	pasáž
1	N. V. směs (3)	25—50	12	výtok *** kašel vv	++	+++	2
2	N. V. směs (2)	26	6—13	výtok *** kašel vv	++	+++	1
3	N. V. směs (3)	12—53	7	výtok *** kašel vv	+	+	2
20	N. V.	53	15	výtok **	+	+++	1
25	N. V.	25	10	výtok ***	+	+++	1
32	N. V.	28	10	výtok *	+	+++	2
14	PL.	42	13	bronchopneumonie <<<	0	+++	2
16	PL.	43	13	bronchopneumonie <<<	0	+++	2
16	T.					+++	2
35	T. H.	51	19	bronchopneumonie <<	0	+++	2
35	T. D.					+++	1
36	PL.	24	9	bronchopneumonie <<<	++	+++	1
36	T. H.					+++	1
36	T. D.					+++	1
37	T. H.	31	9	bronchopneumonie <<	0	+++	1
37	T. D.					+++	1

Vysvětlivky: dtto v tab. č. IIa

vislého porostu spojené můstky ze zbytků destruované tkáně. Místy se tvořila syncytia s různým počtem jader (obr. 3 a 4).

Všechna izolovaná agens hemadsorbovala červené krvinky morčat (obr. 5) a v křížových HI a VN testech byla identifikována jako myxovirus PI-3 (Menšík a spol. 1967).

ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A DISKUSE

Respirační syndrom, vyskytující se jako hromadné, kontagiózní onemocnění ve velkokapacitních odchovných zařízeních, se neliší od přepravní choroby (Reisinger a spol. 1959); může však připomínat též Bakerovu pneumoenteritidu (Baker 1943), enzootickou pneumonii (Jennings a Glover 1952), chronickou enzootickou pneumonii telat (Anderson a Le Master 1956, Carter a Rowsell 1958) nebo pneumonii telat a odstávčat (Palotay a Newhall 1958). Těžký průběh onemocnění v lokalitě T odpovídá případům „shipping fever“, které popsali Abinanti a spol. (1960) jak u mladého skotu od 4 měsíců do 1 roku stáří, tak u telat mladších, přepravovaných ve věku 2—3 dní.

III. Vývoj onemocnění u telat v teletníku VK v jarním období 1965

Skupina	Příchod do VKT dne	Původ (farma)	Klinický stav při zástavu		Nástup klinických příznaků			Další vývoj		Rekonvalescence (uzdravení) za dny
			počet vyšetřených	z toho: ks a klinický stav	za dny	počet postižených	klinický nálezn	klinický nálezn	průběh onemocnění	
I.	15. 3.	VK	6	6/6 zdravá	3	2/6	**	** vv	mírný	28
		H	4	4/4 zdravá	3	4/4	**	** vv	mírný	28
II.	25. 3.	B	5	5/5 zdravá	3	3/5	**	** v	mírný	21
		M	6	2/6 **	3	6/6	**	*** vv xxx	těžký	42
		K	1	1/1 zdravé	5	1/1	**	* v	mírný	14
III.	5. 4.	VK	7	7/7 zdravá	3	3/7	** v	** v	mírný	14
		K	2	2/2 *** vv xx				*** vv xxx	těžký	56
		H	1	1/1 zdravé	5	1/1	**	***	lehký	28
		M	1	1/1 **				*** vv xx	těžký	56
IV.	20. 4.	M	8	8/8 **				*** vv xxx	těžký	56
				2/8 vv						
		B	7	7/7 zdravá	3—7	7/7	** vv	** vv	mírný	21
V.	3. 5.	L	1	1/1 zdravá	7	1/1	** v	** vv	mírný	21
		M	6	2/6 **	3	3/6	** v	*** vv xx	těžký	42
		VK	4	4/4 zdravá	7	4/4	**	** v	mírný	21
VI.	17. 5.	B	4	4/4 zdravá	7	4/4	**	**	mírný	21
		M	6	2/6 ** vv	3	6/6	** vv x	*** vv xx	těžký	42
		B	3	3/3 zdravá	7	3/3	** vv	** v	mírný	21
		VK	1	1/1 zdravá	3	1/1	*	*	mírný	21

Vysvětlivky: dtto v tab. č. IIa

x
xx rozsah bronchopneumonických změn
xxx

IV. Přehled výsledků izolačních pokusů v lokalitě VK

Počet telat	Druh materiálu	Počet vyšetřených vzorků	Z toho			
			pozitivních		negativních	
			ks	%	ks	%
18	N. V. směs	2	1	50	1	50
	Pl.	9	2	22	7	78
	Tr.	4	1	25	3	75
	N. S. *)	2	0	0	2	100
Celkem vzorků		17	4	23,5	13	76,5

*) N. S. — nosní sliznice

V. Přehled hemaglutinujících agens izolovaných v lokalitě VK

Číslo	Druh materiálu	Stáří telat dní	Klinický stav nebo p. a. změny plicní	Bakteriol. vyšetření	Virologické vyšetření	
					CPE a HAD	pasáž
2	Pl.	17	Bpn. <<<	0	+++	3
3	Pl.	12	Bpn. <<	0	+++	2
3	T. H.			+	+	2
5	N. V. směs	7 + 14	výtok ***			
	(6 Ks)	7 — 14	kašel vv	++	+	2

Vysvětlivky: dtto v tabulce IIa.

Případy onemocnění u telat po styku se zvířaty přepravovanými, nebo i ty, u nichž chyběla anamnéza o přepravě i o infekci kontaktem, se nijak neliší od enzootií popsanych B ö g e l e m (1961, 1962) a odpovídají i našim pozorováním na některých farmách v nasávací oblasti T a VK.

Průběh onemocnění i jeho následky jsou nesporně ovlivněny koncentrací zvířat, strukturou stáda a způsobem organizace chovu, klimatickými a mikroklimatickými podmínkami, délkou a namáhavostí přepravy a jinými stressovými faktory (R e i s i n g e r a spol. 1959, A b i n a n t i a spol. 1960, C o l l i e r a spol. 1962, B ö g e l 1961, G a l e a King 1961). V mnoha směrech připomínají tyto infekce epidemie virových respiračních onemocnění lidí, jejichž průběh je v civilních populacích mnohem mírnější než u rekrutů a branců, vystavených těžkým fyziologickým nárazům v době, kdy se poprvé setkávají s infekcí (A b i n a n t i a spol. 1960).

Dosavadní výsledky pokusů o objasnění etiologie respiračních infekcí skotu naznačují, že při onemocněních se stejnými klinickými příznaky lze očekávat účast různých virů, stejně jako při klinicky diferencovaných onemocněních může být potvrzena jednotná etiologie.

Vzhledem k tomu, že v obou vyšetřovaných lokalitách jsme nepozorovali příznaky infekční bovinní rhinotrachitidy — IBR (McKercher 1959, Gillespie a spol. 1959) ani slizniční choroby (*Mucosal disease*) (Ramsey a Chivers 1953, Huck 1957, Gillespie a spol. 1960), zaměřili jsme naše pokusy na průkaz myxoviru PI-3. Předpokládali jsme však i možnost výskytu jiných virů, jejichž etiologický význam je rovněž některými autory zdůrazňován: Myagawanel (York a Baker 1951, 1956, Matsumoto a spol. 1957, Patotay a Christensen 1959, Boháč 1960, Bögel 1961, Surdan a spol. 1961, Romváry 1964), Adenovirů (Klein a spol. 1959, 1960, Bartha a Áldásy a spol. 1965, Darbyshire a spol. 1965), Picornavirů (Molla Davis 1959, Bögel 1962, Mayr a spol. 1965), případně i jiných neidentifikovaných cytopatogenních agens.

Na tkáňových kulturách primárních telecí ledvin jsme vyšetřili celkem 116 vzorků (plicní tkáň, tracheální a nosní sliznice a nosních výtěrů) od 116 nemocných telat a izolovali cytopatogenní agens, identifikovaná jako myxovirus PI-3. Naše kmeny vytvářely po 3—4 dnech inkubace typické cytopatické změny, popsané již Reisingerem (1959), Bögelem (1961), Bakosem a Dinterem (1960), Abinanti a spol. (1960), Woodsem a spol. (1964) aj.

Poměrně častý průkaz viru PI-3 v materiálech z nemocných telat v lokalitách T a VK (31 % a 23 % z celkového počtu vyšetřených) dokazuje, že i v našich výrobních podmínkách může být virus PI-3 často příčinou onemocnění. Ve velkokapacitních odchovných zařízeních se přeprava telat na větší vzdálenosti uplatňuje nesporně jako významný stressový faktor, který predisponuje zejména mladá telata v raném postnatálním období k infekci a onemocnění. Jsou tedy námi sledované a potvrzené parainfluenzové infekce také etiologicky shodné s přepravní chorobou (Reisinger a spol. 1959, Abinanti a spol. 1960 aj.).

ZÁVĚR

Respirační syndrom, vyskytující se jako stájová nákaza ve velkokapacitních odchovných zařízeních u telat do 3 měsíců stáří, připomíná americkou „shipping fever of cattle“, stejně jako v Evropě hojně rozšířenou enzootickou bronchopneumonii telat. Na tkáňových kulturách primárních telecí ledvin bylo vyšetřeno v letech 1964—1965 116 vzorků plicní tkáň, tracheální a nosní sliznice a nosních výtěrů od 116 nemocných telat ve 2 lokalitách a bylo izolováno 35 cytopatogenních agens hemadsorbujících morčecí červené krvinky. Isoláty byly identifikovány jako bovinní kmeny myxoviru parainfluenzae 3.

Častý výskyt v respiračním traktu nemocných telat poukazuje na primární úlohu myxoviru parainfluenzae 3 při vzniku onemocnění.

Došlo dne 15. 12. 1966

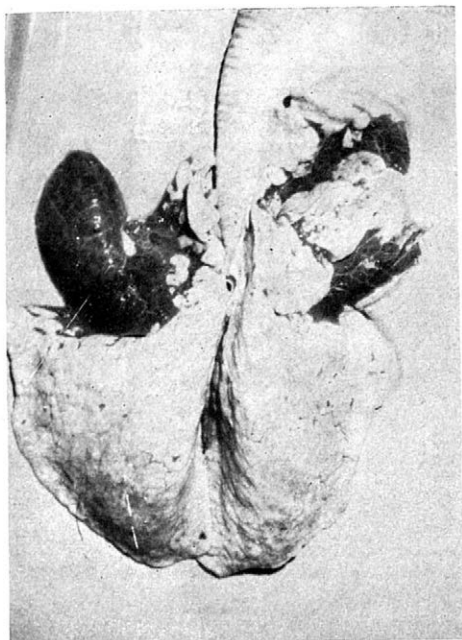
Poděkování

Závěrem dovoluji si poděkovat veterinárním lékařům MVDr Kůželovi a MVDr Holubovi za umožnění práce a účinnou pomoc při pokusech v provozních podmínkách.

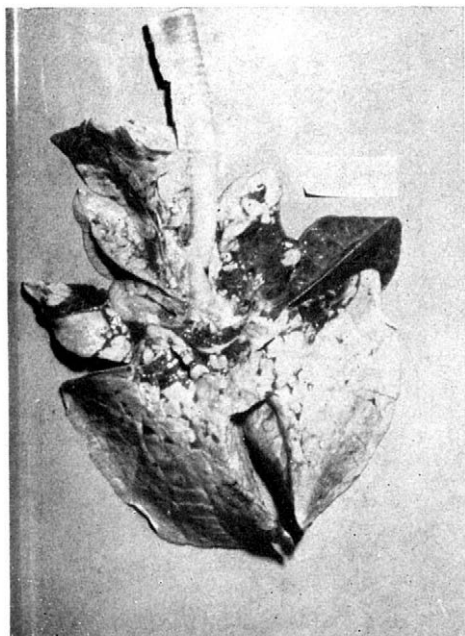
Technická spolupráce: M. Hájková, I. Jiranová.

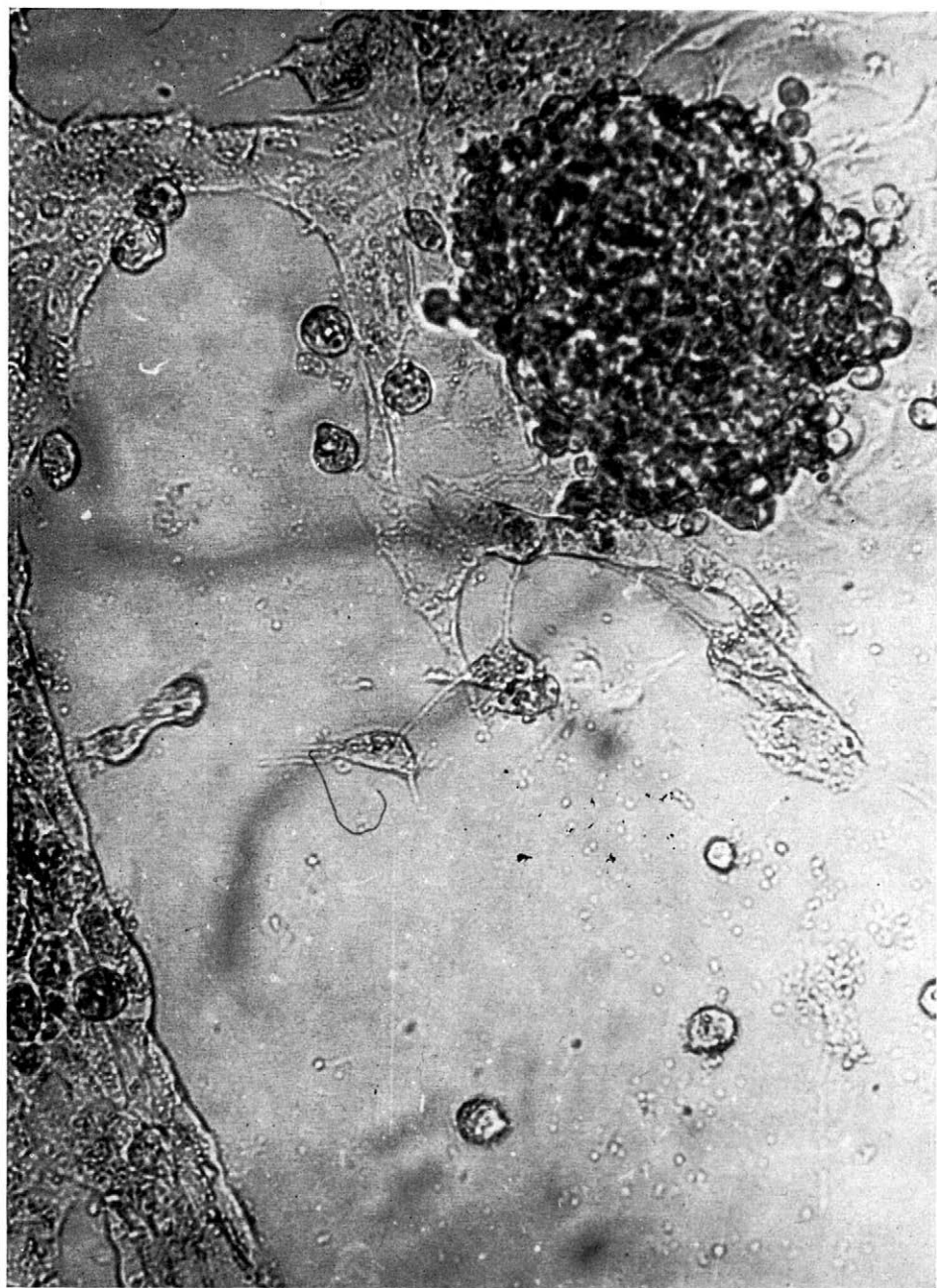
Literatura

1. ABINANTI, F. R. - BYRNE, R. J. - WATSON, R. L. - POELMA, L. J. - LUCAS, F. R. - HUEBNER, R. J.: Observation of Infection of Cattle with Myxovirus Parainfluenza 3. = „Am. J. Hyg.“, 71, 1960, 52-58. — 2. ÁLDÁSY, P. - CSONTOS, L. - BARTHA, A.: Pneumo-Enteritis in Calves Caused by Adenoviruses. = „Acta vet.“, 15, 1965, 167-175. — 3. ANDERSON, G. W. - LaMASTER, J. P.: The Control of Chronic Calf Pneumonia. = „JAVMA“, 123, 1956, 57-58. — 4. BAKER, J. A.: A Filterable Virus Causing Enteritis and Pneumonia in Calves. = „J. Exp. Med.“, 78, 1943, 425-445. — 5. BAKOS, K. - DINTER, Z.: Identification of a Bovine Mucosal Disease Virus Isolated in Sweden as Myxovirus Parainfluenza 3. = „Nature“,

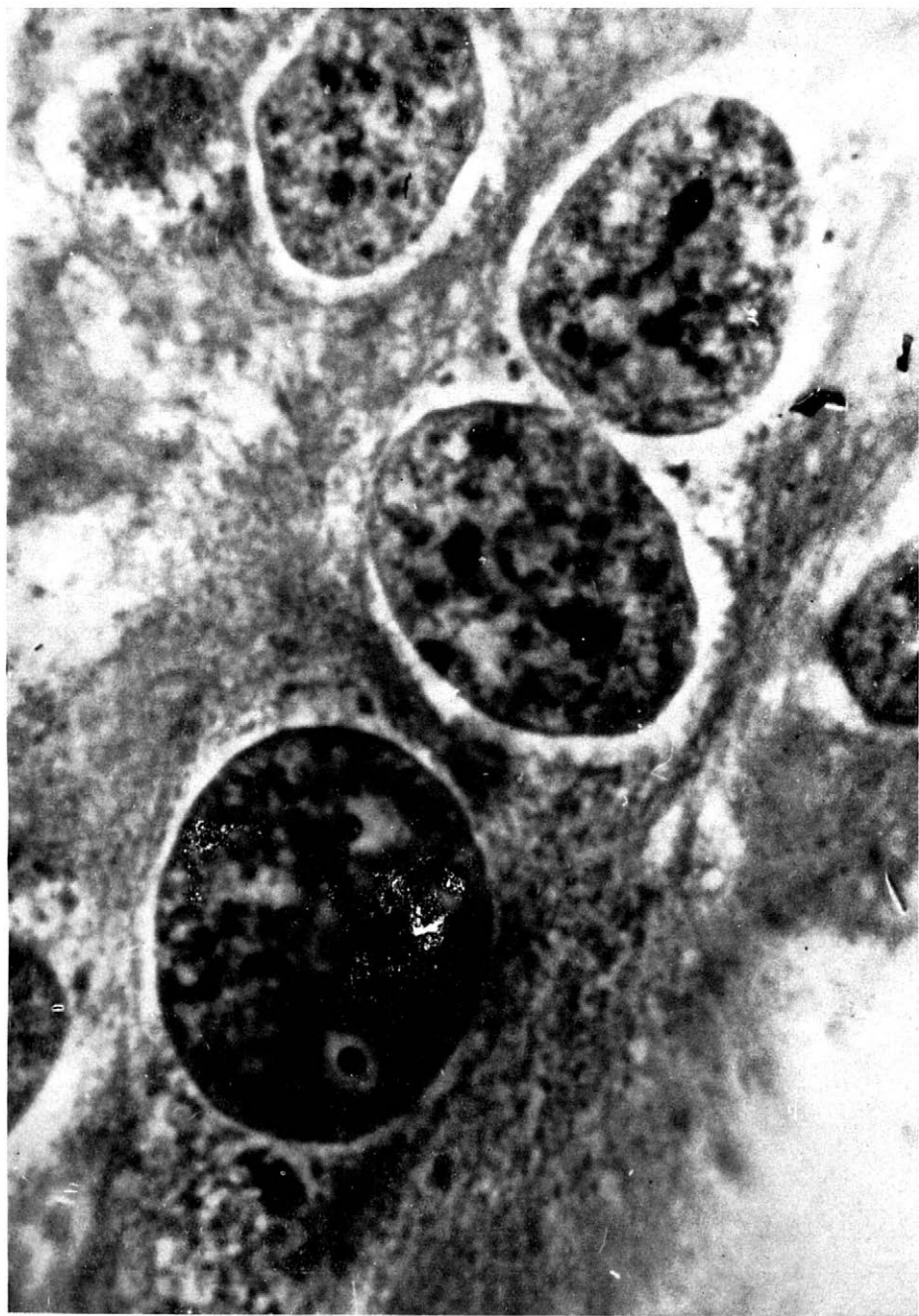


Obr. 1 a 2. Plíce telete 14 dní starého
z farmy M poraženého za 8 dní po pří-
chodu do teletniku. Foto Brázdilová

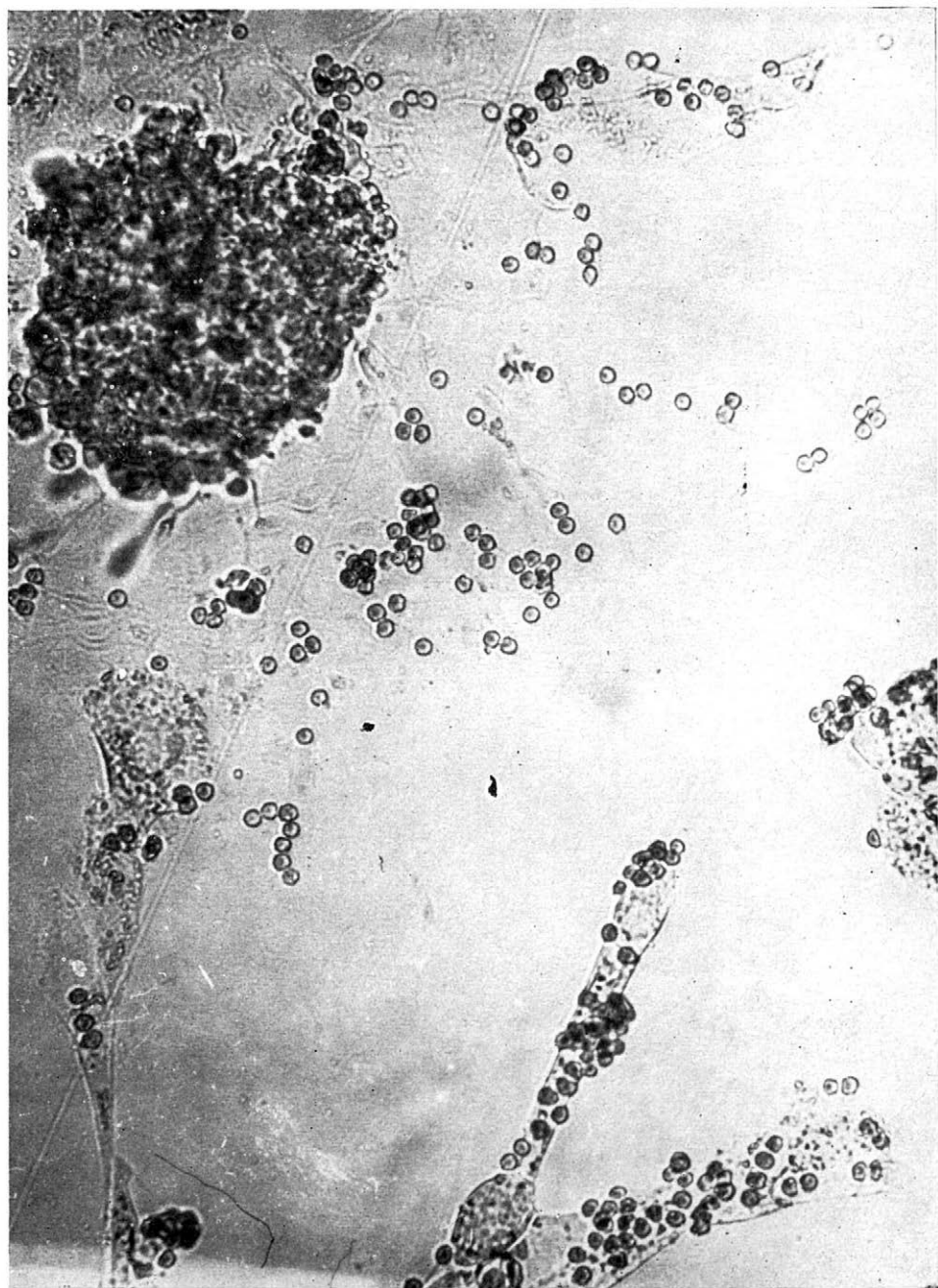




Obr. 3. CPE v tkáňové kultuře telecích ledvin za 76 hodin po infekci. Destrukce tkáně, místy syncytia a shluky buněk. Zvětšení negativu 65 : 1. Foto: Dr. Pleva.



