

# VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

10

ROČNÍK 13 (XLI)  
PRAHA,  
ŘÍJEN 1968  
CENA 10 Kčs

ÚSTŘEDÍ ZEMĚDĚLSKÉHO A POTRAVINÁŘSKÉHO VÝZKUMU

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

# VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

## Řídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král, (předseda), prof. MVDr. Kolo-  
man Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof.  
MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák,  
CSc., prof. MVDr. Tomáš Gdovin, MVDr. Miloš Halaša, CSc.,  
prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., doc. MVDr. Jozef Hru-  
šovský, CSc., MVDr. Martin Lis, CSc., MVDr. Andrej Ma-  
čička, MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Jiří Srna, prof.  
MVDr. Oldřich Svoboda, doc. MVDr. ing. Jan Vlček, prof.  
MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc., doc. MVDr. Alojz Žuffa, CSc.

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1968

■  
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje stu-  
die, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech vý-  
zkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědecko-  
technických informací. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2,  
Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—

■  
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзор-  
ы, анализы а научные статьи о разрешенных заданиях по научному  
исследованию в области ветеринарии. Издаёт Институт научно-  
технической информации. 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. Pu-  
blished by the Institute of Scientific and Technical Inform-  
ation. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7

■  
Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA  
veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Ab-  
handlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem  
Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben vom Institut  
für wissenschaftlich-technische Informationen. Erscheint mo-  
natlich. Redaktion Praha 2, Slezská 7

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

# PURIFIKACE VIRU SLINTAVKY A KULHAVKY FLUOROKARBONEM

R. Hubík, R. Fedák, F. Lázníčka

*Bioveta n. p., Terezín*

---

HUBÍK, R., FEDÁK, R., LÁZNÍČKA, F. *Purifikace viru slintavky a kulhavky fluorokarbonem*. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 521-526, 1968.

V práci byl prověřen vliv fluorokarbonu na infekční, komplementfixační a imunogenní vlastnosti viru slintavky a kulhavky. Fluorokarbon neovlivňuje infekční titer viru, snižuje však podstatně komplementfixační aktivitu v důsledku eliminace malé proteinové komponenty viru. Imunogenita purifikovaného viru nebyla dotčena. Diskutuje se o možnostech využití fluorokarbonu pro výrobu vakciny proti slintavce a pro možné vyhodnocování vlastností virového materiálu pro výrobu očkovací látky.

virus slintavky a kulhavky; purifikace viru

---

Používání organických rozpouštědel (např. éteru, n-butanolu, chloroformu) k čištění virových suspenzí je známo již dlouhou dobu. V r. 1956 použili Gessler a spol. k odstranění nevirových proteinů z tkáňové suspenze viru vakcinie fluorokarbon. Tento postup byl pak použit pro čištění různých virů, které se ukázaly jako necitlivé na fluorokarbon (Armbruster, 1957, Manson a spol., 1957, Hamparian a spol., 1958, Halonen a spol., 1958, Epstein, 1958 aj.).

Podobně jako u chloroformu zůstávají při použití fluorokarbonu virové partikule ve vodní fázi, zatímco proteinové součásti a lipidy se dostávají do fáze organického rozpouštědla. Fluorokarbon se tak stal vhodným prostředkem pro deproteinizaci a delipidizaci virových suspenzí, k izolaci virů z tkání, k odstranění antikomplementarity virových antigenů, k eliminaci inhibitorů a k uvolnění protilátek z komplexu s virovými partikulami (Gessler a spol., 1955—56, Porter, 1955—56, Hummeler a spol., 1957, 1958, Girardi, 1959).

Armbruster (1957), Mussgay (1959), Brown a spol. (1960), Polatnick (1960), Fayet a spol. (1965), Roumiantzeff a spol. (1965) prokázali použitelnost této metody pro virus slintavky a kulhavky. Podle těchto prací zůstává virion slintavky, který je nositelem infekivity, imunogenity a zároveň i komplementfixační aktivity, při preparaci fluorokarbonem nedotčen. Naproti tomu malá komponenta viru slintavky, která má komplementfixační vlastnosti, ale není infekční, je při preparaci eliminována v důsledku své proteinové povahy (Bradish a spol. (1960), Bachrach a spol. (1964) aj.).

Tato skutečnost dává této metodě purifikace viru slintavky a kulhavky značné možnosti praktického využití při výrobě inaktivovaných očkovacích látek a pro možné vyhodnocování imunogenní kvality virových materiálů *in vitro* (Brown a spol., 1963, Fayet a spol., 1965, Roumiantzeff a spol., 1965, Mackowiak a spol., 1967, Klimkov a spol., 1968).

V rámci vývoje nových očkovacích látek proti slintavce a studia metod sérologické diagnostiky viru jsme prověřili tuto metodiku v našich podmínkách.

## MATERIÁL A METODY

Virus. Použili jsme kmeny viru slintavky a kulhavky A<sub>5</sub>, O<sub>1</sub> a C, kultivované na monolayerech primárních telecích ledvinových buněk a buněk linie BHK 21/13. Virus byl získáván po 20—24 hodinách inkubace při 37 °C

v mediu Earle z primárních telecích ledvinových buněk a v mediu VM<sub>3</sub> (Schwöbel, 1961) z liniových buněk BHK 21/13. Po odstředění při 2000 g po 15 minut byl virus skladován do zpracování při +4 °C nebo při -40 °C.

**Fluorokarbon.** Užívali jsme Frigen 113 od firmy Hoechst (= arcton 63 = genetron 226 = CF<sub>2</sub>ClCCl<sub>2</sub>F).

**Preparace fluorokarbonem.** 2 díly virového media se smíchají s jedním dílem fluorokarbonu a homogenizují se v turmixu zn. MSE (20 000 obr./min) po dobu 30–60 vteřin dvakrát za sebou. Směs se odstředí při 900 g po dobu 5 minut. Supernatant se oddělí od sedimentu a znovu se smíchá ve stejném poměru s čerstvým fluorokarbonem. Celý postup se opakuje podle potřeby tři až sedmkrát, až použitý fluorokarbon zůstává zcela čirý a v místě styku obou kapalin se objeví nejvýše velmi jemný, nesouvislý precipitát. Pracovali jsme v chladicím boxu při teplotě +4 °C s fluorokarbonem a virem vychlazeným na 0 °C.

**Titrace infekтивности viru.** Infekční titr viru (TKID<sub>50</sub>) byl stanoven na tkáňových kulturách z primárních telecích ledvinových buněk v desetinasobných postupných ředěních s použitím 4–6 zkumavek na jedno ředění v dávce 0,1 ml na 1 zkumavku.

**Titrace komplementfixačního antigenu.** Komplementfixační test jsme prováděli kapkovou metodou za chladu s příslušným morčecím antisérem boxovou titrací, v níž byl antigen používán v dvojnásobném ředění od koncentrovaného do 1 : 32 a komplement v 1–8 % koncentraci.

**Test imunogenity.** Imunogenita virových materiálů byla testována na slepicích leghorn (ve stáří 1 roku), kterým jsme aplikovali 2 ml viru do jugulární vény. Za 7–14 dní byly slepice vykrveny a získaná séra byla v neinaktivovaném stavu zmrazena. Vyhodnocení sér jsme prováděli virusneutralizačním testem na tkáňových kulturách z primárních telecích ledvinových buněk nebo v kolor testu na panelech z polyvinylchloridu s buňkami BHK 21/13. Před testem jsme séra inaktivovali 30 minut při 56 °C a směs virus–sérum byla inkubována 60 minut při 37 °C ve vodní lázni. Vlastní test byl prováděn metodou konstantní dávky séra (1 : 10) se stoupajícím desetinasobným ředěním viru (neutralizační index) nebo metodou konstantní dávky viru (10–100 jednotek) a postupných dvojnásobných ředění séra (neutralizační titr).

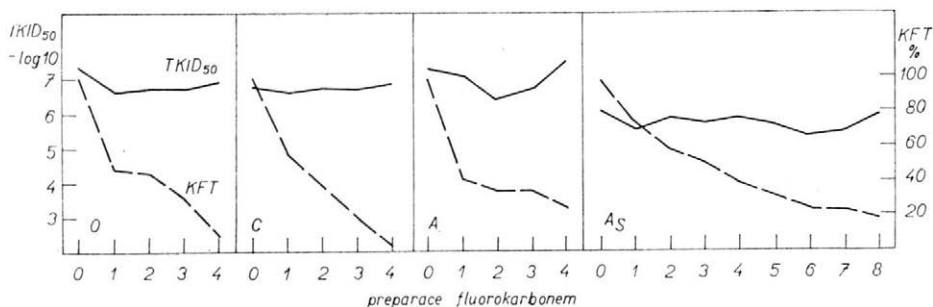
## VÝSLEDKY

K vyčištění suspenze použitých kmenů viru slintavky a kulhavky typu O a C, které byly kultivovány na tkáňových kulturách, se ukázaly nezbytné pouze 3–4 preparace fluorokarbonem. První preparace dávala kompaktní šedobílý sediment fluorokarbonu, takže vodní virová fáze se dala pohodlně odlít. Druhá preparace vytváří již jen slabou precipitační vrstvu (do 1 cm) v místě styku obou kapalin a třetí a čtvrtá vykazuje jen velmi tenkou blanku nesouvislé šedobílé sraženiny na rozhraní fluorokarbonu a viru. Virová fáze se musí již opatrně odsávat stříkačkou. Virový kmen typu A<sub>5</sub>, a zvláště pak tento kmen předem adaptovaný na organismus prasete, označovaný námi jako A<sub>s</sub>, bylo nutno preparovat 5–7 preparacemi, abychom dosáhli stejného stupně vizuálního vyčištění virového media jako u kmenů O a C.

Ověření vlivu fluorokarbonu na infekční a komplementfixační titr jsme provedli celkem devětkrát u viru typu C, šestkrát u viru typu A, sedmkrát u kmene A<sub>5</sub> a šestkrát u kmene typu O.



Ukázalo se, že fluorokarbon nevykazuje výrazně nepříznivý vliv na infekční titer viru. Jak ukazuje graf 1, byly ztráty infekčního titru u všech zkoušených kmenů prakticky zanedbatelné, pokud byl purifikační proces přerušen při vytváření minimálního precipitátu.



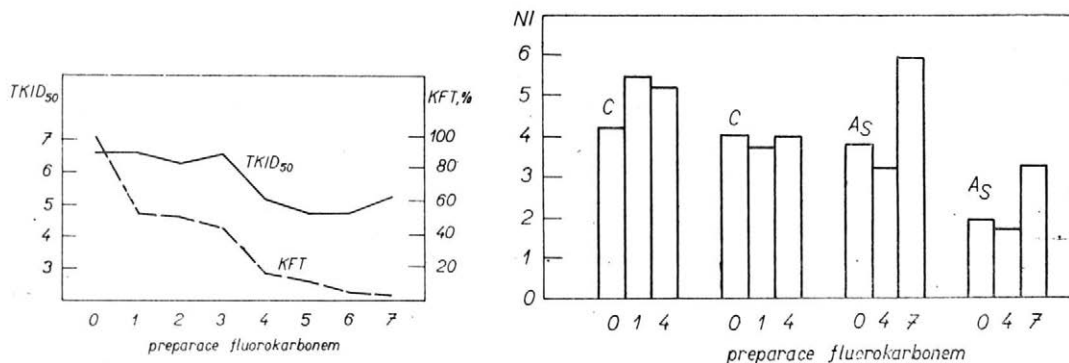
1. Infekční a komplementfixační titer kmenů viru slintavky a kulhavky při preparaci fluorokarbonem.

Abychom ověřili vliv fluorokarbonu při vícenásobném působení, pokračovali jsme v preparacích, i když se již žádný precipitát nevytvářel. Tyto další cykly měly však za následek již zřetelný pokles infekтивности (graf 2).

Vliv fluorokarbonu na komplementfixační aktivitu preparovaného viru je velmi výrazný. Jak ukazuje graf 1, nastává pokles KF titru hned v první preparaci a pokračuje i v dalších fázích čištění. Po první preparaci klesá komplementfixační aktivita na 60–50 % původní hodnoty a pak postupně až na 20–10 %. Největší pokles KF titru byl u použitého kmene typu C.

Pokračování v purifikaci virového materiálu (kdy se již žádný precipitát neobjevuje) vedlo k dalšímu poklesu až úplnému vymizení komplementfixačního titru.

Kultivace virových kmenů na primárních telecích ledvinových buňkách nebo na buňkách linie BHK 21/13 neovlivnila nijak uváděné výsledky.



2. Vliv vícenásobných preparací fluorokarbonem na virus slintavky a kulhavky (od 3. preparace se již nevytváří viditelný precipitát).

3. Imunogenita viru slintavky a kulhavky po preparaci fluorokarbonem (neutralizační index (NI) séra slepic imunizovaných výchozím a preparovaným virem).

Významnou otázkou purifikace viru fluorokarbonem je její eventuální vliv na imunogenní vlastnosti preparovaného viru. V rámci naší práce jsme sledovali tento problém srovnáváním imunogenní aktivity výchozího surového viru s virem postupně čištěným fluorokarbonem na slepicích. Jak ukazuje graf 3, nezjistili jsme u kmenů typu C a A<sub>5</sub> pokles schopnosti tvorby protilátek po preparaci fluorokarbonem. Naopak se objevuje relativně příznivější tvorba protilátek po aplikaci purifikovaného viru.

## DISKUSE

V práci jsme prověřili purifikaci viru slintavky a kulhavky fluorokarbonem. Výsledky prokázaly, že fluorokarbon nemá negativní vliv na infekční titr viru, pokud je purifikační proces ukončen ve fázi, kdy se vytváří jen minimální precipitát v místě styku obou kapalin. Komplementfixační aktivita viru je fluorokarbonem redukována velmi výrazně, a to na 10–20 % původní hodnoty, u kmene typu C až na 3 %.

Další preparace viru fluorokarbonem, kdy se již nevytváří viditelný precipitát mezi vodní a organickou fází, působí pokles infekčního titru viru spolu s dalším poklesem až i vymizením komplementfixační aktivity, což je v soulase s nálezy Fayette a spol. (1965), kteří rovněž určité ztráty infekтивности při této metodě připouštějí.

V našich pokusech bylo třeba k vizuální purifikaci kmene typu O a C tří až čtyř preparací, u kmene A pěti preparací a u téhož kmene, předem však adaptovaného na organismus prasete, dokonce šesti až sedmi preparací.

Infekční a komplementfixační titry virových suspenzí nejsou přesným obrazem imunogenní aktivity viru. Titrace viru je sama o sobě málo přesná metoda, a jen malá část velkých částic viru je skutečně infekčních (Bachrach a spol., 1964, Bradish, 1960). Komplementfixační titr je podmiňován jak velkou, tak i malou komponentou viru. Podle Browna a spol. (1963), Roumiantzeffa a spol. (1965) je účinnost inaktivovaných vakcín proti slintavce vázána pouze na obsah velké komponenty viru, zatímco malá proteinová částice nemá v inaktivované vakcíně pro tvorbu imunity žádný význam. Z toho důvodu nemůže být komplementfixační test surového viru spolehlivým ukazatelem vhodnosti virového materiálu pro přípravu inaktivované vakcíny. Po preparaci fluorokarbonem je výsledek komplementfixačního testu podmíněn pouze přítomností velké komponenty, která je v podstatě zodpovědná za účinnost vakcíny. Tato hodnota se tak stává mnohem cennějším údajem o kvalitě virového materiálu. Na tomto principu vyvodili Roumiantzeffa a spol.

(1965) vztah  $\frac{F}{V} \times F$  ( $F$  = KF titr viru po preparaci freonem,  $V$  = KF titr před preparací freonem), který má být ukazatelem vhodnosti virového materiálu pro přípravu inaktivované vakcíny proti slintavce. Ukáže-li se tento vztah ve srovnávacích testech s účinností vakcín na skotu jako opodstatněný, znamenal by velmi užitečnou hodnotu pro výrobce vakcíny proti slintavce.

Imunogenita virových kmenů preparovaných fluorokarbonem se podle našich výsledků testů imunogenity na slepicích nijak neliší od výchozích virových materiálů.

Na základě dosažených výsledků se jeví účelným propracovat metodiku purifikace freonem pro výrobu očkovací látky proti slintavce a kulhavce.

Došlo dne 22. 5. 1968

## Literatura

1. ARMBRUSTER O.: Die Verwendung von Halogen-Kohlenwasserstoffen zur Virusreinigung. = „Zeitschr. f. Naturforsch.“, 1957, 123, 810-811.
2. BACHRACH H. L., TRAUTMANN R., BREESE S.: Chemical and physical properties of virtually pure foot and mouth disease virus. = „Am. J. Vet. Res.“, 1964, 25, 333-342.

3. BRADISH C. J., HENDERSON W. M., KIRKHAM J. B.: Concentration and Electron microscopy of the characteristic particle of FMD. = „J. Gen. Microbiol.“ 1960, 22, 379-391.
4. BROWN F., CARTWRIGHT B.: Purification of the virus of FMD by fluorocarbon treatment and its dissociation from neutralizing antibody. = „J. of Immunol.“, 1960, 22, 309.
5. BROWN F., NEWMANN J. F.: In vitro measurement of the potency of inactivated foot and mouth disease virus vaccine. = „J. Hyg. Camb.“, 1963, 61, 345.
6. EPSTEIN M. A.: An investigation into the purifying effect of a fluorocarbon on vaccinia virus. = „Brit. J. Exp. Path.“, 1958, 39, 436.
7. FAYET M., ROUMIANTZEFF M., DUBOUCARD C., FONTAINE J.: Utilisation d'une fluorocarbène comme méthode d'étude de virus de la fièvre aphteuse. = „Ann. de Inst. Past.“, 1965, 109, 652-662.
8. GESSLER A. E., BENDER C. E., PARKINSON M. C.: A new and rapid method for isolating viruses by selective fluorocarbon deproteinization. = „Trans. N. Y. Acad. Sci.“, 1955-56, 18, 701.
9. GESSLER A. E., BENDER C. E., PARKINSON M. C.: Animal viruses isolated by fluorocarbon emulsification. = „Trans. NY. Acad. Sci.“, 1955-56, 18, 707-717.
10. GIRARDI A. J.: The use of fluorocarbon for „unmasking“ polyoma virus haemagglutinin. = „Virology“, 1959, 25, 488-489.
11. HALONEN P., HUEBNER R. J., TURNER H. C.: Preparation of ECHO complement-fixing antigens in monkey kidney tissue culture and their purification by fluorocarbon. = „PSEBM“, 1958, 97, 530.
12. HAMPARIAN V. V., MÜLLER F., HUMMELER K.: Elimination of nonspecific components from viral antigens by fluorocarbon. = „J. Immunol.“, 1958, 80, 468.
13. HUMMELER K., HAMPARIAN V. V.: Removal of anticomplementary activity and antigens from viral preparations by fluorocarbon. = „Science“, 1957, 125, 547.
14. KLIMOV N. M., MALACHAV A. G.: Priměnění deproteinizovaného viru šarlaty varianty A1 dle izgotovlenija vakciny. = „Veterinarija“, 1968, 1, 26-28.
15. MACKOWIAK C., FONTAINE J.: Utilisation du virus déprotéiné pour la préparation du vaccin antiaphteux. XVIIth World Vet. Congr., Paris, 1967, I, 383-387.
16. MANSON J. A., ROTHSTEIN E. I., RAKE G. W.: Purification of poliovirus with fluorocarbon. = „Science“, 1957, 125, 546-547.
17. MUSSGAY M.: Trennung zweier spezifischer Einheiten des Virus der Maul- und Klauenseuche mit einem Fluorokohlenwasserstoff. = „Zeitschr. Hyg.“, 1959, 146, 48-57.
18. POLATNICK J.: Studies on the small particle complement-fixing antigen of FMD virus. = „PSEBM“, 1960, 103, 27.
19. PORTER C.: Evaluation of a fluorocarbon technique for the isolation of plant viruses. = „Trans. N. Y. Acad. Sci.“, 1955-56, 18, 704-706.
20. ROUMIANTZEFF M., FONTAINE J., DUBOUCARD Ch.: Evaluation du pouvoir immunogène du virus aphteux par mesure du pouvoir fixant le complément après traitement par un fluorocarbène. = „C. R. Acad. Sci. Paris“, 1965, 261, 598-601.
21. SCHWÖBEL W., SIEDENTOPF V.: Charakterisierung eines drei Jahre alten Zellstammes aus der Schweineiere und Untersuchungen über sein Verhalten gegenüber dem Virus der MKS. = „Zblt. F. Bakt. Orig.“, 1961, 181, 3-16.

---

ГУБИК, Р., ФЕДАК, Р., ЛАЗНИЧКА, Ф. (Биовета, нац. предпр., Терезин, Чехословакия). Очищение вируса ящура при помощи флюоронагара. Вет. мед. (Прага) 13 (10): 521-526, 1968.

В предложенной работе проверяли влияние флюоронагара на инфекционные, комплемент-фиксирующие и иммуногенные свойства вируса ящура. Флюоронагар не оказывает влияния на инфекционный титр вируса, однако он существенно снижает комплементфиксирующую активность в результате исключения небольшого протеинового компонента вируса. Иммуногенность очищенного вируса не была нарушена. Обсуждаются возможности использования флюоронагара для изготовления вакцины против ящура и для возможной оценки свойств вирусного материала для продукции прививочного вещества.

вирус ящура; очищение вируса

HUBÍK, R., FEDÁK, R., LÁZNIČKA, F. (Bioveta nat. ent., Terezín, Czechoslovakia). *Purification of the Foot-and-Mouth Virus by Means of Fluorocarbon*. Vet. Med., (Praha) 13 (10): 521-526, 1968.

In this work the authors checked the influence of fluorocarbon on the infectiveness and on the complement fixation and immunogenic properties of the virus of the foot-and-mouth disease. Fluorocarbon does not influence the infection titer of the virus, but it substantially lowers the complement fixation activity in consequence of an elimination of the small protein components of the virus. The immunogeneity of the purified virus was not affected. There is a discussion on the possibilities of a utilization of fluorocarbon for the production of a vaccine against the foot-and-mouth disease and for a possible evaluation of the properties of the virus material for the production of inocula.

the virus of the foot-and-mouth disease; virus purification.

HUBÍK, R., FEDÁK, R., LÁZNIČKA, F. (VEB Bioveta, Terezín, Czechoslovakia.) *Purifikation des Maul- und Klauenseuche-Virus mit Fluorokarbon*. Vet. Med. (Praha) 13 (10): 521-526, 1968.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß des Fluorokarbons auf die Infektions-, Komplementfixations- und immunogenen Eigenschaften des Maul- und Klauenseuche-Virus überprüft. Fluorokarbon hat keinen Einfluß auf den Virusinfektionstiter, setzt aber die Komplementfixationsaktivität des Virus infolge der Elimination der kleinen Proteinkomponente des Virus herab. Die Immunogenität des purifizierten Virus wurde nicht beeinträchtigt. Es wird über Möglichkeiten der Ausnützung des Fluorokarbons zur Herstellung einer Vakzine gegen Maul- und Klauenseuche und zur möglichen Bewertung der Eigenschaften des Virusmaterials vom Gesichtspunkte der Herstellung eines Impfstoffes diskutiert.

Maul- und Klauenseuche-Virus; Viruspurifikation.

---

*Adresa autorů:*

MVDr. Rudolf H u b í k, CSc., MVDr. Roman F e d á k, MVDr. František L á z n i č k a, Bioveta n. p., Terezín

Ředitel: MVDr. Rudolf Dombek

---



# VÝVOJ REZISTENCE A POLYREZISTENCE *E. coli* Z NOVOROZENÝCH TELAT V LETECH 1962–1964 VZHLEDEM K LÉČBĚ

J. Bartoš, J. Lebduška

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

BARTOŠ, J., LEBDUŠKA, J. Vývoj rezistence a polyrezistence *E. coli* při léčbě kolibacilóz telat v letech 1962–1964. Vet. Med. Praha 13 (10): 527–536, 1968.

Diluční zkumavkovou metodou byla zjišťována citlivost 166–300 kmenů *E. coli* izolovaných z nemocných nebo uhynulých telat z 27 chovů k sedmi látkám: chlortetracyklinu, streptomycinu, neomycinu, furazolidonu, nitrofurantoinu, nitrofurazonu a nitrofuraleximu. Zjistili jsme: a) značnou rezistenci k léčivům běžně používaným; b) různý stupeň rezistence v různých chovech; c) závislost rezistence na předchozím podávání léků; d) nástup rezistence po zavedení dosud nepoužitých léků v chovech; e) výskyt mono-, bi- a polyrezistence; f) vznik rezistence i k nitrofuranovým derivátům; g) zvyšování rezistence s postupem let.

chlortetracyklin; streptomycin; neomycin; furazolidon; nitrofurantoin; nitrofurazon; nitrofuralexim; rezistence a polyrezistence *E. coli*; kolibacilózy telat.

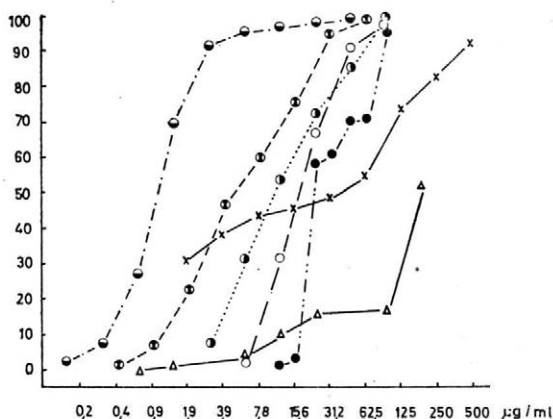
V této práci sdělujeme další poznatky zjištěné při soustavném studiu citlivosti kmenů *E. coli*, izolovaných z novorozených telat při průjemových onemocněních, převážně kolibacilózách. Navazujeme na předchozí sdělení (Bartoš 1963, Bartoš, Lebduška, Salajka 1967). Účelem této práce bylo zjistit vývoj rezistence *E. coli* v časové souvislosti a v závislosti na léčbě antimikrobiálními prostředky a sledovat vznik polyrezistence v chovech.

## MATERIÁL A METODA

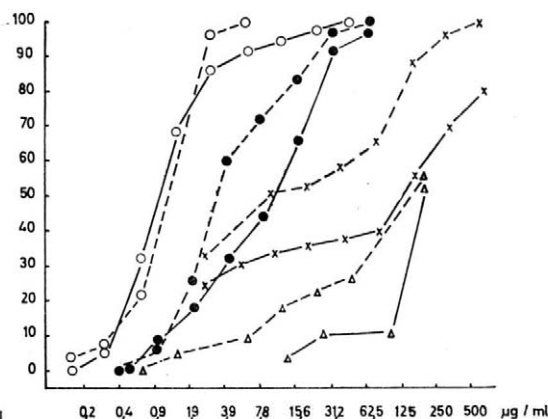
Kmeny *E. coli* jsme izolovali z nemocných nebo uhynulých telat. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) jsme zjišťovali zkumavkovou diluční metodou při použití standardního bujónu bez purinů (Hejzlar a Výmola 1962). Celkem jsme přezkoušeli na citlivost k chlortetracyklinu (CTC), streptomycinu (STM) a neomycinu (NEO) 262 kmenů *E. coli*. Na citlivost k furazolidonu (F) jsme přezkoušeli 300 kmenů, k nitrofurantoinu (NT) 186 kmenů, k nitrofurazonu (NF) 166 kmenů a k nitrofuraleximu (NO) 183 kmenů *E. coli*. S přihlédnutím k údajům Groveho a Randalla (1955) považujeme za dolní hranici rezistence minimální inhibiční koncentraci (MIC) 25  $\mu\text{g}$  v 1 ml u CTC a STM, u neomycinu pak 50  $\mu\text{g}$ /ml.

Ve světové literatuře jsme nenašli obdobné autoritativní pojednání o hranici rezistence u různých druhů nitrofuranů. Různí autoři, kteří zjišťovali u kmenů *E. coli* z lidí a různých zvířat citlivost k různým nitrofuranovým derivátům, uvádějí značný rozsah MIC. Tak např. u furazolidonu od 0,07  $\mu\text{g}$ /ml do 12,5  $\mu\text{g}$ /ml a u nitrofurazonu od 12,5 do 100  $\mu\text{g}$ /ml. V jedné z předchozích prací, v nichž jsme zjišťovali citlivost kmenů *E. coli* neovlivněnou nejrozličnějšími antibiotiky a chemoterapeutiky, jsme provedli šetření u lovné zvěře. Zjistili

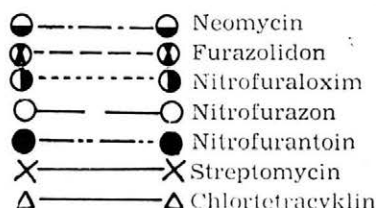
GRAF 1



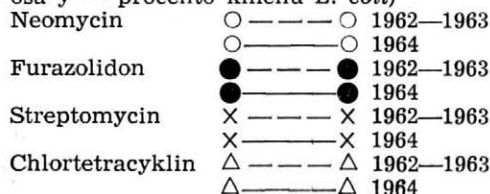
GRAF 2



1. Citlivost kmenů *E. coli*, izolovaných z nemocných nebo uhynulých telat, k antibiotikům a nitrofuránovým derivátům (osa x — minimální inhibiční koncentrace v  $\mu\text{g/ml}$ , osa y — procento kmenů *E. coli*)



2. Porovnání rezistence kmenů *E. coli* v letech 1962–1963 s rokem 1964 (osa x — minimální inhibiční koncentrace v  $\mu\text{g/ml}$ , osa y — procento kmenů *E. coli*)



jsme (Bartoš 1968), že se citlivost kmenů *E. coli* z bažantů k furazolidonu pohybovala v rozmezí MIC 1,5–6,2  $\mu\text{g/ml}$  a ze zajíců v rozmezí MIC 0,3 až 6,2  $\mu\text{g/ml}$ . Přitom 78 % kmenů bažantů mělo MIC od 1,5 do 3,1  $\mu\text{g/ml}$  a 76 % kmenů ze zajíců mělo MIC od 0,3 do 1,5  $\mu\text{g/ml}$ . Z výše uvedených důvodů považujeme v této práci za spodní hranici rezistence MIC 16,6  $\mu\text{g}$  furazolidonu/ml, u dalších nitrofuránových derivátů 50  $\mu\text{g/ml}$ .

Při vyhledávání souřadnic zobrazujících koncentrace v 1 ml v grafech 1 a 2 jsme použili rovnice:

$$x = a_0 \cdot 2^y, \quad (1)$$

kteřá platí pro hodnotu libovolného členu ( $x$ ) rovnice.

$x$  = koncentrace,  $y$  = množina přirozených čísel, 2 = kvocient geometrické řady,  $a_0$  = počáteční člen řady (v našem případě  $a_0$  větší než 0).

Podle rovnice (1)

$$y = \frac{\log x - \log a_0}{\log 2} = f(x) \quad (2)$$

Funkci  $f(x)$  si zobrazíme do stupnice pomocí zobrazovací funkce:

$$\xi = \mu \cdot f(x) \quad (3)$$

$\xi$  = souřadnice kót na zvolené stupnici

$\mu$  = modul stupnice (vyjadřuje velikost zvolené jednotkové úsečky v cm)

$f(x)$  = funkční stupnice

$x$  = kóty (koncentrace látky)

Dosazením rovnice (2) do rovnice (3) dostáváme:

$$\xi = \mu - \frac{\log x - \log a_0}{\log 2} \quad (4)$$

## VÝSLEDKY

Tabulka I uvádí rozsah citlivosti 166 až 300 kmenů *E. coli*, izolovaných z nemocných nebo uhynulých telat z 27 chovů k CTC, STM, NEO, F, NT, NF a NO. Z grafu 1 vidíme, že nejúčinnější byly: neomycin a furazolidon, dále pak následovaly nitrofuraxim, nitrofurazon a nitrofurantoin. Nejméně účinnými byly streptomycin a chlortetracyklin.

Graf 2 porovnává stupeň rezistence *E. coli* k chlortetracyklinu, streptomycinu, neomycinu a furazolidonu v letech 1962–1963 a 1964. Z grafu je patrna značná rezistence k chlortetracyklinu a streptomycinu. U všech látek je patrna vyšší rezistence v r. 1964 ve srovnání v lety 1962–1963.

V další části práce porovnáváme citlivosti kmenů *E. coli* v chovech, kde se lék nepodával, s citlivostí v chovech, kde se po určitou dobu podával.

Ve 23 chovech, kde nebyl použit neomycin k terapii, byla u 193 kmenů *E. coli* MIC 0,7 až 3,1  $\mu\text{g/ml}$ . Ve dvou chovech, kde byl používán po dobu 42–58 dní, byla MIC u 69 kmenů v rozmezí 0,3 až 50 i více  $\mu\text{g/ml}$ .

Citlivost k furazolidonu u 39 kmenů z 15 chovů, v nichž nebyl podáván telatům, se pohybovala v rozmezí MIC 1–2  $\mu\text{g/ml}$ . Naproti tomu u 261 kmene ze 13 chovů, kde jsme jej podávali po období 10–193 dní, byla MIC 0,5 až 66,6 i více  $\mu\text{g/ml}$ .

V 16 chovech, kde se nepodával léčebně žádný furanový derivát, byla citlivost 43 kmenů *E. coli* v rozmezí MIC od 12,5 do 25,0  $\mu\text{g}$  nitrofurantoinu/ml.

### I. Rozsah citlivosti kmenů *E. coli*

| Látka            | Počet kmenů<br><i>E. coli</i> | Rozsah MIC v $\mu\text{g/ml}$ |
|------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Chlortetracyklin | 262                           | 0,781 – > 200                 |
| Streptomycin     | 262                           | < 1,95 – > 500                |
| Neomycin         | 262                           | < 0,195 – > 50                |
| Furazolidon      | 300                           | 0,52 – > 67                   |
| Nitrofurantoin   | 186                           | 12,5 – > 100                  |
| Nitrofurazon     | 166                           | 6,25 – > 100                  |
| Nitrofuraxim     | 183                           | 3,12 – 100                    |

## II. Rezistence (resp. citlivost) k antibiotikům

|                                                                                        | Kmeny rezistentní k |          |               | Kmeny citlivé k |
|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------|---------------|-----------------|
|                                                                                        | CTC                 | CTC+STM  | CTC+STM + NEO | CTC+STM + NEO   |
| Procento rezistentních kmenů;<br>27 chovů, 261 kmenů                                   | 34,9                | 51,7     | 1,9           | 11,5            |
| Rozsah % rezistentních kmenů<br>v jednotlivých chovech; 12 chovů,<br>241 kmenů*)       | 7,1 – 83,3          | 10 – 100 | 0 – 7,4       | 0 – 50          |
| Počet chovů, v nichž byly<br>zjištěny rezistentní (resp. citlivé)<br>kmeny; 12 chovů*) | 10                  | 12       | 3             | 4               |

Vysvětlivky: CTC = chlortetracyklin; STM = streptomycin; NEO = neomycin

\*) chovy s méně než 3 kmeny i kmeny z těchto chovů nejsou do tohoto hodnocení zahrnuty

Ve 4 chovech, kde jsme léčili nitrofurantoinem po dobu 4–62 dní, byla u 55 kmenů MIC, 16,6 – > 100  $\mu\text{g/ml}$ . V 5 chovech, kde se sice nitrofurantoin nepodával, ale podával se příbuzný nitrofuranový derivát – furazolidon, byla u 88 kmenů MIC 12,5–100  $\mu\text{g}$  nitrofurantoinu/ml.

Dále porovnáváme rezistenci kmenů *E. coli* z hlediska mono-, bi- a polyrezistence k antibiotikům (tab. II), k nitrofuranovým derivátům (tab. III) a k antibiotikům a furazolidonu (tab. IV). Z tabulky II je zřejmo, že mono-rezistence u našich kmenů byla zjištěna jen k CTC. Kmeny rezistentní pouze k STM nebo k NEO se nevyskytly. Birezistence zjištěna jen k CTC + STM, nevyskytla se k CTC + NEO. Polyrezistence k CTC + STM + NEO zjištěna jen u malého počtu kmenů, asi proto, že neomycin v chovech jsme začali používat až ke konci tohoto výzkumu. Obdobně také kmeny citlivé ke všem třem antibiotikům byly zastoupeny jen v malém procentu. V různých chovech se vyskytly rozdílné počty rezistentních kmenů a jednotlivé typy rezistence se projeví v různých počtech chovů. Dále tabulka ukazuje, že z rezistentních kmenů byl největší počet rezistentních k CTC + STM a že tento typ se vyskytl v největším počtu chovů (ve všech 12). Byl také nejčastěji zastoupen, a to v nejvyšším stupni ve všech jednotlivých chovech. Na druhém místě ve všech těchto ohledech byla monorezistence k CTC, na třetím polyrezistence k CTC + STM + NEO. Kmenů citlivých ke všem těmto třem antibiotikům bylo jen 11,5 % ze všech studovaných, prokázali jsme je jen ve 4 chovech z 12, a to v jednotlivých chovech v množství 0–50 %.

Tabulka III shrnuje výsledky studia mono-, bi- a polyrezistence (resp. též citlivosti) ke čtyřem nitrofuranovým derivátům (F, NT, NF, NO). Je z ní zřejmo, že monorezistence se vyskytla nejčastěji k nitrofurantoinu (u 10,3 % kmenů v 8 ze 12 chovů), který jsme používali léčebně. Monorezistence k ostatním třem nitrofuranům byla řidší (u 1,2–3 % kmenů) a podobně i bi- a trirezistence (u 0,6–3,6 % kmenů). Více je rozšířena polyrezistence; ke všem 4 látkám současně bylo rezistentních 21 % kmenů v 5 chovech z 12, v jednotlivých chovech v rozsahu 14,3–50 %. Velmi častá byla citlivost ke všem

### III. Rezistence (resp. citlivost) k nitrofuranovým derivátům

#### a) mono- a bi-rezistence

|                                                                                  | Kmeny rezistentní k |            |           |            |            |            |         |            |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------|-----------|------------|------------|------------|---------|------------|
|                                                                                  | F                   | NT         | NF        | NO         | F + NT     | NT + NF    | NT + NO | NF + NO    |
| Procento rezistentních kmenů; 13 chovů, 166 kmenů                                | 1,2                 | 10,3       | 1,2       | 3,0        | 1,2        | 3,6        | 1,2     | 3,0        |
| Rozsah % rezistentních kmenů v jednotlivých chovech; 12 chovů, 164 kmenů*)       | 8,3 – 14,3          | 4,9 – 28,6 | 2,4 – 4,5 | 9,0 – 16,6 | 8,3 – 25,0 | 2,4 – 16,6 | 20,0    | 2,4 – 28,6 |
| Počet chovů, v nichž byly zjištěny rezistentní (resp. citlivé) kmeny; 12 chovů*) | 2                   | 8          | 2         | 3          | 2          | 5          | 2       | 4          |

#### b) polyrezistence

|                                                                                  | Kmeny rezistentní k |             |             |              |                  | Kmeny citlivé k  |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------|-------------|--------------|------------------|------------------|
|                                                                                  | F + NT + NF         | F + NT + NO | F + NF + NO | NT + NF + NO | F + NT + NF + NO | F + NT + NF + NO |
| Procento rezistentních kmenů; 13 chovů, 166 kmenů                                | 3,0                 | 0,6         | 0,6         | 0,6          | 21,0             | 49,4             |
| Rozsah % rezistentních kmenů v jednotlivých chovech; 12 chovů, 164 kmenů*)       | 3,0 – 13,6          | 3,0         | 2,4         | 2,4          | 14,3 – 50,0      | 22,7 – 100       |
| Počet chovů, v nichž byly zjištěny rezistentní (resp. citlivé) kmeny; 12 chovů*) | 3                   | 1           | 1           | 1            | 5                | 12               |

Vysvětlivky: F = furazolidon; NT = nitrofurantoin; NF = nitrofurazon; NO = nitrofuralexim

\*) chovy s méně než 3 kmeny i kmeny z těchto chovů nejsou do tohoto hodnocení zahrnuty



## IV. Rezistence (resp. citlivost) k antibiotikům a furazolidonu

|                                                                                        | Kmeny    |          |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------|----------|-----------|
|                                                                                        | CTC      | F        | CTC + STM |
| Procento rezistentních kmenů;<br>27 chovů, 261 kmenů,                                  | 21,5     | 1,1      | 29,1      |
| Rozsah % rezistentních kmenů<br>v jednotlivých chovech; 12 chovů,<br>241 kmenů*)       | 4,8–83,3 | 6,7–25,0 | 6,7–100   |
| Počet chovů, v nichž byly zjištěny<br>rezistentní (resp. citlivé) kmeny;<br>12 chovů*) | 9        | 2        | 11        |

Vysvětlivky: CTC = chlortetracyklin; STM = streptomycin; NEO = neomycin;

\*) chovy s méně než 3 kmeny i kmeny z těchto chovů nejsou do tohoto hodnocení zahrnuty

4 nitrofuránovým derivátům současně, vyskytla se u 49,4 % kmenů ve všech 12 chovech (min. u 22,7 %, max. u 100 % kmenů).

V tabulce IV je rozbor různých typů rezistence k antibiotikům a furazolidonu současně. Nejčastější byla birezistence k CTC + STM (u 29,1 % v 11 chovech z 12), pak trirezistence k CTC + STM + F (u 22,6 % kmenů v 8 chovech), pak monorezistence k CTC (21,5 % v 9 chovech) a potom birezistence k CTC + F (13,4 % kmenů v 5 chovech). Velmi vzácně zjištěna polyrezistence ke všem 4 látkám (CTC + STM + NEO + F), která se projevila jen u 0,8 % kmenů ve dvou chovech. Mnohem častější než polyrezistence byla citlivost ke všem 4 látkám současně (u 10,3 % kmenů ve 4 chovech s minimem 18,3 % a maximem 30 % kmenů). Při zhodnocení výskytu rezistence k jednotlivým látkám, a to jak ke každé z nich samotné, tak i současně též i k jiným látkám, jsme zjistili tento stav: rezistence k CTC samotnému nebo k CTC a dalším látkám byla zjištěna u 88,5 % kmenů, a je tedy velmi rozšířena. Z obdobného hlediska k STH byla rezistence u 53,6 % kmenů, k furazolidonu u 37,9 %, k neomycinu u 1,9 % kmenů *E. coli*.

## DISKUSE

Výše uvedené výsledky odpovídají rozsahu používání látek v terapii toxické dyspepsie telat: v terénu nejvíce používaná antibiotika CTC a STM byla zřejmě příčinou značné rezistence k nim u kmenů *E. coli* izolovaných z telat. V průběhu našeho výzkumu jsme zavedli do terapie furazolidon, což mělo za následek zvýšení rezistence k této látce. K neomycinu, který jsme zavedli do terapie telat až na konci tohoto výzkumu, jsme zjišťovali rezistentní kmeny jen ve velmi malém počtu. Na závislosti mezi léčbou a vznikem rezistence poukázali též např. Smith a Crabb (1956), Smith (1957, 1958), Gould (1958), Ingram, Shillam, Hawkins, Roy (1958), Smith (1960), Edwards (1962), Ramisse, Yalcin, Morailon (1964).

Z porovnání procent citlivých kmenů ke všem třem antibiotikům současně (tab. II) a ke všem 4 nitrofuránovým derivátům současně (tab. III) vy-

| rezistentní k |                      |                    |                          | Kmeny citlivé k        |
|---------------|----------------------|--------------------|--------------------------|------------------------|
| CTC + F       | CTC + STM +<br>+ NEO | CTC + STM +<br>+ F | CTC + STM +<br>+ NEO + F | CTC + STM<br>+ NEO + F |
| 13,4          | 1,1                  | 22,6               | 0,8                      | 10,3                   |
| 2,4 – 63,0    | 2,3 – 7,4            | 3,3 – 58,3         | 2,4 – 4,2                | 18,3 – 30,0            |
| 5             | 2                    | 8                  | 2                        | 4                      |

F = furazolidon

plývá, že ke všem nitrofuranovým derivátům bylo citlivých pětikrát více kmenů než ke všem antibiotikům. Bylo by proto vhodné uplatňovat v léčbě nitrofuranové deriváty ve větším měřítku. Volba vhodného nitrofuranu by se měla řídit hlavně jeho farmakodynamickými vlastnostmi (vstřebávání, vylučování, toxicita). Z našich výsledků je patrné, že rezistence *E. coli* v chovech se vyvíjí i k nitrofuranům, avšak v podstatně menším měřítku než k antibiotikům. Dále je nutno též počítat s tím, že i mezi různými nitrofuranovými deriváty může často vznikat zkřížená rezistence. O vývoji rezistence k nitrofuranovým derivátům referují též např. Harry (1962), NNR (1956) a prameny citované Popovičem a kol. (1965). Nálezy, že nedochází ke vzniku rezistence k nitrofuranům (Smith 1958, Kádár a Nyiredy 1963, Legler 1965 aj.), nemají tedy obecnou platnost.

Zvýšená pozornost polyrezistenci se věnuje v poslední době i v literatuře (u *E. coli* z telat např. Smith 1958, 1967). V našich pokusech byla polyrezistence nejvýraznější ve velkokapacitním teletníku (podobně jako u Nacházel 1967) a v těch chovech, v nichž jsme vystřídali postupně nejvíce druhů léků. Tuto skutečnost si můžeme vysvětlit převozem telat z velké nasávací oblasti, kde jsou léčena nejrozličnějšími dostupnými antibiotiky a chemoterapeutiky, vůči nimž vzniká postupně rezistence, a používáním široké palety léků. Domníváme se, že by se zde mohla uplatňovat též infekční rezistence (viz Smith a Halls 1966). Z výše uvedených důvodů by pro velkokapacitní teletníky měl být k dispozici takový lék, který nebude v běžné distribuci, aby nebezpečí následků rezistence bylo sníženo, nebo časově oddáleno. Nutno si ale uvědomit, že i velmi dobré léčivo nově zavedené v chovech se po určité době používání v témž chovu stává méně účinným až neúčinným pro vznik rezistence. Poněvadž v celosvětovém měřítku se dosud nepodařilo připravit a využít takový lék, vůči němuž, nebo prostřednictvím jehož by rezistence vůbec nemohla vzniknout, a ani nebyla dosud nalezena vhodná látka, která by uspěla získání opět citlivosti již rezistentního mikroba, je zapotřebí pečlivě provádět testy citlivosti mikrobů izolovaných z uhynulých telat a podávat v chovech ten lék, který na základě testů citlivosti bude v daném chovu a době nejvhodnější.