Obr. 4. Tříjaderné syncytium, v 1 jádře intranukleární inkluse. Zvětšení negativu 380 : 1. Foto: Dr. Pleva,



Obr. 5. Positivní hemadsorbční test s typickým CPE. Zvětšení negativu 65 : 1.
Foto: Dr. Pleva.

185, 1960, 549. — 6. BARTHA, A. - ÁLDÁSY, P.: Isolation of Adenovirus Strains from Calves with Virus Diarrhoea. = „Acta vet.“, 14, 1964, 239-245. — 7. BOHÁČ, J.: Virová pneumonie telat, etiologie a diagnostika = „Veterinářství“, 10, 1950, 81-82. — 8. BÖGEL, K.: Virological Investigation Results in Calves with Respiratory Syndrome with Specific Regard to the Parainfluenza-3 Virus Infection. = „Monatsh. Tierheilk.“, 13, 1961, 162-174. — 9. BÖGEL, K.: Untersuchungen über die Epizootologie und Diagnostik bei der Parainfluenza-3-Virusinfektion des Rindes. = „Monatsh. Tierheilk.“, 14, 1962, 77-90. — 10. CARTER, G. R. - ROWSELL, H. C.: Studies on Pneumonia of Cattle. II. An Enzootic Pneumonia of Calves in Canada. = „JAVMA“, 132, 1958, 187-190. — 11. COLLIER, J. R. - BROWN, W. W. - CHOW, T. I.: Microbiologic Investigations of Natural Epizootic of Shipping Fever of Cattle. = „JAVMA“, 140, 1962, 807. — 12. DARBYSHIRE, J. H. - JENNINGS, A. R. - OMAR, A. R. - DAWSON, P. S. - LEMONT, P. H.: Association of Adenoviruses with Bovine Respiratory Disease. = „Nature“, Lond., 208, 1965, 307-308. — 13. GALE, C. - KING, N. B.: Isolation of Virus from Clinical Shipping Fever in Cattle. = „JAVMA“, 138, 1961, 235-238. — 14. GALE, C. - SMITH, N. R.: Studies on Shipping Fever of Cattle. I. The Experimental Exposure of Cattle with Various Cultures of Pasteurella. = „Am. J. Vet. Res.“, 19, 1958, 815-817. — 15. GILLESPIE, J. H. - BAKER, J. A. - McENTEE, K.: A Cytopathogenic Strain of Virus Diarrhoea Virus. = „Cornell Vet.“, 50, 1960, 73-79. — 16. GILLESPIE, J. H. - McENTEE, K. - KENDRICK, J. W. - WAGNER, W. C.: Comparison of Infectious Pustular Vulvovaginitis with Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus. = „Cornell Vet.“, 49, 1959, 288-297. — 17. HOERLEIN, A. B. - MANSFIELD, M. E. - ABIANTI, F. R. - HUEBNER, R. J.: Studies of Shipping Fever of Cattle. I. Para-Influenza 3 Virus Antibodies in Feeder Calves. = „JAVMA“, 135, 1959, 153-160. — 18. HUCK, R. A.: 1957 b - citov. PATERSON, A. B.: Virus Diseases in Calves. = „Vet. Rec.“, 74, 1962, 1384-1389. — 19. JENNINGS, A. R. - GLOVER, R. E.: Enzootic Pneumonia in Calves. II. The Experimental Disease. = „J. Comp. Path. Ther.“, 62, 1952, 6-22. — 20. KLEIN, M. - EARLEY, E. - ZELLAT, J.: Isolation from Cattle of a Virus Related to Human Adenovirus. = „Proc. Soc. Exp. Biol. Med.“, 102, 1959, 1. — 21. KLEIN, M. - ZELLAT, J. - MICHAELSON, T. C.: A New Bovine Adenovirus Related to Human Adenovirus. = „Proc. Soc. Exp. Biol. Med.“, 105, 1960, 340-343. — 22. MATUMOTO, M. - OMORI, T. - MORIMOTO, T. - HARADA, K. - INABA, Y. - ISHII, S.: Studies on the Disease of Cattle Caused by Bovine PL-Virus a Psittacosis-Lymphogranuloma Group Virus (Miyagawanella). VIII. Sites for the Virus to Leave the Infected Host. = „Bull. Nat. Inst. Animal Health in Tokyo“, 32, 1957, 95-115. — 23. MAYR, A. - WIZGMANN, G. - WIZGMANN, I. - SCHLISSER, Th.: Untersuchungen über infektiöse Kälbererkrankungen während der neugeborenen Phase. = „Zbl. Vet. Med.“, 12, 1965, 1-2. — 24. McKERCHER, D. S. - SAITO, J. K. - WANDA, E. M. - STRAUB, O.: Current Status of the Newer Virus Disease of Cattle. = „Proc. 62nd Ann. Meeting U. S. Livestock Sanitary Assoc.“, 1958, 136-156. — 25. MENŠÍK, J. - JURMANOVÁ, K. - PLEVA, V. - PLÁCHTOVÁ, I.: Isolace a identifikace bovinních kmenů myxoviru PI-3 v ČSSR. = v tisku. — 26. MOLL, T. - DAVIS, A. D.: Isolation and Characterization of Cytopathogenic Enteroviruses from Cattle with Respiratory Disease. = „Am. J. Vet. Res.“, 20, 1959, 27-32. — 27. PALOTAY, J. L. - CHRISTENSEN, N. R.: Bovine Respiratory Infections. I. Psittacosis-Lymphogranuloma Venerum Group of Viruses as Etiological Agents. = „J. Am. Vet. Med. Assoc.“, 134, 1959, 222-230. — 28. PALOTAY, J. L. - NEWHALL, J. H.: Pneumonia in Newly Weaned Calves-Report of a Field Study. = „JAVMA“, 133, 1958, 353-357. — 29. RAMSEY, F. K. - CHIVERS, W. H.: 1953 - citov. PATERSON, A. B.: Virus Diseases in Calves. = „Vet. rec.“, 74, 1962, 1384-1389. — 30. REISINGER, R. C. - HEDDLESTON, K. L. - MANTHEL, C. A.: A Myxovirus (SF 4) Associated with Shipping Fever of Cattle. = „JAVMA“, 135, 1959, 147-152. — 31. ROMVÁRY, J.: Psittacosis-lymphogranuloma venerum (PLV) csoportbeli vírus okozta légzőszervi megbetegedések szaporos borjak között. = „Magyar állatorv. Lapja“, 19, 1964, 265-268. — 32. SCHIÖTT, C. R. - JENSEN, Ch. H.: Isolation of a Virus from the Virus Diarrhoea - Bovine Mucosal Disease. = „Acta Vet. Scand.“, 4, 1963, 52-63. — 33. SURDAN, C. - SARATEANU, D. - SODOROC, G. - ATHANASIU, P. - ANAG-NOSTE, B. - BERCAN, A. - KRESTEL, R.: Étude expérimentale d'une pneumonie pararickettsie du veau. = „St. Cerc. Inframicrobiol.“, 12, 1961, 451-465. — 34. WALKER, D. F.: Possible SF-4 Virus Connection to Pulmonary Abscess of Calves. = „Auburn Veterinarian“, 19, 1963, 70-71. — 35. WOODS, G. T. - SIBINOVIC, K. - SEGRE, D. - THURMON, J. C.: Isolation and Transmission Studies with Bovine Parainfluenza-3 Virus. = „Am. J. Vet. Res.“, 25, 1964, 1021-1026. — 36. YORK, C. F. - BAKER,

J. A.: A New Member of the Psittacosis-Lymphogranuloma Group of Viruses that Causes Infection in Calves. = „J. Exptl. Med.“, 93, 1951, 587-604. — 37. YORK, C. F. - BAKER, J. A.: Miyagawanella bovis Infection in Calves. = „Ann. N. Y. Acad. Sci.“, 66, 1956, 210-214.

Участие вируса Р 1—3 при дыхательных инфекциях крупного рогатого скота в крупногабаритных телятниках

Дыхательный синдром — инфекция, встречающаяся у телят до 3-месячного возраста в крупногабаритных телятниках, напоминает американский shipping fever of cattle, так же как в Европе сильно распространенную энзоотическую бронхопневмонию телят. На тканевых культурах первичных телячьих почек было в 1964—1965 гг. обследовано 116 образцов легочной ткани, трахеальной и носовой слизистой оболочки и носовых соскобов у 116 больных телят в 2 местах и было изолировано 35 цитопатогенных реактивов, гемадсорбирующих красные тельца морских свинок. Изоляты были идентифицированы как бычий штаммы миксовируса параинfluenзы 3.

Частое появление в дыхательном тракте больных телят свидетельствует о первичном значении миксовируса параинfluenзы 3 при появлении заболевания.

Participation of the P 1—3 Virus in Respiratory Infections of Cattle at Large-Capacity Breeding Installations

The respiration syndrome occurring as a cow-house infection at large-capacity breeding installations in calves of an age of up to 3 months resembles the American shipping fever of cattle as well as the enzootic bronchopneumonia of calves, which is spread in Europe to a considerable extent. In the years 1964—1965 116 samples of lung tissue, of tracheal and nasal mucous membranes, and of nasal smears of 116 sick calves were examined in tissue cultures of primary calf kidneys at 2 localities, and 35 cytopathogenic agents hemadsorbing red blood corpuscles of guinea-pigs were isolated. The isolates were identified as bovine strains of the myxovirus of para-influenza 3.

The frequent occurrence in the respiratory tract of sick calves indicates a primary role played by the myxovirus of para-influenza 3 in the origin of the disease.

Teilnahme des P 1-3-Virus an den Respirationsinfektionen beim Rind in Großaufzuchteinrichtungen

Das Respirationssyndrom, welches als Stallseuche in Großaufzuchteinrichtungen bei 3 Monate alten Kälbern auftritt, erinnert an das amerikanische sog. Shipping Fever of Cattle als auch an die in Europa sehr verbreitete, enzootische Kälberbronchopneumonie. Auf Gewebekulturen primärer Kalbsnieren wurden in den Jahren 1964—1965 insgesamt 116 Muster des Lungengewebes, der trachealen und Nasenschleimhaut sowie Nasenschleimhautabstriche von 116 erkrankten Kälbern in 2 Lokalisationen untersucht, wobei 35 zytopathogene Agenzien der hämadsorbierenden roten Blutkörperchen von Meerschweinchen isoliert wurden. Die Isolate wurden als bovine Myxovirus para-influenzae-3-Stämme identifiziert.

Das öftere Auftreten im Respirationstrakt kranker Kälber weist auf die primäre Aufgabe des Myxovirus para-influenzae 3 bei dem Entstehen der Krankheit hin.

Adresy autorů:

MVDr. Jaromír Menšík, MVDr. Květoslava Jurmanová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno-Medlánky, MVDr. Jaroslav Kocí VŠZ, veterinární fakulta, Brno, Palackého 1—3

A. Žuffa
J. Matis
O. Žák
J. Fragner

DŮKAZ VÍRUSU MORU OŠÍPANÝCH V TKANIVOVEJ KULTÚRE POMOCOU IMUNOFLUORESCENCIE

Venované k šesťdesiatym narodeninám akademika Ivana Braunera

■ Vypracovanie jednoduchej, rýchlej, nenákladnej a spoľahlivej diagnostickej metódy je pri more prasiat už po veľmi dlhý čas predmetom intenzívneho výskumu. Možnosti dokázať morový vírus v tkanive infikovanom *in vitro* alebo v tkáňach infikovaných prasiat, ktoré skýta imuno fluorescencia, dávajú reálny predpoklad pre to, že fluorescenčná technika prinesie rozhodný obrat pri riešení tohoto problému.

Cielom pokusov, ktorých výsledky predkladáme v tejto práci, bolo v prvom rade zvládnuť techniku imuno fluorescencie pre dôkaz morového vírusu pomnoženého v tkanivovej kultúre a v ďalšom využiť metódu fluoreskujúcich protilátok pre diagnostické a ďalšie experimentálne ciele.

PREHLAD LITERATÚRY

Stanovenie diagnózy moru prasiat nie je v mnohých prípadoch možné ani po prevedení pitvy a histopatologického vyšetrenia. Potvrdenie alebo vylúčenie infekcie očkovaním prasiat vnímavých a imúnnych proti moru, je zdĺhavé a nákladné. Preto sa v posledných rokoch venuje toľko úsilia vypracovaniu spoľahlivej laboratórnej diagnostickej metódy. Z najviac študovaných reakcií sa ukázal Taylorov amylázový test (Taylor 1961) ako nešpecifický (Mateva a spol. 1963, Karlovič a spol. 1964). Hemaglutinačný (Segre 1962, Fletcher a spol. 1963) a komplementfixačný (Millian a spol. 1961, Boulanger a spol. 1965) test, dávajú len 60–80 % pozitívnych výsledkov, pričom sa nevylučuje možnosť nešpecificky pozitívnych reakcií. Ani jeden z nich neprekročil rámec experimentálneho štúdia. Pomocou END-testu podľa Kumagaia a spol. (1961) možno zachytiť len infekcie vyvolané virulentnými, nie však slabovo virulentnými vírusami (Korn a spol. 1963, Loan 1965). Práve infekcie vyvolané slabovo virulentnými vírusami ostávajú, pre svoj atypický priebeh, často dlho nerozpoznané. Najširšie praktické uplatnenie našiel agar-gel-precipitačný test, upravený pre dôkaz morového vírusu Mansim (1963) a Derbyshiom (1965). Aj táto reakcia však dáva len okolo 60 % pozitívnych výsledkov. Poznatky predložené v poslednom čase Horzinkom a spol. (1966) poukazujú na to, že pozitívny výsledok precipitačného testu nie je vyvolaný morovým vírusom, ale prasačiami adenovírusmi, ktoré spravidla doprevádzajú morovú infekciu.

V posledných rokoch sa stáva fluorescenčná metóda predmetom mimoriadneho záujmu pri výskume laboratórnej diagnostiky moru prasiat. Dosahované výsledky sú neporovnateľne lepšie ako pri všetkých doteraz použitých metódach. Pomocou imuno fluorescencie možno morový antigén dokázať priamo v tkáňach infikovaných prasiat, a to v zmrazených rezoch (Stair a spol. 1963, Robertson a spol. 1965) alebo v odtlačkových preparátoch (Aiken a spol. 1964b, Sirbu a spol. 1964), alebo nepriamo po infekcii v tkanivovej kultúre (Mengeling a spol. 1963, 1965, Karasszon a spol. 1963, Carbrej 1965, Robertson a spol. 1965, Konopatkin 1966). Prvý postup je rýchlejší, ale nevylučuje možnosť nešpecificky pozitívnych reakcií, druhý je časovo náročnejší, ale dáva spoľahlivejšie

výsledky. Záchytnosť fluorescenčnej metódy sa udáva na 95—100 % (Mengeling a spol. 1963, Aiken a spol. 1964, Robertson a spol. 1965). Pre dôkaz vírusu v tkanivovej kultúre sa použili doposiaľ primárne prasačie obličkové bunky alebo bunky stabilnej línie PK. Zatiaľ niet k dispozícii údaje o tom, že by sa pre tento účel použili kultúry prasačích semienikov.

MATERIÁL A METÓDY

Séra: Imúnne séra sme pripravili hyperimunizáciou piatich prasiat odchovaných bežným spôsobom materským mliekom. Prasatá boli ako jednomesačné imunizované proti moru lapinizovanou vakcínou. Za 12 týždňov boli čelenžované virulentným vírusom Washington, 1 ml infekčnej prasačej krvi. Ďalšie hyperimunizácie rovnakým vírusom sa robili na 25., 52. a 82. deň v dávkách 2, 10 a 250 ml. Na 9. deň po poslednej imunizačnej dávke boli prasatá vykrvácané, séra spracované a zmrazené.

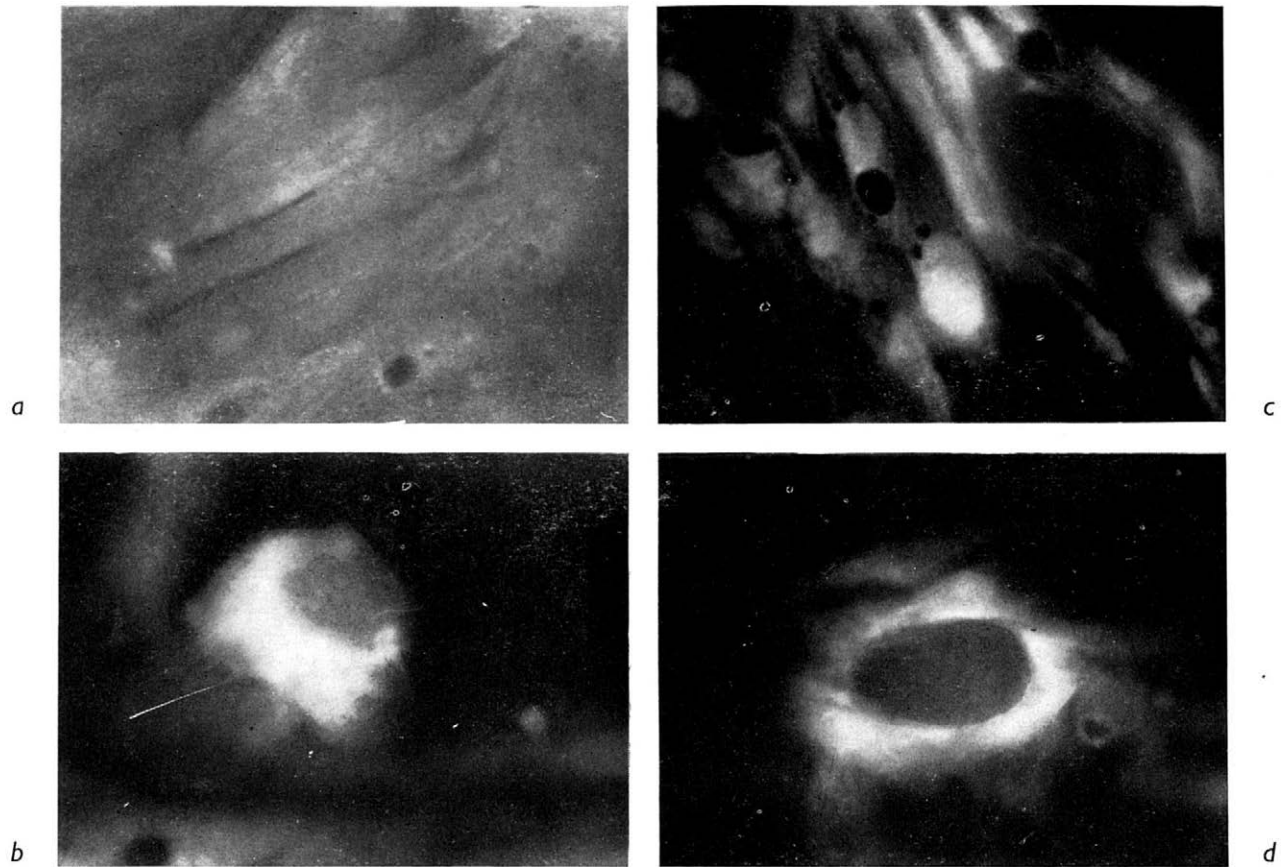
Normálne prasačie séra sme získali od odstavčiat vnímavých na mor.

Imúnne králičie sérum proti prasačím globulínom pre nepriamy test sme pripravili hyperimunizáciou králikov globulínami izolovanými z prasačieho séra postupom podľa Rénoua (1957) vo vlastnej modifikácii.

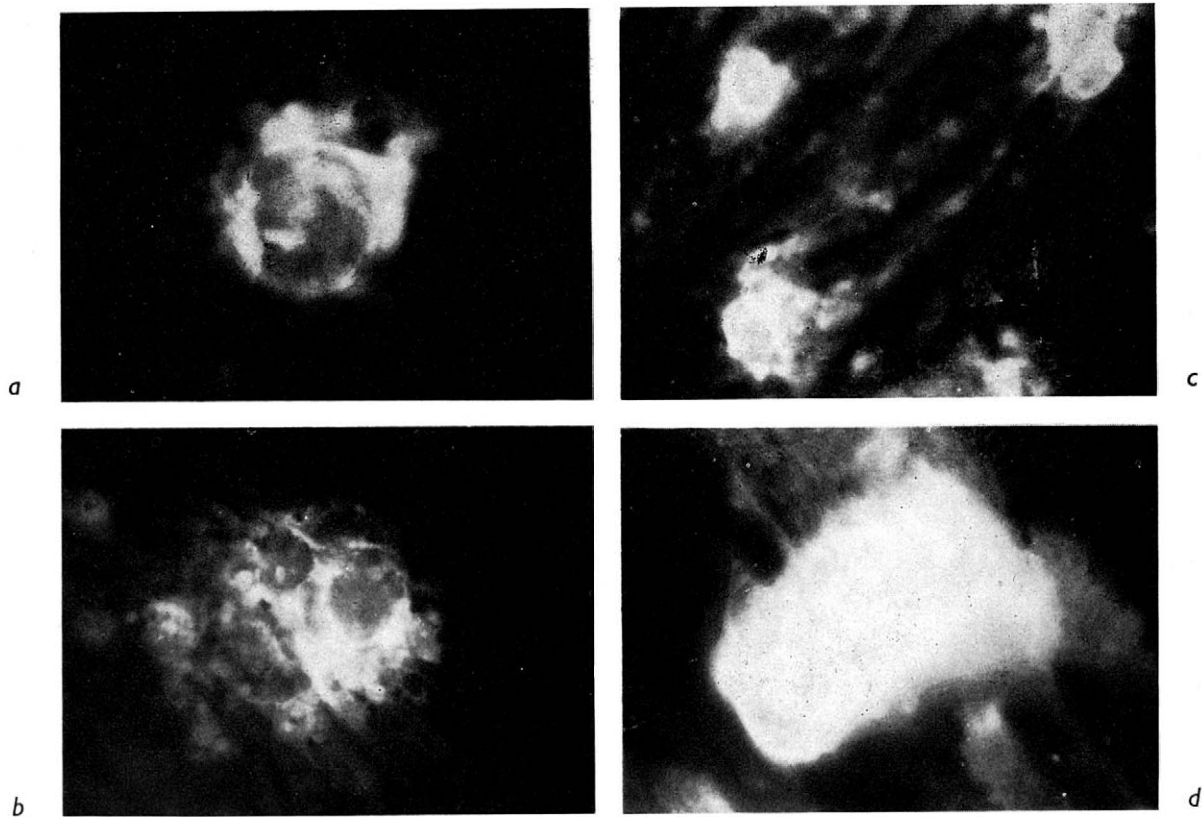
Príprava konjugátov: Globulínová frakcia z každého imúnneho a jedného normálneho séra sa izolovala vysolením síranom amonným. Sulfátové ióny sa z globulínovej frakcie odstránili dialýzou proti fyziologickému roztoku pH 7,2 pri +4 °C počas 48 hod. Koncentrácia bielkovín sa upravila na 1% roztok pridaním fyziologického roztoku s upraveným pH na hodnotu 9,0 karbonát-bikarbonátovým pufrom. Konjugácia imúnnych globulínov s fluoresceínisokyanátom (FITC-Fluka AG, Švajciarsko) sa robila v ľadovom vodnom kúpeli, v pomere 5 mg FITC na 100 mg bielkoviny za nepretržitého miešania. Neviazaný FITC sa odstránil pomocou DOWEXU X 4,20—50 mesh v Cl forme (Serva Heidelberg) a dialýzou proti pufovanému fyziologickému roztoku o pH 7,2 počas 48 hod. pri +4 °C. Cieľom odstránenia prebytočne konjugovaných frakcií, vyvolávajúcich nešpecifické žiarenie, bol konjugát adsorbovaný práškom z prasačej pečene, počas 1 hod. pri +4 °C, v pomere 100 mg prášku na 1 ml konjugátu. Po pridaní merthiolátu v pomere 1 : 10 000 a úprave pH na 7,2 bol konjugát rozplnený v množstvách po 2 až 5 ml a skladovaný v zmrazenom stave.