Poněvadž jak z naší práce, tak i z prací zahraničních autorů (Smith a Crabb 1956, Buratto a Pozzobon 1965, McKay, Ruhnke, Barnum 1965, Fish 1967 aj.) vyplývá, že současně s přibývajícimi lety používání antibiotik a chemoterapeutik se zvětšuje rezistence k nim, bude nutno se vážně nad touto situací zamyslet, především z důvodů možného přenosu rezistence i z nepatogenních kmenů *E. coli* nejen na patogenní *E. coli*, ale též na jiné druhy patogenních mikrobů, např. na salmonely a nahradit a vyčlenit pro terapii zvířat taková antimikrobiální léčiva, která nejsou a nebudou používána pro terapii lidí.

Došlo dne 31. 5. 1968

## Literatura

1. BARTOŠ, J.: Účinek některých antibiotik a chemoterapeutik na kmeny *Escherichia coli* izolované z nemocných nebo uhynulých telat. = „Věstník výzk. úst. zem.“, 10, 1963: 210-212.
2. BARTOŠ, J. - LEBDUŠKA, J. - SALAJKA, E.: Citlivost *E. coli* z telat v různých chovech k lékům. = „Vet. Med.“, Praha, 12, 1967: 127-132.
3. BARTOŠ, J.: Citlivost kmenů *E. coli* z různých druhů zvířat k chlortetracyklinu a furazolidonu. = „Vet. Med.“, Praha, 13, (8-9): 463-469, 1968.
4. BURATTO, L. - POZZOBON, A.: Variations of sensitivity to antibiotics of some *E. coli* strains following previous treatments. = „Vet. ital.“, 16, 1965: 527-530.
5. EDWARDS, S. J.: Effect of antibiotics on the growth rate and intestinal flora (*Escherichia coli*) of calves. = „J. comp. Path.“, 72, 1962: 420-432.
6. FISH, N. A.: Antibiotic resistance trends of animal pathogens in Ontario. = „Can. vet. J.“, 8, 1967: 152-157.
7. GOULD, C. M.: Infectious white scour in calves. = „Vet. Rec.“, 70, 1958: 697-700.
8. GROVE, C. - RANDALL, W. A.: Assay methods of antibiotics. A laboratory manual. New York, Medical Encyclopedia, 1955, 238 s.
9. HARRY, E. G.: The ability of low concentrations of chemotherapeutic substances to induce resistance in *E. coli*. = „Res. vet. Sci.“, 3, 1962: 85-93.
10. HEJZLAR, M. - VÝMOLA, F.: K otázkám standardizace laboratorní práce s antibiotiky. II. část. = „Čs. Epidem. Mikrob. Imun.“, 11, 1962: 260-266.
11. INGRAM, P. L. - SHILLAM, K. W. G. - HAWKINS, G. M. - ROY, J. H. B.: The nutritive value of colostrum for the calf. 14. Further studies on the effect of antibiotics on the performance of colostrum-deprived calves. = „Br. J. Nutr.“, 12, 1958: 203-215.
12. KÁDÁR, T. - NYIREDY, I.: Adatok a baktériumok furazolidon-rezisztenciája és a penicilin-furazolidon antagonizmus kérdéséhez. = „Magy. állator. Lapja“, 18, 1963: 187-190.
13. MCKAY, K. A. - RUHNKE, H. L. - BARNUM, D. A.: The results of sensitivity tests on animal pathogens conducted over the period 1956-1963. = „Can. vet. J.“, 6, 1965: 103-111.
14. LEGLER, F.: Zur Frage der derzeitigen Empfindlichkeit häufiger Erreger von Harnwegsinfekten gegen Nitrofurantoin. = „Arzneimittel Forsch.“, 15, 1965: 299-300.
15. NACHÁZEL, V.: Ověření citlivosti střevní mikroflóry telat ve velkokapacitním teletníku k běžně používaným druhům antibiotik. = „Biol. Chem. Výživy“, č. 5, 1967: 473-475.
16. NNR: New and nonofficial remedies, 1956.
17. POPOVIĆ, M. - IBROVIĆ, M. - SMRČEK, Z. - FORŠEK, Z.: Primena nitrofurana derivata u veterinarskoj praksi. = „Veterinaria“, Sarajevo, 14, 1965: 175-181.
18. RAMISSE, J. - YALCIN, N. - MORAILLON, P.: Remarques sur le diagnostic des infections colibacillaires des nouveau-nés. Utilité de l'antibiogramme et de la sérotypie des souches de colibacille. = „Rec. Méd. vét.“, Alfort 140, 1964: 351-358.
19. SMITH, H. W.: The effect of chemotherapy on the emergence of resistant strains of bacteria. = „Vet. Rec.“, 69, 1957: 749-752.

20. SMITH, H. W.: Further observations on the effect of chemotherapy on the presence of drug-resistant *Bacterium coli* in the intestinal tract of calves. = „Vet. Rec.“, 70, 1958 : 575-580.
21. SMITH, H. W.: The ecology of the intestinal bacteria of the calf with particular regard to *Escherichia coli*. = „Vet. Rec.“, 72, 1960 : 1178-1183.
22. SMITH, H. W.: The incidence of infective drug resistance in strains of *Escherichia coli* isolated from diseased human beings and domestic animals. = „Vet. Rec.“, 80, 1967 : 464-469.
23. SMITH, H. W. - CRABB, W. E.: The sensitivity to chemotherapeutic agents of a further series of strains of *bacterium coli* from cases of white scours: the relationship between sensitivity tests and response to treatment. = „Vet. Rec.“, 68, 1956 : 274-277.
24. SMITH, H. W. - HALLS, S.: Observations on infective drug resistance in Britain. = „Vet. Rec.“, 78, 1966 : 415-420.

БАРТОШ, Я., ЛЕБДУШКА, Я. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия). Развитие резистенции и полирезистенции *E. coli* при лечении колибациллезов телят в 1962—1964 гг. Вет. мед. (Прага) 13 (10) : 527-536, 1968.

Пробиорочным методом разбавления определялась чувствительность 166—300 штаммов *E. coli*, изолированных из больных или погибших телят из 27 стад к семи веществам: хлортетрациклину, стрептомицину, неомицину, фуразолидону, нитрофурантоину, нитрофуразону и нитрофуралоксиму. Мы установили: а) значительную резистенцию к обычно употребляемым лекарствам; б) различную степень резистенции в разных стадах; в) зависимость резистенции от прежнего применения лекарств; г) наступление резистенций после употребления в стаде до сих пор употреблявшихся лекарств; д) существование моно-, би- и полирезистенции; е) возникновение резистенции даже по отношению к нитрофурановым дериватам; ж) повышение резистенции с возрастом.

хлортетрациклин; стрептомицин; неомицин; фуразолидон; нитрофурантоин; нитрофуразон; нитрофуралоксим; резистенция и полирезистенция *E. coli*; колибациллезы телят.

BARTOŠ, J., LEBDUŠKA, J. (Research Institute of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia.) *The Development of the Resistance and Polyresistance of E. coli in the Treatment of Colibacilloses of Calves in the Years 1962—1964.* Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 527-536, 1968.

By means of the test tube dilution method the susceptibility of 166—300 strains of *E. coli* isolated from sick or perished calves of 27 herds to seven substances was determined. These substances are: chlortetracyclin, streptomycin, neomycin, furazolidon, nitrofurantoin, nitrofurazon, and nitrofuraxoxim. We found: a) a considerable resistance to the currently used drugs, b) a varying degree of resistance in the different herds, c) a dependence of resistance on a preceding administration of drugs, d) a beginning of resistance after an introduction of drugs not applied before in the herds, e) an occurrence of mono-, bi-, and polyresistance, f) an arising of resistance also to nitrofurax derivatives, and g) a resistance increasing in the course of the years.

chlortetracyclin; streptomycin; neomycin; furazolidon; nitrofurantoin; nitrofurazon; nitrofuraxoxim; resistance and polyresistance of *E. coli*; colibacilloses of calves.

BARTOŠ, J., LEBDUŠKA, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei.) *Entwicklung der Resistenz und Polyresistenz der E. coli bei der Therapie der Kälberkolibazillose in den Jahren 1962—1964.* Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 527-536, 1968.

Mit Hilfe der Reagenzglas-Dilutionsmethode wurde die Empfindlichkeit von 166—300 *E. coli*-Stämmen, welche aus kranken und verendeten Kälbern in 27 Zuchten isoliert wurden, gegen Chlortetracyclin, Streptomycin, Neomycin, Furazolidon, Nitrofurantoin, Nitrofurazon und Nitrofuraxoxin festgestellt. Wir stellten fest: a) eine bedeutende Resistenz gegen die üblichen Medikamente; b) einen verschiedenen Resistenzgrad in verschiedenen Zuchten; c) eine Abhängigkeit der Resistenz von der vorangehen-

den Verabreichung von Medikamenten; d) Auftreten der Resistenz nach Einführung bisher in den Zuchten nicht benützter Medikamente; e) Vorkommen einer Mono-, Bi- und Polyresistenz; f) Entstehung einer Resistenz auch gegen Nitrofuranderivate und g) eine Erhöhung der Resistenz mit dem Fortschreiten der Jahre.

Chlortetrazyklin; Streptomycin; Neomycin; Furazolidon; Nitrofurantoin; Nitrofurazon; Nitrofuraxim; Resistenz und Polyresistenz der *E. coli*; Kälberkolibazillose.

---

*Adresa autorů:*

MVDr. Jaroslav Bartoš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Lebedaška, DrSc.,  
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno - Medlánky

---

# VÝSKYT AVIÁRNYCH MYKOBAKTÉRIÍ V LUDSKÝCH MATERIÁLOCH

R. Grígelová, M. Turzová

*Výskumný ústav epidemiologie a mikrobiologie, Bratislava*

GRÍGELOVÁ, R., TURZOVÁ, M. *Výskyt aviárnych mykobaktérií v ľudských materiáloch*. Vet. Med. (Praha) 13 (10): 537-543, 1968.

Uviedli sme desať prípadov výskytu aviárnych mykobaktérií u ľudí. V štyroch prípadoch vyvolali pľúcne formy tuberkulózneho ochorenia u dospelých pacientov, v štyroch prípadoch tuberkulózu krčných lymfatických uzlín u detí a v dvoch prípadoch boli izolované aviárne mykobaktérie od detí z tonzíl po tonzilektómii (nedošlo u nich k nijakým chorobným prejavom). Popísali sme biologické vlastnosti týchto kmeňov ako aj možnosť izolácie z patologického materiálu. Tieto prípady sú dôkazom toho, že aviárne mykobaktérie predstavujú nebezpečie infekcie pre človeka a že je potrebné zaoberať sa nimi po každej stránke.

*Mycobacterium avium*; izolácia; diferenciácia; patogenita pre pokusné zvieratá; výskyt u ľudí.

V rokoch 1962/1967 pozorovali sme niekoľko prípadov tuberkulózných ochorení u ľudí, ktoré boli zapríčinené aviárnymi mykobaktériami.

O aviárnych mykobaktériách u človeka podal prvýkrát správu roku 1892 Arloing, roku 1894 Pansini a Löwenstein. Ochorenia vyvolané u človeka aviárnymi mykobaktériami boli považované za celkom výnimočné ešte aj po druhej svetovej vojne. Podľa Beitzkeho (1953) až do roku 1953 sa dokázalo vo svetovej literatúre u 39 tuberkulózných ochorení ľudí, že boli zapríčinené aviárnymi mykobaktériami. Medzi rokom 1956—1961 sa zistilo v Nemecku ďalších 17 prípadov (Bartmann 1959, Meissnerová 1963). Prekvapivo vysoký počet infekcií aviárnym typom u ľudí diagnostikoval v rokoch 1957—1959 Nassal (1961) a síce až v 8,5 % zo všetkých 268 vyšetrených prípadov. Kubín (1966) zozbieral zo svetovej literatúry od roku 1938 do roku 1964 88 prípadov tuberkulózných infekcií u ľudí, zapríčinených aviárnymi mykobaktériami. V ČSSR okrem jedného prípadu zaznamenaného po prvej svetovej vojne (Deutsch 1925) popísal prvých desať ochorení Kubín (1966). V rokoch 1957—1966 bolo na celom území ČSSR pozorovaných 33 prípadov aviárnej infekcie u ľudí roztrúsených takmer vo všetkých krajoch okrem Východoslovenského (Kubín, Grígelová a i. 1967). Na Slovensku to boli 4 prípady v kraji Západoslovenskom a jeden v kraji Stredoslovenskom.

## MATERIÁL A METODY

Od roku 1959 vyšetrujeme na našom ústave patologické materiály od ľudí chorých na pľúcnu a mimopľúcnu tuberkulózu za účelom rôzneho sledovania (ročne približne okolo 8000 vzoriek). Materiály spracovávame podľa čl. štandardných metód, avšak sputa a materiály z mimopľúcnnej tuberkulózy centrifugacnou metódou. Posledné navyše ešte okrem kultivácie injikujeme dvom morčatám subkutánne (bez spracovania kyselinou).

Každý izolovaný kmeň differencujeme za účelom určenia typu. Sledujeme u neho mikroskopickú a rastovú morfológiu, tvorbu pigmentu a citlivosť na I. a II. radu antituberkulotík, ďalej katalázovú, peroxidázovú a nitrátovú reakciu, tvorbu kyseliny nikotínovej, schopnosť rastu pri rôznych teplotách (20 °C, 37 °C, 44 °C). Súčasne tiež sledujeme patogenitu pre pokusné zvieratá (morča, králik, sliepka).



## VÝSLEDKY

Zatiaľ čo do roku 1962 sme nepozorovali ani v jednom prípade výskyt *Mycobacterium avium* v patologickom ľudskom materiáli, od roku 1962 do roku 1967 sme zistili 10 takýchto prípadov. V štyroch prípadoch išlo o pľúcnu tuberkulózu dospelých (*M. avium* vypestované v dvoch prípadoch zo spúta, v dvoch prípadoch z laryngeálneho výteru).<sup>\*</sup> V ďalších štyroch prípadoch išlo o mimo-pľúcnu tuberkulózu detí a síce o tuberkulózu krčných lymfatických uzlín, kde sme *M. avium* vypestovali z extirpovaných lymfatických uzlín. V posledných dvoch prípadoch sme *M. avium* izolovali z tonzíl detí, u ktorých nebolo zjavné tuberkulózne ochorenie.

V primokultúre bolo 6 kmeňov izolovaných len na pôdach tekutých Šulových, jeden kmeň súčasne na oboch druhoch pôd (pevných i tekutých) a jeden kmeň len na pôdach pevných. Dva kmene boli izolované z lokálneho ložiska, ktoré sa vytvorilo v okolí miesta kam bol patologický materiál morčiatu injikovaný, kultivácia bola neúspešná — tabuľka I.

V tekutých pôdach Šulových rástli kmene väčšinou vo forme jemného sedimentu, ktorý po roztrepaní zakalil pôdu, niektoré kmene rástli tiež vo forme veľmi drobných neroztrepateľných kolónií. Na pevných vaječných pôdach Löwenstein-Jensenových rástli väčšinou vo forme menších vlhkých kolónií, mladšie kultúry takmer bez pigmentu, staršie šedobielo alebo na žltlo pigmentované.

V mikroskopickom obraze sa všetky kmene *Mycobacterium avium* javili ako acidorezistentné tyčinky, spravidla kratšie ako cicavčie kmene (*Mycobacterium tuberculosis* a *Mycobacterium bovis*).

### I. Primárna izolácia aviárnych kmeňov

| Prípado   | Materiál   | Kultivácia                  |                     | Biolog.<br>pokús priamy<br>na morčiat |
|-----------|------------|-----------------------------|---------------------|---------------------------------------|
|           |            | pôdy pevné<br>Löw. - Jensen | pôdy tekuté<br>Šula |                                       |
| 1. B. K.  | 1. uzlina  | +                           | +                   | —                                     |
| 2. S. V.  | 1. uzlina  | +                           | —                   | —                                     |
| 3. B. M.  | 1. uzlina  | —                           | —                   | +                                     |
| 4. F. M.  | 1. uzlina  | —                           | +                   | —                                     |
| 5. T. M.  | lar. výter | —                           | +                   | 0                                     |
| 6. D. Š.  | lar. výter | —                           | +                   | 0                                     |
| 7. V. E.  | spútum     | —                           | +                   | —                                     |
| 8. K. Š.  | spútum     | —                           | +                   | 0                                     |
| 9. A. E.  | tonzila    | —                           | —                   | +                                     |
| 10. Š. M. | tonzila    | —                           | +                   | —                                     |

+ = pozit.    — = negat.    0 = nerobené

<sup>\*</sup>) U jedného pacienta išlo o chronickú disseminovanú tbc pľúc. Ďalší traja boli už niekoľko rokov pred izoláciou *M. avium* vedení ako inaktívna tuberkulóza.

## II. Niektoré vlastnosti aviárnych kmeňov

| Počet kmeňov | Kataláza |        | Peroxidáza |        | Nitrát            |        | Niacín |        | Rast pri °C |    |    |
|--------------|----------|--------|------------|--------|-------------------|--------|--------|--------|-------------|----|----|
|              | pozit.   | negat. | pozit.     | negat. | pozit.            | negat. | pozit. | negat. | 20          | 37 | 44 |
| 10           | 10       | —      | —          | 10     | 1<br>slabá reakc. | 9      | —      | 10     | —           | 10 | 10 |

## III. Citlivosť na antituberkulotiká I. a II. radu (*in vitro*)

| Kmeň      | INH                              | STM    | PAS   | Etiona-<br>mid | Cyklo-<br>serin | Viomy-<br>cin | Conte-<br>ben | Kana-<br>mycin |
|-----------|----------------------------------|--------|-------|----------------|-----------------|---------------|---------------|----------------|
| 1. B. K.  | R (10)                           | R (5)  | R (3) | R (30)         | R (40)          | R (30)        | R (1)         | C              |
| 2. S. V.  | R (10)                           | R (10) | R (3) | R (30)         | C               | R (40)        | R (5)         | R (30)         |
| 3. B. M.  | R (10)                           | R (10) | R (3) | R (20)         | R (30)          | R (30)        | R (1)         | R (30)         |
| 4. F. M.  | R (10)                           | R (5)  | R (3) | R (30)         | C               | R (40)        | C             | C              |
| 5. T. M.  | R (10)                           | R (10) | R (3) | R (30)         | C               | R (40)        | R (1)         | R (30)         |
| 6. D. Š.  | R (10)                           | R (10) | R (3) | R (30)         | C               | C             | C             | C              |
| 7. V. L.  | (z technických dôvodov neurčené) |        |       |                |                 |               |               |                |
| 8. K. Š.  | R (10)                           | R (10) | R (3) | R (30)         | C               | R (40)        | R (5)         | R (30)         |
| 9. A. E.  | R (10)                           | R (10) | R (3) | R (30)         | R (30)          | R (40)        | R (5)         | R (30)         |
| 10. Š. M. | R (10)                           | R (10) | R (3) | R (30)         | C               | R (40)        | R (1)         | C              |

R = rezistentný C = citlivý

(Čísla v zátvorke udávajú príslušnú koncentráciu antituberkulotika v mcg/ml, na ktorú bol kmeň rezistentný).

Pokiaľ ide o iné vlastnosti našich kmeňov, boli vcelku dosť súrodé (tabuľka II.). Rástli rovnako dobre pri 37 °C ako pri 44 °C, ani jeden kmeň nerástol pri 20 °C. Katalázová reakcia bola u všetkých 10 kmeňov pozitívna, peroxidázová negatívna. Rovnako bol negatívny u všetkých kmeňov aj niacínový test. Pokiaľ ide o nitrátový test, bol negatívny u 9 kmeňov, u jedného slobo pozitívny.

Citlivosť na antituberkulotiká *in vitro* je znázornená na tabuľke III. Všetky kmene boli rezistentné na antituberkulotiká I. radu (INH, STM, PAS) a tak isto II. radu na etionamid a tiež väčšinou i na viomycín (8 kmeňov) a na conteben (7 kmeňov). *In vitro* ukázal sa účinný cykloserín u 6 kmeňov a kanamycín u 4 kmeňov.

|           | Morča<br>0,01 mg s. c. | Králik<br>0,01 mg i. v.  | Sliepka<br>0,1 mg i. v. |
|-----------|------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 1. B. K.  | lokálny nález          | exitus<br>typ — Yersin   | exitus<br>typ — Yersin  |
| 2. S. V.  | lokálny nález          | exitus<br>typ — Villemin | exitus<br>typ — Yersin  |
| 3. B. M.  | lokálny nález          | exitus<br>typ — Yersin   | exitus<br>typ — Yersin  |
| 4. F. M.  | lokálny nález          | exitus<br>typ — Yersin   | exitus<br>typ — Yersin  |
| 5. T. M.  | lokálny nález          | exitus<br>typ — Yersin   | exitus<br>typ — Yersin  |
| 6. D. Š.  | lokálny nález          | exitus<br>typ — Yersin   | exitus<br>typ — Yersin  |
| 7. V. L.  | lokálny nález          | exitus<br>typ — Yersin   | exitus<br>typ — Yersin  |
| 8. K. Š.  | lokálny nález          | exitus<br>typ — Yersin   | exitus<br>typ — Yersin  |
| 9. A. E.  | lokálny nález          | exitus<br>typ — Yersin   | exitus<br>typ Yersin    |
| 10. Š. M. | lokálny nález          | exitus<br>typ — Yersin   | exitus<br>typ — Yersin  |

Patogenita pre pokusné zvieratá: u morčiat po subkutánnej infekcii vytvoril sa len lokálny nález v mieste vpichu vo forme abscesu. Na vnútorných orgánoch sme pri sekcii po 8 týždňoch nenašli nijaké zmeny. Králici po intravenózne infekcii hynuli v priebehu 3 týždňov a ochorenie malo charakter Yersinovho typu infekcie. Sliepky po intravenózne infekcii hynuli, priebeh ochorenia bol väčšinou hyperakútny. Makroskopicky boli zreteľné nálezy na pečeni a slezine vo forme veľmi drobných šedých uzlíkov, mikroskopicky sme zistili v týchto orgánoch veľké množstvo mykobaktérií (tabuľka IV).

## DISKUSIA

V posledných desiatich rokoch sa začali objavovať v ČSSR tuberkulózne ochorenia u ľudí vyvolané aviárnymi mykobaktériami a zdá sa, že ich najviac pribudlo v posledných troch rokoch (1965, 1966, 1967.) Či ide skutočne o častejší výskyt alebo či prispieva k ich častejšiemu nálezu zdokonalenie diagnostiky *Mykobakterium avium*, nevieme dnes ešte povedať.