Tkaninové kultúry: Semienky 4 až 8 týždňových prasiat sme trypsovali obvyklým spôsobom. Po prefiltrovaní a odstredení suspenzie počas 3 min. pri 1000 obrt./min. sa bunky resuspendovali do rastového média a do skúmaviek, v ktorých boli uložené krycie sklíčka rozmerov 8 × 12 mm, nakladalo sa po 1,5 ml bunečnej suspenzie s obsahom 400 000 buniek v 1 ml. V niekoľkých pokusoch sa na infekciu použili kultúry z prvej subpasáže. V tomto prípade sa do Rouxových fliaš o obsahu 1200 ml nakladalo 100 ml média s rovnakým obsahom buniek v 1 ml ako pri zakladaní do skúmaviek. Po vytvorení súvislého monolayera sa kultúry prepláklí predhriatým roztokom PBS a bunky zo skla uvoľnili pomocou 0,05 % roztoku trypsínu a 0,02 % roztoku verzenu. Po 1 min. pôsobení sa najväčšia časť roztoku zliala a nechalo ďalej pôsobiť len zvyškové množstvo roztoku. Po úplnom odlúpaní sa bunky suspendovali do malého množstva rastového média, stanovil počet buniek a do skúmaviek s kryciami sklíčkami nakladalo po 1,5 ml suspenzie s obsahom 200 000 buniek v 1 ml.

Rastové médium obsahovalo 0,3 % laktalbumínhydrolyzátu, 0,1 % kvasnicového extraktu (Yeastolate Difco) a 20 % telacieho séra v Earlovom roztoku. Súvislý monolayer sa vytvoril po 3 až 5 dňovej inkubácii kultúr pri 37 °C.



Obr. 1. 1a: Primárne prasačie semeníkové kultúry neinfikované, farbené prasačím morovým konjugátom;
 1 b: kultúry farbené prasačím morovým konjugátom za 2 dni po infekcii kmeňom Kozlov;
 1 c: buňka s okrúhlymi granulami v žiariacej cytoplazme — farbené za 4 dni po infekcii kmeňom Kozlov;
 1 d: kultúry farbené za 2 dni po infekcii kmeňom Kozlov — zhlukovanie buniek do okrúhlych útvarov s intenzívne žiariacim okrajom a tmavším stredom.



Obr. 2. 2 a: Prasačie semeníkové kultúry farbené za 2 dni po infekcii kmeňom Kozlov — štruktúra jednotlivých buniek v rámci bunečných zhlukov zaniká; 2 b: kultúry farbené za 4 dni po infekcii kmeňom Washington — ložiská infikovaných žiariacich buniek vynikajú zreteľne proti tmavšiemu pozadiu; 2 c: to isté vo väčšom zväčšení; 2 d: kultúry farbené nepriamou metódou na 4. deň po infekcii kmeňom Washington.

Pri infekcii sa rastové médium vymenilo za udrzovacie, ktoré bolo rovnakého zloženia ako rastové len s tým rozdielom, že namiesto 20 % obsahovalo len 10 % telacieho séra. V posledných pokusoch bolo normálne telacie sérum nahradené foetálnym telacím sérom (Bioveta ved. n. p., Ivanovice na Hanej).

Vo dvoch pokusoch sa k infekcii použili bunky stabilnej línie prasačích obličiek PK. Rastové médium obsahovalo 0,5 % laktalbumínhydrolyzáta, 10 % telacieho séra 0,1 % kvasičného extraktu v Earlovom roztoku. Udrzovacie médium bolo bez séra.

Vírusy: Pracovali sme s tromi virulentnými morovými vírusami, a to štandardným laboratórnym vírusom Washington, používaným pri výrobe kryštalo-violetovej vakcíny proti moru, kmeňom Kozlov v 26. pasáži na kultúrach prasačích semeníkov a kmeňom Ald, adaptovaným na prasačie obličkové a semeníkové bunky. (Za láskavé poskytnutie tohoto kmeňa ďakujeme Prof. Dr. Störíko, riaditeľovi Výskumného ústavu pre vírusové choroby zvierat, Thübingen, NSR, za poskytnutie kmeňa Kozlov Rr. O. Š í m o v i z Biovety, Telč). Vo všetkých prípadoch slúžili ako zdroj vírusu infekčné séra získané od prasiat na 5., 6., resp. 8. deň po infekcii uvedenými kmeňmi. Okrem toho bola pri kmeni Washington odobratá krv od 20 produkčných prasiat na 6. deň po infekcii. Ako negatívne kontroly slúžili séra 20 odstaviat vnímaných na mor.

Spôsob infekcie kultúr: Po zliatí rastového média sa sklíčka vybrali a preplákli v Earlovom roztoku s obsahom 0,3 % laktalbumínhydrolyzáta, uložili na sklenené tyčinky do Petriho misiek s navlhčeným filtračným papierom a prevrstvili vyšetrovaným sérom v množstve 0,05 ml. Adsorbcia prebiehala v termostate pri 37 °C počas 1–4 hod. Každým vzorkom sa infikovali najmenej dve sklíčkové kultúry. Keď sa robilo vyšetrovanie jedného vzorku opakovane počas niekoľkých dní, infikoval sa taký počet sklíčkových kultúr, aby sa vždy vyšetrovali aspoň dve kultúry. Po ukončení adsorbcie sa sérum zlialo, kultúry preplákli, uložili do nových skúmaviek a zaliali 1,5 ml udrzovacieho média. Farbenie a vyšetrovanie infikovaných kultúr sa robilo po 1 až 4 dňovej inkubácii pri 37 °C.

Fixácia a farbenie kultúr: Infikované sklíčkové kultúry sa, po vysušení prúdom teplého vzduchu, fixovali acetónom počas 5 min. pri –20 °C. Farbenie konjugovaným globulínom sa robilo vo vlhkej komore počas 30 min. pri 37 °C. Po dôkladnom premytí v pufovanom fyziologickom roztoku o pH 7,2 sa sklíčka ešte vo vlhkom stave montovali do neutrálneho glycerínu. Pri nepriamej metóde sa naniesol na kultúry nekonjugovaný imúnny protimorový globulín. Po 30 min. inkubácii pri 37 °C a po dôkladnom vymytí v pufovanom fyziologickom roztoku sa kultúry farbili králičím antiprasačím konjugovaným globulínom.

Ako kontroly slúžili: 1. Neinfikované kultúry ofarbené protimorovým konjugátom, 2. Kultúry ošetrené normálnymi neinfekčnými prasačimi sérami ofarbené protimorovým konjugátom, 3. Kultúry infikované vírusom NDV a Aujeszkeho vírusom, ofarbené protimorovým konjugátom, 4. Kultúry infikované morovým vírusom ofarbené konjugátom anti NDV a anti Aujeszky, 5. Kultúry infikované morovým vírusom ofarbené neimúnnym prasačím konjugovaným globulínom, 6. Inhibícia fluorescencie pomocou homológneho nekonjugovaného morového globulínu.

Vyšetrovanie preparátov sa robilo fluorescenčným mikroskopom Zetopan fy Reichert, Viedeň, s lampou HBO 200 ako zdrojom UV žiarenia; excitačný filter E3 BG 12/6 mm, zábraný filter Sp 3 GG 9/1 mm. Pri fotografovaní sa použil film ORWO 27 Din s expôzičným časom 8–10 min.

VÝSLEDKY

Neinfikované negatívne kultúry vykazujú modrú alebo modrozelenú autofluorescenciu (Obr. 1a). V infikovaných kultúrach sa javí pozitívna fluorescencia ako žltozelené žiarenie, ktoré sa počnúc 24 hod. od infekcie lokalizuje výhradne v cytoplazme, kým oblasť jadra ostáva bez fluorescence. V prevážnej väčšine buniek je žiarenie difúzne, s maximálnou intenzitou na obvode jadra a ubývaním smerom k periférii (Obr. 1b). V ojedinelých, izolovane situovaných bunkách, bola časť cytoplazmy prestúpená okrúhlymi, ostro ohraničenými granulami, ktoré intenzitou žiarenia zreteľne vynikali zo splyvajúceho fluoreskujúceho pozadia (Obr. 1c).

Pri zasiahnutí väčšieho počtu buniek uložených tesne vedľa seba dochádza k ich zhľukovaniu do kruhových útvarov s intenzívne žiariacim okrajom, ktorý tvoria husto vedľa seba zoradené telá buniek, a tmavým alebo slabo žiariacim stredom (naznačené na obr. 1 b, výrazne na obr. 1 d a 2 a). Tieto útvary sú zreteľne vyvinuté už za 24 hod. po infekcii, ale po predĺženej inkubácii sa zväčšujú, pričom štruktúra jednotlivých buniek celkom zaniká (obr. 2 b a 2 c). Vo včasnom štádiu infekcie, alebo pri slabšej intenzite žiarenia je možno pozitívnu fluorescenciu ľahšie rozpoznať pri zasiahnutí ojedinelo rastúcich buniek, ako buniek v hustom monolayeri. Čo do veľkosti fluoreskujúcich ložisiek, pozorovali sa rozdiely medzi jednotlivými kmeňmi; najväčšie vyvolával kmeň Ald, najmenšie kmeň Washington. Doposiaľ uskutočnené pokusy naznačujú, že počet žiariacich ložisiek aj rýchlosť ich narastania je ovplyvnená kvalitou telacieho séra použitého do udržiavacieho média. Zatiaľ čo pri použití normálneho telacieho séra ostáva veľkosť žiariacich ložisiek, počnúc 2. dňom od infekcie, približne nezmenená, prídanie foetálneho séra priaznivo ovplyvňuje narastanie fluoreskujúceho tkaniva.

Nezistili sa preukazne rozdiely v rozsahu a intenzite žiarenia po infekcii primárnych buniek prasačích semeníkov a buniek zo subpasáže. Pri infekcii buniek stabilnej línie prasačích obličiek PK sa za rovnakých pracovných podmienok nedosiahli zatiaľ jednoznačne pozitívne výsledky.

Nepriama metóda dala, čo do citlivosti i špecificity, rovnaké výsledky ako priama väzba vírusu s protimorovým konjugátom. Rozdiely medzi výsledkami oboch metód spočívali v tom, že nepriamou nebolo možno sledovať rozloženie antigénu ani v rámci buniek, ani v rámci bunečných zhľukov. Izolované bunky sa javili ako okrúhle, intenzívne žiariace body, bunečné zhľuky ako splyvajúce žiariace ložiská bez diferenciácie pozorovanej pri priamej metóde (obr. 2a). V ďalších pokusoch sme z uvedeného dôvodu, ako aj pre jednoduchosť, pracovali len priamou metódou.

Negatívne výsledky všetkých použitých kontrolných testov potvrdili, že pozorovanú fluorescenciu vyvolalo infekčné vírusové agens prítomné v krvi prasiat infikovaných virulentnými morovými vírusami, odobratej na vrchole klinického prejavu ochorenia.

Po ustálení pracovného postupu sa v druhej sérii pokusov zisťovala spoľahlivosť fluorescenčnej metódy pre dôkaz morového vírusu v sérach prasiat. Za tým účelom bolo vyšetrených 20 sér odobratých od prasiat na 6.—7. deň po infekcii kmeňom Washington, t. j. vo floridnom štádiu klinického prejavu choroby. Pre potvrdenie špecificity bolo súčasne vyšetrených 20 sér získaných od zdravých, na mor vnímavých prasiat. Ako vidieť z tab. I, zistila sa pri vyšetrení za dva dni od infekcie pozitívna fluorescencia v kultúrach infikovaných

I. Vyšetrenie sér prasíat odobratých na 6.–7. deň po infekcii kmeňom Washington a od zdravých neinfikovaných prasíat metódou fluoreskujúcich protilátok

Prasatá	Počet prasíat	Výsledok vyšetrenia za hod. po infekcii kultúr	
		48	96
Infikované vírusom Washington	20	14/20*	20/20
Neinfikované kontroly	20	N**	0/20

*) Číateľ udáva počet pozitívnych, menovateľ počet vyšetrených prasíat

**) Nerobené

sérami od prasíat notoricky chorých na mor v 14 prípadoch, pri vyšetrení za 4 dni vo všetkých 20 prípadoch. Naproti tomu bol výsledok fluorescencie negatívny vo všetkých prípadoch, v ktorých sa vyšetrovala krv zdravých prasíat.

DISKUSIA

Na rozdiel od prasačích obličkových buniek primárnych (Karasszon a spol. 1965, Robertson a spol. 1965, Konopatkin 1966 a ďalší), alebo stabilnej línie PK (Mengeling a spol. 1963, 1965, Carbre 1965, a ďalší) používaných doteraz pre pomnoženie a dôkaz morového vírusu pomocou fluoreskujúcich protilátok, sme pre našu prácu volili prasačie semeníkové bunky. Tento druh tkaniva je ľahko prístupný pre každé laboratórium a príprava je menej náročná ako prasačích obličkových buniek. Okrem toho sme v predbežných pokusoch dosiahli na semeníkových kultúrach pozitívny výsledok fluorescencie skôr, ako na bunkách stabilnej línie prasačích obličiek. Voľba vhodného tkaniva má pre výkonnosť fluorescenčnej metódy zásadný význam, nakoľko jej výsledok závisí od stupňa adaptácie a replikácie vírusu v tkanivovej kultúre. Ďalšie pokusy ukážu, či sú rozdiely v zachytiteľnosti fluorescenčnej metódy pri použití buniek prasačích semeníkov a prasačích obličkových buniek.

Nahradenie normálneho tetáčieho séra sérom foetálnym a predĺženie adsorpcie vírusu na bunku z 1 na 4 hod., priniesli zlepšenie pracovného postupu. Priaznivý účinok foetálneho séra možno vzťahovať na neprítomnosť protilátok proti vírusu bovinej hnačky, ktoré v médiu s normálnym tetáčim sérom inhibujú replikáciu antigénne príbuzného morového vírusu (Dinter 1963, Mengeling a spol. 1963b). Pozitívny výsledok vyšetrenia vo všetkých notoricky pozitívnych a negatívnych vo všetkých notoricky negatívnych prípadoch moru, potvrdzuje vysokú spoľahlivosť imunofluorescencie ako diagnostickej metódy.

Pri farbení kultúr za 1–2 dni po infekcii bol rozsah tkaniva s pozitívnou fluorescenciou v priamom vzťahu k stupňu adaptácie jednotlivých kmeňov na kultúry prasačích semeníkov. Kmeň Ald, sériovo pasážovaný na prasačích semeníkoch, vyvoláva rozsiahle a husto vedľa seba uložené ložiská, kmeň Washington, bez predchádzajúcej adaptácie na tkanivovú kultúru, malé a ojedinelé ložiská, kým kmeň Kozlov s 26 pasážami na semeníkových kultúrach sa rozsahom fluoreskujúceho tkaniva zaradil medzi obidva. Po predĺženej inkubácii infikovaných kultúr v médiu s foetálnym sérom sa tieto rozdiely postupne strácali.

Použitý spôsob adsorpcie, nanosením vyšetrovaného séra priamo na sklíčkové kultúry, dovoľuje pracovať s veľmi malými dávkami séra (0,05 ml). Takéto množstvo séra možno bez ťažkostí získať aj z uhynutých zvierat. Preto sa z praktických dôvodov javí tento postup jednoduchším a účelnejším ako adsorpcia v skúmavkách, pri ktorej sa vyžaduje 1,5 až 2,0 ml séra. Infekcia kultúr sérom, namiesto orgánovou suspenziou, má výhodu v tom, že z vyšetrovaného chovu možno získať kedykoľvek ľubovoľný počet vzoriek od prasíat v rozličnom štádiu infekcie. V ďalších pokusoch

treba zistiť, v ktorom štádiu infekcie je najvýhodnejšie dokazovať vírus fluorescenčnou technikou.

Vo všetkých prípadoch, v ktorých sa vyšetrovali morové vírusy vyvolávajúce v tkanivových kultúrach pozitívny cytopatický efekt, sa dokázala prítomnosť dvoch, morologicky rozdielnych typov vírusových častíc (Bodon 1965, Mahnel 1965, Mayr 1965, Horzinek a spol. 1966). Morový vírus, s morológiou picornavírusov, je pravidelne kontaminovaný prasačimi adenovírusmi. Po odstránení adenovírusu nevyvolával morový vírus ani pozitívny cytopatický efekt, ani percipitáciou v agarovom gele (Horzinek a spol. 1966). Nie je bez zaujímavosti, či, resp. akú úlohu hrajú adenovírusy pri dôkaze morového vírusu fluorescenčnou technikou. V tomto smere pokračuje ďalšia naša experimentálna práca.

ZÁVER

Pre dôkaz vírusu moru ošipaných v primárnych kultúrach prasačích semienkov sa použila priama i nepriama metóda imunofluorescencie. Pozitívna fluorescencia sa vo väčšine prípadov zistovala za 24 hod. po infekcii kultúr, ale predĺžením inkubácie až na 4 dni sa, zvyšovaním intenzity žiarenia a počtu žiriach buniek, dosiahli preukazne pozitívne výsledky vo všetkých vyšetrovaných, notoricky pozitívnych prípadoch. Vírusový antigén sa za 24 hod. po infekcii lokalizoval výhradne v cytoplazme, s tvorbou okrúhlych ostro ohraničených granúl o ojedinelých bunkách. Lokalizácia vírusu v rámci jednej bunky sa dala sledovať len použitím priamej metódy, zatiaľ čo pri nepriamej bolo žiarenie síce intenzívne, ale splývajúce. Z uvedeného dôvodu, ako aj pre jednoduchosť, sa priama metóda ukazuje výhodnejšia.

Došlo dňa 21. 11. 1966

Za technickú spoluprácu ďakujeme A. Halásovej a E. Korčekovej.

Literatúra

1. AIKEN, J. M. - HOOPES, K. H. - STAIR, E. L. - RHODES, M. B.: Rapid diagnosis of hog cholera: A tissue-impression fluorescent-antibody technique. = „J. Am. Vet. Med. Ass.“ 144, 1935-1397, 1964. — 2. BODON, L.: Contamination of various hog cholera virus strains with adenoviruses or virus diarrhoea virus. = „Acta vet. Ac. Sci. Hung.“ 15, 471-472, 1965. — 3. BOULANGER, P. - APPEL, M. - BANISTER, G. L. - RUCKENBAUER, G. M. - MORI, K. - GRAY, D. P.: Hog cholera. III. Investigation of the complement fixation test for the detection of the virus in swine tissue. = „Canad. J. comp. Med. vet. Sci.“ 29, 201-208, 1965. — 4. CARBREY, E. A.: Routine laboratory diagnosis of hog cholera employing the fluorescent antibody tissue culture technique. = „FAO/OIE International Meeting on Hog Cholera and African Swine Fever.“ Rome, Italy, May 31 - June 5, 1965. — 5. DARBYSHIRE, J. H.: The diagnosis of swine fever by immuno-diffusion. = „FAO/OIE International Meeting on Hog Cholera and African Swine Fever.“ Rome, Italy, May, 31 - June 5, 1965. — 6. DINTER, Z.: Relationship between bovine virus diarrhoea virus and hog cholera virus. = „Zentralblatt Bakt. I. Orig.“ 188, 475-486, 1963. — 7. FLETSCHER, O. Jr. - FOSTER, J. W.: Detection of antibodies against hog cholera virus with tanned erythrocytes. = „Southeastern Vet.“ 15, 1-3, 1963. — 8. HORZINEK, M. - ÜBERSCHÄR, S.: Charakterisierung eines Schweine-Adenovirus im Zusammenhang mit Untersuchungen über das Virus der europäischen Schweinepest. = „Arch. ges. Virusforsch.“ 18, 406-421, 1966. — 9. KARASSZON, D. - BODON, L.: Demonstration of the swine fever virus in tissue culture by immunofluorescence. = „Acta Microbiol. Hung.“ 10, 287-291, 1963. — 10. KARLOVIČ, M. - ZELJKO, M.: Dalnaja provjeravanja Taylorovog testa u diagnostici svinke kuge. = „Vet. Arch.“ 34, 31-34, 1964. — 11. KONOPATKIN, A. A.: Primenenije metoda fluorescirujuščich antitel dlja vyjavlenija virusa čumy svinej. = „Veterinarija“ 42, 20-23, 1966. — 12. KORN, G. - NISHIMURA, Y.: Zum Nachweis unterschiedlich virulenter Schweinepestvirusstämme mit der END- und der HEIC-Methode. = „Mh. Tierheilk.“ 12, 328-334, 1963. — 13. KUMAGAT, T. - SHIMIZU, T. - IKEDA, S. - MATUMOTO, M.:

A new in vitro method (END) for detection and measurement of hog cholera virus and its antibody by means of affect of HC virus on Newcastle disease virus in swine tissue culture. = „J. Immunol.“ 87, 245-256, 1961. — 14. LOAN, R. W.: Increased sensitivity of the END (Exaltation of Newcastle disease virus) test for hog cholera virus. = „Am. J. Vet. Res.“ 26, 1110-1113, 1965. — 15. MAHNEL, H.: Virus-like particles isolated from hog cholera infected tissue cultures and demonstrated in the electron microscope. = „FAO/OIE International Meeting of hog Cholera and African Swine Fever“: Rome, Italy, May 31 - June 5, 1965. — 16. MANSI, W. - KING, A. A.: Étude de la peste porcine par l'épreuve de diffusion en gélose des précipitines. = „Vet. Rec.“ 75, 993-998, 1963. — 17. MATEWA, V. - WASILEWA, L.: Amylase Aktivität von Pankreasextrakten gesunder und pestifizierter Schweine. = „Schweiz. Arch. Tierheilk.“ 105, 595-598, 1963. — 18. MAYR, A.: Cultivation of hog cholera virus in tissue cultures with cytopathogenic effect. = „FAO/OIE International Meeting of Hog cholera and African Swine Fever“: Rome, Italy, May 31 - June 5, 1965. — 19. MENGELING, W. L. - PIRTLE, E. C. - TORREY, J. P.: Identification of hog cholera viral antigen by immunofluorescence. = „Canad. J. Med. Vet. Sci.“ 27, 249-252, 1963a. — 20. MENGELING, W. L. - GUTENKUNST, D. E. - FERNELIUS, A. L. - PIRTLE, E. C.: Demonstration of an antigenic relationship between hog cholera and bovine viral diarrhea viruses by immunofluorescence. = „Canad. J. comp. Med.“ 27, 162-164, 1963b. — 21. MENGELING, W. L. - TORREY, J. P.: The diagnosis of hog cholera by the fluorescent antibody technique. = „FAO/OIE International Meeting on hog Cholera and African Swine Fever“: Rome, Italy, May 31 - June 5, 1965. — 22. MILLIAN, S. J. - ENGLAHARD, W. E.: Application of the conglutination complement absorption test to detect hog cholera antibodies. I. The technique. = „Am. J. Vet. Res.“ 22, 396-400, 1961. — 23. RENOUX, G.: Études sur la brucellose ovine et caprine. XV. Du diagnostic sérologiques de la brucellose individuelle des chèvres artificiellement infectées par „Br. melitensis“. = „Arch. Inst. Pasteur, Tunis 34, 207-225, 1955. — 24. ROBERTSON, A. - BANNISTER, G. L. - BOULANGER, P. - APPEL, M. - GRAY, D. P.: Hog Cholera. V. Demonstration of the Antigen in swine tissues by the fluorescent antibody technique. = „Canad. J. Comparat. Med. Vet. Sci.“ 29, 299-305, 1965. — 25. SERGE, D.: Detection of hog cholera virus by a Hemagglutination test. = „Am. J. Vet. Res.“ 23, 748-751, 1962. — 26. SIRBU, Z. - IEREMIA, D. - BONA, C.: Immunofluorescent microscopy in the diagnosis of swine fever. = „Brit. Vet. J.“ 120, 587-591, 1964. — 27. STAIR, E. I. - RHODES, M. D. - AITKEN, J. M.: A hog cholera virus - fluorescent antibody system. Its potential use in study of embryonic infection. = „Proc. Soc. exp. Biol. Med.“ 113, 656-660, 1963. — 28. TAYLOR, R. L.: Simple laboratory tests for hog cholera diagnosis. = „Vet. Medicine“ 56, 229-232, 1961.

Доказательство вируса чумы свиней в тканевой культуре при помощи иммунофлюоресценции

Для доказательства вируса чумы свиней в первичных культурах семенников свиней применялся прямой и косвенный метод иммунофлюоресценции. Положительная флюоресценция в большинстве случаев устанавливалась через 24 часа после заражения культур, однако в результате продления инкубации до 4 дней, повышения интенсивности излучения и числа излучающих клеток, были достигнуты достоверные результаты во всех обследуемых постоянно положительных случаях. Вирусный антиген через 24 часа после инфекции локализовался исключительно в цитоплазме, с образованием круглых остроограниченных гранул в отдельных клетках. Локализацию вируса в рамках одной клетки можно наблюдать только путем применения прямого метода, в то время как при косвенном, хотя излучение и было интенсивным, однако неясным. По приведенной причине, равно как и из-за несложности, прямой метод оказывается более выгодным.

Proof of the Virus of Hog Cholera in a Tissue Culture by Means of Immunofluorescence

For the proving of the presence of the virus of hog cholera in primary cultures of pig ovaries the direct and indirect method of immunofluorescence was used. In a majority of cases a positive fluorescence was found 24 hours after infection of the cultures, but prolongation of incubation up to 4 days together with an increasing of the intensity of radiation and of the number of radiating cells, significantly positive results were obtained in all examined notoriously positive

cases. 24 hours after infection the virus antigen was localized exclusively in the cytoplasm with a forming of circular, sharply defined granules in single cells. Localization of the virus within the frame of a single cell could be followed only by means of the direct method, whereas in the case of the indirect method radiation was intensive but confluent. For the mentioned reason as well as because of its simplicity the direct method has proved more advantageous.

Nachweis des Schweinepestvirus in der Gewebekultur mittels der Immunofluoreszenz

Zum Nachweis des Schweinepestvirus in primären Schweinehodenkulturen wurde die direkte und indirekte Immunofluoreszenzmethode benützt. In der Mehrzahl der Fälle wurde eine positive Fluoreszenz in 24 Stunden nach der Infektion festgestellt. Bei Verlängerung der Inkubation bis auf 4 Tage wurden durch Erhöhung der Bestrahlungsintensität und der Anzahl von Strahlern in allen untersuchten, notorisch positiven Fällen signifikant positive Ergebnisse gewonnen. Das Virusantigen lokalisierte sich in 24 Stunden nach der Infektion ausschließlich im Zytoplasma unter Bildung rundlicher, deutlich begrenzter, einzelliger Granula. Die Lokalisation des Virus im Rahmen einer Zelle konnte nur bei Benützung der direkten Methode verfolgt werden, während bei der indirekten Methode die Strahlung zwar intensiv, aber verschwimmend war. Aus dem angeführten Grunde und auch wegen ihrer Einfachheit ist die indirekte Methode vorteilhafter.

Adresy autorov:

Doc. MVDr. Alojz Žuffa, CSc., ing. Ján Matis, MVDr. Otakár Žák, Oddelenie pre vývoj a výskum Biovety, n. p., Nitra,
MUDr. Ján Frágner, CSc., Ústav sér a očkovacích látok, Praha 10 - Vinohrady, W. Piecka 108

PRÍSPEVOK K AKTUÁLNEJ PROBLEMATIKE MYKOTOXIKÓZ HOSPODÁRSKÝCH ZVIERAT V ČSSR A JEJ PROFYLAXIE

■ Mykotoxikózam perspektívne treba venovať zvýšenú pozornosť, nakoľko predstavujú jedno z najmladších a v dôsledku toho málo známych a nedostatočne preskúmaných odvetví veterinárnej mykológie. Ich komplexný výskum je o to aktuálnejší, že v dohľadnej budúcnosti sotva budú môcť byť hladko zvládnuteľné veľkovýrobné formy sberu objemných krmovín, v dôsledku čoho, najmä po mokrých rokoch, bude ďalej dochádzať k ich plesniveniu a tým k ešte častejšiemu výskytu prípadov mykotoxikóz v našich chovoch.

PREHEAD LITERATURY

Prvý hromadný výskyt mykotoxikóz vyvolaný plesňou *Stachybotrys alternans* Bonorden (v ďalšom *St. a.*) bol zistený v roku 1931 v SSSR na Ukrajine (Sarkisov 1954), ich pôvodca nebol však hneď identifikovaný. Akademik Vysseski (1948) tvrdí, že stachybotryotoxikóza bola už skôr zistená u koní v Maďarsku, kde bola Jarmaim (1929) mylne diagnostikovaná ako „viskózne onemocnenie“ bakteriálneho pôvodu. Ale aj v SSSR názory na etiológiu onemocnenia sa po mnohé roky rôznili. Gurvič, Kotljar, Ponomarenko a iní (cit. Sarkisov) pokladali za pôvodcu týchto hromadne sa vyskytujúcich onemocnení rôzne bakteriálne infekcie, prudké jedy, ba aj hypovitaminózu. Sedem rokov trvali systematické výskumy odborníkov z akadémie náuk SSSR, než sa konečne podarilo pracovníkom z Akadémie náuk USSR pod vedením Drobofku, začiatkom roku 1938 zistiť, že pravou príčinou hromadne sa vyskytujúceho onemocnenia je toxín produkovaný plesňou *St. a.* Sám popredný sovietsky mykológ Sarkisov (1954) považoval stachybotryotoxikózu za toxickú len pre kone a nie aj pre hovädzí dobytok. Ba aj smernice vydané Min. poľnohospodárstva SSSR, v roku 1954 pre veterinárov a chovateľov, zastávali podobné stanovisko.

Hromadné výskyt stachybotryotoxikózy aj medzi hovädzím dobytkom, hlavne v repárskych oblastiach západnej Ukrajiny, v rokoch 1958, 1959, 1960, 1961, 1962, 1964, 1965 a 1966, ako o tom referujú Fortušnij - Govorov - Cibenko - Bojčenko a Kalitenko (1959), Nagornij - Rossoginskij - Gvozdo - a Rybko (1960), Levenberg - Ivancov a Prostakov (1961), Meškov (1961), Kurmanov - Izmajlov a Moroškin (1962), Moroškin - Kostina a Ivanskij (1964) a Noskov (1966), boli pádnym argumentom k zrevidovaniu názoru na jej toxicitu pre hovädzí dobytok. Forgacs - Carll (1955) izolovali toxické plesne v USA pri hemoragických syndromoch kureníc, najmä brojlerov. A Burnside so spol. (1957) popisujú hromadné plesňové toxikózy u ošípaných. V Anglii roku 1960 (cit. Forgacs 1962) a neskoršie aj v Maďarsku (Derzsy so spol. 1962) zistili, že veľké hynutie kačičiek a mladých moriek bolo vyvolávané toxickou plesňou *Aspergillus flavus*, ktorou boli napadnuté podzemnicové oriešky dovážané z Brazílie a iných štátov zámoria.

O vzrastajúcom nebezpečí z plesňových infekcií pre hospodárske zvieratá svedčí aj stupňujúci sa výskyt abortov, ako o tom hovoria zprávy z Maďarska (Áldásy - Hajdu 1961), z NSR (Hensel so spol. 1961) a z SSSR (Butrin so spol. 1966).

Prvé písomné údaje o výskyte stachybotryotoxikózy na území ČSSR pochádzajú zo sovietskej odbornej literatúry. Podľa Mosselianiho a Ščiškina (cit. Sarkisov 1954) boli evidované na Slovensku už pred rokom 1940.

V zimnom období roku 1954/55 uhynul v malej obci D. D., trnavského okresu, súkromným malochovateľom, väčší počet koní na chorobu neznámej etiológie. Z jedného hospodárstva spomenutého ohniska, zo vzorky slamy, podarilo sa Zimovi (1959) izolovať toxický kmeň plesne *St. a.* V roku 1962, v tej samej obci, uhynulo na JRD na stachybotryotoxikózu 16 mladých býčkov vo výkrme; čím sa potvrdzujú aj u nás údaje Sarkisova (1954) o ohniskovosti mykotoxikóz.

Hromadné horečnaté onemocnenie koní s vysokou letalitou sa vyskytlo v rokoch 1955/56 vo viacerých okresoch Západoslovenského kraja, opísané Strickerom a Grünertom (1956). Virologické vyšetrenie materiálu z nich prevádzané Libíkovou, na pracovisku ČSAV v Bratislave, bolo negatívne; pokiaľ pri bakteriologickom vyšetrení v 40 % prípadov boli izolované zárodky *B. pyosepticum viscosum equi*, ktoré boli považované za pravdepodobného pôvodcu onemocnenia. Podľa bohatých poznatkov sovietskych odborníkov tento bakteriálny zárodek sa machádza skoro pravidelne v trefom štádiu v myelopoetických centrách stachybotryotoxikózy, ako sekundárny faktor. Niet pochyb o tom, že v danom prípade, na základe priebehu onemocnenia a jej patogenesie sa jednalo tiež o stachybotryotoxikózu.

Na území ČSSR bol po prvý krát v rokoch 1960/61 laboratórne diagnostikovaný výskyt stachybotryotoxikózy u hovädzieho dobytku a koní, v Západoslovenskom kraji (Ursíny a spol. 1963, 1964). Po tomto prvom avizovaní výskytu mykotoxikóz aj na našom území, viacerí praktickí veterinári sa priznali, že s podobným onemocnením sa stretávali na Slovensku už skôr, ale že ho mylne pripisovali na vrub inej etiológie („mucosal disease“, črevný antrax, atypická SLAK, prudká otrava neznámym jedom a podobne). Gdovin so spol. (1966) vo svojom príspevku sa zaoberá včasnou diagnostikou a pokusom o účinnú terapiu stachybotryotoxikózy hovädzieho dobytku.

VLASTNÉ POZOROVANIE

MATERIÁL A PRACOVNÝ POSTUP

Výšetrovací materiál pochádzal z lokalít prevažne socialistického sektoru, prehľadne uvedených v tabuľke I. Epizootologická situácia v zamorených oblastiach, klinický priebeh a patologicko-anatomický nález u postihnutých kusov vždy bývali zisťované pri komisionálnych vyšetreniach priamo v chovoch, na príslušných bitúnkoch a v kafilériách. Komplexné laboratórne vyšetrenie rôznych vzoriek z podozrivého materiálu bolo prevádzané na ÚŠVÚ-OŠD v Bratislave a na SLD v Nitre; patohistologický rozbor orgánov na patologicko-anatomickej katedre VŠZ v Brne.

V anamnestických údajoch chovateľov a veterinárov u hovädzieho dobytku vyslovovalo sa väčšinou podozrenie na prudkú infekčnú chorobu neznámej etiológie, nakoľko bolo pozorované náhle u viacerých kusov zvierat; a postupne ochoreli ešte ďalšie kusy stojace na rôznych miestach v jednej alebo viacerých maštaliach, poprípade chovoch nachádzajúcich sa v okruhu 5–20 km. Prvé chorobné príznaky vo všetkých lokalitách boli v podstate rovnaké. Choré zvieratá prestávali žrať, boli smutné, stáli zhrbené, trpeli veľkou hnačkou, veľkým smädom, vysokou horúčkou a často aj triaškou (najmä mladé kusy). Z výdojných hospodárstiev bolo hlásené, že choroba bola spozorovaná obyčajne u najlepších dojníc a kráv vysokogravidných alebo hneď po otelení. Všetky teľatá napájané mliekom chorých kráv ostali zdravé, trebárs mnohé z ich matiek uhynuli alebo museli byť núdzovo odporazené. U koní bývalo hlásené, že onemocnenie sa objavilo za prudkých kolikových bolestí doprevádzaných odmietaním potravy a vysokou horúčkou. Chovatelia obyčajne udávali, že pozorovali u nich opuchnuté a zvredovatelé pysky, ďalej slintanie a výtok hnisavého sekrétu, odporného zápachu, z jedného alebo z oboch otvorov nosných.

KLINICKÝ PRIEBEH CHOROBY

U hovädzieho dobytku mykotoxikózy prebiehajú vo dvoch formách; a to:

1. V predklinickej (skrytej), ktorá trvá 2—30 dní.
2. V klinickej (zjavnej), trvajúcej 2—10 dní.

Predklinická forma obyčajne uniká pozornosti chovateľov lebo prebieha bez zjavných príznakov.

Pri klinickej forme sú už chorobné príznaky výrazné a preto upútajú na seba aj pozornosť chovateľov. Z nich je charakteristické, že choroba vo všetkých lokalitách bola spozorovaná naraz u viacero kusov zvierat. Trias u nich býval: $T\ 39,2-40,5-41,6-42,2^{\circ}\text{C}$, ba i vyššia; $P\ 90-120$ a $D\ 45-50$. Z typických počiatočných príznakov bývala profúzna hnačka, často premiešaná krvou a kúskami sliznice črevnej. Choré kusy boli smutné, so zníženou chuťou ku žraniu až inapetenciou. Mulec mali suchý, stonali, chrčali, neprežviakovali, slintali, z nosa im vytiekal hlienovitý a neskoršie naružovelý sekrét (obr. 1). Choré zvieratá väčšinou ležali, lebo vstávanie bolo namáhavé. Pravidelným príznakom chorých kusov bývala atónia bachora. Prudký a horečnatý priebeh zvieratá silne vyčerpal, takže tieto nápadne a rýchle chudli. Vysilené kusy, apatické k okoliu, so zníženou citlivosťou kože, padali na zem a v kómatóznom stave, za subnormálnej teploty hynuli.

U koní sa klinické príznaky choroby delia na dve formy; a to:

1. Na typickú, s tromi fázami.
2. Na atypickú (šokovú).

Prvá fáza typického priebehu začína za 2—3 dni po skrmení toxického krmiva a môže trvať 8—30 dní. Pri nej pozoruje sa hlavne opuchnutie pyskov, ragády, strupy na hornom i dolnom okraji pyskov, ako aj v kútikoch dutiny ústnej a na nozdách. Z nosa sa pozoruje zápachajúci výtok, ďalej salivácia, zívanie, potenie, kolikové bolesti, inapetencia a hnačka. Druhá fáza je klinicky kludná, čo často zvádza chovateľa k domnienke, že zviera je už zdravé a preto použije ho k práci. Pri tom ale odohrávajú sa v ňom ťažké chorobné zmeny v zložení krvi. Tretia fáza klinicky výrazná najčastejšie upozorní chovateľa na onemocnenie zvierata. Vyznačuje sa zvýšením teploty, až vysokou horúčkou ($40,7-41,2-41,6^{\circ}\text{C}$), počet pulzov je 42—80—150 a počet dychov 24—50 za minútu. Krvný obraz zvierata sa ďalej zhoršuje. Trombocyty a leukocyty silne klesajú až k alarmujúcim hodnotám. V tomto štádiu choroby obyčajne dochádza aj ku komplikáciám septického rázu. Trvá 1—6 dní. Atypická forma prebieha rýchle, niekedy priamo šokovite, takže chorobné príznaky nemajú času sa ani vyvinúť. Zviera hynie obyčajne za 6—72 hodín.

HEMATOLOGICKÉ VYŠETRENIE

Vplyvom toxínu plesne *St. a.* dochádza pri mykotoxikózach k ťažkým morfológickým a biochemickým zmenám v zložení krvi, nakoľko toxín plesne atakuje ponajprv hemopoetické orgány postihnutého zvierata a potláča ich funkciu (Izmaïlov so spol. 1962). V dôsledku toho vyšetrenie krvi, pri včasnej intravitálnej diagnostike, je jednou z najcennejších laboratórnych metód. U hovädzieho dobytku už v predklinickej forme a u koní v druhej fáze typickej formy stachybotrytoxikózy zisťuje sa leukopenia, neutrofilia, agranulocytóza a silná lymfocytóza, ďalej porucha v retrakcii krvi až iretrakcia (obr. 2). Fibrín v skúmavkách s krvnými vzorkami je želatinózneho charakteru, žltočervenej farby, po-

krytý len malým množstvom séra alebo v ťažších prípadoch je bez séra. Veľmi dôležité je aj vyšetrenie dreni kostnej, kde sa pozoruje nápadné zmenšenie až úplné vymiznutie elementov erythroblasticej rady.

PATOLOGICKOANATOMICKÝ NÁLEZ

Pestrosť chorobných zmien je odvislá od dĺžky trvania choroby. Pri jej dlhšom priebehu, najmä u dojníc, paleta patologických zmien je výraznejšia a pestrejšia. Kusy núdzove odporazené v začiatočných štádiách choroby majú obraz chorobných zmien málo výrazný. Obraz typickej hemoragickej diatézy rôznej intenzity a rozsahu je patognomickým symptómom tejto choroby. Bodkovité, pruhovité a plošné krvácaniny rôznej veľkosti a hustoty sa nachádzajú v podkožnom väzive, na fasciách a vo svalstve skeletu. Hojne krvácaním býva na pleure kostálnej a pumonálnej, pod epi- a endokardom, ba aj v myokarde. Subserózne krvácaniny sa nachádzajú na orgánoch dutiny brušnej, na okruží a na parietálnej pobrušnici. Veľa krvácanín býva na sliznici čriev a žľového mechúra. V povrchových vrstvách na sliznici zažívadiel sa nachádzali čiastočné nekrózy rôzneho rozsahu a počtu. Vredovite-nekrotický proces býval lokalizovaný na dasnáč, na papule, na tvrdom a mäkkom podnebí, na jazyku, v hltane a na mandliach. Vredovite-nekrotické zmeny veľmi typické a charakteristické pre stachybotryotoxikózu, okrúhleho peniažkovitého až oválneho tvaru, v priemere 0,5–6 cm sa zisťujú na stene predžalúdkov (bachor, kniha a čepec), ba aj na lístkach knihy (obr. 3). Sliznice slezu je zdurená a pokrytá bodkovitými krvácaninami až plošnými výronmi krvnými. Podobné zmeny sa zisťujú často aj v tenkých a hrubých črevách. Vo všetkých prípadoch býva nápadne zmenená pečienka. Na jej povrchu sa nachádzajú tmavočervené až fialovočervené, v pokročilejších štádiách choroby žltosivé, kruhovité, v priemere 0,5–5 cm veľké, nekrotické ložiská, tuhé až pieskovitej konzistencie, klinovite prenikajúce do hĺbky parenchýmu a od okolia ostre ohraničené nielen farbou, ale aj konzistenciou. Aj v slezine, najmä u koní, zisťujú sa početné subkapsulárne krvácaniny. V obličkách sa zisťujú hemoragické a anemické infarkty. V dutine brušnej a hrudnej býva často zisťovaný v hojnom množstve transsudát červenej až čokoládovej farby.

Obraz hemoragickej diatézy býval dominantným patologickým znakom aj u koní postihnutých stachybotryotoxikózou.

V súhlase s postulátom O n e g o v a (1961), že mykotoxikózy sú správaním menlivým komplexom symptomov a preto, že ich správna diagnostika vyžaduje vždy vopred vylúčiť aj faktory inej etiológie, boli prevedené z absolútnej väčšiny lokalít aj ostatné laboratórne vyšetrenia, a to: bakteriologické, pri ktorom z orgánov evidovaných lokalít neboli zistené ani v jednom prípade zárodoky infekčnej etiológie. Tiež virologické vyšetrenie na KF dopadlo vždy negatívne. Biologické pokusy na bielych myškách, morčákoch, králikoch, kurčatách a mačkách bývali vždy negatívne na zárodoky infekčného pôvodu. Parazitologické vyšetrenie nekrotických uzlíkov v pečeni, obsahu predžalúdkov a čriev dopadlo tiež vždy negatívne. Toxikologický rozbor orgánov a obsahu žalúdka i čriev na bežné anorganické jedy, ako aj na chlorované insekticidy bol tiež vždy negatívny.

MYKOLOGICKÉ VYŠETRENIE

Pri podozrení na intoxikáciu alimentárneho pôvodu prevádza sa aj mykologické vyšetrenie krmiva a steliva, spoločne s biologickým, kožným testom na

toxicitu plesní, ktoré boli podávané zvieratám pred vypuknutím hromadného onemocnenia. Zo stohov alebo lisovaných balíkov slamy odoberú sa vzorky z úsekov tmavých a vlhkých, ako aj zo zvyškov krmiva zo žlabu a pod ním.

HISTOPATOLOGICKÝ NÁLEZ

Pri histologickom vyšetrení orgánov zvierat uhynuvších na mykotoxikózu bolo zistené veľmi výrazné a rozsiahle poškodenie tkaniva v pečeni. Jej parenchým podlieha degeneratívnym zmenám. Na mnohých miestach možno zistiť nekrotické okrsky rôznej veľkosti. Niekedy sú to len miliárne nekrotické ložiská, ktoré zaberajú plochu pečňových lobulov; inokedy nachádzame rozsiahle, veľké nekrózy, ktoré makroskopicky dosahujú priemer až niekoľko cm (obr. 4 a 5). U všetkých týchto nekroz je charakteristické, že sú to koagulačné nekrózy vzniklé následkom ložiskovej ischémie. V týchto nekrotických úsekoch dochádza k rýchlemu rozpadu bunecných jadier a strácajú sa v nich kontúry buniek. Prechod medzi nekrotickým a zdravým tkanivom je náhly. Jedná sa tu o typické areaktívne nekrózy, bez prítomnosti reaktívnej zóny na hranici nekrózy pečene. Početné väčšie cievy i drobné kapiláry sú trombotizované. V trombotizácii krvných ciev je treba vidieť príčinu nekrotického rozpadu tkaniva. Pri detailnom štúdiu zmenených okrskov a pri farbení preparátov Mc M a n u s o v o u metódou možno zistiť v trombotizovaných úsekoch ciev početné fragmenty mycelií plesní. V niektorých tromboch vytvárajú hýfy plesní husté spleteniny a pozorujeme ich tendenciu prerastať z cievného lumina do okolného tkaniva (obr. 6).

Charakteristické zmeny pri stachybotryotoxikóze sú aj v zažívacom aparáte. V predžalúdkoch a črevách možno zistiť nekrobiotické zmeny sliznice a submukózy. Subseróza a svalovina zažívacieho traktu býva výrazne edematózne presiaknutá bohatými krvnými výronmi v subserózných priestoroch. V okolí okrskov, ktoré podliehajú nekrobiotickému rozpadu, nachádza sa zápalistá infiltrácia, niekedy vo vleknejších prípadoch sa v týchto miestach tvorí granulačné tkanivo. Krvné cievy sú tiež trombotizované. V cievnych tromboch sa nachádzajú početné hýfy plesní, ktoré prenikajú veľmi intenzívne do okolného tkaniva. Fragmenty plesní možno zistiť v edematózne zmenenej stene zažívacieho traktu, hlavne tam, kde dochádza k vytváraniu granulačného tkaniva. V pľúcach sa nachádza obraz výraznej pasívnej hyperémie. V subpleurálnej zóne pľúc dochádza k hemoragickej infarcerácii tkaniva. Niekedy možno nájsť okrsky lobulárnej pneumónie. Trombotizáciou sú postihnuté hlavne cievy subpleurálnych oblastí pľúc. Vlákna plesní sa nachádzajú v tromboch ciev i v najjemnejších kapilárach (obr. 7 a 8). Veľa hýf možno nájsť v pulmonálnej pleure. V luminách alveolov sa nachádzajú zriedka. Slezina vykazuje obraz venostáze s bohatou hemosiderózou červenej pulpy. Okrajové oblasti sleziny sú infarcerované, v nich možno nájsť fragmenty mycelií. Obličky sú pasívne prekrvené, ich parenchým podlieha degeneratívnym pochodom. Plesne v obličkách neboli dokázané.

Aj v orgánoch koní postihnutých stachybotryotoxikózou sa zisťuje podobný histopatologický nález.