Laboratórne metodiky používané v ČSSR pre izoláciu mykobaktérií sú dostatočné i pre zachytenie kmeňov. *M. avium*. Nakoľko sa u nás ukázala prevaha záchytnosti na pôdach tekutých, kde *Mykobakterium avium* rastie často vo forme sedimentu, ktorý po rostrepaní tvorí zákal, je nebezpečie, že pri povrchnom hodnotení by sa tieto pôdy mohli pokladať za znečistené. Často rastie *M. avium* v tekutých pôdach aj vo forme drobných neroztrpateľných kolónií, ktoré môžu imitovať *Mycobacterium bovis*. Na pevných vaječných pô-

dach tvorí vlhké kolónie. Naše kmene boli šedo-bielo pigmentované, v starších kultúrach mierne nažltlé. Výrazne žltú pigmentáciu, popísanú v niektorých aviárnych kmeňov v literatúre (Kubín 1967) sme nepozorovali ani v jednom prípade.

Mikroskopicky sa javí *M. avium* v náteroch z kultúr ako krátke acido-rezistentné tyčinky, avšak v náteroch z orgánov zvierata možno pozorovať rôzne formy od krátkych tyčiniek až po vláknité útvary.

Výsledky metabolických testov boli u našich kmeňov dosť konštantné a vcelku súhlasné s údajmi v literatúre, avšak nie sú špecifické pre *Mycobacterium avium*.

Aviárne mykobaktérie vyznačujú sa značnou rezistenciou na antituberkulotiká a tvoria veľký problém z hľadiska terapeutického. Niektorí autori (Meissnerová 1965, Nassal 1961, Kubín 1967) udávajú u niektorých kmeňov dobrú účinnosť vysokých dávok streptomycínu *in vitro*. Z druhého radu antituberkulotík sa javí účinný *in vitro* cykloserín. Naše kmene boli kompletne rezistentné na I. rad antituberkulotík (INH, PAS, STM), a z II. radu ukázal sa účinný hlavne cykloserín u 6 kmeňov a kanamycín u 4 kmeňov (v pokusoch *in vitro*).

Z pokusných zvierat je morča odolné voči aviárnej infekcii, pri podkožnej infekcii nedochádza ku generalizovanému ochoreniu, ale vytvorí sa len lokálny afekt. Ochorenie u králikov je poväčšine typické pre *Mycobacterium avium* a síce dochádza k uhynutiu v pomerne krátkom čase (obyčajne v treťom týždni po infikovaní). Makroskopický nález je charakterizovaný zväčšením parenchymatóznych orgánov, zvyčajne bez makroskopicky zreteľných uzlíkov. Mikroskopicky zisťujeme známky hematogénnej diseminácie tuberkulózy vo všetkých orgánoch. Francúzski autori (Yersin 1888, Cadiot, Gilbert a Roger 1891, Graucher a Ledoux-Lebard 1891, Nocard 1898) označujú túto septikemickú formu ako „typ Yersin“. Niekedy v zriedkavejších prípadoch dochádza k miliárnej tuberkulóze vo všetkých orgánoch a obraz ochorenia je podobný ako po infekcii *Mycobacterium bovis* (typ Villemin). My sme takýto obraz ochorenia po infikovaní s *M. avium* pozorovali u jedného králika.

Najcitlivejšie pokusné zviera pre *Mycobacterium avium* je sliepka. Po intra-venózne infekcii dochádza väčšinou po 4. týždňoch k tuberkulózne sepe. Ochorenie je obdobné ako ochorenie u králika typu Yersin. Makroskopicky je zjavné hlavne zväčšenie sleziny a pečene, niekedy bez makroskopicky zreteľných uzlíkov, niekedy s drobnými uzlíkmi, avšak bez nekróz. V mikroskopickom obraze sú orgány (slezi-na, pečeň) preplnené mykobaktériami. Pľúca a obličky zväčša nebývajú postihnuté. Dôkaz patogenity pre sliepku a králika veľmi napomáha pri diagnostike *Mycobacterium avium*.

Infikovanie ľudí aviárnymi mykobaktériami je možné jednak pri styku s chorými zvieratmi, kedy infikovaný prach v stajniach a na dvoroch môže po vdýchnutí byť príčinou hlavne pľúcnych ochorení. Druhá možnosť infekcie je po použití infikovaných vajícok. U umele infikovaných sliepok bolo možné dokázať tuberkulózne bacily vo vajíčkach už po 11 dňoch (Raebiger 1929, Richter 1927). Teda k infekcii vajícok dochádza už vo včasnom štádiu tuberkulózneho ochorenia. Nebezpečenie infekcie hrozí hlavne po požití krátko varených vajícok. Alimentárna nákaza môže pochádzať aj z nedostatočne uvareného mäsa jednak tuberkulózných sliepok, jednak iných zvierat. Tuberkulózne sliepky vylučujú vo svojich výkaloch mykobaktérie a môže tak dojsť k aviárnym infekciám aj iných domácich zvierat (Hartwich 1965, Nassal 1963). Pre človeka zvlášť nebezpečné je mlieko od hovädzieho dobytku infikovaného aviárnou tuberkulózou, pokiaľ sa požíva v surovom stave. O vylučovaní aviárnych mykobaktérií mliekom podali zprávu viacerí autori (Meyn a Schliesser 1964, Nassal 1961).

Dnes už nemožno poprieť, že musíme počítať s možnosťou aviárnej infekcie u ľudí i keď jej rozsah nie je nám ešte toho času známy. Našich 10 prípadov dokazuje, že môže dôjsť ako k pľúcny formám ochorenia, tak aj k mimopľúcny prejavom. Štyria naši dospelí s pľúcnou tuberkulózou infikovali sa pravdepodobne aerogennou cestou, štyri deti s tuberkulózou krčných lymfatických uzlín pravdepodobne cestou alimentárnou. Pravdepodobne alimentárnou cestou dostali sa aviárne mykobaktérie aj do tonzíl detí, u ktorých nedošlo k ochoreniu možno práve pre včasnú extirpáciu tohoto ložiska. Boj s tuberkulózou hydiny nie je teda dôležitý len z hľadiska zdravých chovov samotných, ale aj z hľadiska odstránenia zdrojov infekcie pre ľudí.

Došlo dňa 23. 5. 1968

## Literatúra

1. BARTMANN W.: Lymphadenitis colli durch Mycobacterium avium. = „Tuberkulosearzt“, 13, 1959 : 343-346.
2. BEITZKE H.: Über die Infektion des Menschen mit Hühnertuberkelbazillen. = „Ergebn. ges. Tuberk. u. Lung.-Forsch.“ 11, 1953 : 203-222.
3. DEUTSCH: Über einen Fall von Geflügeltuberkulose beim Menschen. Med. Klin. 1925 : 1880.
4. FORSBACH G., KIELWEIN G., DEDIÉ K.: Kritische Stellungnahme zum Nachweis des Mycobacterium avium in vom Menschen stammendem Untersuchungsmaterial. = „Prax. Pneumol.“ 19, 1965 : 204-217.
5. GRÍGELOVÁ R., TURZOVÁ M., DORNETZHUBER V., URBANČÍK R.: A contribution to the Problem of Lymphatic System Diseases Provoked in Children by Mycobacterium Avium. = „Scand. J. Resp. Dis.“ 48, 1967 : 71-75.
6. GRÍGELOVÁ R., DORNETZHUBER V., TURZOVÁ M.: Niektoré skúsenosti s izoláciou a diferenciaciou Mycobacterium avium od ľudí. Opera Selecta Instituti Tuberculosis Bratislavensis, Obzor Martin, 1967 : 150-161.
7. HARTWIGH H.: Infektionen bei Tieren durch aviare Mykobakterien. = „Prax. Pneumolog.“ 19, 1965 : 537-543.
8. KUBÍN M., KRÜML J., HORÁK Z., LUKAVSKÝ J., VANEK C.: Pulmonary and nonpulmonary disease in humans due to avian mycobacteria. I. Clinical and epidemiologic analysis of nine cases observed in Czechoslovakia. = „Amer. Rev. resp. Dis.“ 94, 1966 : 20-30.
9. KUBÍN M., DVORSKÝ K., EISNEROVÁ R., MEZENSKÝ L., FRANC K., MATĚJKA M.: Pulmonary and nonpulmonary disease in humans due to avian mycobacteria. II. Microbiologic analysis of strains isolated. = „Amer. Rev. resp. Dis.“ 94, 1966 : 31-39.
10. KUBÍN M., GRÍGELOVÁ R., HORÁK Z., KUBALA E., LANGEROVÁ M., MATUŠKOVÁ E., MEZENSKÝ L., SYTAŘOVÁ J., ŠLOSAREK M., ŠMIGURA J., VIHAN R., FIALOVÁ Z.: Aviární mykobaktérie jako příčina plicních a mimoplicních onemocnění u lidí. = „Rozhl. Tuberk.“ 27, 1967 : 291-301.
11. MEISSNER G.: Atypische Mycobacterien. Ihre bakteriologischen, klinischen und epidemiologischen Probleme. = „Ergebn. inn. Med. Kinderheilk.“ 20, 1963 : 36-88.
12. MEISSNER G.: Das Mycobacterium avium als Krankheitserreger. = „Beitr. Klin. Tuberk.“ 132, 1965 : 37-46.
13. NASSAL J.: Die ätiologische und epidemiologische Rolle des bovinen und aviären Erregertyps bei der Tuberkulose des Menschen. = „Dtsch. med. Wschr.“ 86, 1961 : 1855-1861.
14. NASSAL J.: Geflügeltuberkulose - Menschentuberkulose. = „Landarzt“ 37, 1961 : 1412-1418.
15. NASSAL J.: Bedeutet die Tuberkulose des Geflügels eine Gefahr für Menschen und Haustiere? = „Landarzt“ 39, 1963 : 941-944.
16. RAEBIGER: Untersuchungen über die Tuberkelbakteriengehalt des Hühnereis. = „Beitr. Klin. Tbk.“ 71, 1929 : 209-211.
17. RICHTERS: Die Empfänglichkeit des Huhnes für humane und bovine Tuberkelbazillen. = „Z. Vetkde.“ 4, 1927.

ГРИГЕЛОВА, Р., ТУРЦОВА, М. (Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии, Братислава, Чехословакия). *Появление птичьих микобактерий в человеческом организме*. Вет. Мед. (Прага) 13 (10) : 537-543, 1968.

Мы привели десять случаев появления птичьих микобактерий у людей. В четырех случаях они вызвали легочные формы туберкулеза у взрослых и в четырех случаях — туберкулез шейных лимфатических желез у детей, а в двух случаях были изолированы птичьи микобактерии от детей из миндалевидных желез после удаления миндалин (у них не наблюдалось никаких болезненных явлений). Мы описали биологические свойства этих штаммов, равно как и возможность изоляции из патологического материала. Эти случаи служат доказательством того, что птичьи микобактерии представляют опасность инфекции для человека и что необходимо изучать их со всех сторон.

*Mycobacterium avium*; изоляция; дифференциация; патогенность у опытных животных; появление у людей.

GRÍGELOVÁ, R., TURZOVÁ, M. (Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Bratislava, Czechoslovakia.) *The Occurrence of Avian Mycobacteria in Human Materials*. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 537-543, 1968.

We have submitted ten cases of an occurrence of avian mycobacteria in man. In four cases they induced pulmonary forms of tuberculosis in adult patients, in four cases they resulted in tuberculous lymphatic nodes in the throats of children, and in two cases avian mycobacteria were isolated from children's tonsils after tonsillectomy (with no pathological symptoms). We have described the biological properties of these strains as well as the possibility of their isolation from the pathological material. These cases serve as a proof of the fact that avian mycobacteria are infectious to man and that it is necessary to deal with them from every point of view.

*Mycobacterium avium*; isolation; differentiation; pathogenicity for experimental animals; occurrence in man.

GRÍGELOVÁ, R., TURZOVÁ, M. (Forschungsinstitut für Epidemiologie und Mikrobiologie, Bratislava, Tschechoslowakei.) *Vorkommen aviärer Mykobakterien in menschlichen Materialien*. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 537-543, 1968.

Es werden zehn Fälle des Vorkommens aviärer Mykobakterien bei Menschen angeführt. In vier Fällen verursachten sie tuberkulöse Lungenerkrankungen bei erwachsenen Patienten, in vier Fällen Tuberkulose der Halslymphknoten bei Kindern und in zwei Fällen wurden aviäre Mykobakterien bei Kindern aus den Tonsillen nach Tonsillektomie (ohne jedwede Erkrankungssymptome) isoliert. Es werden die biologischen Eigenschaften dieser Stämme sowie die Isolierung aus pathologischem Material beschrieben. Diese Fälle sind der Beweis dafür, daß die aviären Mykobakterien eine Gefahr der Infektion für den Menschen darstellen und daß es sich empfiehlt, sich mit ihnen allseitig zu befassen.

*Mycobacterium avium*; Isolierung; Differenzierung; Pathogenität für Versuchstiere; Vorkommen bei Menschen.

---

#### Adresa autorov:

MUDr. Ružena Grígelová CSc., MUDr. Marta Turzová, Výskumný ústav epidemiologie a mikrobiologie, odbor tuberkulózy, Bratislava, Palisády 47

Riaditeľ: Doc. MUDr. Ján Karolček

---



### **Anémie drůbeže zamořené čmelíky *Dermanyssus gallinae***

Podle zprávy anglického veterinárního lékaře A. C. Kirkwooda se u mladých kuřat v období od 7 hodin do 7 dní po jednorázovém vystavení invazi čmelíků vyskytla fatální anémie. U dospělých kohoutků od 7 týdnů do 2 let se projevila anémie v období od 2 do 11 dní po invazi. Počet erytrocytů poklesl prudce až na 0,64 miliónů v 1 ml a hodnoty hematokritu až na 4 %. U mladých kuřat bylo zjištěno až 165 000 čmelíků na kus, u dospělých kohoutků dokonce 956 000 na kus. K zotavení z anémie došlo u 14 týdenního a 2letého kohouta (už in extremis) po přenesení do klece prosté čmelíků. První kohoutek byl vystaven invazi jen 8 hodin, druhý 3 dny.

Podle „Veterinary Record“, r. 1967, č. 17 zprac. Dr. Stan. Mudra)

### **Namáčení vajec do roztoku antibiotika jako opatření proti zánětu vzdušných vaků u krůt**

V amerických a kanadských chovech krůt se vyskytuje choroba charakterizovaná zánětem vzdušných vaků, přecházejících na dýchací cesty. Původcem choroby je *Mycoplasma meleagridis*. Účinnou metodou ochrany proti této chorobě je ponořování nasadových vajec do roztoku antibiotika tylosinu s přísadou jódového přípravku zv. iosan. Tímto opatřením se ničí uvedený původce choroby, aniž se nepříznivě ovlivní líhnivost vajec.

(Podle „Ohio Report on Research and Development Biology in Agriculture“ zprac. Dr. Stan. Mudra)

### **Nový chorobný syndróm u psa**

C. C. Renwick v anglickém časopise Veterinary Record popisuje onemocnění psů, které se zřejmě podobá syndrómu komplexu anémie a vyhubnutí (označovaného jako nemoc R) u skotu, bývolů, koz a ovcí, který je vyvoláván jiným faktorem než všeobecně uznávanými nutričními, protozoárními nebo helmintózními původci poklesu produktivity u malajských domácích přezvýkavců. Pozorované klinické příznaky byly proměnlivé a průběh kolísal od náhlého uhynutí k chronickému stavu trvajícím léta. V časném stádiu byla hlavním projevem anémie sliznic, slzení, apatie, geofagie, průjem, inkoordinace, polakisurie s hematurií a opuchnutí povrchových lymfatických uzlin. Onemocnění se přenášelo ze skotu na ovce a kozy. Původcem byl pravděpodobně virus.

(Podle „Veterinary Record“, r. 1967, č. 3 zprac. Dr. Stan. Mudra)

### **Vliv chorob na výtěžek a složení drůbežního masa**

Americký odborný časopis „Poultry Science“ popisuje, jak byla mladá kuřata a krůtata infikována běžnými chorobami drůbeže v různých intervalech před porážkou. U drůbeže v akutním, rekonvalescentním nebo chronickém stádiu nemoci i u zdravých kontrolních zvířat byla zjišťována živá váha, váha po vyvrhnutí, po opracování a po zmrazení, ztráty vzniklé rozmrazením a vařením, obsah celkový, vázané a volné vody. Byla prováděna též analýza syrového a vařeného masa a stanoveno pH syrové svaloviny.

Bylo zjištěno, že nemoc neměla buď vůbec žádný nebo jen nepatrný vliv na jednotlivé ukazatele kromě živé váhy a podkožního tuku, a to ještě jen v jednotlivých případech. Následkem chorob byla tedy zvýšena mortalita, zpomalení růstu a zvýšené množství konfiskátu.

(Podle „Poultry Science“, r. 1967, č. 2 zprac. Dr. Stan. Mudra)

# CHEMOPROFYLAXE INH U TELAT V PROCESU ERADIKACE TBC SKOTU VE VELKOVÝROBNÍCH PODMÍNKÁCH

J. Straka

VSZ, veterinární fakulta, katedra epizootologie, Brno,  
Krajské veterinární zařízení, Plzeň

---

STRAKA, J. *Chemoprophylaxe INH u telat v procesu eradikace tuberkulózy skotu ve velkovýrobních podmínkách*. Vet. Med. (Praha) 13 (10): 545-550, 1968.

Na 375 telatech pocházejících od tuberkulózních krav byla studována účinnost chemoprophylaxe INH pro zajištění odchovu zdravých telat v podmínkách velkovýrobní technologie s návazností na odchov telat ve velkokapacitním teletníku, přičemž se dospělo k těmto závěrům: Chemoprophylaxe INH u telat při perorální aplikaci je ve velkovýrobních podmínkách snadno proveditelná. Ve velmi nepříznivých podmínkách, tj. při společném 19,9denním odchovu telat s tuberkulózními dojnici v silně zamořeném prostředí se podařilo pomocí chemoprophylaxe INH (v denní dávce 10 mg/kg ž. v. p. o. po dobu 2 měsíců) odchovat 92,38 % zdravých, netuberkulózních telat, kdežto v kontrolní skupině jen 56,6 % nenakažených telat.

tuberkulóza skotu; chemoprophylaxe INH; telata

---

Základním předpokladem rozvoje chovu skotu a produkce zdravotně nezávadných a biologicky plnohodnotných potravin, je eradikace tuberkulózy skotu. K dosažení tohoto cíle se používají klasické metody, jimiž se dospívá k ozdravení chovů skotu. Jsou však hledány i jiné metody, které by byly použitelné v určitých epizootických situacích.

V souvislosti s objevením nových, vysoce účinných tuberkulostatik, jejichž specifický účinek na mykobakterie byl úspěšně vyzkoušen v terapii tuberkulózy lidí, se nabízí využití těchto poznatků i ve veterinární medicíně.

Z těchto preparátů je věnován značný zájem zejména hydrazidu kyseliny izonikotinové — INH, jehož používání ve veterinární praxi by mohlo znamenat významný přínos pro boj proti tuberkulóze zvířat.

Cílem práce bylo studium použitelnosti chemoprophylaxe INH při ozdravování chovů skotu zamořených tuberkulózou, a to v provozních podmínkách velkovýrobní technologie. Současně pak ověřit možnost odchovy tuberkulózy prostých zvířat v podmínkách, kde izolovaný odchov telat ihned po narození byl velmi ztížený.

INH (izoniazid) poprvé syntetizovali Mayer a Mally v roce 1912. Až po 40 letech, v roce 1952 bylo poprvé referováno o jeho antituberkulotickém účinku Grundbergem a Schnitzerem (1952). O dva měsíce později Offe, Siefken a Domagk (1952) uveřejnili podobné výsledky. INH pro svoje vlastnosti se stal v krátkém čase základem chemoterapie tuberkulózy a stal se současným nejvíce zkoumaným antituberkulotikem vůbec. Jeho výhodou je malá toxicita, snadné pronikání do málo vaskularizovaných tkání a vysoká bakteriostatická účinnost na mykobakterie již v malých koncentracích. Výhodou je i to, že po jeho podávání vzniká jen vzácně přecitlivělost a minimální výskyt vedlejších účinků. Konečně je důležité

i to, že se v organismu nekumuluje a je cenově přístupný i pro použití ve veterinární medicíně.

Zatímco v humánní medicíně byla s dobrými výsledky prověřena chemoprophylaktická a chemoterapeutická účinnost INH v kombinaci s dalšími tuberkulostatiky, byl u zvířat zkoušen převážně samostatně. Dosavadní práce však nebyly prováděny zatím v provozních podmínkách velkovýrobní technologie.

Chemoprophylaktickými výzkumy u telat se zabývali především italští autoři Badiali a spol. (1954, 1959 a 1961), kteří již v roce 1953 propracovali metodu chemoprophylaxe tuberkulózy skotu pomocí INH. Při přerušovaném způsobu podávání INH v dávce 10 mg/kg ž. v. infikovaný skot neonemocněl. Zorini (1960) prokázal, že INH podávaný ve vhodných dávkách po dostatečně dlouhou dobu chrání telata před přirozenou infekcí *M. bovis*. Seelemann a Buschkiel (1957) podávali telatům přípravek Ferroteben v dávce 10 mg na 1 kg ž. v. *pro die* a zabránili vzniku tuberkulózy u telat i v silně zamořeném prostředí. Kleerberg (1959) uvádí, že pro účinnou hladinu INH v krvi zvířat postačila denní dávka 10 mg/kg ž. v., přičemž se zlepšoval u tuberkulózního skotu zdravotní stav a u částí zvířat vymizela alergie.

V ČSSR vyzkoušeli profylaktický účinek INH u telat Klimša a Šubrt (1961) s denní dávkou 4 mg/kg ž. v. a Mukařovský (1963) v dávce 1 g na kus *per os* dvakrát týdně s kladným výsledkem. Dále Pavlas a Dokoupil (1963) zabránili pouze u 75 % telat tuberkulóznímu onemocnění při dávce 20 mg INH/kg ž. v. dvakrát týdně, ale kladného výsledku již dosáhl Pavlas (1964) s denní dávkou INH 12 mg/kg ž. v. *per os*. Rovněž Fraiss a Piskač (1965) uměle infikovali skupinu 8 telat suspenzí *M. bovis* a ověřili, že denní dávka 10 mg INH na kg ž. v. *per os* zabránila vytvoření tuberkulózního procesu u telat.

## MATERIÁL A METODIKA

K pokusu bylo vybráno 11 izolátů s 15 provozy. Z těchto stájí bylo do pokusů zařazeno 375 telat, převedených do velkokapacitního teletníku. Aplikace INH byla přizpůsobena velkovýrobní technologii v odchovu telat ve VKT rozpuštěním v mléce, a to v denní dávce 10 mg INH/kg ž. v. *per os*. INH byl podáván pokusným telatům celkem po průměrnou dobu 59 dní, z toho v tuberkulózních izolátech po průměrnou dobu 19,9 dní a 39,1 dní ještě v průměru po přesunu ze zamořeného prostředí. U skupiny 50 pokusných telat byla prodloužena doba aplikace INH na průměrnou dobu 77,3 dne.

Výsledky pokusů byly hodnoceny na základě alergenodiagnostiky, pitevních nálezů a laboratorního vyšetření patologicko-anatomických změn.