DISKUSIA

Analýzou strát rôznych druhov hovädzieho dobytku (tab. I.) sa zistilo, že najväčšie percento pripadá na dojnice a vysoko gravidné jalovice a kravy, najmä z tuberkulózných izolátov. Čo do počtu radí sa za nimi mladý dobytok vo výkrme. Treťou miestom s približne 18 % zaujímajú chovné jalovice. Ako vidieť v našich pomeroch najvýmavnejšími voči stachybotryotoxikóze ukázali sa byť vysokoproduktívne kravy

I. Lokality s výskytom mykotoxikóz v ČSSR

Bež. čís.	Lokalita			Dátum výskytu	Druh zvierat	Počet strát	Závady zistené v chove	Poznámky
	obec	okres	kraj					
1.	JRD - Š.	T.	Západo- slovenský	XII. 1960	dojnice	4	plesnivá slama, vysoké % siláže	tuberkulózný izolát
2.	JRD - T. L.	Ž.	Západo- slovenský	XII. 1960	dojnice, býci vo výkrme	39 8	plesnivá slama, vysoké % siláže	
3.	JRD - F.	Ž.	Západo- slovenský	XII. 1960	chovné jalovice, dojnice	26 1	plesnivá slama, vysoké % siláže	
4.	JRD - A.	Ž.	Západo- slovenský	XII. 1960	chovné jalovice	8	plesnivá slama, vysoké % siláže	
5.	JRD - M.	Ž.	Západo- slovenský	XII. 1960	chovné jalovice	23	plesnivá slama, vysoké % siláže	
6.	JRD - K.	N. Z.	Západo- slovenský	II. 1961	býci vo výkrme, dojnice	66 3	plesnivá slama, vysoké % siláže	podvýživa
7.	JRD - R.	N. Z.	Západo- slovenský	II. 1961	dojnice	12	plesnivá slama, vysoké % siláže	dobrý výživný stav
8.	JRD - D. D.	T.	Západo- slovenský	XI. 1962	býci vo výkrme	16	plesnivá slama, plesnivé plevy	v roku 1955 uhynulo 28 koní súkromným chova- teľom za príznakov ty- pických pre mykotoxi- kózu
9.	JRD - T.	T.	Západo- slovenský	XII. 1962	7-8mes. gravidné jalovice a kravy	9	plesnivá slama, vysoké % siláže	tuberkulózný izolát
10.	ŠM - K.	Tp.	Západo- slovenský	I. 1963	dojnice	59	plesnivá slama, vysoké % siláže	dobrý výživný stav
11.	JRD - P.	T.	Západo- slovenský	II. 1963	dojnice	8	plesnivá slama, vysoké % siláže	
12.	JRD - K.	T.	Západo- slovenský	II. 1963	dojnice	6	plesnivá slama, vysoké % siláže	

13.	ŠM - B. D.	Lč.	Stredo-slovenský	XII. 1963	4-8mes. gravidné kravy	48	plesnivá slama, vysoké % siláže	nedostatok pitnej vody
13.	ŠM - B. D.	Lč.	Stredo-slovenský	XII. 1963	býci vo výkrme	27	plesnivá slama, vysoké % siláže	nedostatok pitnej vody
14.	ŠM - P.	Š.	Severomoravský	jar 1963	kone	4	plesnivé seno	jednoročné žriebätá
15.	JRD - H. O.	Tp.	Západo-slovenský	I. 1964	kone	5	plesnivá sečka	ťažné kone
16.	JRD - H.	L.	Západo-slovenský	I. 1964	otelené kravy, chovné jalovice	39 16	plesnivá slama, nekvalitná siláž	tuberkulózný izolát
17.	ŠM - H. Sl.	Lč.	Stredo-slovenský	I. 1964	dojnice	5	plesnivá slama, nekvalitná siláž	
18.	ŠM - B.	Lč.	Stredo-slovenský	II. 1964	4-5mes. gravidné kravy	28	plesnivá slama	
19.	JRD - B.	Lč.	Stredo-	III. 1964	dojnice	7	plesnivá slama	
20.	JRD - S.	Lč.	Stredo-slovenský	jar 1964	dojnice	4	plesnivá slama	
21.	JRD - R. S.	R. S.	Stredo-slovenský	jar 1964	dojnice	6	plesnivá slama	
22. - 23.	R. S.	R. S.	Stredo-slovenský	jar 1964	kone	12	plesnivá slama	súkromní chovatelia
24.	JRD - D.	Sp. N. V.	Východo-slovenský	II. 1964	býci vo výkrme	21	plesnivá slama	podvýživa
25.	JRD - N. K.	K.	Východo-slovenský	II. 1964	býci vo výkrme	45	plesnivá slama	podvýživa
26.	JRD - R.	T.	Západo-slovenský	IV. 1964	dojnice	17	plesnivá slama	
27.	ŠM - R.	S.	Východo-český	I. 1965	chovné jalovice	30	plesnivá slama, nahnilá sečka, vysoké % siláže	

tuberkulózne a vôbec vysoko gravidné jalovice a kravy alebo takéto kusy hneď po otelení. Z biochemického hľadiska je to odôvodniteľné silným porušením metabolizmu minerálií, hlavne vápnika. Tento stav hypokalcémie je v priamom súvisi s rozsahom tuberkulózneho procesu (Vrzgula 1961). V krvnom sére tuberkulózných kusov Vrzgula (1961) zistil nápadný pokles vápnika, ktorý je neúmerne odčerpávaný z depa k reparácii tuberkulózných procesov. U vysoko gravidných kusov a najmä u jalovic, sa táto karencia vápnika stupňuje ešte tým, že sa ho hodne spotrebuje na stavbu kostry plodu; u produkčných dojníc sa zase v značnom množstve vylučuje mliekom. K uvedeným dvom nepriaznivým faktorom pristupuje ešte tretí v podobe trvalého skrmovania väčšieho množstva siláže, čo pri nevyrovnanej krmnej dávke (kvalitným senom, jaderným krmivom a vápnikom) aj samo o sebe môže vyvolať alimentárnu intoxikáciu, ako o tom svedčia literárne údaje (Nový 1960). Toto jednostranné odbúravanie vápnika z organizmu má za následok nedostatočnú neutralizáciu kyselín v ňom, čo vedie v zápätí k stavu hyperacidózy a tým súčasne aj k vytvoreniu priaznivého prostredia pre pôsobenie toxických plesní v organizme zvieracom, čiže k jeho toxikóze. Tento stav podarilo sa Matuševičovi (1961) aj experimentálne vyvolať; a jeho správnosť bola potvrdená Špesivcevom so spol. (1961). Matuševič pokusmi potvrdil to, čo je z praktického hľadiska už dávno známe, že hovädzí dobytok pri biologicky plnohodnotnom krmive, bez toho, žeby ochorel, požíra aj krmivo napadnuté toxickými plesňami, nakoľko tieto v krmive sú zneškodňované hlavne luhovitou slinou; naproti tomu pri ochudobnení jej o uhličitany a pri zmene pH obsahu bachora — v dôsledku prevahy kyslého krmiva — na reakciu kyslú, je priaznivo ovplyvnená toxikóza organizmu plesňami. Straty u mladých, rastúcich býčkov vo výkrme bývali najväčšie tam, kde tiež karencia vápnika, v dôsledku krmiva podradnej kvality, hrala podstatnú rolu a kde okrem toho skrmovaním väčšieho množstva siláže a po dlhšiu dobu dochádzalo v poruche metabolizmu minerálií k podobnému stavu, ako bolo vyššie uvedené u dojníc. Ze priebeh toxikózy u tejto kategórie dobytky bol niekedy prudší, súviselo to s tým, že junčovina väčšinou hltave požíra aj plesnivé krmivo, najmä podstielku, čím dochádza ku skonzumovaniu v kratšej dobe väčšieho množstva toxického krmiva a tým aj rezorbcia toxínov je väčšia a rýchlejšia (Špesivceva 1964). Stupeň rezorpcie toxínov plesne *St. a.* je v priamom súvisi s rozsahom porúch sliznice žalúdočno-črevného traktu, ako aj s atóniou predžalúdkov. Toxíny plesne *St. a.* usmrckujú rýchle aj infuzóriá v bachore prežúvavcov, čím prudko narušujú fyziologickú funkciu zažívania, nakoľko tieto prvci hrajú veľkú úlohu pri trávení celulózy. Podľa množstva a rýchlosti rezorbovaných toxických látok býva priebeh onemocnenia buď akútny, subakútny alebo chronický. Individuálna citlivosť hovädzieho dobytky voči toxínu plesne *St. a.* je rozdielná; je závislá od porúch vo fyziológii zažívania, od hladu, laktácie, gravidity, od porúch sliznice žalúdočno-črevnej, ako aj od atónie predžalúdkov.

Základ účinného boja proti mykotoxikózam spočíva hlavne v profylaktických opatreniach, nakoľko špecifický liečebný prostriedok proti nim nemáme; a symptomatická liečba, najmä v pokročilejších štádiách choroby, je málo úspešná.

Z komplexu preventívnych opatrení najdôležitejšie sú: 1. Počas zberu a skladovania objemných krmovín, ako aj obilovín, treba zabrániť rozmnožovaniu plesní. Dôkladné ich vysušenie a skladovanie len za suchých podmienok. 2. Pri podozrení v chove na mykotoxikózu má sa okamžite vyradiť z krmnej dávky plesnivé krmivo a stelivo, ako aj siláž. Toto opatrenie väčšinou úplne postačí, aby do troch dní došlo k zlepšeniu zdravotného stavu chorých zvierat a k zamedzeniu výskytu ďalších prípadov onemocnenia. 3. Previesť odber krvi a punktát z dreni kostnej k laboratornému vyšetreniu u chorých a podozrivých kusov. 4. V zamorených oblastiach pôda pod stohom slamy a sena, ako aj ich okolie má sa dezinfikovať 20 % chlorovým vápnom (1 liter na 1 m²). 5. Závadné krmivo treba za veterinárneho dozoru zneškodniť 2—3 % NaOH alebo vápnením slamy (2—3 kg hasenej vápna na 100 lit. vody, dôkladné pokropenie sečky a skrmovanie za 6—8 hod.). 6. Siláž pravidelne kontrolovať a laboratorne vyšetrovať na prítomnosť toxických plesní. Siláž nízkeho pH (3,8) neutralizovať čpavkovaním. 7. Z dezinfekčných prostriedkov rozrušujú toxíny plesní chlór, lúh sodný a draselný už v 2 % koncentracii. 8. K dezinfekcii stajní, po mechanickom vyčistení, doporučuje sa použiť 20 % chlórové vápno. Zlaby treba tiež dezinfikovať a pred použitím ich dôkladne omyť horúcou vodou. 9. Za účelom priamej prevencie pridávajú sa do krmných zmesí antifungálne a antimykotické prostriedky (Forgacs 1962).

Medzi aktuálne problémy mykotoxikóz patrí tiež študovať ich patogenéziu nielen

z hladiska ich priameho účinku na zdravie zvierat, ale aj čo do ich vplyvu na iné choroby. Dnes sa už dobre vie, že v leukopenickom štádiu chronických foriem mykotoxikóz, obranný mechanizmus organizmu je tak vyčerpaný, že zvierat ľahko podlieha sekundárnej infekcii.

SÚHRN

Stupňujúci sa výskyt alimentárnych intoxikácií neznámej etiológie u našich hospodárskych zvierat, vyžaduje dôkladné a rýchle oboznámenie sa s diagnostikou mykotoxikóz.

Poukazuje sa na komplex patognomických klinických príznakov, patologicko-anatomických i histologických zmien pri stachybotryotoxikóze hovädzieho dobytku a koní, na význam hematologického vyšetrenia pre včasnú intravitálnu diagnostiku, na patogenézu a na komplex profylaktických opatrení, ako dnes najúčinnšieho prostriedku proti nim.

Shrnuje sa výskyt lokalít s mykotoxikózami hovädzieho dobytku a koní na území ČSSR v posledných 6. rokoch.

Analýzou strát v jednotlivých lokalitách sa zistilo, že mykotoxikózy v 50,77 % prípadov postihli dojnice a vysoko gravidné jalovice i kravy prevažne z tuberkulózných izolátov, v 31,50 % býčkov vo výkrme a v 17,72 % chovné jalovice.

Morbidita kolísala v evidovaných lokalitách v rozpätí od 30–95 % a straty (uhynutím a núdzovým odporazením) predstavovali 10–90 % zo stavu chorých zvierat. Najväčšie straty boli zaznamenané v chovoch, kde správna diagnóza bola oneskorene stanovená.

Podľa sezónnosti, z ich výskytu pripadá 35 % na druhú polovinu XII., 50–60 % na I. a II.; pokiaľ na XI., III. a IV. len 5–10 % prípadov.

Došlo dňa 8. 10. 1966

Literatúra

1. ÁLDÁSY, P., HAJDU, G. = Magy. Áo. Lapja, 16, 1961 : 12, 448. — 2. BURN-SIDE, J. E., SIPPEL, W. L., FÖRGACS, J., CARLL, W. T., ATWOOD, M. B., DOLL, E. R. = „Am. J. Vet. Research“ 18, 1957 : 817. — 3. BUTRIN, N. A., BACAL, A. J., FEDORČENKO, M. G. = „Veterinarija“, 42, 1955 : 2, 90. — 4. DERZSY, D., MÉSZÁROS, J., PROKOPOVITSCH, L., BARANYI, TOTH, I. = Magy. Áo. Lapja, 17, 1962 : 2, 49. — 5. FÖRGACS, J. = Feedstuffs, V., 1962 : 34, 18. — 6. FÖRGACS, J., CARLL, W. T. = „Vet. Med.“ 50, 1955 : 172. — 7. FORTUŠNIJ, V. A., GOVOROV, A. M., CIBENKO, I. Z., BOJČENKO, A. S., KOLITENKO, E. T. = „Veterinarija“, 36, 1959 : 9, 67. — 8. HENSEL, L., BISPING, W., SCHIMMELPFENNIG, H. = B. M. T. W., 74, 1961 : 290. — 9. GDOVIN, T., SLANINA, L., VRZGULA, L., MICHNA, A. = „Veterinárství“, 16, 1966 : 4, 152. — 10. IZMAJLOV, I. A., MOROSKIN, B. F. = „Veterinarija“, 39, 1962 : 4, 27. — 11. JARMAI, K. = D. T. W., 33, 1929 : 517. — 12. KOVÁČ, M. = „Veterinárství“, 15, 1965 : 1, 24. — 13. KURMANOV, I. A., IZMAJLOV, I. A., MOROSKIN, B. F. = „Veterinarija“, 39, 1962 : 4, 27. — 14. LEVENBERG, I. G., IVANCOV, L. I., PROSTAKOV, P. M. = Veterinarija, 38, 1961 : 10, 38. — 15. MARČENKO, G. F. = „Veterinarija“, 40, 1963 : 3, 46. — 16. MATUŠEVIČ, V. F. = „Veterinarija“, 38, 1961 : 4, 49. — 17. MEŠKOV, V. M. = „Veterinarija“, 38, 1961 : 8, 42. — 18. MOROSKIN, B. F., KOSTINA, A. A., IVANSKIJ, E. B. = „Veterinarija“, 41, 1964 : 1, 98. — 19. NAGORNIJ, I. S., ROSSOGINSKIJ, M. M., GVOZDOV, A. V., RYBKO, N. V. = „Veterinarija“, 37, 1960 : 9, 69. — 20. NOSKOV, A. I., KALMYKOV, S. T., SIMICIN, V. A., KRIVONOSOV, N. F., SANŽAROV, V. A. = „Veterinarija“, 42, 1966 : 2, 42. — 21. NOVÝ, J. = „Veterinární med.“ 4, 1960 : 5, 439. — 22. OGURCOV, A. F. = „Veterinarija“, 37, 1960 : 9, 70. — 23. ONEGOV, A. P. = „Veterinarija“, 26, 1949 : 10, 41. — 24. SARKISOV, A. CH. Mikotoksikozy, Gosud. izd. sel'skochoz'jajstvennoj lit., Moskva, 1954. — 25. SPESIVCEVA, N. A.: Mikozy i mikotoksikozy životnych, Izd. Kolos, Moskva 1964. — 26. STRICKER, Fr., GRÜNERT, Z. = „Vet.

časopis", V., 1956 : 4, 260. — 27. URSÍNY, J., HALÍK, J., BESEDA, M., TEPPER, I., LADZIANSKÁ, K., MOLNÁR, J., PECHÁČ, Fr. = „Veterinářství, 14, 1964 : 2, 49. — 28. VRZGULA, L. = „Vet. časopis“, 10, 1961 : 2 149. — 29. VYSSELESKI, N.: Castnaja epizootologia, Ogis, selchozgis, Moskva 1948. — 30. ZIMA, L. = „Veterinární med.“, 4, 1959 : 5, 345.

Относительно актуальной проблематики микотоксикозов сельскохозяйственных животных в Чехословакии и их профилактики

Повышающееся наличие алиментарных интоксикаций неизвестной этиологии у наших сельскохозяйственных животных требует тщательного и быстрого ознакомления с диагностикой микотоксикозов.

Учитывается комплекс патогномических клинических признаков, патолого-анатомических и гистологических изменений при стахиботриотоксикозе крупного рогатого скота и лошадей, значение гематологического исследования для своевременной прижизненной диагностики, патогенез и комплекс профилактических мероприятий, как самое эффективное в настоящее время средство против них.

Авторы суммируют места самого частого наличия микотоксикозов крупного рогатого скота и лошадей на территории Чехословакии за последние 6 лет.

Путем анализа потерь в отдельных областях было установлено, что микотоксикоз поражает в 50,77 % случаев дойных коров и высокостельных нетелей и коров преимущественно из туберкулезных изоляторов, в 31,50 % откормочных бычков и в 17,72 % племенных телок.

Заболеемость колебалась в приведенных областях в пределах от 30—95 % и потери (причиненные гибелью и вынужденным убоем) составляли 10—90 % количества заболевших животных. Самые высокие потери оказались в хозяйствах, где правильный диагноз установили с опозданием.

Что касается отдельных месяцев, на вторую половину декабря приходится 35 %, на январь и февраль 50—60 %, между тем как на ноябрь, март и апрель лишь 5—10 % случаев.

On the Actual Problems of Mycotoxicoses of Farm Animals in Czechoslovakia and of their Prophylaxis

The increasing occurrence of alimentary intoxications of unknown etiology in our farm animals demands a thorough and speedy investigation of the diagnostics of mycotoxicoses.

Attention is being drawn to the complex of pathognomonic clinical symptoms, of pathologico-anatomical and histological changes in the case of stachybotryotoxicosis of cattle and horses, to the importance of hematological examination for a timely intravital diagnosis, to the pathogenesis, and to the complex of prophylactic measures, at present the most effective measures against them.

There is a survey of localities with an occurrence of mycotoxicoses of cattle and horses on the territory of Czechoslovakia in the last six years.

Analysis of losses suffered at the different localities has revealed that in 50.77 per cent of all cases most seriously affected by mycotoxicoses were milch-cows and highly gravid heifers and cows predominantly in Tb isolation, fattening bulls suffered in 31.50 per cent, and brood heifers in 17.72 per cent.

At the registered localities morbidity fluctuated between 30 and 95 per cent, and losses (dying and emergency slaughtering) represented 10—90 per cent of the number of diseased animals. The largest losses were recorded in herds in which the correct diagnosis had been made too late.

According to the seasonal character of their occurrence 35 per cent occur in the second half of December, 50—60 per cent in January and February, whereas in November, March, and April only 5—10 per cent occur.

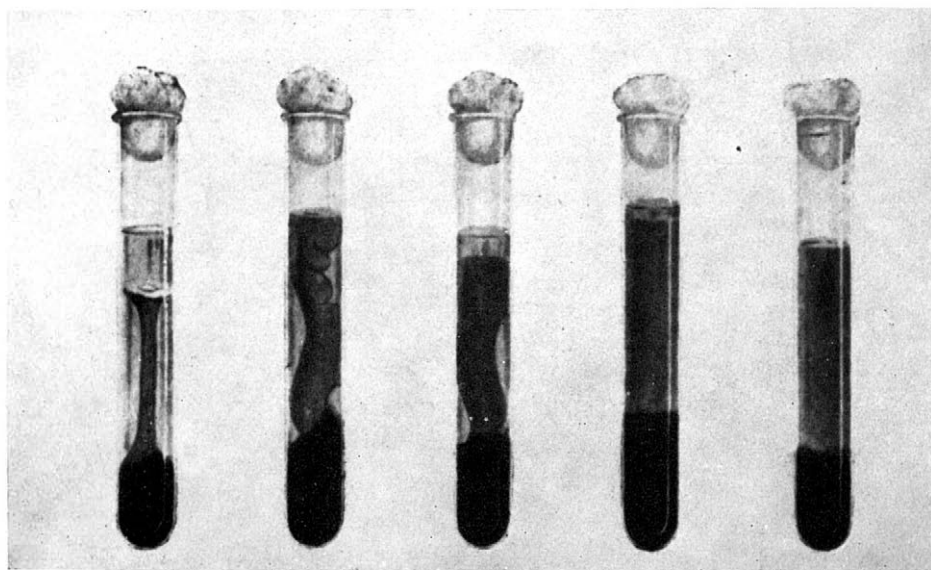
Adresy autorov:

MVDr. Juraj Ursíny, Ústr. štát. veter. ústav — OŠD, Bratislava, Pri Botanickéj záhrade 3

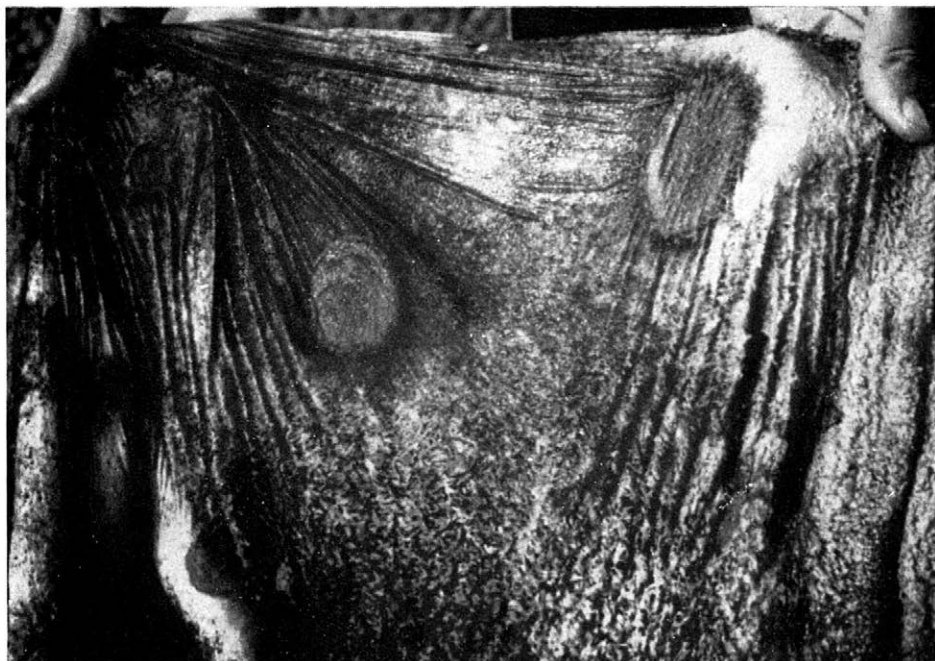
MVDr. Ladislav Groch, CSc., VŠP, veter. fakulta, katedra patologickej anatómie a histológie, Brno, Palackého 1—3



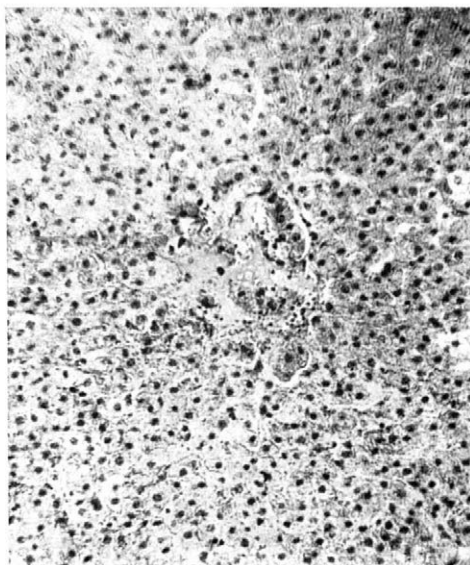
Obr. 1. Slintanie a hlienovitý výtok z nosa – typické príznaky pri stachybotryotoxikóze.



Obr. 2. Retrakcia a iretrakcia krvi (v prvých troch skúmavkách od ľava retrakcia, v posledných dvoch iretrakcia).



Obr. 3. Vredovite-nekrotické ložiská na sliznici bachora — typické a charakteristické zmeny pri stachybotryotoxikóze.



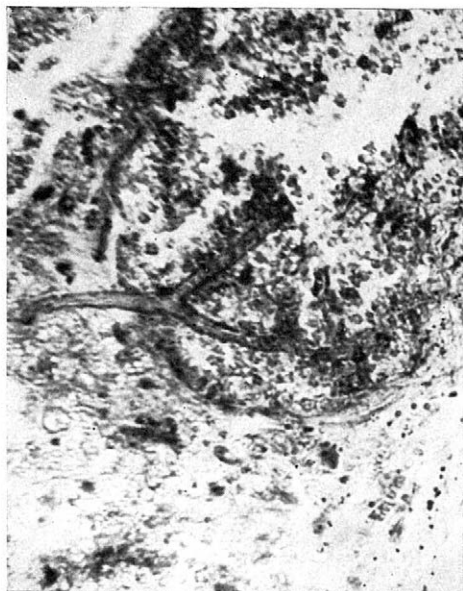
Obr. 4. Miliárna nekróza pečienky s ne-
patrnou bunkovou reakciou.