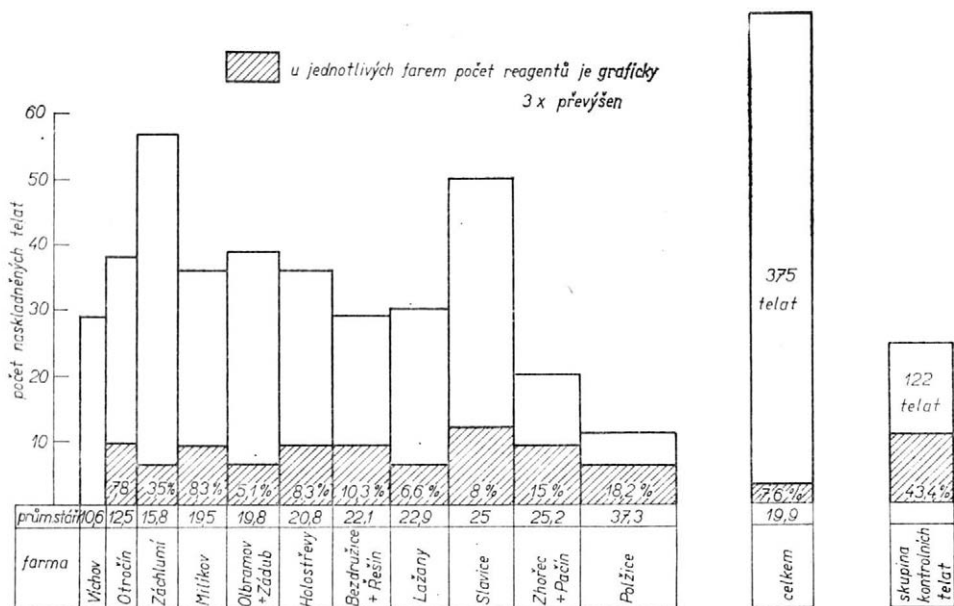
Účinnost chemoprophylaxe INH byla srovnávána s výskytem tuberkulózy u 122 kontrolních telat, jimž INH nebylo podáváno, a která byla odchována ve stejných 11 izolátech stejným způsobem jako telata pokusná.

Před zahájením pokusů byla zkoušena a potvrzena účinnost používaného Nidrazidu Spofa na citlivých tuberkulózních kmenech Ravenel Ruprey.

## VÝSLEDKY

Experimentální chemoprophylaxe INH u telat od tuberkulózních krav při odchovu v tuberkulózních izolátech a ve VKT byla studována na 375 telatech odchovávaných po průměrnou dobu 19,9 dne v silně zamořeném prostředí izolátů a později ve VKT.

Vyšetřování zdravotního stavu telat bylo zaměřeno na zjišťování tuberkulózy. Celkem bylo nutně poraženo 91 tele, tj. 24,3 % z celkového počtu pokusných



# 1. Výskyt tbc u pokusných telat ve velkokapacitních teletnicích podle původu

## I. Celkový výsledek chemoprophylaxe INH u telat odchovávaných od tuberkulózních krav

Odchov telat s chemoprophylaxí INH:

| Počet telat<br>přijatých do pokusu | Průměrná doba<br>aplikace INH<br>telatům | Denní dávka<br>INH p. o. | Počet telat:        |                   |
|------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------|---------------------|-------------------|
|                                    |                                          |                          | nenakažených        | nakažených        |
| 375<br>z toho hodnoceno<br>354     | 59 dní                                   | 10 mg/kg ž. v.           | 327, tj.<br>92,38 % | 27, tj.<br>7,62 % |

Skupina kontrolních telat bez chemoprophylaxe INH:

| Počet telat | Průměrná doba<br>aplikace INH<br>telatům | Denní dávka<br>INH p. o. | Počet telat:   |                |
|-------------|------------------------------------------|--------------------------|----------------|----------------|
|             |                                          |                          | nenakažených   | nakažených     |
| 122         | —                                        | —                        | 69, tj. 56,6 % | 53, tj. 43,4 % |

telat. Z hodnocení bylo vypuštěno 21 pokusných telat, která byla z různých důvodů vyřazena z evidence. Výsledky pokusů jsou uvedeny v tab. I. a grafu 1. Celkem bylo nakaženo tuberkulózou 27 pokusných telat, tj. 7,62 %, zatím co u kontrolní skupiny bylo zjištěno nakažení tuberkulózou u 43,4 % telat. U skupiny telat s prodlouženou dobou aplikace INH na 77,3 dní v průměru,

nebylo do stáří 7 měsíců zjištěno nakažení tuberkulózou vůbec, což potvrzuje názor, že délka doby podávání INH podstatně ovlivňuje výsledky chemoprophylaxe. Tuberkulinací byla u celkového počtu 27 nakažených telat tuberkulóza zjištěna jen u 59,2 %. Tento výsledek ukazuje na poměrně malou spolehlivost alergenodiagnostiky, která může souviset s chemoprophylaxí.

Oproti lepším výsledkům z experimentálních prací některých autorů uvedených v přehledu literatury (K l i m š a a Š u b r t 1961, M u k a ř o v s k ý — 1963, P a v l a s — 1964) lze uvést, že tento provozní pokus ovlivnilo několik faktorů. Tak v izolátech se vyskytoval patrně vyšší počet krav, jejichž telata měla vrozenou tuberkulózu. (Prokázána byla nejméně u 4 telat z celkového počtu 27 nakažených telat). Silné zamoření izolátů vyplývá z počtu 167 nutně poražených krav z těchto izolátů za rok 1966. V tomto roce byla zjištěna rovněž u 27 krav generalizovaná forma tuberkulózy tj. 16,1 % krav. Tuberkulóza mléčné žlázy byla zjištěna u 10 krav (6 % dojnic) a u 2 krav byla zjištěna tuberkulóza dělohy. Dále telata v zamořeném prostředí byla napájena mlezivem a potom mlékem tuberkulózních krav a nebyla izolována. Tato telata z izolátů pro pokus nebyla záměrně vybírána. Do pokusů byla zařazena i telata, která se jinak podle chovatelských zásad vyřazovala na jatky.

Z hlediska těchto pokusných podmínek je třeba výsledky chemoprophylaxe INH telat pokládat za uspokojivé.

## DISKUSE

U telat nakažených tuberkulózou, jimž byl aplikován INH, byla zjištěna poměrně malá spolehlivost alergenodiagnostiky (40,8 %).

U pokusných telat byl zjištěn určitý vztah mezi délkou aplikace INH a výskytem tuberkulózy. U telat, jimž byl INH podáván v průměru 56 dnů, byla u 8,88 % zvířat zjištěna tuberkulóza, kdežto u skupiny telat, která dostávala INH 77,3 dne, nákaza nebyla vůbec zjištěna.

Náklady na zajištění chemoprophylaxe INH u jednoho telete po dobu 59 dní činí 3,02 Kčs.

Došlo dne 21. 11. 1967

## Literatura

1. BADIALI, L.: Weitere Versuche über die Anwendung der INH Chemoprophylaxe bei der Rindertuberkulose. = „Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten“. 148, 157-158, 1961.
2. DRAŽAN, J. a kol.: Tuberkulóza hospodářských zvířat. ČSAZV a SZN, Praha 1962.
3. FRAIS, Z., PISKAČ, A.: Chemoprophylaxe INH u uměle infikovaných telat *Myc. bovis*. III. Sdělení. = „Sborník VŠZ“, roč. XIII, 4, 481, 1965.
4. GRUNDBERG, E., SCHNITZER, R. J.: Studies on the activity of hydrazid derivatives of isonicotinic acid in the experimental tuberculosis of mice. = „Quart. Bull. Sea View Hosp.“, 13, 3, 1952.
5. KLEERBERG, H. H.: The Journal of the South African Veterinary Medical Association, 30, 1959.

6. KLIMŠA, R., ŠUBRT, J.: Příspěvek k metodě odchovu telat v tbc chovech. = „Sborník ČSAZV, Vet. med.“ VI, 11, 1961, 853.
7. MAYER, H., MALLY, J.: Über Hydraziderivate der Pyridincarbosäuren. = „Mh. Chem.“, 33, 393, 1912.
8. MUKAŘOVSKÝ, L.: Chemoprophylaxe tbc u telat v tbc izolátě pomocí isoniazidu. Závěrečná zpráva 1963. VÚVL Brno.
9. OFFE, H. A., SIEFKEN, W., DOMAGK, G.: Hydraziderivate und ihre Wirksamkeit gegenüber *Mycobacterium tuberculosis*. = „Z. Naturforsch.“, 7b, 446, 1952.
10. PAVLAS, M.: Příspěvek k odchovu telat v zem. závodech zamořených tbc pomocí Nidrazidu (INH). Ročenka Výzk. ústavu vet. lékařství, 1964.
11. PAVLAS, M., DOKOUPIL, S.: Využití tuberkulostatik při léčbě a prevenci tuberkulózy u skotu, VÚVL v Brně — předběžná zpráva 1963.
12. SEELEMANN, M., BUSCHKIEL, H.: Chemoprophylaktische Erforschungen bei der TBC des Rindes — II. Mitteilung. = „Zentralblatt für Veterinärmedizin“, 4, 101, 1957.
13. ZORINI, A. O.: La chimioprofilaxe de la tuberculose au moyen de l'isoniazide en Italie dans le moment actuel. = „Rev. Praticien.“ 10, č. 3., 239-256, 1960.

СТРАКА, Й. (СХИ, Ветеринарный факультет, кафедра эпизоотологии, Брно, Областная ветеринарная больница, Пльзень, Чехословакия). Химиопрофилактика INH у телят в процессе истребления туберкулеза крупного рогатого скота в условиях крупных хозяйств. Vet. Мед. (Прага) 13 (10) : 545-550, 1968.

У 375 телят, происходящих от туберкулезных коров, исследовали эффективность химиопрофилактики INH с целью обеспечения выращивания здоровых телят в условиях крупнопроизводственной технологии, исходя из выращивания телят в крупных телятниках. Пришли к следующим выводам: химиопрофилактика INH у телят при пероральном введении в условиях крупных хозяйств легко осуществима. В очень неблагоприятных условиях, т. е. при совместном 19,9 дневном содержании телят с туберкулезными коровами в сильно зараженной среде, удалось при помощи химиопрофилактики INH (дневной дозой в 10 мг/кг живого веса при пероральном введении в течение 2 месяцев) вырастить 92,38 % здоровых, нетуберкулезных телят, тогда как в контрольной группе было лишь 56,6 % здоровых телят.

туберкулез крупного рогатого скота; химиопрофилактика INH; телята.

STRAKA, J. (Agricultural University, Veterinary Faculty, Chair of Epizootology, Brno, Regional Veterinary Dispensary, Plzeň, Czechoslovakia). *INH Chemoprophylaxis in Calves in the Process of the Eradication of Bovine Tuberculosis under the Conditions of Large-Scale Production*. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 545-550, 1968.

In 375 calves coming from tuberculous cows the effectiveness of INH chemoprophylaxis for the securing of a rearing of healthy calves was studied under the conditions of the large-scale production technology, and its influence on the rearing of calves in a large-scale production calf house. From this the following conclusion were drawn: under the conditions of large-scale production *per os* application of INH chemoprophylaxis can easily be performed. In the case of very unfavourable conditions, i. e. in the case of a common 19.9 days' rearing of calves together with tuberculous milk-cows in a strongly contaminated environment, it proved possible, by means of INH chemoprophylaxis (in a daily dose of 10 mg per kg of liveweight applied *per os* for two months), to rear 92.38 per cent of healthy, non-tuberculous calves, whereas in the control group only 56.6 per cent of the calves were of infection.

bovine tuberculosis; INH chemoprophylaxis; calves

STRAKA, J. (Landw. Hochschule, Veterinärfakultät, Lehrstuhl für Epizootologie, Brno, Bezirksveterinäreinrichtung, Plzeň, Czechoslovakia). *INH-Chemoprophylaxe bei Kälbern im Prozesse der Ausrottung der Rindertuberkulose unter Großproduktionsbedingungen*. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 545-550, 1968.



Bei 375 von tuberkulösen Kühen abstammenden Kälbern wurde die Wirksamkeit der INH-Chemoprophylaxe zur Sicherung der Aufzucht gesunder Kälber unter Bedingungen der Großproduktionstechnologie und Anschließung an die Kälberaufzucht im Großkälberstall verfolgt, wobei man zu folgenden Schlußfolgerungen gelangte: Die INH-Chemoprophylaxe bei Kälbern ist bei peroraler Applikation unter Großproduktionsbedingungen leicht durchführbar. Unter sehr ungünstigen Bedingungen, d. h. bei gemeinsamer 19,9tägiger Haltung der Kälber mit den tuberkulösen Kühen in einer stark verseuchten Umwelt, gelang es mit Hilfe der INH-Chemoprophylaxe (Tagesdosen 10 mg/kg Lebendgew., p. o. 2 Monate hindurch) 92,38 % gesunder, nichttuberkulöser Kälber aufzuziehen, in der Kontrollgruppe dagegen nur 56,6 % nichtinfizierter Kälber.

Rindertuberkulose; INH-Chemoprophylaxe; Kälber

---

*Adresa autora:*

MVDr. Josef S t r a k a, VŠZ, veterinární fakulta, katedra epizootologie, Brno,  
Krajské veterinární zařízení, Plzeň

# INCIDENCE BRUCÉLOZY SKOTU V ČESKOSLOVENSKU

V. Kouba

*Ústřední veterinární správa, Praha*

KOUBA, V. *Incidence brucelózy skotu v Československu*. Vet. Med. (Praha). 13 (10) : 551-560, 1968.

V letech 1959—1964 (do eliminace) bylo v ČSSR celkem evidováno 27.990 nových případů brucelózy skotu, tj. v průměru ročně 4.665 kusů. Při přepočtu na 100.000 ks skotu se jednalo o 108,3 ks ročně. V letech 1965—66, tj. po eliminaci, bylo evidováno již jen 476 nových sérologicky pozitivních případů, tj. v průměru 5,4 ks na 100.000 ks skotu ročně. Z toho ještě nemalou část tvořil zbytek dřívějších očkovaných vakcínou B-19. Proto do poloviny r. 1967 byla všechna zvířata dříve takto očkovaná, vyřazena. Incidence skotu nemocného brucelózou na každých 10.000 ks skotu v ohniscích činila v průměru v letech 1960—64 264,4 ks. V tomtéž období incidence skotu nemocného brucelózou při přepočtu na každých 10.000 ks skotu nemocného brucelózou činila v průměru ročně 788,0 ks. Procento pozitivních případů z počtu sérologických vyšetření činilo v období let 1959—1964 v průměru 0,19 % a v letech 1965—66 již jen 0,008 %. Vakcinační úkony ve vztahu k počtu skotu v letech 1957—64 činily v průměru 1,0 %. V letech intenzivní ozdravovací akce (1960—64) bylo celkem vyřazeno 118.028 ks skotu nemocného brucelózou tj. v průměru ročně 23.606 ks. Incidence bovinní brucelózy u lidí v souladu se zlepšenou epizootologickou situací klesla z 0,80 v r. 1961 na 0,07 na 100.000 obyvatel v r. 1965. Vývoj incidence potvrzuje velmi kladný přínos eliminace skotu nemocného brucelózou, které bylo dosaženo koncem r. 1964, kdy hodnota prevalence klesla na nulu. Přesto však nelze trvale docílit nulové incidence, dokud nebude dosaženo globální eradikace alespoň na evropském kontinentě.

brucelóza skotu; Československo; incidence

Jedním z hlavních ukazatelů nemoci je incidence. Vyjadřuje výskyt nových případů onemocnění za určité období, je ukazatelem stability nákazové situace. Spolu s prevalencí vytváří obraz nemoci dané nákazy. Incidence je do značné míry závislá na rozsahu specifického vyšetření a jeho spolehlivosti. Vzhledem k vysokému stupni prověřenosti skotu na brucelózu v ČSSR lze uvažovat údaje o incidenci od konce let padesátých za poměrně spolehlivé.

První údaje o nakažlivém zmetání skotu na území dnešní ČSSR byly uvedeny v oficiálních veterinárních zprávách již v minulém století. Např. podle Šperka (1892) bylo toto onemocnění zjištěno v r. 1890 v Čechách v okresech Plzeň, Přeštice, Prachovice a Sedlčany u krav větších chovů skotu. Na Moravě byla v té době nemoc zjištěna u 23 krav v 5 hospodářstvích ve 3 obcích 3 okresů. O existenci nakažlivého zmetání (brucelózy) skotu v době před první světovou válkou svědčí i práce Klobouka (1912, 1913). Podle oficiálních statistik ministerstva zemědělství v době první republiky bylo hlášeno v průběhu let 1921—1934 celkem 34 213 případů nakažlivého zmetání skotu. Od r. 1935 do počátku padesátých let nebyly publikovány v celostátním měřítku statistické údaje o výskytu brucelózy skotu. To souviselo zejména s tím, že do r. 1950 nebyla brucelóza skotu povinná hlášením jako nebezpečná nákaza.

Na Slovensku byla tato nákaza zařazena do seznamu nákaz povinných hlášením v r. 1943.

Dokumentační údaje z období let 1940—1948 o výsledcích šetření skotu na brucelózu na Slovensku publikoval Nižňanský (1947, 1952):

| Rok  | Počet vzorků | Pozitivní výsledky | Rok  | Počet vzorků | Pozitivní výsledky |
|------|--------------|--------------------|------|--------------|--------------------|
| 1940 | 670          | 217                | 1946 | 1 328        | 152                |
| 1941 | 458          | 174                | 1947 | 16 194       | 1632               |
| 1942 | 361          | 23                 | 1948 | 8 134        | 361                |
| 1943 | 310          | 38                 | 1949 | 16 933       | 1004               |
| 1944 | 208          | 71                 | 1950 | 57 992       | 5070               |
| 1945 | 384          | 24                 | 1951 | 46 686       | 2046               |

Na Slovensku bylo tedy v těchto letech zjištěno 10 822 pozitivních výsledků sérologického vyšetřování skotu, tj. 7,2 % z počtu vyšetření. V téže době byly izolovány brucele u 121 zmetků.

V r. 1947 byla na Slovensku organizována depistáž podle sektorů, jejíž výsledky zveřejnil např. Žlnay (1949):

| Sektor                      | Počet vyšetřeného skotu | Pozitivní výsledky | Dubiozní výsledky |
|-----------------------------|-------------------------|--------------------|-------------------|
| státní velkostatky          | 3034                    | 753                | 99                |
| církevní a jiné velkostatky | 4417                    | 614                | 98                |
| drobné chovy                | 7873                    | 137                | 41                |
| celkem                      | 15323                   | 1504               | 238               |

Incidence v celostátním měřítku v padesátých až šedesátých letech do eliminace je částečně hodnocena v pracích Kouby (1962, 1965). Incidence v krajském měřítku byla předmětem prací Čiernika (1962), Friče, Kárnika (1962), Hajduho (1962), Klimenta (1962), Klimšy (1962), Krušpána (1962), Kubína (1962), Poušky (1962) a dalších. Desítky dalších našich autorů publikovaly řadu prací týkajících se incidence brucelózy skotu v rozsahu okresů i menších topografických jednotek. Z nich uvedu alespoň Dobšínského (1962), podle něhož na okrese Mělník bylo v letech 1952—1960 zaznamenáno 2757 specifických abortů u skotu.

## MATERIÁL A METODIKA

Způsob soustřeďování a zpracování podkladů je popsán v č. 8—9/68 VM.

V souvislosti s analýzou doplňuji ještě některé definice používané v této části studie:

Incidenci se zde všeobecně rozumí poměr počtu nemocného skotu nově zjištěného v daném období ve vztahu k průměrnému počtu exponovaných kusů skotu. Při vyjadřování v absolutních hodnotách znamená prostý počet nových případů brucelózy skotu v daném období. Incidence nevyjadřuje průřez zdravotním stavem skotu k určitému datu, ale jen nové případy a tudíž odráží nepřímo úměrně epizootologickou stabilitu. Pro lepší srovnatelnost se používá relativní vyjádření zpravidla přepočítané na každých 100 000 ks skotu. Uvedený princip je v určitých obměnách využit i při stanovení některých dalších epizootologických ukazatelů.

Pod pojmem „skot nemocný brucelózou“ se zde rozumí skot, u něhož podle výsledků vyšetření byla zjištěna brucelóza. Při tom z komplexu vyšetřovacích metod byla rozhodující metoda bakteriologického průkazu anebo pozitivní sérologický test. Ostatní metody se považovaly za doplňující a pomocné. Pod pojmem „skot podezřelý“ se zde rozumí skot podezřelý z nákazy (brucelózy) podezřelý z nakažení. Prakticky šlo o ten skot z brucelózních ohnisek, u něhož zatím nebyla brucelóza zjištěna.

Do této části jsou zahrnuty i některé ukazatele blízké incidenci, jako jsou např. procento pozitivních z vyšetření, frekvence vakcinace B-19, vyřazování brucelózního skotu a incidence brucelózy u lidí.

## VÝSLEDKY

**1. Incidence skotu nemocného brucelózou v absolutních hodnotách.** V letech 1959—1966 bylo nově evidováno 28.466 případů brucelózy u skotu, z čehož bylo do doby eliminace 27.990 kusů, tj. v průměru ročně 4.665 kusů. Ve dvou letech po eliminaci bylo evidováno celkem 476 případů. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána v r. 1960 — 9823 kusů a nejnižší hodnota v r. 1966 — 167 kusů. Bližší viz v tab. I.

**2. Incidence skotu nemocného brucelózou v relativním vyjádření na každých 100.000 ks skotu.** V letech 1959—1966 činila průměrná hodnota tohoto ukazatele 82,3 ks a v letech 1959—64 (do eliminace) — v průměru 108,3 ks ročně. V letech po eliminaci, tj. 1965—66 činila tato hodnota 5,4 ks ročně. Nejvyšší hodnota v celém hodnoceném období byla evidována v r. 1960 — 226,0 ks a nejnižší v r. 1966 — 3,8 ks. Bližší viz v tab. I.

**3. Incidence skotu nemocného brucelózou na každých 100.000 ks skotu v krajích.** V letech 1961—1966 nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly zaznamenány v krajích Západoslovenském (12,39—284,10), Východoslovenském (8,27—224,10) a Středočeském (1,61 — 78,01). Nejnižší hodnoty byly v kraji Východoslovenském. Bližší viz v tab. II.

**4. Incidence skotu nemocného brucelózou na každých 10.000 ks skotu v ohnisech.** V letech 1960—1964 činila hodnota tohoto ukazatele v průměru ročně 264,4 ks skotu. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána v r. 1960 — 475,7 ks a nejnižší v r. 1962 — 80,7 ks. Prvním rokem po eliminaci činila již 42,9 ks. Bližší viz v tab. III.

**5. Incidence skotu nemocného brucelózou na každých 10 000 ks skotu nemocného.** V letech 1960—1964 činila hodnota tohoto ukazatele v průměru ročně 788,0 ks skotu. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána v r. 1964 — 1860,0 ks a nejnižší v r. 1962 — 153,8 ks. Po dosažení nulové hodnoty prevalence brucelózy skotu nelze tento ukazatel vypočítat. Bližší viz v tab. III.

**6. Procento pozitivních případů z počtu sérologického vyšetření.** V letech 1959 až 1966 činila hodnota tohoto ukazatele v průměru ročně 0,15 %, zatím co v letech 1959—64 průměrně 0,19 %. Ve dvou letech po eliminaci činila tato hodnota již jen 0,008 %. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána v r. 1960 — 0,41 % a nejnižší v r. 1966 — 0,005 %. Bližší viz v tab. č. IV.