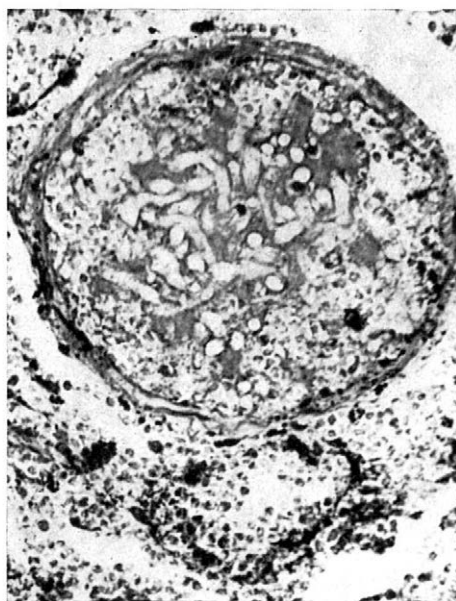
Obr. 5. Väčšie a menšie nekrotické lo-
žisko v pečeni prestúpené bazofilnými
anorganickými soľami.



Obr. 6. Rez cievou v pečeni. Z nástenné-
ho trombu vychádzajú početné vláknité
útvary hýf.



Obr. 7. Z trombotizovanej kapiláry pľúc
prestupujú plesne do okolného tkaniva.



Obr. 8. Trombotizovaná kapilára pľúc
s veľkým množstvom fragmentov plesní.
Foto MVDr. L. Groch

Věnováno k 60. narozeninám akademika I. Brauneru

■ Růstové zákonitosti kultur mykoplazmat, zejména v tekutých médiích, zájímaly autory již v období, kdy začínalo býti zřejmé, že původce plicní nákazy skotu *Mycoplasma mycoides* není ojedinělou kuriozitou v mikrosvětě. Holmes a sp. (1932) vyjadřovali růstovou křivku *M. mycoides* podle stupně redukce metylenové modře v časových intervalech kultivace. Laidlaw a sp. (1936) použili metodu počítání kolonií a zjistili, že u saprofytických kmenů mykoplazmat se počty životaschopných individuí pohybují v rozmezí $3 \cdot 10^7 - 1 \cdot 10^{10}$ v ml.

LITERARNÍ PŘEHLED

Po jistém období, kdy se pozornost autorů zaměřila více na způsob reprodukce individuí, než na poměry v populaci mykoplazmat, zahajují studium růstových křivek v tekutých médiích Keller a sp. (1954), kteří v základním bujonovém mediu pro kultivaci mykoplazmat sledovali humánní kmen. Růstovou křivku *M. bovis genitalium* a *M. laidlawii* popisují Butler a sp. (1956), u dvou humánních kmenů, jednoho saprofytického a jednoho aviárního Kelton (1960) a stejný autor později (1962) u osmi aviárních kmenů, mezi nimiž byly zastoupeny i *S. 6* (*M. gallisepticum*), PG 16 (*M. gallinarum*) a PG 30 (*M. iners*). Při svých pokusech dlouhodobého sledování kultur mykoplazmat popisuje Kelton nejen vymizení pasážovatelných jedinců (CFU = „colony forming unit“) z kultur určitých kmenů v jistém časovém intervalu kultivace, ale i zvláštní průběh růstové křivky některých kmenů, kdy po dosažení maximální hodnoty počtu pasážovatelných individuí v kultuře dochází k jeho poklesu a opětovnému zvýšení. Vymizení pasážovatelných individuí z kultury vysvětluje Kelton vznikem autotoxických substancí během kultivace a nadměrnou citlivostí některých kmenů vůči těmto látkám. Smith a sp. (1963) tento jev vysvětlují spotřebováním některého růstového faktoru, snad některé aminokyseliny; podle jejich názoru provází ztrátu pasážovatelnosti ribosomální disociace bez lisy individuí a uvolněný faktor se nejdříve rozpouští v mediu a je reinkorporován zbylými živými mikroorganismy, což podmiňuje periodu zvýšení počtu.

Jako optimální pH pro kultivaci mykoplazmat se udává 7,8–8,0, jak je stanovili Dienes a sp. (1937). Otázky vhodného pH pro kultivaci byly dlouho opomíjeny, teprve Shepard a sp. (1965) zjistil, že pro různé kmeny se optimální hodnota pH mění; na základě svých výsledků doporučuje určit pro každý druh mykoplazmat jeho optimální hodnotu. Podobný závěr učinili Hottle a sp. (1966), kteří nad to u *M. neurolyticum* popisují při kultivaci tohoto kmene „eklipsní jev“, projevující se snížením počtu pasážovatelných individuí na nezachytitelnou hodnotu a opětovný vztup k maximálním hodnotám.

Disproporce mezi skutečným počtem buněk mykoplazmat v mediu a mezi počtem pasážovatelných jednotek sledují práce Clarka (1965) a Andersona a sp. (1965).

Předložená studie sleduje růstové křivky osmi druhů mykoplazmat v bujonovém mediu. Růstové křivky těchto kmenů v glukosovém mediu popisujeme v předchozí studii (Skalka, 1966a) a u fermentujících kmenů jsme sledovali i kvantitativní spotřebu glukózy během kultivace (Skalka, 1966b).

METODIKA

Růstové křivky byly sledovány u těchto kmenů: *M. gallisepticum* S₆ (H. E. Adler, Dep. of Avian Med. Univ. of California), *M. gallinarum* PG 16 (D. G. ff. Edward, Wellcome Research Laboratories, Kent), *Mycoplasma iners* PG 30 (D. G. ff. Edward, Wellcome Research Laboratories, Kent), *M. bovis genitalium*, *M. canis*, *M. pulmonis* (E. A. Freundt, Royal Vet. and Agricult. College, Copenhagen), *M. laidlawii* A, *M. laidlawii* B (O. Kandler, Südd. Versuchs- u. Forschungsanstalt, Weißenstephan).

Kultivačním mediem byla infúze z hovězího srdce s 1% peptonu, 0,5% NaCl a 20% inaktivovaného koňského séra. Výchozí pH bylo 7,2, jak u bujonových medií tak i u agarových půd pro počítání pasážovatelných individuí, které byly připraveny zpevněním bujonového základu 1,2% agaru.

Pro vyjádření počtu pasážovatelných individuí jsem použil vlastní modifikace Keltonovy metody, kterou detailně popisují v předchozí studii (Skalka, 1966a).

VÝSLEDKY

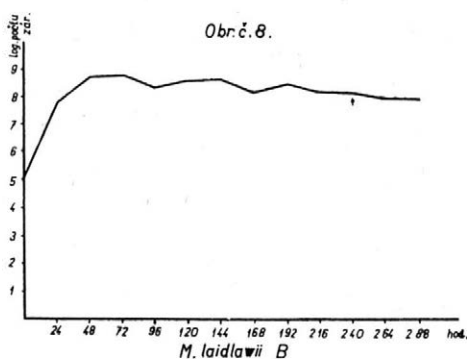
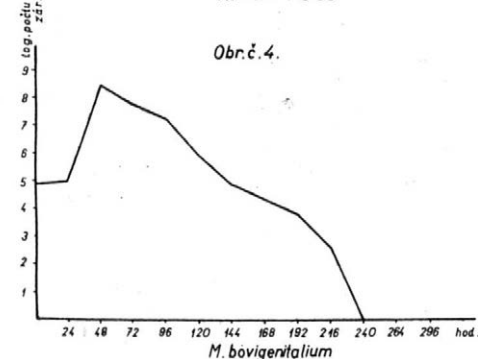
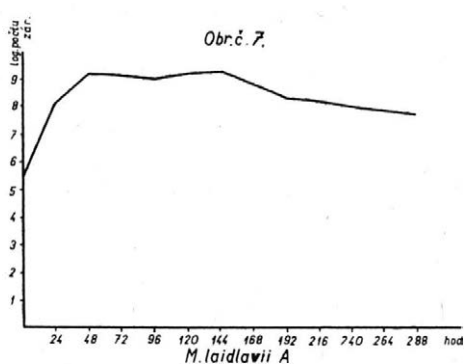
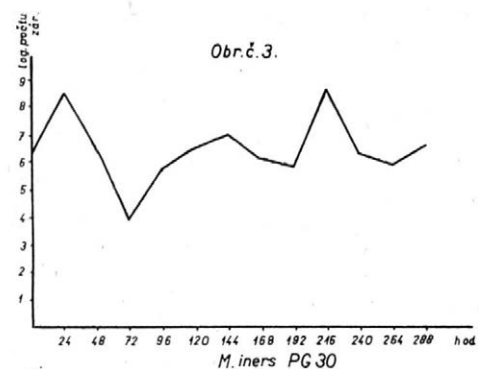
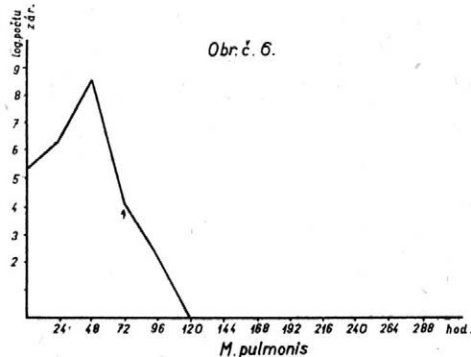
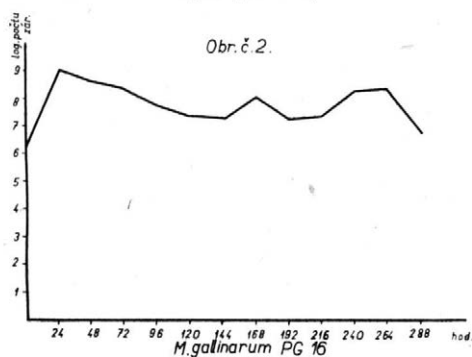
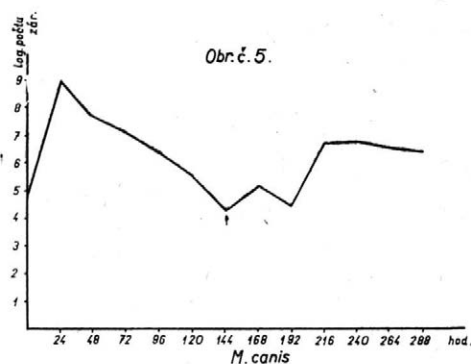
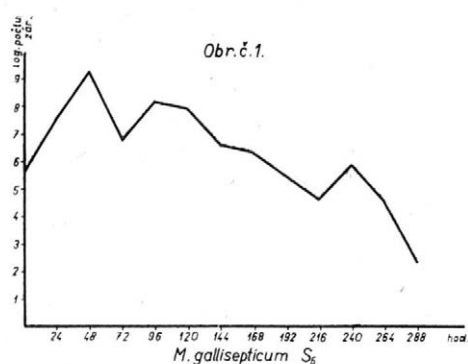
Cílem kultivačních pokusů v bujonovém mediu bylo zjištění počtů pasážovatelných individuí v kultuře a sledování těchto počtů při prolongované inkubaci v termostátové teplotě 37 °C. Výchozí objem každé sledované kultury mykoplazmat byl 500ml; 12 hod. stock kultura příslušného kmene mykoplazmat byla zředěna celkovým objemem media 10⁻³. Vzorky pro počty se odebraly v 0 hod. a dále ve 24 hod. intervalech až do 288 hod. inkubace. V této části práce jsme se zaměřili pouze na vyjádření počtu pasážovatelných individuí v 1 ml media; nefelometrické hodnoty kultur byly nízké a pH medií se během inkubace neměnilo.

U *Mycoplasma gallisepticum* - S₆ nastupuje v prvních 48 hod. vzestup počtu, jehož vrchol je současně maximem zjištěných pasážovatelných individuí v celém intervalu sledování. Následujících 24 hod. znamená prudký pokles, vystřídáný opětovým vzestupem počtu. Po druhé kulminaci nastoupil logaritmický úbytek, který trval od 96 do 216 hod. inkubace a byl vystřídán krátkodobým vzestupem počtů, po kterém nastal prudší průběh poklesu. Ani ve 288 hod. však nevymizela pasážovatelná individua ze sledované kultury.

Kultura *Mycoplasma gallinarum* dosáhla maxima individuí již po 24 hod. inkubace; potom probíhal mírný úbytek až do 144 hod. 168 hod. znamenala vzestup o 1 log. následovaný poklesem a opětovým vzestupem. Po posledním pozorovaném vzestupu nastoupil strmější pokles počtu.

U *Mycoplasma iners*-PG 30 byl průběh růstové křivky nejvíce členitý. První maximum počtů pasážovatelných individuí bylo zjištěno již po 24 hod. inkubace a po něm následoval strmý pokles až do 72 hod. Poté došlo k zprvu prudkému, později mírnějšímu vzestupu, který byl vystřídán opětovým mírným poklesem. Ve 216 hod. inkubace byl zaznamenán prudký vzestup počtů, jehož hodnota dokonce

Logaritmické hodnoty počtů pasážovatelných zárodků v 1 ml



Pozn.: Šipka značí první výskyt morfologicky alterovaných kolonií.

nepatrně převýšila první maximum. Po opětném prudkém poklesu byl u posledního testovaného vzorku pozorován další nastupující vzestup.

Prvních 24 hod. inkubace *Mycoplasma bovis* představuje fázi lagu, po níž následuje logaritmická fáze se zjištěným maximem ve 48 hod. Po dosažení maxima dochází k logaritmickému úbytku pasážovatelných individuí v kultuře a mezi 216–240 hod. k jejich úplnému vymizení.

V kultuře *Mycoplasma canis* bylo pozorováno maximum počtů po 24 hod. inkubace. Od dosažení maxima až do 144 hod. probíhal logaritmicky úbytek počtů pasážovatelných individuí. V následujících 48 hod. proběhl krátkodobý vzestup a pokles počtů a v dalších 24 hod. opětý vzestup o 2 log., po němž se hodnoty počtů až do konce našeho sledování takřka ustálily. Od 144 hod. inkubace se v subkulturách na agarech pro počítání kolonií začaly ve vzrůstající míře objevovat morfologicky alterované kolonie, s intenzívně vakuolizovanou periferií. Paralelně s převyšováním počtu kolonií, které si zachovaly normální vzhled, vzrůstaly i morfologické změny, především docházelo k deminuaci až k úplnému vymizení centrální zóny. Z posledních testovaných vzorků vyrůstaly pouze změněné kolonie mykoplasmat.

Logaritmická fáze proběhla u *Mycoplasma pulmonis* v prvních 48 hod. inkubace. Po dosažení maxima počtů nastal rychlý úbytek pasážovatelných individuí z kultury; k jejich úplnému vymizení došlo mezi 96–120 hod. V posledních dvou vzorcích, ze 72 a 96 hod., vyrůstaly na agarových půdách pro zjišťování počtu morfologicky alterované kolonie, podobně jako u kmene *M. canis*.

Zjištěné výsledky u obou kmenů *Mycoplasma laidlawii*, tzn. Laidlaw A i Laidlaw B, se vzájemně dosti podobaly; nejvyšších hodnot počtů se dosáhlo mezi 48–72 hod. inkubace a potom se počet pasážovatelných individuí udržoval téměř ve stejných hodnotách, resp. nastoupila jen velmi mírně probíhající fáze úbytku. U kmene Laidlaw B se od 240 hod. objevovaly při zjišťování počtů na agarových mediích morfologicky změněné kolonie. Kmen Laidlaw A vyrůstal po celou dobu sledování ve stejných, typických koloniích.

Kultivačními pokusy v základním bujonovém médiu o rozdílném výchozím pH jsme chtěli určit, do jaké míry jím bude růst kultury mykoplasmat ovlivněn. Použili jsme media o pH 7,2 6,0 5,0 a 4,5. Inokulace těchto medií byla stejná jako v předchozích pokusech, kdy jsme zjišťovali počty pasážovatelných individuí. Posouzení intenzity růstu pasážovatelných individuí jsme hodnotili jen orientačně, na základě množství kolonií, vyrostlých z 1 kapky neředěného media na agarové půdě pro mykoplasmata. Density jsme hodnotili nefelometricky.

Nejvyšší odolnost vůči kyselému prostředí měl kmen *Mycoplasma gallinarum*-PG 16, nejcitlivější byl kmen *Mycoplasma pulmonis*. Pro použité kmeny se jako optimální jevílo pH 7,2; při pH 6,0 vyrůstaly stejně dobře kmeny S₆, PG 16, PG 30 po celou dobu sledování, zatím co kmen *M. bovis* a *M. canis* jen v prvních 48 a *Laidlawii* B jen v prvních 24 hod. inkubace; v dalších intervalech sledování vyrůstalo u těchto kmenů mnohem méně kolonií v subkulturách na agarových mediích, jejichž pH bylo vždy 7,2, až došlo ke ztrátě pasážovatelnosti. Kmen *Laidlawii* A byl ovlivěn již pH 6,0 a u kmene *M. pulmonis* nedošlo při tomto pH vůbec ke zvýšení počtu pasážovatelných jedinců. Obě další použité hodnoty pH, tj. 5,0 a 4,5, již měly u všech testovaných kmenů více či méně výrazný škodlivý účinek ve smyslu množství pasážovatelných individuí v kultuře.

Prekvapivý však byl v této části pokusů pohyb densit. V půdách o pH 7,2 a 6,0 byly density velmi nízké, nebo nejčastěji nulové. V půdách s pH 5,0 a 4,5 byla densita vysoká a projevovala se jako intenzívní zákal půdy a jako velký

I. Intenzita růstu v bujonech o různém pH

Čas v hod.		0	24	48	72	96
Kmen	pH					
<i>M. gallisepticum</i> S 6	7,2	+	++++	++++	++++	++++
	6,0	+	++++	++++	++++	++++
	5,0	+	+++	+	—	—
	4,5	+	—	—	—	—
<i>M. gallinarum</i> PG 16	7,2	+	++++	++++	++++	++++
	6,0	+	++++	++++	++++	++++
	5,0	+	++++	+++	+++	++
	4,5	+	++++	+	+	—
<i>M. iners</i> PG 30	7,2	+	++++	++++	++++	++
	6,0	+	++++	++++	++++	++++
	5,0	+	++	+	—	—
	4,5	+	—	—	—	—
<i>M. bovis</i> PG 30	7,2	+	++++	++++	++++	+++
	6,0	+	++++	++++	++	—
	5,0	+	—	—	—	—
	4,5	+	—	—	—	—
<i>M. canis</i>	7,2	+	++++	++++	++++	++++
	6,0	+	++++	+++	++	++
	5,0	+	—	—	—	—
	4,5	+	—	—	—	—
<i>M. pulmonis</i>	7,2	+	+++	++++	+++	+
	6,0	+	+	+	+	—
	5,0	+	—	—	—	—
	4,5	+	—	—	—	—
<i>M. laidlawii</i> A	7,2	+	++++	++++	++++	++++
	6,0	+	+++	+	—	—
	5,0	+	—	—	—	—
	4,5	+	—	—	—	—
<i>M. laidlawii</i> B	7,2	+	++++	++++	++++	++++
	6,0	+	++++	+	+	+
	5,0	+	—	—	—	—
	4,5	+	—	—	—	—

Legenda: Počet + znamená intenzitu růstu kolonií na SLA po subkultivaci z bujového média.

— = bez růstu kolonií po subkultivaci.

II. Density v bujonech o různém pH

Čas v hod.		0	24	48	72	96
Kmen	pH					
<i>M. gallisepticum</i> S6	7,2	0	0	2	2	2
	6,0	0	0	2	2	3
	5,0	0	52	52	52	52
	4,5	0	108	108	108	108
<i>M. gallinarum</i> PG 16	7,2	0	0	0	0	0
	6,0	0	0	0	0	0
	5,0	0	0	6	38	38
	4,5	0	69	98	98	98
<i>M. iners</i> PG 30	7,2	0	0	0	0	0
	6,0	0	0	0	0	0
	5,0	0	0	7	46	46
	4,5	0	92	92	92	92
<i>M. bovis</i> genitalium	7,2	0	0	0	0	0
	6,0	0	0	0	2	5
	5,0	0	23	23	23	23
	4,5	0	79	79	79	79
<i>M. canis</i>	7,2	0	0	0	0	0
	6,0	0	0	0	5	5
	5,0	0	48	48	48	48
	4,5	0	93	105	105	105
<i>M. pulmonis</i>	7,2	0	0	0	0	0
	6,0	0	0	0	0	0
	5,0	0	35	35	35	35
	4,5	0	87	87	87	87
<i>M. laidlawii</i> A	7,2	0	0	0	0	0
	6,0	0	0	0	0	0
	5,0	0	35	35	35	35
	4,5	0	90	90	90	90
<i>M. laidlawii</i> B	7,2	0	0	0	1	2
	6,0	0	0	9	9	9
	5,0	0	15	24	24	24
	4,5	0	97	97	97	97

Pozn.: Jako 100 byl zvolen X. stupeň McFarlandovy zákalové řady.

sediment. Hodnoty uvedené v tabulce jsou výslednými hodnotami po odečtení jistého zákalu, který se objevil i v kontrolních sterilních mediích o identickém pH, jaké měly půdy inokulované; kontrolní media byla inkubována za stejných podmínek, jako sledované půdy. Vzrůst density byl vždy provázen vymizením pasážovatelných individuí z media.

Mikroskopická kontrola těchto půd, jak v preparátech fixovaných a barvených Giemsou, tak i nativních ve fázovém kontrastu, nesvědčila pro výraznější morfologické rozdíly z medií s intenzivním a nepatrným zákalem; vždy to byla drobná kokobacilární tělíska, jejichž množství — což bylo zejména zřetelné v nativních preparátech — odpovídalo intenzitě zákalu kultury.

DISKUSE

Sledování růstové křivky mykoplazmat v základním bujonovém mediu bylo zaměřeno na počty pasážovatelných individuí v kultuře a jejich srovnání s výsledky dosaženými v půdě obohacené glukózou. V pokusech s glukózovými půdami jsme se setkávali jednak s rychlým vymizením pasážovatelných individuí z media po dosažení kulminace růstové křivky a jednak s vysokými densitami kultur kmenů mykoplazmat, které fermentovaly glukózu. Oba tyto jevy nastupovaly paralelně s poklesem pH v glukózovém bujónu. U kmenů nefermentujících k podobným jevům nedocházelo. Rozhodli jsme se proto pro dlouhodobé sledování kultur i o určení vlivu různě kyselého prostředí na kmeny mykoplazmat.

Podle průběhu růstové křivky, jak jsme ji v našich pokusech u použitých kmenů mykoplazmat zjistili, můžeme testované kmeny rozdělit do tří skupin; toto rozdělení je možné udělat především z hlediska různého průběhu růstové křivky po ukončení logaritmické fáze růstu a dosažení maxima pasážovatelných individuí — tzn. z hlediska údobí kultury, které se u bakterií označuje jako fáze stacionární a fáze úbytku. Iniciální poměry v kultuře mykoplazmat byly analogické poměrům bakteriálních bujonových kultur a zde jsou naše nálezy souhlasné s nálezy většiny autorů, kteří sledovali růstové křivky mykoplazmat.

Podle popsaného hlediska tvoří první skupinu oba kmeny *Mycoplasma laidlawii*, u kterých fáze úbytku probíhá téměř neznatelně. Pokles počtů je u kmene Laidlaw A velmi mírný, počty kmene Laidlaw B mají v grafickém znázornění mírně zvlněný průběh.

Druhou skupinu představují *Mycoplasma bovigenitalium* a *Mycoplasma pulmonis*, u nichž po dosažení maximální hodnoty počtů dochází k logaritmickému úbytku pasážovatelných individuí a k jejich úplnému vymizení z kultury před ukončením jejího sledování.

Pro nejpočetněji zastoupenou třetí skupinu je charakteristický výskyt jevu, který se u bakterií označuje jako „diauxie“ případně „rejuvenescence“, vyznačující se prudkým poklesem a opětným vzestupem počtu. Nejvýraznější byl projev takové mnohočetné diauxie u *Mycoplasma iners* PG 30, zatímco u *Mycoplasma gallinarum* PG 16 a *Mycoplasma gallisepticum* S₆ nebyly tak výrazné rozdíly mezi horními a spodními hranicemi počtů pasážovatelných individuí v kultuře.

Naše nálezy se téměř shodují s nálezy Keltona (1960, 1962), zejména u těch kmenů, které byly v jeho i v naší práci identické, tj. *Mycoplasma gallisepticum* S₆, *Mycoplasma gallinarum* PG 16 a *Mycoplasma iners* PG 30. Ze saprofytických mykoplazmat použil Kelton kmen C 15, u kterého dosáhl přibližně stejnou růstovou křivku jako my u kmenů Laidlaw. Rychlým poklesem počtů s vymizením pasážovatelných individuí popisuje u humánního kmene 39 a vysvětluje ji jako důsledek nahromadění autotoxických substancí v mediu. Rychlé mizení pasážovatelných individuí z kultury pozoroval též Ford (1962) u kmene „T“.

Keltonem i námi pozorovanou „diauxii“ popisují rovněž Smith a sp. (1963), kteří ji vysvětlují jako ribosomální disociaci bez lysy individuí s následnou reinkorporací limitujících faktorů zbylými vitálními jedinci. Svá pozorování dělali s kmenem *Mycoplasma gallisepticum* S₆.

V žádné z prací, které sledují růstové křivky mykoplasmat, se neseťkáme s popisem morfologické alterace kolonií mykoplasmat. Toto vyplývá namnoze ze skutečnosti, že většina autorů nediferencuje typy bizonických kolonií mykoplasmat. Ať již anomální kolonie, které jsme v této části práce pozorovali u kmenů *Mycoplasma canis*, *Mycoplasma pulmonis* a *Mycoplasma laidlawii* B hodnotíme jako L-formu mykoplasmat (Freundt, 1960; Skalka, 1963) nebo jako R formu, vyslovujeme současně i předpoklad pro jistou antigenní deficienci individuí, ze kterých vyrostly; pro tuto skutečnost svědčí i naše nálezy u *Mycoplasma gallisepticum* S₆ z první části práce, stejně jako chemické analýzy Smitha a sp. (1963).

Pro opakované vyvrcholování počtů u některých kmenů lze vyslovit i domněnku, že v mediích po zužitkování snadněji asimilovatelných substrátů dochází k vytváření a uvolňování fermentů pro substráty těžce asimilovatelné. Pro toto vysvětlení by mohla svědčit i skutečnost, že pozorovaná diauxie není typická pro všechna mykoplasmata a téměř se nevyskytuje u nutričně málo náročných saprofytických druhů.

V počtech pasážovatelných zárodků, resp. v jejich maximálních hodnotách jsme nenalezli podstatnější rozdíly mezi základním médiem a půdou obohacenou glukózou. Pozorovaná densita v mediích s nízkou hodnotou pH byla podmíněna množstvím individuí mykoplasmat. To by svědčilo pro skutečnost, že v mediích proběhlo intenzivní množení mykoplasmat, současně však ztráta pasážovatelnosti svědčí pro populaci biologicky deficientní.

I když naše hodnocení počtu pasážovatelných individuí v mediích se snižujícím pH bylo jen orientační a hlavní zaměření bylo na densitu v těchto půdách, přece jen se nepodařilo určit, že u našich kmenů by kultivační optimum pH bylo posunuto na kyselou stranu, tak jak to při studiu humánních druhů mykoplasmat určili pro „T“ kmen a *Mycoplasma salivarium* Shepard a sp. (1965). Podle popisu těchto autorů tzv. Eatonovo agens, resp. *Mycoplasma pneumoniae* má své růstové optimum při pH 8,0. Je však možné, že požadavek na pH bude zřetelnější u primokultur mykoplasmat než u laboratorních kmenů, adaptovaných ke všem podmínkám arteficiálních medií.

SOUHRN

Dlouhodobé sledování kultur *Mycoplasma gallisepticum* S₆, *Mycoplasma gallinarum* PG 16, *Mycoplasma iners* PG 30, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma canis*, *Mycoplasma pulmonis*, *Mycoplasma laidlawii* A a *Mycoplasma laidlawii* B v základním bujonovém médiu pro kultivaci mykoplasmat z hlediska počtu pasážovatelných jedinců metodou počítání kolonií rozdělilo kmeny do tří skupin.

První tvoří oba kmeny *M. laidlawii*, u kterých po dosažení kulminace růstové křivky nastoupil jen nepatrně progresivní úbytek pasážovatelných individuí po celou dobu sledování, tj. 288 hod.

Pro druhou skupinu byl charakteristický logaritmický úbytek pasážovatelných individuí ve sledované půdě po kulminaci růstové křivky a jejich rychlé vymizení z kultury. Tuto skupinu tvoří *M. pulmonis* a *B. bovigenitalium*.

Ve třetí skupině jsou kmeny *M. gallinarum* PG 16, *M. iners* PG 30 a *M. canis*. U těchto kmenů nastal po ukončení logaritmické fáze prudký pokles počtů následovaný opětovným vzestupem pasážovatelných individuí; v intervalu sledování bylo u těchto kmenů několik poklesů a vzestupů počtu pasážovatelných zárodků mykoplasmat.

V mediích s nízkými hodnotami pH (5,0 a 4,5) vyrůstaly kmeny v intenzivním zákalu, současně však docházelo ke ztrátě jejich pasážovatelnosti.

Došlo dne 22. 12. 1966

Literatura

ANDERSON, D. L., POLLOCK, M. E., BROWER, L. F.: Morphology of *Mycoplasma laidlawii* type A. = „J. Bacteriol.“ 90, 1965:1764-1767. — BUTLER, M. G., KNIGHT, B. C. J. G.: Growth curves of strains of pleuropneumonia like organisms. = J. gen. Microbiol.“ 14, 1956:6-9. — CLARK, H. W.: Sedimentation counting and morphology of *Mycoplasma*. = „J. Bacteriol.“ 90, 1965:1373-1386. — CLEVERDON, R. C., MOROWITZ, H. J.: Enumeration of pleuropneumonia like cultures. = „J. Bacteriol.“ 79, 1960:615-616. — DIENES, L., EDSALL, J.: Observations on L-organisms of Klieneberger. = „Proc. Soc. exp. Biol. N. Y.“ 36, 1937:740-747. — FORD, D. K.: Culture of human genital „T-strain“ pleuropneumonia like organisms. = „J. Bacteriol.“ 84, 1962:1028-1034. — FREUNDT, E. A.: Morphology and classification of the PPLO. = „Ann. N. Y. Acad. Sci.“ 79, 1960:312-325. — HOLMES, B. E., PIRIE, A.: Growth and metabolism of the bovine pleuropneumonia organism. = „Brit. J. exptl. Path.“ 13, 1932:364-372. — HOTTLE, G. A., WRIGHT, D. N.: Growth and survival of *Mycoplasma neurolyticum* in liquid media. = „J. Bacteriol.“ 91, 1966:1834-1839. — KELLER, E., MORTON, H. E.: The growth of pleuropneumonia like organisms of human origin: Cultivation in the developing chick embryo and an in vitro growth cycle. = „J. Bacteriol.“ 67, 1954:129-134. — KELTON, W. H.: Growth curve studies of pleuropneumonia like organisms. = „Ann. N. Y. Acad. Sci.“ 79, 1960:422-429. — KELTON, W. H.: Synchronized division of avian pleuropneumonia like organisms. = „J. Bacteriol.“ 83, 1962:948-955. — LAIDLAW, P. P., ELFORD, W. J.: A new group of filtrable organisms. = „Proc. roy. Soc.“ B, 120, 1936:292-303. — SHEPARD, M. C., LUNCEFORD, C. D.: Effect of pH on human *Mycoplasma* strains. = „J. Bacteriol.“ 89, 1965:265-270. — SMITH, C. S., DUNLOP, W. R., STROUT, R. G.: Irregular variation in cellular nitrogen associated with culture age of *Mycoplasma gallisepticum*. = „J. Bacteriol.“ 86, 1963:880-881. — SKALKA, B.: Studie o antigenní struktuře a morfologii aviárních *Mycoplasma* sp. (Kand. dis. práce.) Brno. 119, 69 příl. 1963. — SKALKA, B.: Studie růstových vlastností mykoplasmat (PPLO) v tekutých médiích: I. Růstové křivky v glukosových půdách. = „Sb. VŠZ v Brně, ř. B. Sp. fak. veter.“ XIV, 1966:113-130. — SKALKA, B.: Studie růstových vlastností mykoplasmat (PPLO) v tekutých médiích: II. Spotřeba glukosy při kultivaci. = „Sb. VŠZ v Brně, ř. B. Sp. fak. veter.“ XIV, 1966:131-136.

Изучение ростовых свойств микоплазм в бульонной питательной среде

Долговременное изучение культур *Mycoplasma gallisepticum* Ss, *Mycoplasma gallinarum* PG 16, *Mycoplasma iners* PG 30, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma canis*, *Mycoplasma pulmonis*, *Mycoplasma laidlawii* A и *Mycoplasma laidlawii* B в основной бульонной питательной среде для культивации микоплазм, с точки зрения числа пассажируемых особей методом подсчета колоний, разделило штаммы на три группы.

Первую представляют штаммы *M. laidlawii*, у которых после достижения кульминации ростовой кривой произошло только незначительно прогрессивное убывание пассажируемых особей в течение всего наблюдения, т. е. 288 час.

Для второй группы характерным было логарифмическое убывание пассажируемых особей в изучаемой питательной среде после кульминации ростовой кривой и их быстрое исчезновение из культуры. Эту группу представляют *M. pulmonis* и *M. bovigenitalium*.

В третью группу входят штаммы *M. gallinarum* PG 16, *iners* PG 30 и *M. canis*. У этих штаммов после окончания логарифмической фазы наступает резкое понижение числа, за которым следует повторный рост пассажируемых особей; в интервале изучения у этих штаммов наблюдалось несколько понижений и повышений числа пассажируемых зародышей микоплазм.

В питательных средах с низкими значениями pH (5,0 и 4,5) росли штаммы в интенсивном помутнении, однако одновременно наблюдалась утрата их пассажируемости.

Investigation of the Growth Properties of Mycoplasmas in Bouillon Medium

On the basis of a long-term examination of cultures of *Mycoplasma gallisepticum* Ss, *Mycoplasma gallinarum* PG 16, *Mycoplasma iners* PG 30, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma canis*, *Mycoplasma pulmonis*, *Mycoplasma laidlawii* A, and of *Mycoplasma laidlawii* B in a basic bouillon medium for the cultivation of

mycoplasmas with regard to the number of colony forming units (CFU) by means of the method of counting colonies, the strains were divided into three groups.

Group one consists of the strains of *M. laidlawii*, in which, after the reaching of the culmination of the growth curve, there occurred only a negligible progressive decrease of CFU in the whole investigation period, i. e. 288 hours.

Characteristic for group two was the logarithmic decrease of CFU in the examined medium after culmination of the growth curve and their rapid disappearance from the culture. This group is made up of *M. pulmonis* and *M. bovigenitalium*.

Group three includes strains of *M. Gallinarum* PG 16, *M. iners* PG 30, and *M. canis*. After termination of the logarithmic phase these strains showed a violent decrease of number followed by a new increase of CFU. In the interval between observations of these strains there occurred several decreases and increases of the number of passageable germs of mycoplasmas.

In media with low pH values (5.0 and 4.5) the strains grew in intensive turbidity, but simultaneously there occurred a loss of their passageability.

Studium der Wuchseigenschaften der Mykoplasmen im Bouillonboden

Prolongierte Untersuchungen der Kulturen von *Mycoplasma gallisepticum* S6, *Mycoplasma gallinarum* PG 16, *Mycoplasma iners* PG 30, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma canis*, *Mycoplasma pulmonis*, *Mycoplasma laidlawii* A und *Mycoplasma laidlawii* B in einem grundlegenden Bouillonmedium für Mykoplasmenkultivierung — vom Gesichtspunkt der durch die Methode der Kolonienzählung festgestellten Anzahl der passagierbaren Individuen — führten zur Einstellung der Stämme in drei Gruppen.

Die erste Gruppe bilden die Stämme des *M. laidlawii*, bei welchen nach der Kulmination der Wachstumskurve eine nur unwesentliche Abnahme der passagierbaren Individuen während der gesamten Beobachtungszeit, d. h. 288 Stunden, festgestellt wurde.

Für die zweite Gruppe war eine logarithmische Abnahme der passagierbaren Individuen im untersuchten Nährboden nach der Kulmination der Wachstumskurve und ihr schnelles Verschwinden aus der Kultur charakteristisch. Diese Gruppe bilden *M. pulmonis* und *M. bovigenitalium*.

Die dritte Gruppe wird von den Stämmen *M. gallinarum* PG 16, *M. iners* PG 30 und *M. canis* gebildet. Bei diesen Stämmen kam es nach Beendigung der logarithmischen Phase zu einem starken Abfall der Anzahl, welchem eine erneute Zunahme der passagierbaren Individuen folgte. Im Beobachtungsintervall traten bei diesen Stämmen mehrere Abnahmen und Zunahmen der Anzahl der passagierbaren Erreger (Mykoplasmen) auf.

In Medien mit niedrigen pH-Werten (5,0 und 4,5) wuchsen die Stämme bei intensiver Trübung, gleichzeitig aber verloren sie ihre Passagierfähigkeit.

Adresa autora:

MVDr. Boris Skalka, CSc., VŠZ, veterinární fakulta, Brno, Palackého 1—3

■ V posledních letech se pozornost veterinárních mikrobiologů obrací ke studiu těch mykoplazmat, které mají vztah k pneumoniím prasat a telat. Z pneumonických plic prasat je poprvé izolovali Wesslén a Lannek (1954) na tkáňových kulturách a Dinter a spol. (1957) na žloutkových vácích kuřecích embryí (KE). Wesslén a Lannek nazvali tyto zárodky původně SEP agens („swine enzootic pneumonia“), avšak Bakos a spol. (1962) prokázali, že jde o agens mykoplazmového druhu tím, že se jim podařila kultivace těchto zárodků na neživých půdách.

V naší laboratoři provádíme od roku 1961 izolační pokusy z pneumonických plic prasat na žloutkových vácích KE a v poslední době i na bezbuněčných tekutých půdách a agarových půdách pro kultivaci mykoplazmat. Předmětem této práce je popis izolací a identifikací mykoplazmových kmenů z plic prasat s přihlédnutím i k jejich některým růstovým charakteristikám na tekutých půdách (TP) a pevných půdách (PP) pro kultivaci mykoplazmat.

MATERIÁL A METODIKA

Suspenze (10 %) se připravovaly z pneumonických částí plic selat a běhounů v Hankově roztoku s 50 j. penicilinu. K inokulacím 6—7 denních KE jsme použili supernatanty po 20 min. centrifugaci při 2000 obr./min.

Kultivace mykoplazmat na žloutkových vácích KE. Embrya uhynuvší do 48 hodin po inokulaci jsme v těchto pokusech nesledovali, protože specifická hynutí způsobovaná mykoplazmaty jsme zaznamenávali nejdříve za 72 hodin. Žloutkové vaky těch KE, která hynula na 3.—9. den po infekci, případně přeživších 6 dní, jsme použili k subpasážím na žloutkových vácích, později i na TP. Materiály nevyvolávající hynutí KE ani po 6. pasážích a z jejichž žloutkových vaků se nám nepodařilo kultivovat mykoplazmata na TP a PP, jsme považovali za negativní.

Příprava TP. K 50 ml Hankova roztoku jsme přidali 20 ml kvasnicového extraktu (KEX), 20 ml nativního koňského séra (NKS), 10 ml infúze z hovězího srdce (IHS — Difco), 0,5 % hydrolyzovaného laktalbuminu, 50 j. penicilinu, 0,05 % thalium acetátu a 0,002 % fenolové červeně. PH půd bylo upraveno louhem sodným na 7,6—7,8. KEX jsme připravovali obdobně jako Herdeschee (1963). Směs 250 g čerstvých kvasnic (pekařských) a 1000 ml redestilované vody jsme zahřáli na 80 °C po 30 min., pak centrifugovali a seitzovali. KEX jsme uchovávali při —20 °C a používali nejdéle do dvou měsíců po přípravě. Pokud jeho příprava a zdroj budou jiné, uvedeme dále v textu.

Izolace a pasáže na TP. TP (po 2 ml ve zkumavkách s gumovými zátkami) jsme inokulovali 0,1 ml plicního materiálu a subpasážovali každý 3.—4. den do čerstvých — nejvýš jednodenních půd dávkou 0,1 ml. Přítomnost mykoplazmat jsme prokazovali v Giemsou barvených sedimentech získaných centrifugací při 10.000 obr./min. po 1 hod. Za negativní jsme považovali ty materiály, v nichž jsme mykoplazmata neprokázali ani po 10 pasážích.

Příprava PP. Jejich složení bylo stejné jako u TP s tím rozdílem, že Hankův roztok byl nahrazen 50 ml redestilované vody s 0,5 % NaCl a 0,1 % glukózy, v níž bylo rozpuštěno 1,2 g Noble agaru (Difco), který byl po autoklavování smíchán při 45 °C s 20 ml KEX, 20 ml NKS a 10 ml IHS a rozlit na Petriho misky.

Důkaz kolonií na PP. Čerstvě připravené půdy po vyočkování jsme zaparafinovali a prohlíželi mikroskopicky při 40—60násobném zvětšení nejméně 7 dní. Vyrostlé kolonie jsme posuzovali také po jejich fixaci v Bouinově roztoku na agarových bločcích a Giemsově barvení (Klieneberger-Nobel 1950). Materiály jsme běžně kultivovali při 30 °C a některé pasáže i při 32 °C a pokojové teplotě.

Titrace M. Volili jsme dva postupy. V prvním, desetinásobná ředění mykoplazmat pomnožených v TP jsme inokulovali po 0,1 ml do 0,9 ml TP. Infekční titry byl určen podle metabolické aktivity pomnožujících se zárodků, které ve všech pozitivních ředěních vlivem okyselení měnily červenou barvu tekutin na žlutou. V druhém, desetinásobná ředění mykoplazmat z TP byla vyočkována v množstvích 0,05 ml na PP. Infekční titr byl určen podle množství vyrostlých kolonií na pevných půdách. Výsledky obou testů jsme posuzovali za 5—7 dní.

VLASTNÍ VÝSLEDKY

Některé vlastnosti kmenů, izolovaných na žloutkových vacích. Na žloutkových vacích bylo dokončeno vyšetření 272 pneumonických plic ze selat nebo běhounů a z nich jsme zachytili 19 kmenů. Všechny byly letální pro KE. Zatím co v prvních dvou pasážích hynula KE jen ojediněle, v páté okolo 50 % a v desáté téměř 100 % po inokulaci dávkou 0,1 ml (10 % suspenze). 5 kmenů (HD 96, LH 110, NE 112, Ka 198, MY 208) prošlo 30 pasážemi a jejich letalita pro KE stoupla na 10^9 — 10^{11} LD₅₀/1 g žloutkové hmoty. Jestliže většina KE hynula po infekci materiály o malém počtu pasáží mezi 5.—10. dnem, zárodky které prošly větším počtem pasáží zkrátily tuto dobu na 3—5 dní. Uhynulá embrya měla výrazné krváceniny, zejména v okolí hlavy a zvětšená, překrvená játra.

Důkaz přítomnosti mykoplazmat ve žloutkových vacích. Mikroskopické vyšetřování roztěrů žloutkových vaků barvených Giemsou nedávalo uspokojivé výsledky pro obtížné hodnocení přítomnosti mykoplazmat v těchto preparátech. Také při očkování suspenzí ze žloutkových vaků na PP byl růst mykoplazmat někdy obtížně dokazován pro přítomnost organických zbytků v suspenzích. Osvědčil se nám však tento postup: Žloutkové vaky z uhybnutých embryí, nejlépe z 3. nebo další pasáže jsme vyočkovali do TP, z nichž se po jedné až pěti pasážích dařil průkaz na PP. Vyrostlé kolonie byly charakteristické pro mykoplazmata a jejich růst bude popsán později. Přítomnost a pomnožování mykoplazmat v TP prokazovala změna barvy půd z červené na oranžovou a po více pasážích až na citronově žlutou (pH 6,5—6,3). V sedimentech tekutin jsme prokazovali jemné kokobacilární zárodky velikosti 0,3—0,5 μ , barvené Giemsou (1 : 100) přes noc, po předchozí fixaci acetonem.

Tímto postupem jsme z 19 žloutkových materiálů (pozitivních na hynutí) vykultivovali 17krát mykoplazmata. U dvou materiálů nebylo vyšetření dokončeno pro kontaminace.

Izolace mykoplazmat na TP z plicních suspenzí. Na TP z 98 pneumonických materiálů jsme izolovali 11 kmenů, z nichž 9, souběžně vyšetřovaných, bylo také pozitivních na žloutkových vacích a na nichž dva zbylé nebyly dokončeny pro kontaminaci. Další dvě plicní suspenze (DO 38 a ZE 921), pozitivní na žloutkových vacích, asi po 4měsíčním uchovávání při —65 °C byly dodatečně vyšetřeny také na TP s negativním výsledkem. Obě metody se jevily stejně citlivé z hlediska zachytu mykoplazmat, nebereme-li

I. Výsledky kultivací mykoplazmat ze žloutkových vaků a plic prasat na tekutých půdách

Kmeny	Při použití ke kultivaci na tekutých půdách	
	žloutkové vaky KE	plíce prasat
HD 96	+(1)*	N
NE 110	+(1)	N
LH 112	+(1)	N
KA 198	+(1)	N
MV 208	+(1)	N
VI 10	+(1)	+(2)
VI 12	+(1)	+(2)
VI 16	+(1)	+(1)
VI 17	+(1)	+(2)
DO ♀	+(5)	+(5)
DO 38	+(1)	-(8)
DO 44	K	+(4)
DO 41	+(2)	+(2)
SU 379/1	K	+(5)
SU 379/6	+(4)	+(4)
JA 15	+(1)	+(1)
ZE 921	+(1)	-(7)
By 13	+(1)	+(1)
SU 379/4	+(4)	+(4)

K – kontaminace
– pozitivní nález

N – neprovedeno
– negativní nález

*) Číslo v závorce značí pasáž na tekutých půdách, z nichž byla poprvé vykultivována mykoplazmata v typických koloniích na pevných půdách

v úvahu ty dva materiály, u nichž délka skladovací doby mohla mít vliv na životnost zárodků. Počet pasáží nezbytných pro důkaz mykoplazmat z TP, inokulovaných buď přímo plícemi, nebo z nich na žloutkových vacích izolovanými kmeny byl přibližně stejný (tabulka I).

Na TP pomnožující se kmeny, nejdříve v 1. a nejpozději v 5. pasáži začaly výrazně okyselovat prostředí vlivem své glykolitické aktivity. Případný vznik bakteriálních L forem vlivem přítomnosti penicilínu jsme vylučovali tím, že se s každým kmenem provedly aspoň tři pasáže bez penicilínu, které po vyočkování na PP dávaly opět růst kolonií typických pro mykoplasmata. Všechny kmeny se pomnožovaly při 37 °C, 32 °C, ne však při pokojové teplotě. Po 48 hod. růstu vytvářely jemný difuzní zákal bez sedimentu.

D ů k a z m y k o p l a z m a t v T P n a P P. Všechny kmeny, ať již byly izolovány na TP přímo z plic, nebo nepřímo ze žlutkových vaků a dále pasážovány na TP, byly pravidelně vyočkovány na PP. Tímto postupem jsme zjistili typické kolonie mykoplasmat s periferním dvorcem a tmavším hutnějším středem výrazně granulovaným. Kolonie vyrostly teprve z těch TP, v nichž se zárodky projevovaly výraznější fermentační aktivitou, čímž docházelo k okyselení media, které oranžovělo až žloutlo. Kmeny nedostatečně adaptované na TP, slabě fermentující a nevýrazně okyselující prostředí nevyrostly buď vůbec, nebo jako drobné kolonie, které byly při 60násobném zvětšení sotva viditelné. Tyto kolonie se daly zjistit již za 24 hod. po vyočkování, avšak dále se již výrazněji nezvětšovaly.