**7. Procento pozitivních výsledků z počtu vyšetření skotu na brucelózu pomocí kroužkové mléčné zkoušky.** Hodnota tohoto ukazatele činila v r. 1961 — 0,06 %, v r. 1962 — 0,02 %, v r. 1963 — 0,02 %, v r. 1964 — 0,04 %, v r. 1965 — 0,03 % a v r. 1966 — 0,012 %.

I. Incidence brucelózy skotu v ČSSR, v českých krajích a na Slovensku v období let 1952–1966.

| Rok  | ČSSR                 |                              | České kraje          |                              | Slovensko            |                              |
|------|----------------------|------------------------------|----------------------|------------------------------|----------------------|------------------------------|
|      | počet nových případů | na každých 100 tis. ks skotu | počet nových případů | na každých 100 tis. ks skotu | počet nových případů | na každých 100 tis. ks skotu |
| 1952 | 26166.               | 592,6                        | 18057.               | 568,1                        | 8109                 | 657,0                        |
| 1953 | .                    | .                            | .                    | .                            | 8115                 | 651,8                        |
| 1954 | .                    | .                            | .                    | .                            | 5284                 | 423,0                        |
| 1955 | .                    | .                            | .                    | .                            | 4174                 | 303,0                        |
| 1956 | .                    | .                            | .                    | .                            | 2076                 | 166,7                        |
| 1957 | .                    | .                            | .                    | .                            | 3668                 | 294,8                        |
| 1958 | .                    | .                            | .                    | .                            | 2730                 | 216,5                        |
| 1959 | 8558                 | 201,7                        | 6299                 | 213,6                        | 2259                 | 174,4                        |
| 1960 | 9823                 | 226,0                        | 8506                 | 283,3                        | 1317                 | 92,5                         |
| 1961 | 4279                 | 98,3                         | 1797                 | 58,3                         | 2482                 | 181,1                        |
| 1962 | 1188                 | 26,3                         | 519                  | 16,6                         | 669                  | 48,5                         |
| 1963 | 1511                 | 33,6                         | 1013                 | 32,6                         | 497                  | 36,1                         |
| 1964 | 2631                 | 59,0                         | 1113                 | 36,1                         | 1518                 | 90,4                         |
| 1965 | 309                  | 7,0                          | 107                  | 3,5                          | 202                  | 14,7                         |
| 1966 | 167                  | 3,8                          | 9                    | 0,3                          | 158                  | 11,3                         |

II. Incidence brucelózy skotu v jednotlivých krajích ČSSR v letech 1961–1966 (na 100.000 ks skotu)

| Kraj             | 1961   | 1962  | 1963  | 1964   | 1965  | 1966  |
|------------------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|
| Město Praha      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0     | 0     |
| Středočeský      | 78,01  | 19,32 | 53,20 | 95,94  | 19,67 | 1,61  |
| Jihočeský        | 144,50 | 7,48  | 12,10 | 41,05  | 0     | 0     |
| Západočeský      | 17,15  | 19,37 | 2,64  | 0      | 0     | 0     |
| Severočeský      | 178,60 | 51,37 | 84,50 | 135,80 | 0     | 0     |
| Východočeský     | 0,73   | 0     | 0     | 0      | 0     | 0     |
| Jihomoravský     | 35,02  | 28,54 | 75,05 | 20,37  | 1,31  | 0     |
| Severomoravský   | 14,21  | 3,21  | 0     | 0      | 0     | 0     |
| Západoslovenský  | 284,10 | 88,18 | 56,50 | 192,90 | 12,39 | 22,79 |
| Středoslovenský  | 0      | 1,68  | 2,85  | 0      | 0     | 0     |
| Východoslovenský | 224,10 | 43,00 | 43,32 | 116,80 | 32,73 | 8,27  |

III. Incidence skotu nemocného brucelózou ve vztahu k průměrnému počtu nemocného skotu v ČSSR v období let 1960–1965

| Rok  | Incidence na 10 000 ks v ohniscích brucelózy |             |           | Incidence na 10 000 ks nemocných brucelózou |             |           |
|------|----------------------------------------------|-------------|-----------|---------------------------------------------|-------------|-----------|
|      | ČSSR                                         | české kraje | Slovensko | ČSSR                                        | české kraje | Slovensko |
| 1960 | 475,7                                        | 807,5       | 130,0     | 949,5                                       | 3178,0      | 174,4     |
| 1961 | 207,8                                        | 175,8       | 239,1     | 440,0                                       | 537,5       | 387,0     |
| 1962 | 80,7                                         | 63,8        | 69,8      | 153,8                                       | 182,4       | 135,8     |
| 1963 | 104,3                                        | 161,2       | 60,6      | 317,3                                       | 648,1       | 155,4     |
| 1964 | 231,1                                        | 229,8       | 232,2     | 1860,0                                      | 2783,0      | 1498,0    |
| 1965 | 42,9                                         | 32,6        | 51,3      | ×                                           | ×           | ×         |

IV. Procento pozitivních výsledků z počtu sérologického vyšetření skotu na brucelózu (v ČSSR v letech 1959–1966)

|             | 1959 | 1960 | 1961 | 1962 | 1963 | 1964 | 1965  | 1966  |
|-------------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|
| České kraje | 0,40 | 0,56 | 0,13 | 0,04 | 0,08 | 0,09 | 0,008 | 0,001 |
| Slovensko   | 0,30 | 0,15 | 0,25 | 0,07 | 0,04 | 0,12 | 0,016 | 0,012 |
| ČSSR        | 0,36 | 0,41 | 0,18 | 0,05 | 0,06 | 0,10 | 0,01  | 0,005 |

8. Procento pozitivních výsledků z počtu vyšetření skotu na brucelózu pomocí alergické zkoušky. Hodnota tohoto ukazatele činila v r. 1961 — 0,22 %, v r. 1962 — 0,38 %, v r. 1963 — 0,49 %, v r. 1964 — 0,30 %, v r. 1965 — 0,09 % a v r. 1966 — 0,02 %.

9. Vakcinace skotu proti brucelóze vakcinou B-19. V letech 1957–64 bylo provedeno 346.756 očkovacích úkonů, tj. v průměru 43.344 úkonů ročně (1,0 % ke stavu skotu). Nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly zaznamenány v r. 1959 — 68745 a nejnižší v r. 1964 — 1399. Bližší údaje o tomto ukazateli včetně procentuálního poměru vakcinačních úkonů k počtu skotu celkem a k počtu skotu v brucelózních ohniscích viz v tab. V.

10. Vyřazování skotu nemocného brucelózou. V letech 1960–1966 bylo vyřazeno celkem 118 504 ks skotu nemocného brucelózou a z toho do r. 1964 (eliminace) celkem 118.028 ks skotu, tj. ročně průměrně 23.606 ks skotu. Nejvyšší počet byl vyřazen v r. 1963 — 42184 ks skotu a nejnižší v r. 1960 — 2186 kusů, nepočítáme-li roky po eliminaci, kdy v r. 1966 bylo vyřazeno 167 kusů. Bližší viz v tab. VI.

11. Incidence bovinní brucelózy u lidí. V letech 1961–1966 bylo evidováno celkem 376 nových případů brucelózy lidí (vesměs vyvolaných zárodky *Brucella abortus* Bang). Nejvyšší hodnota byla zaznamenána v r. 1961 — 110 případů (0,80 na 100.000 obyvatel) a nejnižší v r. 1965 — 10 případů (0,07 na 100.000 obyvatel). Bližší viz v tab. VII. a VIII.

## DISKUSE

Nové případy brucelózy byly brzdou ozdravovacího procesu. Dosažením eliminace jejich počet prudce poklesl. V letech po eliminaci šlo až na výjimky již jen o sérologicky pozitivní kusy (bez klinických příznaků) a nemalá část z nich byla tvořena zvířaty dříve ochranně očkovanými vakcinou B-19. Proto



tato zvířata nakonec musela být všechna vyřazena (polovina r. 1967), i když byla z chovů, kde se brucelóza nevyskytla. Zajímavý byl vzestup počtu nových případů v r. 1964, tj. v roce vyvrcholení eliminace. Z toho vyplývá, že eliminace (nulové prevalence) může být dosaženo i při vzrůstající incidenci, pokud ovšem stačíme vyřadit nově nemocné kusy s ostatními. Výrazným efektem eliminace je mimo jiné právě mnohonásobné snížení incidence. S novými případy třeba počítat až do doby vlastní eradikace, tj. vymýcení všech i sekundárních zdrojů.

Nákazová situace se odráží i v hodnotách incidence skotu nemocného brucelózou v jednotlivých krajích. Cennou zkušeností je skutečnost, že ve

#### V. Vakcinace skotu proti brucelóze vakcínou B 19 v ČSSR v letech 1954–1965

| Rok  | Počty vakcinačních úkonů |        |        | Procentuální podíl počtu vakcinací k počtu |       |       |                      |      |       |
|------|--------------------------|--------|--------|--------------------------------------------|-------|-------|----------------------|------|-------|
|      |                          |        |        | skotu celkem                               |       |       | skotu v BA ohniscích |      |       |
|      | ČSSR                     | čk.    | Slov.  | ČSSR                                       | čk.   | Slov. | ČSSR                 | čk.  | Slov. |
| 1954 | 65 715                   | 16 893 | 48 824 | 1,63                                       | 0,63  | 3,88  | .                    | .    | .     |
| 1955 | .                        | 19 008 | .      | .                                          | 0,67  | .     | .                    | .    | .     |
| 1956 | .                        | 17 624 | .      | .                                          | 0,61  | .     | .                    | .    | .     |
| 1957 | 67 430                   | 15 891 | 51 539 | 1,65                                       | 0,56  | 4,13  | .                    | .    | .     |
| 1958 | 65 030                   | 5 276  | 59 754 | 1,57                                       | 0,18  | 4,74  | .                    | .    | .     |
| 1959 | 68 745                   | 4 085  | 64 660 | 1,61                                       | 0,14  | 4,99  | .                    | .    | .     |
| 1960 | 49 792                   | 4 106  | 45 686 | 1,15                                       | 0,14  | 3,31  | 25,01                | 4,11 | 46,20 |
| 1961 | 48 936                   | 4 331  | 44 605 | 1,10                                       | 0,14  | 3,25  | 22,80                | 3,91 | 42,81 |
| 1962 | 32 956                   | 2 812  | 30 144 | 0,73                                       | 0,09  | 2,17  | 16,71                | 3,01 | 29,01 |
| 1963 | 12 368                   | 226    | 12 142 | 0,28                                       | 0,007 | 0,88  | 7,86                 | 0,36 | 14,82 |
| 1964 | 1 399                    | 98     | 1 301  | 0,03                                       | 0,004 | 0,09  | 1,06                 | 0,24 | 1,66  |
| 1965 | 0                        | 0      | 0      | .                                          | 0     | 0     | 0                    | 0    | 0     |

#### VI. Vyřazování skotu nemocného brucelózou v ČSSR v období let 1960–1966

| Rok     | Stav na počátku období | Nové případy | Stav na konci období | Vyřazeno |
|---------|------------------------|--------------|----------------------|----------|
| 1960    | 98 596                 | 9 823        | 106 233              | 2 186    |
| 1961    | 106 233                | 4 279        | 88 421               | 22 091   |
| 1962    | 88 421                 | 1 188        | 68 960               | 20 649   |
| 1963    | 68 960                 | 1 511        | 28 287               | 42 184   |
| 1964    | 28 287                 | 2 631        | 0                    | 30 918   |
| 1965    | 0                      | 309          | 0                    | 309      |
| 1966    | 0                      | 167          | 0                    | 167      |
| 1960–66 | 98 596                 | 19 908       | 0                    | 118 504  |

VII. Incidence bovinní brucelózy u lidí — ČSSR — období let 1961—1965 (podle zdravotnické statistiky)

| Měsíc                           | Počty nově zjištěných manifestních případů brucelózy lidí |        |        |        |        |           |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|-----------|
|                                 | 1961                                                      | 1962   | 1963   | 1964   | 1965   | 1961—1965 |
| I.                              | 16                                                        | 1      | 3      | 4      | 3      | 27        |
| II.                             | 4                                                         | 5      | 3      | 4      | 3      | 19        |
| III.                            | 13                                                        | 5      | 14     | 7      | 0      | 39        |
| IV.                             | 7                                                         | 14     | 10     | 3      | 0      | 34        |
| V.                              | 5                                                         | 8      | 7      | 4      | 1      | 25        |
| VI.                             | 12                                                        | 17     | 9      | 10     | 1      | 49        |
| VII.                            | 16                                                        | 8      | 13     | 12     | 0      | 49        |
| VIII.                           | 12                                                        | 15     | 6      | 2      | 0      | 45        |
| IX.                             | 7                                                         | 8      | 8      | 1      | 0      | 24        |
| X.                              | 5                                                         | 2      | 9      | 7      | 1      | 24        |
| XI.                             | 6                                                         | 10     | 5      | 4      | 1      | 26        |
| XII.                            | 7                                                         | 3      | 2      | 0      | 0      | 12        |
| celkem                          | 110                                                       | 96     | 89     | 58     | 10     | 363       |
| na každých 100 tis.<br>obyvatel | 0,8001                                                    | 0,6985 | 0,6478 | 0,4145 | 0,0714 | 2,6323    |

VIII. Incidence bovinní brucelózy u lidí — ČSSR — podle jednotlivých krajů v období let 1963—1966 (podle zdravotnické statistiky)

| Kraj             | Počty nově zjištěných manifestních případů brucelózy u lidí |      |      |      |           |
|------------------|-------------------------------------------------------------|------|------|------|-----------|
|                  | 1963                                                        | 1964 | 1965 | 1966 | 1963—1966 |
| Město Praha      | 0                                                           | 0    | 0    | 0    | 0         |
| Středočeský      | 43                                                          | 14   | 2    | 9    | 68        |
| Jihočeský        | 2                                                           | 1    | 0    | 0    | 3         |
| Západočeský      | 1                                                           | 0    | 0    | 0    | 1         |
| Severočeský      | 0                                                           | 5    | 0    | 0    | 5         |
| Východočeský     | 1                                                           | 0    | 0    | 0    | 1         |
| Jihomoravský     | 16                                                          | 7    | 0    | 0    | 23        |
| Severomoravský   | 3                                                           | 4    | 0    | 1    | 8         |
| Západoslovenský  | 20                                                          | 22   | 7    | 3    | 52        |
| Středoslovenský  | 0                                                           | 0    | 0    | 0    | 0         |
| Východoslovenský | 3                                                           | 2    | 1    | 0    | 6         |
| ČSSR             | 89                                                          | 55   | 10   | 13   | 167       |

Středoslovenském kraji po dosažení nulové hodnoty incidence v r. 1961 byly v dalších dvou letech opět zjištěny nové případy. U ostatních krajů tomu tak nebylo. Z těchto faktů třeba vycházet i při celostátní prognóze dalšího vývoje incidence.

Incidence skotu nemocného brucelózou při přepočtu na každých 10 000 ks skotu v ohniscích je ovlivněna jednak trendem základní incidence a jednak trendem počtu skotu v ohniscích. V podstatě tento ukazatel měl podobný trend jako u výše uvedených. Po eliminaci nedosahuje však poklesu u základní incidence, protože počty skotu v ohniscích dále klesaly, zatím co stavy skotu celkem zůstávaly v podstatě nezměněny.

Incidence skotu nemocného při přepočtu na každých 10 000 ks skotu nemocného po přechodném poklesu zaznamenává prudký vzestup, který vrcholí v roce eliminace. To vyplývá především z prudce klesající prevalence. Po dosažení nulové prevalence je tento ukazatel nepoužitelný. Tempo poklesu prevalence v konečné fázi eliminace je zřejmě vyšší než tempo poklesu incidence, což pravděpodobně bude platit i u jiných chronických nákaz (tbc).

Procenta pozitivních z počtu vyšetření skotu na brucelózu ať serologicky, kroužkovou mléčnou zkouškou nebo alergicky jsou závislá mimo jiné na frekvenci vyšetření, na intervalech mezi opakovanými vyšetřeními, na indikacích, místu vyšetření z hlediska epizootologické situace, kategorii zvířat, době vyšetření apod. Objektivita výsledků je závislá i na reprezentativnosti vyšetřovaných zvířat. Ta byla poměrně vysoká u sérologického vyšetření. Prudký pokles hodnot těchto ukazatelů v poeliminační fázi je v souladu s nákazovou situací.

Ochranné očkování vakcinou B-19 zvyšováním intenzity ozdravovacích akcí, založených především na radikálních metodách, zaznamenávalo klesající trend a končí rokem eliminace. Vakcinace v konečné fázi ozdravování zkomplikovala ozdravovací postup. Nelze ji však upřít kladný přínos při vhodné aplikaci v době před zahájením urychlené ozdravovací akce.

Pro dosažení plánovaného snížení hodnot prevalence bylo nutno vyřadit nejen rozdíl ve srovnání s předchozí hodnotou prevalence, ale též počet nově zjištěných nemocných kusů skotu. Z tabulky vyplývá mimo jiné, která leta byla pro ozdravovací akci rozhodující.

Incidence bovinní brucelózy u lidí v souladu se zlepšováním epizootologické situace má prudce klesající trend. Nové případy po r. 1964 většinou patří mezi opožděně hlášená onemocnění, která mají svůj počátek v předchozích letech.

Došlo dne 28. 7. 1967

## Literatura

1. ČIERNÍK, J. = Veterinární medicína, 7, 1962: 363.
2. DOBŠINSKÝ, O. = Veterinární medicína, 7, 1962: 385.
3. FRIČ, M., KARNÍK, B. = Veterinární medicína, 7, 1962: 359.
4. HAJDU, Š. = Veterinární medicína, 7, 1962: 339.
5. KLIMENT, A. = Veterinární medicína, 7, 1962: 349.
6. KLIMŠA, R. = Veterinární medicína, 7, 1962: 381.
7. KOUBA, V. = Veterinární medicína, 7, 1962: 285.
8. KOUBA, V. = Čsl. epid., mikr. a imunol., 14, 1965: 233.
9. KOUBA, V. = Veterinářství, 15, 1965: 8.
10. KRUSPÁN, J. = Veterinární medicína, 7, 1962: 369.
11. KUBÍN, I. = Veterinární medicína, 7, 1962: 353.

12. KLOBOUK, A. = Zvěrolékařský obzor, 6, 1913: 9.
13. KLOBOUK, A. = Diss. práce, Wien, 1912.
14. NIŽNÁNSKY, F. = Čas. čsl. veterinářů, 2, 1947: 569.
15. NIŽNÁNSKY, F. = Veterinářství, 2, 1952: 164.
16. POUSKA, F. = Veterinární medicína, 7, 1962: 373.
17. ŽLNAY, J. = Čas. čsl. veterinářů, 4, 1949: 490.
18. SPERK, B. = Veterinär - Bericht - 1890, Wien 1892: 124.

КОУБА, В.: (Центральное ветеринарное управление, Прага, Чехословакия). **Появление случаев бруцеллеза крупного рогатого скота в Чехословакии.** Вет. мед. (Прага). 13 (10) : 551-560, 1968.

В 1959—1964 годах (до выбраковки) было всего зарегистрировано 27 990 новых случаев бруцеллеза крупного рогатого скота, т. е., в среднем за год 4 665 голов. При пересчете на 100 тыс. голов крупного рогатого скота, это представляло 108,3 гол. в год. В 1965—1966 годах, т. е. после выбраковки, было выявлено всего лишь 576 новых, серологически положительных случаев бруцеллеза, т. е. в среднем 5,4 гол. на 100 тыс. гол. крупного рогатого скота в год. В том числе еще довольно большую часть составлял остаток животных, привитых старой вакциной Б-19. Поэтому до середины 1967 года все животные, вакцинированные таким образом прежде, были выбракованы. Распространение больного бруцеллезом крупного рогатого скота, в пересчете на каждые 10 тыс. гол., в среднем составляло 788,0 голов в год. Процент положительных случаев из числа проверенных серологических обследований в 1959—1964 годах в среднем составлял 0,19 %, а в 1965—1966 годах лишь только 0,008 %. Прививки вакцины по отношению к поголовью крупного рогатого скота в 1957—1964 годах составляли в среднем 1,0 %. В годы интенсивной оздоровительной кампании (1960—1964 гг.) всего было выбраковано 118 028 голов крупного рогатого скота, зараженного бруцеллезом, т. е., в среднем 23 606 голов в год. Распространение бычьего бруцеллеза у людей, в соответствии с улучшенной эпизоотологической ситуацией, сократилось с 0,80 в 1961 году до 0,07 на 100 тыс. жителей в 1965 году, то есть, более, чем в 10 раз. Развитие распространения бруцеллеза подтверждает весьма положительное действие выбраковки больного бруцеллезом скота, которая была проведена в конце 1964 года, когда количество его случаев сократилось до нуля. Однако, несмотря на это, постоянного нулевого распространения нельзя достичь до тех пор, пока не будет достигнуто всеобщего искоренения болезни хотя бы на европейском континенте.

бруцеллез крупного рогатого скота; Чехословакия; распространение.

KOUBA, V. (Central Veterinary Administration), Prague, Czechoslovakia). *The Incidence of Brucellosis of Cattle in Czechoslovakia.* Vet. Med., (Praha), 13 (10) : 551-560, 1968.

In the years 1959—1964 (up to complete elimination) a total of 27.990 new cases of brucellosis of cattle were registered in Czechoslovakia, i. e. an annual average of 4.665 animals. Per 100.000 head of cattle this amounted to 108.3 animals a year. In the years 1965—66, i. e. after elimination, only as few as 476 new serologically positive cases were recorded, i. e. an average of 5.4 animals per 100.000 head of cattle a year. A considerable part of these consisted of the remaining animals that had been inoculated with the earlier B19 vaccine. Therefore all animals inoculated in this way before were culled by the middle of 1967. In the average of the years 1960—64 the incidence of the infection of cattle with brucellosis for every 10.000 head at the foci amounted to an average of 264.4 animals. In the same period the incidence of cattle suffering from brucellosis per every 10.000 animals sickening with brucellosis amounted to an annual average of 788.0 animals. In the period of the years 1959—64 the percentage of positive cases of the number of serological examinations amounted to an average 0.19 per cent and in the years 1965—66 already to a mere 0.008 per cent. Vaccinations in relation to the number of cattle in the years 1957—64 amounted to an average 1.0 per cent. In the years of the intensive health improvement action (1960—64) a total of 118.028 head of cattle suffering from brucellosis were culled, i. e. an annual average of 23.606 animals. In conformity with the improved epizootiological situation the incidence of bovine brucellosis in man decreased from 0.80 in 1961 to 0.07 of 100.000 inhabitants in 1965. The development of this incidence confirms the very positive contribution of the elimination of cattle suffering from bru-

cellosis achieved by the end of 1964, when the value of prevalence decreased to nought. Nevertheless, it is not possible to achieve a permanent null incidence as long as no global eradication is obtained at least on the European continent.  
cattle brucellosis; Czechoslovakia; incidence

KOUBA, V. (Veterináre Zentralverwaltung, Praha, Czechoslovakia). *Rinderbrucellose-Inzidenz in der Tschechoslowakei*. Vet. Med. (Praha), 13 (10) : 551-560, 1968.

In den Jahren 1959—1964 (bis zur Elimination der Seuche) wurden insgesamt 27 990 neue Rinderbrucellosefälle, d. s. jährlich Neuerkrankungen von 4665 Rindern, festgestellt. Bei Umrechnung auf 100 000 Rinder handelte es sich um 108,3 Stück jährlich. In den Jahren 1965—1966, d. h. nach der Seuchenelimination, wurden nur mehr 476 neue, serologisch positive Fälle, d. s. im Durchschnitt 5,4 Rinder je 100 000 Rinder jährlich evidiert. Davon entfiel eine nicht geringe Anzahl auf den Rest der früher mit der Vakzine B-19 geimpften Rinder. Deshalb wurden bis zur Hälfte des Jahres 1967 alle früher derart geimpfte Tiere ausgereiht. Die Inzidenz der brucellosekranken Rinder je 100 000 Rinder in den Brucelloseherden betrug im Durchschnitt der Jahre 1960—1964 264,4 Tiere. In derselben Zeitperiode betrug die Inzidenz brucellosekranker Rinder je 10 000 brucellosekranke Rinder jährlich durchschnittlich 788,0 Rinder. Der Prozentsatz der positiven Fälle aus der Gesamtzahl der serologisch untersuchten Rinder betrug in den Jahren 1959—1964 durchschnittlich 0,19 ‰, in den Jahren 1965—1966 nur mehr 0,008 ‰. Die Vakzinierungen im Verhältnis zur Rinderanzahl beliefen sich in den Jahren 1957—1964 auf durchschnittlich 1,0 ‰. In den Jahren der intensiven Gesundungsaktion (1960—1964) wurden insgesamt 118 028 brucellosekranke Rinder, d. s. jährlich durchschnittlich 23 606 Stück ausgereiht. Die Inzidenz der bovinen Brucellose bei Menschen nahm im Einklang mit der verbesserten epizootischen Situation von 0,80 im Jahre 1961 auf 0,07 je 100 000 Einwohner im Jahre 1965, d. h. mehr als zehnfach ab. Die Entwicklung der Inzidenz bestätigt einen wesentlich positiven Beitrag zur Elimination der Rinderbrucellose zu Ende des Jahres 1964, wo der Prävalenzwert auf Null herabfiel. Trotzdem aber läßt sich für die Dauer eine Nullinzidenz solange nicht erzielen, solange wenigstens auf dem europäischen Kontinente die globale Ausrottung der Seuche nicht erreicht wird.

Rinderbrucellose; Tschechoslowakei; Inzidenz.

---

Adresa autora:

Doc. MVDr. Václav K o u b a, CSc., Ústřední veterinární správa, Praha 1, Opletalova 6

---

# POUŽITÍ COFAL A FA TESTŮ PŘI PŘÍPRAVĚ BEZLEUKÓZOVÉHO HEJNA DRŮBEŽE

I. Hložánek, V. Sovová

*Ustav experimentální biologie a genetiky ČSAV, Praha*

---

HLOŽÁNEK, I., SOVOVÁ, V. *Použití COFAL a FA testů při přípravě bezleukóзовého hejna drůbeže*. Vet. Med. (Praha) 13 (10): 561-568, 1968.

Hejno hnědých leghornek, které bylo předběžně prověřeno interferenčním testem na přítomnost leukóзовé kontaminace, bylo podrobeno dalšímu prověření COFAL a FA testy. RIF, COFAL a FA testy svými negativními výsledky ukazují, že ve sledovaném hejnu nedochází k transvariálnímu přenosu leukóзовých virů. O nepřítomnosti horizontálního přenosu leukózy svědčí negativní výsledky virus neutralizačních zkoušek, provedených u potomstva zvířat předběžně testovaných zmíněnými metodami. Vzhledem k těmto výsledkům a vzhledem k tomu, že v průběhu sledovaného období nebyl v žádném případě zjištěn klinický ani patologicko-anatomický (histologický) výskyt leukóзовého onemocnění, lze uzavřít, že zmíněné hejno drůbeže je prosté aviární leukózy.

drůbež; leukóza; prověření COFAL a FA testy.

---

Nutnost vyloučení leukóзовých kontaminací u drůbeže používané pro přípravu očkovacích látek, pro řadu experimentálních a diagnostických účelů vyplývá z některých známých skutečností.

Opakovaně získaná úspěšná morfologická transformace lidských a opičích buněk *in vitro* (Jensen a ost. 1964, Zilber a Ševljagin 1964, Jensen a Koprovski 1966, Stenkviist a Pontén 1964, Ševljagin a Zilber 1967) virem Rousova sarkomu (RSV), který se antigenně shoduje s viry komplexu ptačích leukóz, stejně jako vznik RSV nádorů u primátů (Munroe a Windle 1963 a j.) ukazují na nutnost eradikace leukózy. Nelze totiž jednoznačně vyloučit potenciální onkogennost, event. pomocný efekt drůbežích leukóзовých virů, při vzniku nádorových onemocnění u lidí. Také pro veterinární účely znamená eliminace leukózy při výrobě vakcin jeden z nejdůležitějších předpokladů pro ozdravení drůbeže, zvláště uvažíme-li, že živé ovovakciny určené pro drůbež mohou obsahovat živý leukóзовý virus, který se tak uměle rozšiřuje mezi vnímavou populací. Nejnázornějším příkladem pak jsou úspěšné izolace leukóзовých virů přímo z vakcin (Churchill 1968).

Bezleukóзовé hejno drůbeže představuje jediný vhodný materiál pro rozvoj nových jednodušších testů pro zjišťování leukózy (Walbauk 1964, Churý a Fišer 1965), pro studium rezistence, studium možností vakcinace a je nepostradatelným materiálem pro řadu virologických metod a experimentální onkologickou práci zejména na modelech nádorových virů.

Použití RIF testu (Hložánek a Sovová 1968) při přípravě bezleukóзовé drůbeže umožňuje detekci leukóзовých virů na základě jejich interference s virem Rousova sarkomu (RSV) v tkáňové kultuře připravené z kuřecích embryí. Nutným doplněním tohoto testu je však i použití dalších metodik.

V sérech křečků, u nichž byly indukovány nádory Schmidt-Rupinovým



kmenem RSV, byly v roce 1964 zjištěny virově specifické protilátky pomocí komplement-fixační metody (Huebner a ost. 1964, Armstrong a ost. 1964). Zjištění, že tyto protilátky nejsou specifické pouze pro virus, kterým byly nádory indukovány, ale že reagují specificky s celou skupinou virů ptačích leukóz, umožnilo rozšířit možnosti detekce inaparentních leukóz u kuřat. Za tímto účelem rozpracoval celou metodiku komplement-fixace Sarma (Sarma a ost. 1964) a nazval ji COFAL testem (Complement Fixation of Avian Leucosis). Výsledky ukazují, že u celé skupiny studovaných virů existuje společný tzv. skupinově specifický (Gs) antigen, který je pravděpodobně součástí vnitřního obalu virionu (Payne a ost. 1966, Bauer a Schäfer 1966).

Později se otevřela další možnost detekce ptačích leukózových virů zjištěním, že virové antigeny detekované skupinově specifickými křeččími séry komplementfixací lze zjišťovat též fluorescenčním testem (dále FA test) za použití téhož séra (Payne a ost. 1966). Navíc bylo zjištěno, že FA test má dvě přednosti. Jednak je snáze proveditelný a jednak je citlivější než COFAL test, takže lze případnou přítomnost inaparentního viru zjistit již po kratší době kultivace testovaného materiálu (Cook a ost. 1966).

## MATERIÁL A METODIKA

Hejno hnědých leghornek, které bylo popsáno dříve (Hložánek a Sovová 1968) bylo paralelně s RIF testem prověřováno COFAL a později FA testem. Od každé matky byly prověřovány buňky alespoň 3 embryí. Příprava buněk a jejich zpracování bylo popsáno ve zmíněné práci. Vzhledem k tomu, že pro namnožení případně přítomného viru leukózy je třeba přibližně 13–20 dnů kultivace *in vitro* (Rubin 1960, Sarma a ost. 1964), byly pro tyto testy používány buňky ze 3. event. 2. pasáže.

Po příslušné době kultivace byly buňky sklizeny 0,05% trypsinem a resuspendovány v minimálním objemu media tak, aby 1 ml konečné suspenze obsahoval minimálně  $5 \times 10^6$  buněk (Sarma a ost. 1964). Připravená suspenze byla podrobena 3 cyklům zmrazení ( $-70^{\circ}\text{C}$ ) a rozmražení ( $+37^{\circ}\text{C}$ ) a použita jako antigen pro komplement-fixační reakci.

K získání a otestování komplement-fixačních pozitivních sér a k průkazu skupinově specifického antigenu bylo použito Huebnerovy metody (Huebner a ost. 1964). Séra byla získána od křečků s primárními nebo pasážovanými nádory, indukovanými Schmidt-Rupinovým kmenem RSV. Indukce a pasážování křeččích nádorů bylo popsáno již dříve (Klement a Svoboda 1963, Svoboda a Klement 1963).

Specifická účinná antiséra byla také získána od zvířat, u nichž byly vyvolány nádory inokulací křeččích embryonálních buněk *in vitro* transformovaných SR-RSV (RSH mix — Veselý a Svoboda 1965).

Reakce fixace komplementu byla prováděna na deskách z plexiskla (Fulton a Dumbell 1949) s použitím 1,5 j komplementu a hemolytického systému obsahujícího 0,3% suspenzi beraních krvinek a 2 j králíčího antiséra. Reakce probíhala ve vlhké komoře nejprve přes noc při  $4^{\circ}\text{C}$  a po přidání hemolytického systému 2 hod při  $37^{\circ}\text{C}$ . Výsledky byly hodnoceny stupnicí od 1 do 4, což přibližně odpovídá 25% — 100% zábraně hemolýzy. Výsledky testování jsou uvedeny v tab. I. Nepřítomnost Gs antigenu je symbolizována označením negativní.

K průkazu protilátek v křeččích sérech bylo použito 20% extraktu nádorů

I.

| Číslo matky | Embryo | Pasáž | COFAL<br>TEST | FA<br>TEST | Číslo matky | Embryo | Pasáž | COFAL<br>TEST | FA<br>TEST |
|-------------|--------|-------|---------------|------------|-------------|--------|-------|---------------|------------|
| 6812        | 1.     | 2.    |               | negat.     | 2           | 1.     | 2.    | negat.        | negat.     |
|             |        | 3.    | negat.        |            |             |        | 3.    | negat.        |            |
|             | 2.     | 2.    |               | negat.     |             | 2.     | 2.    |               | negat.     |
|             |        | 3.    | negat.        |            |             |        | 3.    | negat.        |            |
|             | 3.     | 2.    |               | negat.     |             | 3.     | 2.    |               | negat.     |
|             |        | 3.    | negat.        |            |             |        | 3.    | negat.        |            |
| 6820        | 1.     | 2.    |               | —          | 6823        | 1.     | 2.    |               | negat.     |
|             |        | 3.    | negat.        |            |             |        | 3.    | negat.        |            |
|             | 2.     | 2.    |               | negat.     |             | 2.     | 2.    |               | negat.     |
|             |        | 3.    | negat.        |            |             |        | 3.    | negat.        |            |
|             | 3.     | 2.    |               | negat.     |             | 3.     | 2.    |               | negat.     |
|             |        | 3.    | negat.        |            |             |        | 3.    | negat.        | negat.     |
| 6689        | 1.     | 2.    |               | negat.     | 1           | 1.     | 2.    |               | negat.     |
|             |        | 3.    | —             |            |             |        | 3.    | negat.        |            |
|             | 2.     | 2.    |               | negat.     |             | 2.     | 2.    |               | negat.     |
|             |        | 3.    | negat.        |            |             |        | 3.    | negat.        |            |
|             | 3.     | 2.    |               | negat.     |             | 3.     | 2.    |               | negat.     |
|             |        | 3.    | negat.        |            |             |        | 3.    | negat.        |            |

indukovaných SR—RSV. 20% homogenát nádorové tkáně v citrátovém pufru byl centrifugován při 2500 X g po dobu 20 minut a supernatant použit jako antigen. Pro tyto reakce byly používány nádory dárců séra, jiných křečků nebo kuřecí kmenově shodné nádory a později po zjištění vysokého obsahu Gs antigenu v buňkách RSH mix, byly tyto buňky po dvojnásobném zmrazení a rozmrazení používány jako standard pro testování sér.

Za jednotku antigenu bylo vzato nejvyšší ředění, které v reakci se 4 j antiséra zabránilo více než 50% lyzi krvinek, což v případě antigenu RSH mix odpovídalo přibližně  $2,5 \times 10^6$  buněk/ml.

Séra byla testována se 4 j tohoto antigenu. K detekci virového antigenu (Gs) v testovaných embryích prověřovaného hejna byla pro COFAL test použita směs pozitivních křeččích sér (titr 1:32 — 1:64).

Pro fluorescenční test byly buňky ze 2. nebo ze 3. pasáže vysety na podložní sklíčka v množství  $5 \times 10^5$  —  $10^6$ . Po 24—48 hodinách růstu v atmosféře s 5% CO<sub>2</sub> byla sklíčka se síťovým monolayerem buněk opláchnuta PBS a fixována 7 minut v acetonu při -60 °C. Fixované preparáty byly inkubovány s křeččím Gs antisérem po dobu 90 minut při 37 °C ve vlhké komůrce. Po inkubaci byly opláchnuty a dvakrát po 7 minutách vymyty v PBS. Po té následovala inkubace s konjugátem proti křeččímu  $\gamma$ -globulinu (30 minut při 37 °C) a opětovné promytí v PBS. Preparáty byly montovány v 90% glycerolu v PBS a hodnoceny ve fluorescenčním světle (Meopta C 36 Bi a malém fluorescenčním zařízení Zeiss-HBO 50). Výsledky byly hodnoceny kvalitativně ve smyslu pozitivním nebo negativním.

Jako pozitivní kontrola sloužily buňky infikované in vitro AMV (BAI kmen A, Eckert a ost. 1951) a RSV. (Obr. 1 a 2).

#### VIRUS - NEUTRALIZAČNÍ TEST

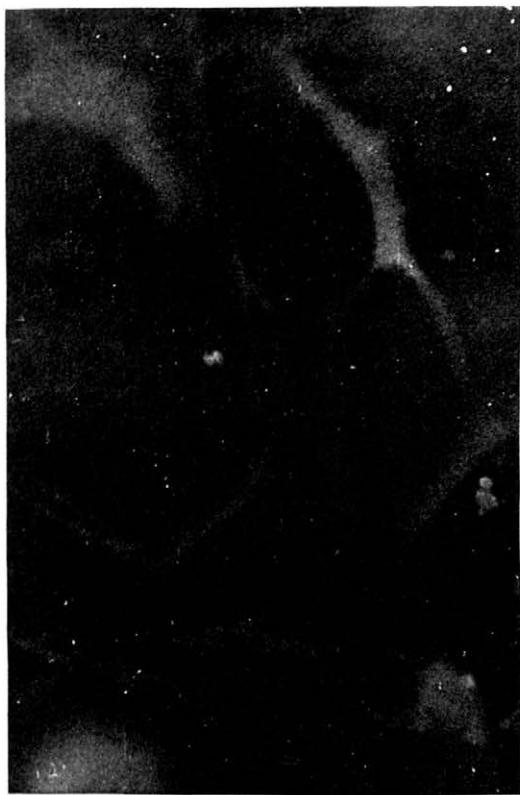
Séra zvířat, odchovaných v izolovaném prostředí od matek, testovaných v předcházejících letech RIF, COFAL a FA testy, byla zkoušena na virus-neutralizační kapacitu k RSV. Odběr krve se uskutečnil ve stáří 27 týdnů (Rubina a ost. 1962). Pro testování byly použity Pražský kmen RSV (P-RSV) a Bryanův kmen RSV (BH-RSV). Virus-neutralizační test byl proveden titrací vzorků na chorioalantoidních membránách (CAM-Prince 1957) 12 denních kuřecích embryí, pocházejících z chovu bílých leghorn (farma Uhřetěves), citlivých k infekci RSV (Vrba 1963). U použitých virových kmenů bylo nejprve stanoveno konečné ředění na CAM. U P-RSV ředění  $10^{-4}$  a u BH-RSV  $10^{-5}$  dávaly již zcela negativní výsledky. Pro stanovení virus-neutralizační kapacity sér byla proto použita ředění: P-RSV- $10^{-3}$ , BH-RSV- $10^{-4}$ .

Suspenze ředěného viru byla smíchána se stejným objemem testovaného séra a inkubována 30 minut při 30 °C. Směs byla po té injikována v dávce 0,1 ml na CAM.

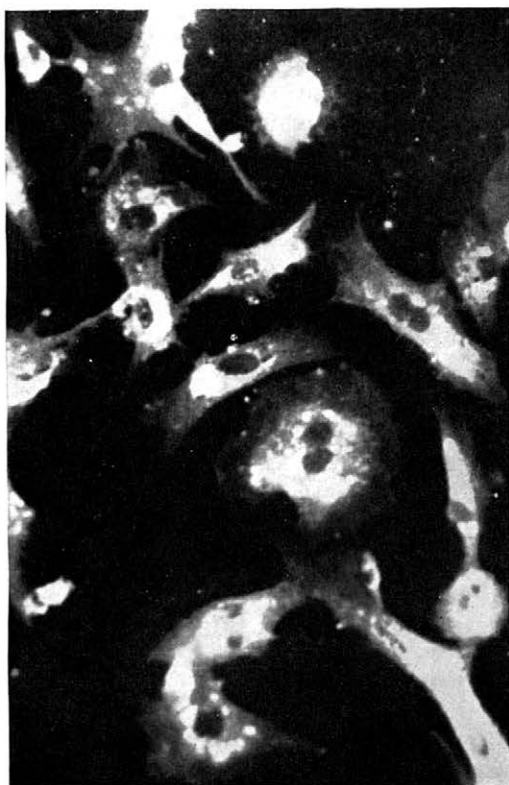
Výsledky byly odečítány po 7 dnech inkubace a neutralizační kapacita sér hodnocena srovnáním počtu maligních center s kontrolami.

#### VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky obou metodik detekujících Gs antigeny byly u všech testovaných embryí jednoznačně negativní (tab. I). V práci jsou uvedeny pro demonstraci získané výsledky jen od 6 matek. U dalších matek hejna, které byly prověřeny



Obr. 1 — negativní fluorescence CEF



Obr. 2 — pozitivní fluorescence CEF infikovaných AMV



obdobným způsobem, jsou výsledky stejné. Negativity těchto testů svědčí o skutečnosti, že testované slepice nepřenášejí transovariálně virus lymfomatózy. Citlivost obou testů převyšuje RIF test (Sarma a ost. 1964). Nejcitlivější metodou je pak fluorescenční test (Cook a ost. 1966), jímž je možno zjistit přítomnost skupinově specifického antigenu v kuřecích infikovaných buňkách po infekci BH-RSV při multiplicitě infekce 0,1 již 4. den v 80 % buněk. V případě hraniční testované multiplicity (0,00001) byl Gs antigen zjistitelný za 18 hod. a po šesti dnech byl již ve 30 % buněk. Payne a ost. (1966) upozorňují na časnost výskytu tohoto antigenu po infekci RPL 13, AMV a dobu 5ti dnů považují za nejzazší.

COFAL test nedosahuje takové citlivosti jako FA test. Cook a ost. (1966) uvádí, že při pozitivním fluorescenčním výsledku u 47–52 % buněk je Gs antigen teprve detekovatelný COFAL testem. Z výsledků těchto autorů je však zřejmé, že i po infekci RSV při multiplicitě 0,00001 dostačuje dvánáctidenní kultivace k dosažení detekovatelnosti Gs antigenu metodou complement fixace. Sarma a ost. (1964) zjišťovali inaparentní leukózy COFAL testem již 8. den a konečný titr byl dosažen po 14 dnech kultivace.

Pro průkaz přítomnosti Gs antigenu v obou metodách byly tedy použity doby dostatečně dlouhé, aby případný výskyt Gs antigenu, svědčícího o přítomnosti kongenitálně předávaného viru, byl zjištěn.

Buněčný antigen pro COFAL test byl připraven z kultivovaných buněk (Huebner a ost. 1964). V žádném případě nebyla zjištěna nespecifita testu (Dougherty a DiStefano 1966). Zmínění autoři používali pro přípravu antigenu suspenzi získanou přímo z embrvonálních orgánů. Jejich pozitivitu však nejsou doposud plně vysvětleny a autoři těchto výsledků o nich diskutují. Je možno uvažovat o nedostatečné citlivosti kultivovaných buněk k namnožení leukovirů, možnosti existence kuřecího antigenu nepřítomného ve fibroblastech a při tom reagujícího s Gs séry apod.

Pro silnou antikomplementaritu tkáňových suspenzí jsme neuspěli provéřit zmíněnou modifikaci COFAL testu. Nevýhoda event. malé citlivosti kuřecích fibroblastů vůči leukózovým virům byla odstraněna dostatečnou dobou kultivace (20 dnů). Detekce zmíněných virů v tomto systému, kdy je možnost dostatečného namnožení za optimálních podmínek, je pravděpodobnější, než při použití antigenu, připraveného přímo z orgánů embrya bez prekulivace.

## VIRUS - NEUTRALIZAČNÍ TEST

RIF a ostatní ptačí leukóзовé viry co do svých fyzikálně chemických vlastností odpovídají kuřecím nádorovým virům a mnohé navzájem imunologicky křížově reagují s RSV (Friesen a Rubin 1961). Tato křížová reakce je vysvětlena pozdějšími nálezy defektivity Bryanova kmene RSV (Hanafusa a ost. 1964). Na základě těchto zjištění lze ve sledované populaci slepic zjišťovat virus-neutralizační protilátky reagující s některými kmeny RSV. Přítomnost těchto protilátek pak svědčí o imunologické odpovědi takového jedince na infekci leukózovým virem, tedy v měřítku populace o výskytu horizontálně předávaného leukózového viru v dané populaci. Virus-neutralizační protilátky se v těchto případech vyskytují u postižených zvířat ve 14.–18. týdnu po vylíhnutí a jejich nejvyšší vzestup je zjistitelný mezi 18.–29. týdnem (Rubin a ost. 1962) a na rozdíl od kongenitálního přenosu, kdy se vyvíjí doživotní tolerance (Rubin a ost. 1962) bez přítomnosti



## II. Virus - neutralizační kapacita sér odchovaných kuřat v 27. týdnu

| Číslo kuřecího séra         | Počet inokulovaných CAM | Průměrný počet maligních center |                      |
|-----------------------------|-------------------------|---------------------------------|----------------------|
|                             |                         | P - RSV - $10^{-3}$             | BH - RSV - $10^{-4}$ |
| 2869                        | 8                       | 14                              | 7,4                  |
| 2870                        | 6                       | 13                              | 10                   |
| 2879                        | 5                       | 12                              | 7,1                  |
| 2917                        | 5                       | NT                              | 8                    |
| 2918                        | 6                       | 16                              | 7,2                  |
| 2920                        | 8                       | 16,3                            | 7,0                  |
| 2960                        | 5                       | NT                              | 8,4                  |
| 2991                        | 8                       | 17,6                            | 6                    |
| 3000                        | 4                       | 13,9                            | 8,5                  |
| 2916                        | 4                       | NT                              | 11                   |
| 2915                        | 5                       | NT                              | 9,5                  |
| 2914                        | 6                       | 14                              | 6                    |
| 2860                        | 7                       | 13                              | 7                    |
| 2851                        | 7                       | 15,2                            | 10,1                 |
| 2850                        | 6                       | 16,1                            | 9,7                  |
| kontrola<br>s telecím sérem | 8                       | 15                              | 8                    |
| kontrola<br>bez séra        | 8                       | 15,4                            | 9,2                  |

zjistitelných protilátek. Testování vybrané populace v 27. týdnu je tedy optimální doba, vzhledem k tomu, že případná kontaktní infekce by se musela projevit vznikem těchto protilátek (optimální doba pro kontaktní infekci je do stáří 3 měsíců).