Růst kolonií z následujících pasáží na TP a vyočkových na PP byl zpravidla zřetelnější, tyto byly větší, ale dosti nepravidelných okrajů. Postupně se ukázaly i typické dvouzónové kolonie, různé velikosti. Největší z nich dosahovaly až 0,5 mm po 96 hod. růstu (obrázek 1). Obarvením (Giemsa) 72 hod. kolonií a mikroskopickým vyšetřením byla patrná jejich pleomorfní, síťovitá struktura zejména jejich periferních částí a zahuštěný, barevně homogenní střed (obrázek 2). Tímto byl také zčásti podán morfologický důkaz identity částic, rostoucích v TP a na PP. Množství pasáží na TP nezbytných pro růst typických kolonií na PP, nebylo pravidelné a pohybovalo se mezi 1.—5. pasáží. Dva z kmenů (DO 38 a NE 110) vytvářely po několikadenní kultivaci „film a tečky“, jev popsaný poprvé E d w a r d e m (1950), při němž některé kmeny produkují tečkovité kapičky vápenatých a hořečnatých mýdel a zvláštní film připomínající svými tvary mrazové květy na skle. U našich dvou kmenů, které vytvářely stejný typ kolonií jako ostatní jsme tento jev pozorovali nejdříve na 4deních dobře rostoucích agarových kulturách.

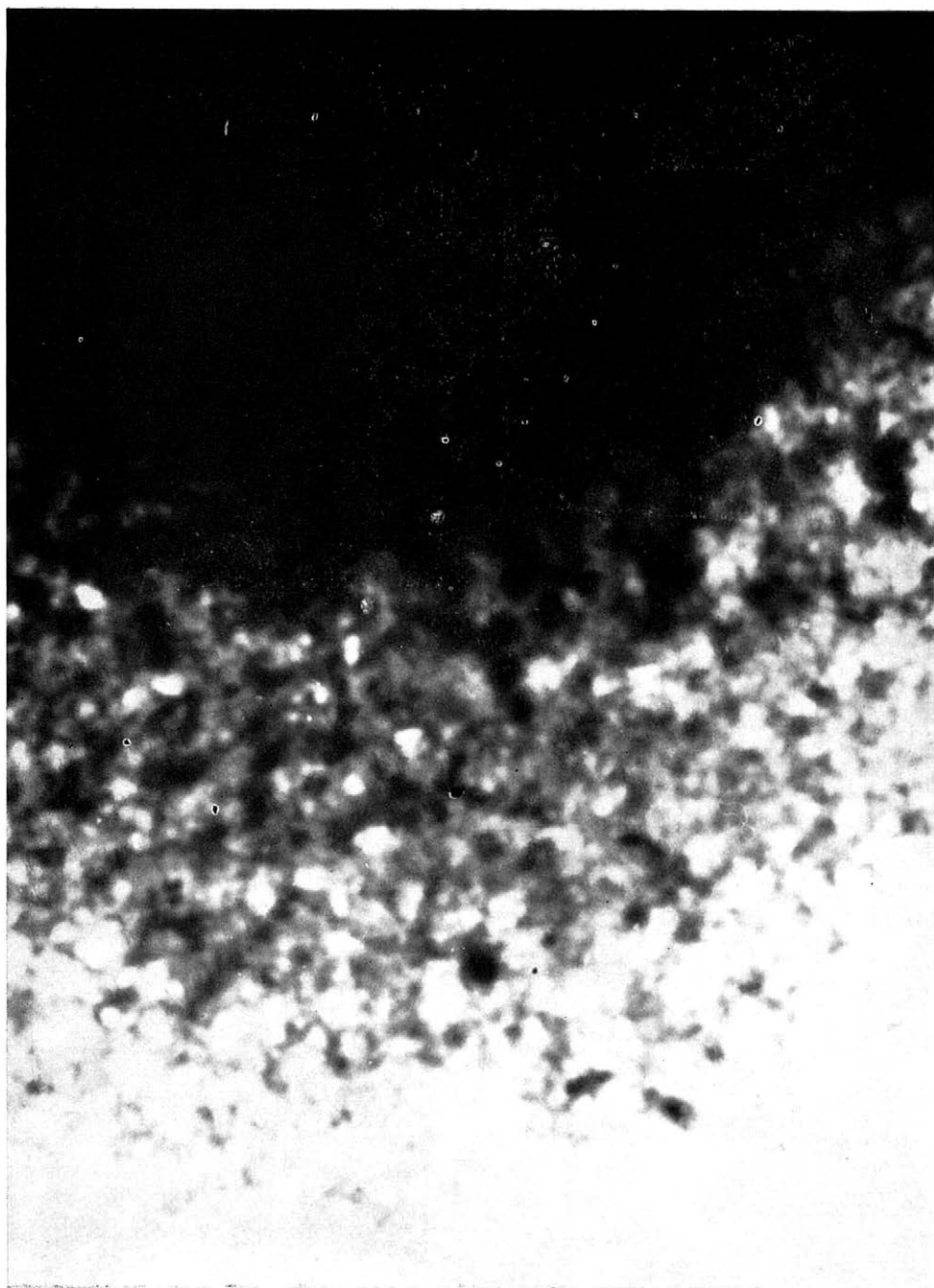
R ů s t m y k o p l a s t v T P r ů z n ě h o s l o ž e n í. Vedle standardně používaných TP jsme připravili dalších pět (jejichž složení je v tabulce II), v nichž bylo titračně sledováno množení mykoplasmat podle metabolické aktivity v TP a růstu kolonií na PP.

48 hod. kultury dobře adaptovaných kmenů byly vyočkovány po 0,05 ml do těchto půd různého složení, na nichž byly 8krát pasážovány ve třídených intervalech. Ukázalo se, že růstově nejaktivnější byly všechny kmeny ve standardní TP popsaného složení (Hanksův roztok, NKS, IHS, KEX), protože dosahovaly nejvyšších titrů a k okyselení docházelo během 48 hod. Dobrý růst poskytovala i další půda: Hanksův roztok s NKS, dále Hanksův roztok s NKS, IHS a Hanksův roztok s KEX, kde se pomnožovaly, dosahovaly však výrazně nižších titrů a jen pomalu okyselovaly půdy do oranžové barvy. Žádný růst jsme nezjistili v Hanksově roztoku s IHS, nebo bez něho. Barva těchto tekutin zůstávala nezměněná, červená (tabulka II). Morfologie kolonií vyrostlých z jednotlivých kultivačních medií se od sebe výrazněji nelišily.

V l i v r ů z n ě p r í p r a v e n ý c h K E X v P P n a r ů s t m y k o p l a z m a t. Předchozí pokusy ukázaly, že KEX připravený z čerstvých kvasnic je významnou složkou pro pomnožování mykoplasmat v TP.



Obr. 1. 72 hod. kolonie mykoplazmat vyrostlé na agaru (zvětš. neg. 20 : 1, zvětš. poz. 120 : 1)



Obr. 2. Kolonie mykoplazmat, obarvená Giemsou (zvětš. neg. 380 : 1, zvětš. poz. 2.280 : 1)

II. Logaritmické hodnoty růstu mykoplazmat v tekutých půdách (8 pasáží) různého složení

Kmeny slož. tekutých pūd	Růst kolonií na pevných pūdách						Metabolická aktivita v tekutých pūdách					
	ZE 921	NE 110	MV 208	SU 397	DO 44	VI 16	ZE 921	NE 110	MY 208	SU 397	DO 44	VI 16
H	<1*	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
H, IHS	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
H, NKS	3	2	2	3	1	2	4	5	4	4	4	3
H, KEX	3	2	2	2	4	2	5	3	5	5	6	4
H, NKS, IHS	2	3	3	2	3	2	6	3	6	5	6	4
H, NKS, KEX	5	4	4	5	4	4	7	6	7	9	7	7
H, NKS, IHS KEX	6	5	5	6	8	6	9	8	9	10	9	9
*log 10 H + Hanksův roztok NKS + 20 % nativního koňského séra KEX + 20 % kvasnicového extraktu IHS + 10 % infuze hovězího srdce												

V průběhu pokusů jsme měli větší problémy s růstem mykoplazmat na PP, než na TP. Jednou z příčin bylo i využívání agarových půd 4 i více dní po jejich přípravě (skladovaných ve vlhku při 4 °C). Na nich mykoplazmata buď vůbec nevyrostla, nebo jen v drobných různě deformovaných koloniích. Kultivace se nám nedařily ani na čerstvých půdách bez KEX. Ukázalo se, že růst našich kmenů na PP byl podmíněn KEX, který byl použit ihned po přípravě nebo po rozmrazení. Proto jsme uvažovali také o použití KEX Difco (certified, Detroit I, Michigan, USA) a Oxoid (division of Oxoid, London, England).

V dalším jsme připravili KEX Difco a Oxoid, jako 10 % suspenze, další z čerstvých kvasnic (250 g na 1000 ml vody), který byl autolyzován v destilované vodě 48 hod. při 37 °C (Ross a Switzer 1963) a konečně ten KEX, který jsme již popsali. Každý z nich jsme přidali v 20 a 10 % koncentraci spolu s 20 % NKS a 10 % IHS do agaru o konečné koncentraci 1,2 %.

Koncentrace kvasnicového extraktu Difco v pevných půdách, používaných pro kultivace prasečích medií bývá 0,5 % (Monreal a spol. 1965, Hartwich a Müller 1965, Dinter a spol. 1965), zatím co do našich agarů byl přidán ve 2 % koncentraci, nebo 1 % koncentraci na celkový objem agaru. Na všech půdách jak s 20 % tak i s 10 % jednotlivých preparátů KEX rostly naše kmeny ve formě kolonií přibližně stejného typu.

DISKUSE

Maré a spol. (1966) vyvolali úspěšně pneumonie u prasat, které byly shodné se změnami jaké se zjišťují u enzootické pneumonie. K infekci použili kmen *Mycoplasma hyopneumonie*. Důkazy infekitivity a patogenity mykoplazmatových zárodků

u prasat podali také Goodwin a Whittlestone (1964 a 1966). Přesto však postavení mykoplazmat v etiologii pneumonií prasat není zatím jednoznačné, protože Lannek a Wesslén (1957) zjistili po experimentální infekci tzv. SEP agens jen mikroskopické změny v plicích a Dinter a spol. (1957) sice pneumonie, které však nebyly dalším pasážováním přenosné na prasata. Ověřování patogenity některých našich kmenů pro prasata bude také předmětem naší další práce. Je známo, že žloutkové vaky KE představují prostředí, v němž lze izolovat a pomnožovat mykoplazmata z plic prasat. Pasážováním těchto mikroorganismů se dosáhne letálního efektu pro KE. Tento, jako diagnostická pomůcka pro určení přítomnosti mykoplazmat má jen omezenou hodnotu, protože pravidelná letalita (mezi 3.—8. dnem) se ukáže teprve po několika pasážích a mimo to může být způsobena jinými, druhotně odlišnými zárodky.

Naopak Dinter a spol. (1965), popisují kmeny zachycené z plic, které nesumrcují KE. Nutno brát v úvahu, že pro identifikaci mykoplazmat ze žloutkových vaků jsou nezbytné další postupy na TP a PP, protože podobně jak se zmiňují Hartwich a Müller (1965) i nám se dařily adaptace na TP zpravidla až po 3.—4. pasáži na žloutkových vacích. Připomene-li možnost zachytu endogenních mykoplazmových zárodků, o čemž se již mnohokrát referovalo, mohl by tento postup být výhodnějším jen v tom případě, že by se ukázal citlivějším v porovnání s TP, tak jak o tom referují Monreal a spol. (1965).

Přestože počet zachytů oběma způsoby byl v našem případě stejný (tabulka I.), domníváme se, že kultivace mykoplazmat na TP by měla být metodou volby. Rozdíl v našich a Monrealových výsledcích, který měl větší počet zachytů mykoplazmat na žloutkových vacích, než na TP, mohou být v rozdílném složení a přípravě TP použitých ke kultivaci. Nelze také vyloučit, že jde o mykoplazmové zárodky s odlišnou biologickou charakteristikou.

Ukázali jsme, že sérum a KEX jsou rozhodující složky pro růst mykoplazmat v TP. Naše kmeny fermentovaly glukózu a nevyžadovaly k růstu prostředí s CO₂ nebo mikrokoky, které jsou používány pro izolace a kultivace mykoplazmat z plic prasat. Také Dinter a spol. (1965) popisují kmeny mykoplazmat, které nepotřebují mikrokoky k satelitnímu růstu. Vysoká nutriční náročnost našich kmenů, připomíná *Mycoplasma pneumoniae* — původce lidské atypické pneumonie (Channock a spol., 1962) a na jejímž základě lze rovněž uvažovat o možné patogenitě našich kmenů.

V nejbližší budoucnosti hodláme doplnit jejich charakteristiku údaji o serologických vztazích k některým zahraničním prototypovým kmenům mykoplazmat.

ZÁVĚR

Výsledky izolací mykoplazmových zárodků z pneumonických plic prasat na žloutkových vacích KE a tekutých půdách pro kultivaci mykoplazmat ukázaly stejnou citlivost obou postupů při jejich zachytech. Avšak metoda kultivace na tekutých půdách se ukázala jako výhodnější.

Letální efekt pro KE, výrazná glykolytická aktivita a tím i okyselování tekutých půd aerobně kultivovaných se projeví obyčejně ve třetí a dalších pasážích.

Neinaktivované koňské sérum a kvasnicový extrakt připravený z čerstvých kvasnic, byly podstatné složky pro růst těchto zárodků v tekutých půdách a pevných půdách pro kultivaci mykoplazmat.

Došlo dne 6. 1. 1967

Spolupráce: Marie Davidová

Literatura

1. BAKOS, K. - BJÖRKLUND, N. E. - KARLOS, K. A. - DINTER, Z.: Diagnosis of the infectious pneumonias of the pigs. = „Bull. Off. int. Epiz.“ 58, 1962, s. 281-290.
- 2. DINTER, Z. - WESSLÉN, T. - LANNEK, N.: Die Kultivierung des SEP-Agens im

Dottersack des Bruteies. = „Zbl. f. Veterinärmed.“ 4, 1957, s. 581-587. — 3. DINTER, Z. - Danielson, D. - BAKOS, K.: Differentiation of porcine mycoplasma strains. = „J. gen. Microbiol.“ 41, 1965, s. 77-84. — 4. EDWARD, D. C. ff.: An investigation of the biological properties of organisms of the pleuropneumonia group, with suggestions regarding the identification of strains. = „J. gen. Microbiol.“ 4, 1950, s. 311-323. — 5. GOODWIN, R. F. W. - WHITTLESTONE, P.: Production of enzootic pneumonia in pigs with the microorganism grown in media free from living cells. = „Vet. Res.“ 76, 1964, s. 611-613. — 6. GOODWIN, R. F. W. - WHITTLESTONE, P.: Enzootic pneumonia of pigs: Growth and behaviour of the causal mycoplasma in liquid media. = „Brit. J. exp. Path.“ 67, 1966, s. 518-524. — 7. HARTWICH, J. - MÜLLER, U.: Zur Isolierung von Schweinemycoplasmen mit Hilfe des Eitestes und der Plattenkultur. = „Zbl. f. Bakt. I. Orig.“ 197, 1965, s. 532-542. — 8. HERDESHEE, D.: An improved medium for the cultivation of the Eaton agent. = „Ant. v. Leewen.“ 29, 1963, s. 154-156. — 9. KLIENEBERGER - NOBEL, E.: Methods of study of the cytology of bacteria and PPLO. = „Quart. J. Micr. Sci.“ II ser. 91, 1950, s. 3340. — 10. MARE, C. J. - SWITZER, W. P.: Mycoplasma hyopneumoniae. A causative agent of virus pig pneumonia. = „Vet. Med.“ 60, 1965, s. 841-846. — 11. MONREAL, G. - BOTH, G. - KONZ, A.: Zur Diagnose der enzootischen Pneumonie der Schweine. = „Zbl. Vet. Med. (B).“ 11, 1965, s. 455-468. — 12. LANNEK, N. - WESSLÉN, T.: Evidence that the SEP agent is an etiological factor in enzootic pneumonia in swine. = „Nord. Vet. Med.“ 9, 1957, s. 177-190. — 13. WESSLÉN, T. - LANNEK, N.: The isolation and cultivation of a cytopathogenic agent from pigs with enzootic pneumonia (so-called virus pneumonia). = „Nord. Vet. Med.“ 6, 1954, s. 481-499.

Культивирование микоплазм из легких свиней

Результаты изоляций этих микроорганизмов из легких заболевших пневмонией свиней на желточных мешках KE и жидких средах для культивации микоплазм показали одинаковую чувствительность обоих способов при их проведении. Метод культивирования на жидких средах оказался, однако, более подходящим.

Летальный эффект для KE, выразительная гликолитическая активность и тем самым также окисление жидких аэробно культивированных сред проявились обыкновенно в третьей и дальнейших пассажах.

Неинaktivированная лошадиная сыворотка и дрожжевой экстракт, приготовленный из свежих дрожжей, оказались существенными компонентами для роста этих бактерий в жидких и агаровых средах для культивации микоплазм.

Cultivation of Mycoplasmas from Pig Lungs

The results obtained in an isolation of mycoplasmatic germs from pneumonic lungs of pigs on KE yolk sacs and on liquid media for the cultivation of mycoplasma showed the same sensitiveness of both procedures in their fixation. However, the method of cultivation on liquid media proved more advantageous.

The lethal effect for KE, the marked glycolytic activity and so also the acidification of liquid, aerobically cultivated media appeared as a rule in the third and in further passages.

Non-inactivated horse serum and a yeast extract prepared from fresh yeast were substantial components for the growth of these germs in liquid and solid media for the cultivation of mycoplasma.

Kultivierung von Mykoplasmen aus der Schweinelunge

Die Ergebnisse der Isolierung der Mykoplasmaerreger aus pneumonischen Lungen von Schweinen auf KE-Dotterbeuteln und flüssigen Mykoplasmakultivierungsböden zeigten die gleiche Sensibilität beider Methoden bei der Erfassung der Mykoplasmen. Die Methode der Kultivierung auf flüssigen Böden erwies sich aber als vorteilhafter.

Der letale KE-Effekt, die ausgeprägte glykolytische Aktivität und damit auch die Ansäuerung der flüssigen Böden bei aerober Kultivierung kamen in der Regel in der dritten und in den weiteren passagen zum Vorschein.

Das nicht inaktivierte Pferdeserum und der Hefeextrakt, zubereitet aus frischer Hefe, waren die wesentlichen Komponenten für das Wachstum der Erreger in flüssigen und festen Böden zur Kultivierung von Mykoplasmen.

Adresa autora:

MVDr. Milan Goiš, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno-Medlánky

Ústav vědeckotechnických informací MZVŽ vydává již několik let studie o zahraničním zemědělství pod souhrnným označením

STUDIJNÍ INFORMACE

Tyto materiály obsahují původní studijní práce, kompilace, analytické referáty a někdy též překlady. Poskytují z nejnovějších dostupných pramenů přehled o současné světové úrovni jednotlivých oborů zemědělské a lesnické vědy. Slouží jako zdroj aktuálních informací a podnětů pro pracovníky ve výzkumu, v řídicích, správních a v jiných organizačních složkách, na odborných a vysokých školách i v praxi.

Řada VETERINÁŘSTVÍ

uveřejní v roce 1967 následující práce:

Diagnostika březosti u prasat

Enzymatické cesty v kontrole zdraví hospodářských zvířat

Fasciolóza

Veterinární problematika moderních krmných směsí

Metabolismus mastných kyselin (dvojčíslo)

Krmné použití antibiotik z hlediska veterin. hygieny po-travin

Nemoci norků

*Objednávky pouze na celoroční předplatné 8 čísel za Kčs 40,—
zašlete na Ústav vědeckotechnických informací, MZVŽ, Praha 2,
Slezská 7.*

Podepsáno k tisku 25. I. 1967

Nižňanský F.: Významné životné jubileum akademika Braunera	281
Škoda R.: Imunizácia proti Aujeszkeho chorobe živou vakcínou. 4. Výskyt Aujeszkeho choroby v chovoch ošípaných, očkovaných vakcínou BUK	283
Menšík J., Jurmanová K., Kocí J.: Účast viru PI-3 při respiračních infekcích skotu ve velkokapacitních odchovných zařízeních. I. Vznik a průběh nákazy po přirozené infekci a frekvence viru u telat 1–8 týdnů starých	293
Žuffa A., Matis J., Žák O., Frágner J.: Důkaz viru moru ošípaných v tkanivové kultúre pomocou imuno fluorescencie	303
Ursíny J., Groch L.: Príspevok k aktuálnej problematike mykotoxikóz hospodárskych zvierat v ČSSR a jej profylaxie	311
Skalka B.: Studie růstových vlastností mykoplazmat v bujónové půdě	321
Goiš M.: Kultivace mykoplazmat z plic prasat	331

СОДЕРЖАНИЕ

Шкода Р.: Иммунизация против болезни Ауески живой вакциной - 4. Появление болезни Ауески в стадах свиней, вакцинированных вакциной BUK (291). — Меншик Я., Германова К., Коци Я.: Участие вируса PI-3 при дыхательных инфекциях крупного рогатого скота в крупногабаритных телятниках (302). — Жужфа А., Матис Я., Жак О., Фрагнер Я.: Доказательство вируса чумы свиней в тканевой культуре при помощи имунофлюоресценции (309). — Урсини Я., Грох Л.: Относительно актуальной проблематики микотоксикозов сельскохозяйственных животных в Чехословакии и их профилактики (320). — Скалка Б.: Изучение ростовых свойств микоплазм в бульонной питательной среде (329). — Гоиш М.: Культивирование микоплазм из легких свиней (337).

CONTENT

Škoda R.: Immunization against Aujeszky's Disease with Live Vaccine. 4. The Occurrence of Aujeszky's Disease in Pig Herds Vaccinated with BUK Vaccine (291). — Menšík J., Jurmanová K., Kocí J.: Participation of the P 1–3 Virus in Respiratory Infections of Cattle at Large-Capacity Breeding Installations (302). — Žuffa A., Matis J., Žák O., Frágner J.: Proof of the Virus of Hog Cholera in a Tissue Culture by Means of Immunofluorescence (309). — Ursíny J., Groch L.: On the Actual Problems of Mycotoxicoses of Farm Animals in Czechoslovakia and of their Prophylaxis (320). — Skalka B.: Investigation of the Growth Properties of Mycoplasmas in Bouillon Medium (329). — Goiš M.: Cultivation of Mycoplasmas from Pig Lungs (337).

INHALT

Škoda R.: Immunisierung gegen die Aujeszky'sche Krankheit mit lebender Vakzine. 4. Vorkommen der Aujeszky'schen Krankheit in den mit der BUK-Vakzine geimpften Schweinezuchten (292). — Menšík J., Jurmanová K., Kocí J.: Teilnahme des PI-3-Virus an den Respirationsinfektionen beim Rind in Großaufzuchtteinrichtungen (302). — Žuffa A., Matis J., Žák O., Frágner J.: Nachweis des Schweinepestvirus in der Gewebekultur mittels der Immunofluoreszenz (310). — Ursíny J., Groch L.: Beitrag zu aktuellen Problematik der Mykotoxikosen bei landwirtschaftlichen Nutztieren in der ČSSR und ihrer Prophylaxe (res. E/320). — Skalka B.: Studium der Wuchseigenschaften der Mykoplasmen im Bouillonboden (330). — Goiš M.: Kultivierung von Mykoplasmen aus der Schweinelunge (337).

TABLE DES MATIÈRES

Škoda R.: Immunisation envers la maladie d'Aujeszki en employant le vaccin vivant 4. Apparition de la maladie d'Aujeszki dans les élevages des porcs inoculés par le vaccin BUK (res. An/291, Al/292). — Menšík J., Jurmanová K., Kocí J.: Participation du virus PI-3 aux infections respiratoires des bovins élevés dans les étables à grande capacité (res. An, Al/302). — Zuffa A., Matis J., Žák O., Frágnier J.: Preuve du virus de la peste porcine dans la culture de tissus à l'aide de l'immunofluorescence (res. An/309, Al/310). — Ursíny J., Groch L.: Contribution aux problèmes actuels des mycotoxicoses des animaux de ferme en Tchécoslovaquie et à leur prophylaxie (res. An/320). — Skalka B.: Etude des propriétés de croissance des mycoplasmas dans le bouillon de culture (res. An/329, Al/330). — Goiš M.: Culture des mycoplasmas à partir des poumons de porcs (res. An, Al/337).