Výsledky shrnuté v tabulce II. byly získány se dvěma kmeny RSV, které náleží do rozdílných (A a C) antigenních skupin (Ishizaki a Vogt 1966). Negativita těchto testů je v souhlase s výše uvedenými výsledky a svědčí o nepřítomnosti leukózní kontaminace ve sledovaném hejnu.

Je však zřejmé, že případnou kontaminaci eventuálním neznámým leukózním virem, resp. nedetekovatelným použitými metodami, nelze bezpodmínečně vyloučit. Podle dosavadních známých výsledků by se však muselo jednat o virus se zcela inaparentním průběhem infekce, tj. že kromě známých faktů (netransformuje buňky, nevyvolává CPE) by také nedocházelo ke vzniku patologicky zachytitelných změn, ke změnám imunologickým a cytologickým.

Došlo dne 3. 5. 1968

### Literatura

1. ARMSTRONG, D., OKUYAN, M., HUEBNER, R. J.: Complement-fixing antigens in tissue cultures of avian leucosis viruses. = „Science“ 144: 1534-1584, 1964.
2. BAUER, H., SCHÄFER, W.: Origin of Group-specific antigen of chicken leucosis viruses. = „Virology“ 29: 494-497, 1966.

3. COOK, M. K., GROCHAL, A. G., HUEBNER, R. J.: Fluorescent antibody studies of the avian leukosis complex. = „J. Natl. Cancer Inst.“ 37: 619-633, 1966.
4. DOUGHERTY, R. M., DISTEFANO, H. S.: Lack of relationship between infection with avian leukosis virus and the presence of COFAL antigen in chick embryos. = „Virology“ 29: 586-595, 1966.
5. ECKERT, E. C., BEARD, D., BEARD, J. W.: Dose response relations in experimental transmissions of avian erythromyeloblastic leucosis. = „J. Natl. Cancer Inst.“ 12: 447, 1951.
6. FRIESEN, B., RUBIN, H.: Some physicochemical and immunological properties of avian leucosis virus (RIF). = „Virology“ 15: 387-396, 1961.
7. FULTON, F., DUMBELL, K. R.: The serological comparison of strain of influenza virus. = „J. Gen. Microbiol.“ 3: 97-111, 1949.
8. HANAFUSA, H., HANAFUSA, T., RUBIN, H.: Analysis of the defectiveness of Rous sarcoma virus. II. Specification of RSV antigenicity by helper virus. = „Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.“ 51: 41-48, 1964.
9. HLOŽÁNEK, I., SOVOVÁ, V.: Příprava bezleukosového hejna drůbeže RIF test. = Vet. Med. (Praha) 13 (XLI): 489-500, 1968.
10. HUEBNER, R. J., ARMSTRONG, D., OKUYAN, M., SARMA, P. S., TURNER, H. C.: Specific complement-fixing viral antigens in hamster and guinea pig tumors induced by the Schmidt-Ruppin strain of avian sarcoma. = „Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.“ 51: 742-750, 1964.
11. CHURCHILL, A. E.: Studies on the serological and interfering properties of avian leucosis virus isolates from field outbreaks of disease and from three vaccines. = „Res. Vet. Sci.“ 9: 68-75, 1968.
12. CHURÝ, J., FIŠER, P.: K otázce korelace mezi obsahem histidinu a leukozou slepic. = „Veterinářství“ 15: 255-256, 1965.
13. ISHIZAKI, R., VOGT, P. K.: Immunological relationship among envelope antigens of avian tumour viruses. = „Virology“ 30: 375-387, 1966.
14. JENSEN, F. C., KOPROWSKI, H.: Rous sarcoma infection of human and primate tissue. 9th International Cancer Congress Tokyo, Abstracts of papers 269, 1966.
15. JENSEN, F. C., GIRARDI, A. J., GILDEN, R. V., KOPROWSKI, H.: Infection of human and simian tissue cultures with Rous sarcoma virus. = „Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.“ 52: 53-59, 1964.
16. KLEMENT, V., SVOBODA, J.: Induction of tumours in Syrian hamsters by two variants of Rous sarcoma virus. = „Fol. Biol.“ (Praha) 9: 181-188, 1963.
17. MUNROE, J. S., WINDLE, W. F.: Tumours induced in primates by chicken sarcoma virus. = „Science“ 140: 1415-1416, 1963.
18. PAYNE, F. E., SOLOMON, J. J., PURCHASE, H. G.: Immunofluorescent studies of group-specific antigen of the avian sarcoma leukosis viruses. = „Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.“ 55: 341-349, 1966.
19. PRINCE, A. M.: Quantitative studies in Rous sarcoma virus. I. Titration of RSV on the chorioallantoic membrane of the chick embryo. = „J. Natl. Cancer Inst.“ 20: 147-158, 1957.
20. RUBIN, H.: A virus in chick embryo which induces resistance in vitro to infection with Rous sarcoma virus. = „Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.“ 46: 1105-1119, 1960.
21. RUBIN, H., FANSHIER, L., CORNELIUS, A., HUGHES, W. F.: Tolerance and immunity in chickens after congenital and contact infection with avian leukosis virus. = „Virology“ 17: 143-156, 1962.
22. SARMA, P. S., TURNER, H. C., HUEBNER, R. J.: An avian Group-specific complement fixation reaction. Application for the detection and assay of non-cytopathogenic leukosis viruses. = „Virology“ 23: 313-321, 1964.
23. STENKVIST, B., PONTÉN, J.: Morphological changes in bovine and humane fibroblasts exposed to two strains of RSV in vitro. = Acta Pathol Microbiol. Scand. 62: 315-330, 1964.
24. SVOBODA, J., KLEMENT, V.: Formation of delayed tumours in hamster inoculated with Rous virus after birth and finding of infectious Rous virus in tumour P 1. = „Fol. Biol.“ (Praha) 9: 403-411, 1963.
25. ŠEVLJAGIN, V. Ja., ZILBER, L. A.: Transformation of embryonic human cells by Rous sarcoma virus. Subviral Carcinogenesis. Monogr. 1st. = „Inter. Symp. tumour viruses“ 181-187, 1967.
26. VESELÝ, P., SVOBODA, J.: Malignant transformation of Syrian hamster embryonic cells with Rous virus of the Schmidt-Ruppin strain in vitro. = „Fol. Biol.“ (Praha) 11: 78-80, 1965.

27. VRBA, M.: Titration of Rous sarcoma virus on the chick embryo chorioallantoic membrane. = „Acta virologica“ 7: 525-533, 1963.
28. WALLBAUK, A. M.: Use of lactic dehydrogenase for detection of avian leucosis. = „Nature“ 201: 844-846, 1964.
29. ZILBER, L. A., ŠEVĽJAGIN, V., Ja.: Transformation of embryonic human cells by Rous sarcoma virus. = „Nature“ 203: 194-195, 1964.

ГЛОЖАНЕК, И., СОВОВА, В. (Научно-исследовательский институт экспериментальной биологии и генетики ЧСАН. Чехословакия). Применение COFAL и FA проб при подготовке безлейкозного стада домашней птицы. Вет. мед. (Прага) 13 (10): 561-568, 1968.

Стадо бурых леггорнов, которых предварительно проверяли при помощи интерференционной пробы на заражение лейкозом, подвергли дальнейшему исследованию COFAL и FA пробами. RIF, COFAL и FA пробы своими отрицательными результатами показывают, что в исследованной стае не происходит трансвариальный перенос вирусов лейкоза. Об отсутствии горизонтального переноса лейкоза свидетельствуют отрицательные результаты вируснейтрализационных исследований, произведенных у потомства животных, предварительно исследованных приведенными методами. Учитывая эти результаты и ввиду того, что в течение наблюдаемого периода ни в одном случае не установили ни клинического, ни патологоанатомического (гистологического) наличия заболевания лейкозом, можно прийти к выводу, что указанное стадо домашней птицы свободно от птичьего лейкоза.

домашняя птица; лейкоз; проверка при помощи COFAL и FA проб.

HLOŽÁNEK, I., SOVOVÁ, V. (Institute of Experimental Biology and Genetics of the Czechoslovak Academy of Sciences, Czechoslovakia). *Application of COFAL and FA Tests in the Preparation of a Leukosis-Free Poultry Flock*. Vet. Med. (Praha) 13 (10): 561-568, 1968.

A flock of brown Leghorns that had been checked preliminarily by means of the interference test with regard to a presence of leukosis contamination, was subjected to a further checking by means of the COFAL and FA tests. With their negative results the RIF, COFAL, and FA tests show that in the examined flock there occurs no transovarial transmission of leukosis viruses. The absence of a horizontal transmission of leukosis was shown by the negative results of virus neutralizing tests carried out in the offsprings of animals that had been tested preliminarily by means of the mentioned methods. With regard to these results and with regard to the fact that in the course of the examined period neither a clinical nor any pathological-anatomical (histological) occurrence of leukosis was found, it may be concluded that the mentioned flock of poultry is free of avian leukosis.

poultry; leukosis; checking by means of COFAL and FA tests

HLOŽÁNEK, I., SOVOVÁ, V. (Institut für experimentelle Biologie und Genetik der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Czechoslovakia.) *Benützung der COFAL- und FA-Teste bei der Vorbereitung einer leukosefreien Geflügelherde*. Vet. Med. (Praha) 13 (10): 561-568, 1968.

Eine vorher mittels des Interferenztestes auf Leukosekontamination kontrollierte Herde brauner Leghornhennen wurde einer weiteren Überprüfung mit Hilfe der COFAL- und FA-Teste unterworfen. Die negativen Resultate der RIF-, COFAL- und FA-Teste deuten darauf hin, daß in der untersuchten Herde keine transvarielle Übertragung der Leukose-Viren besteht. Über die Abwesenheit einer horizontalen Übertragung der Leukose zeugen die negativen Ergebnisse der Virusneutralisierungsteste, welche bei der Nachkommenschaft der vorher mit den angeführten Methoden untersuchten Tiere durchgeführt wurden. Mit Hinsicht auf diese Ergebnisse und darauf, daß im Verlaufe der verfolgten Zeitperiode in keinem einzigen Falle klinisch oder pathologisch-anatomisch (histologisch) eine Leukoseerkrankung festgestellt wurde, kann man konstatieren, daß die untersuchte Geflügelherde frei von aviärer Leukose ist.

Geflügel; Leukose; Überprüfung mit Hilfe des COFAL- und des FA-Testes

Adresa autorů:

MVDr. Ivo Hložánek CSc., MUDr. Vlasta Sovová, Ústav experimentální biologie a genetiky ČSAV Praha 6, Flemingovo náměstí 2  
Ředitel ústavu: Prof. MUDr. Milan Hašek, DrSc.

# VLIV THIBENZOLU A SYNGAMIXU NA SNÁŠKU A KVALITU VAJEC

V. Jurajda, S. Svoboda

VSZ, veterinární fakulta, katedra chorob drůbeže, Brno

JURAJDA, V., SVOBODA, S. *Vliv Thibenzolu a Syngamixu na snášku a kvalitu vajec*. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 569-573, 1968.

Thiabendazol, aplikovaný v 0,05% koncentraci v krmivu (v preparátu Thibenzole) nosnicím po dobu 14 dnů, již za týden po podání výrazně snižuje snášku vajec a k nápravě dochází do 3 týdnů po ukončení aplikace. Syngamix podaný jednorázově nosnicím v krmivu v množství 60 mg na 1 kg ž. v. vyvolává již v prvním týdnu prudký pokles snášky, k jejíž úpravě je třeba 4 týdnů, než je dosaženo úrovně produkce před podáním. Ostatní sledované ukazatele (index bílku, specifická hmota vajec, váha vajec, barva žloutku a váha jednotlivých nosnic) nevykazovaly podstatných změn.

Thibenzol; Syngamix; aplikace nosnicím; pokles snášky.

Thibenzole jako širokospektré anthelmintikum je v současné době stále více používán při léčbě syngamózy drůbeže. Při jeho podávání v bažantnicích byly pozorovány vedlejší účinky, projevující se snížením produkce a zhoršením kvality vajec.

Cílem této práce bylo pokusně ověřit vliv Thibenzolu na snášku a kvalitu vajec a předejít případnému nebezpečí, které by mohlo vzniknout při podávání Thibenzolu ptákům v plné snášce.

## MATERIÁL A METODIKA

Pokus byl prováděn v letních měsících na klecově chovaných slepicích (kříženkách).

Před pokusem jsme sledovali snášku a specifickou váhu vajec. Na základě získaných hodnot byly ze zvířat vytvořeny 3 skupiny po 10 nosnicích s vyrovnanými sledovanými hodnotami.

Ve vlastním pokusu jsme sledovali individuálně snášku vajec, index bílku, specifickou hmotu vajec, váhu vajec, barvu žloutku a váhu jednotlivých nosnic.

První skupině byla podávána v krmivu 0,05% koncentrace thiabendazolu (účinná složka Thibenzolu) po dobu 14 dnů. U druhé skupiny bylo použito domácího preparátu Syngamixu (2,6-Dijod-4-Nitrofenol), který byl podán jednorázově v krmivu v dávce 60 mg na 1 kg živé váhy. Třetí skupina sloužila jako kontrolní.

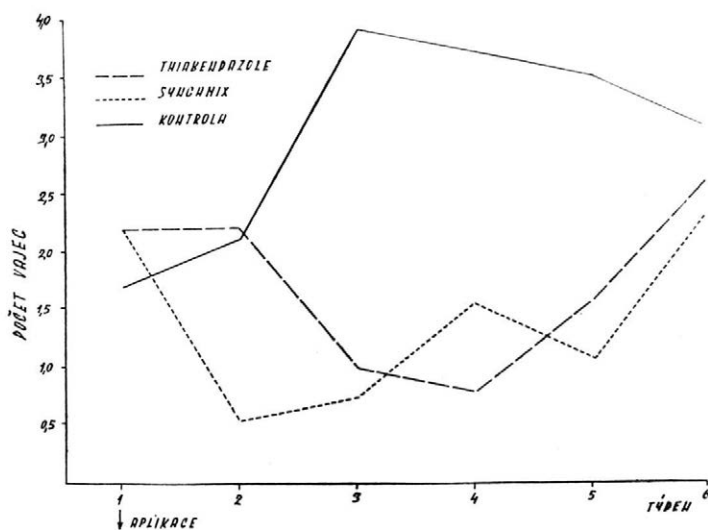
Index bílku byl vypočítán dělením výšky vaku tuhého bílku průměrem jeho šíře.

Specifická hmota vajec se zjišťovala ponořováním do roztoků kuchyňské soli různé hustoty.

Barva žloutku byla stanovena pomocí barevné stupnice „Roche“.

Pokus probíhal celkem po dobu šesti týdnů, při čemž v 6. týdnu byla sledována pouze snáška.

## 1. Průměrná snáška vajec na nosnici / týden



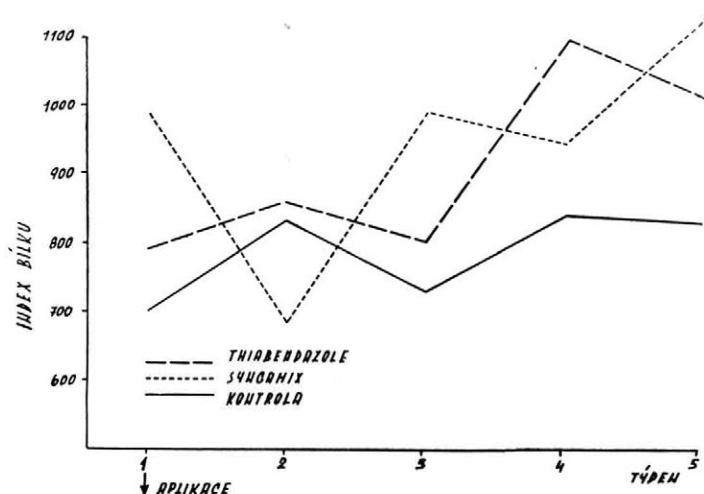
## VÝSLEDKY

Průměrná týdenní snáška vajec na nosnici je shrnuta v grafu 1. Nepříznivý účinek Thibenzolu se projevil až po jednotýdenním podávání, kdy došlo k prudkému poklesu snášky, která dosáhla minimálních hodnot v 3. týdnu po aplikaci, aby se pak pozvolna vracela k původním hodnotám.

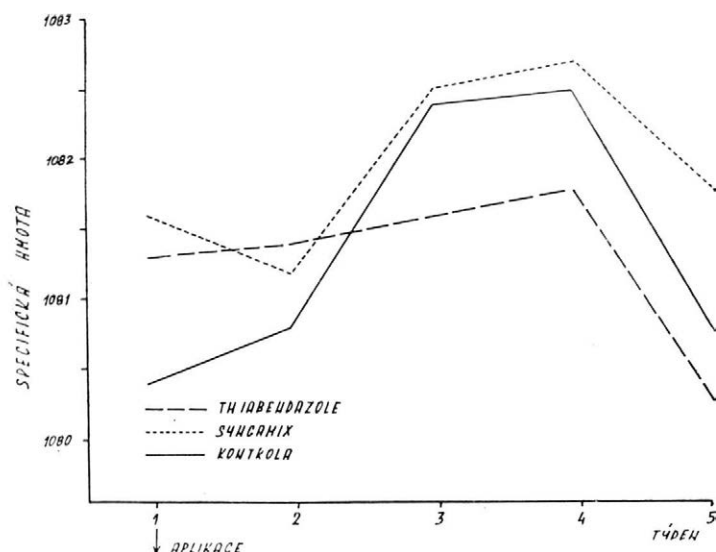
Syngamix vyvolal nepříznivý účinek okamžitě po podání a snižoval snášku ve větší míře než Thibenzole. Rovněž obnova snášky byla pozvolnější než u 1. skupiny.

Statistickým vyhodnocením pomocí t-testu v 3. týdnu pokusu byl zjištěn velmi vysoce statisticky průkazný pokles snášky u skupiny, které byl aplikováno

## 2. Index bílku vajec (průměrné hodnoty / týden)



### 3. Specifická hmotá vajec (průměrné hodnoty / týden)

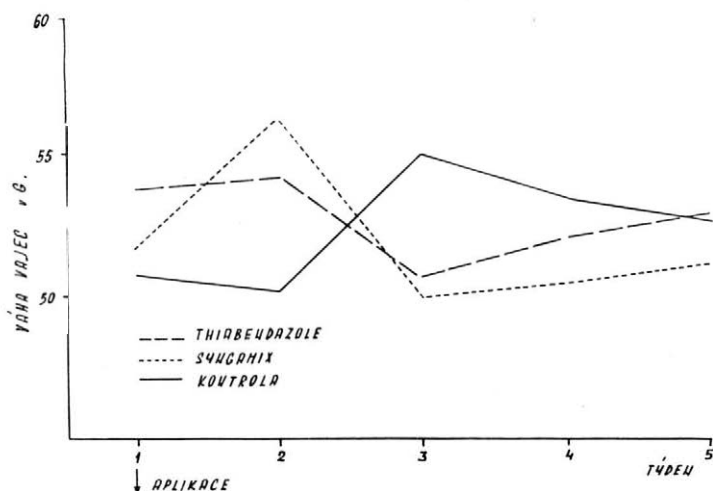


ván Syngamix, a skupinou kontrolní ( $t = 4,72 > t = 4,58$  při  $p = 0,001$ ), a vysoce průkazný pokles snášky u skupiny, které byl aplikován Thibenzol, ke skupině kontrolní ( $t = 4,05 > t = 3,16$  při  $p = 0,01$ ).

Hodnoty indexu bílku jsou znázorněny na grafu 2. Nevykazují statisticky průkazných rozdílů. Větší je pokles hodnot indexu bílku po Syngamixu v prvním týdnu po aplikaci, které se však rychle vracejí k hodnotám zjišťovaným u Thibenzolu, jež jsou mírně zvýšeny oproti kontrole.

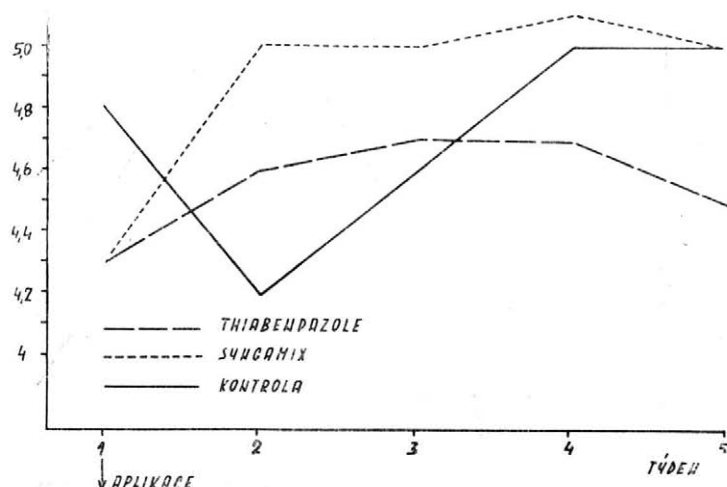
Vliv aplikace Thibenzolu a Syngaminu na specifickou hmotu vajec, váhu

### 4. Váha vajec (průměrné hodnoty / týden)





## 5. Barva žloutku (průměrné hodnoty / týden)



vajec a barvu žloutku, je znázorněn na grafech 3, 4 a 5. Zjištěné hodnoty kolísají v rozmezí hodnot kontrolní skupiny.

Váhy zvířat (zjišťované na začátku pokusu a na konci 1., 3. a 5. týdne) v jednotlivých skupinách nevykazovaly během pokusu rozdílů.

## DISKUSE

Výsledky našeho pokusu potvrdily pozorování provedená na bažantnicích v terénu, že Thiabendazole může mít v koncentraci 0,05 % v krmivu, podávaný po dobu 14 dní, tj. v běžné léčebné dávce, nepříznivý vliv na vaječnou produkci.

Obdobný účinek na snášku u slepic byl prokázán i u domácího preparátu Syngamix. Zde byla deprese snášky ještě výraznější než u Thiabendazolu. Je třeba však podotknout, že Syngamix byl podán v množství 60 mg na 1 kg ž. v., což je dávka poměrně vysoká.

Došlo dne 29. 1. 1968

## Literatura

1. LEIBOVITZ, L.: Thiabendazole therapy of pheasants affected with gapeworms, „J. A. V. M. A.“ 140, 1962 : 1310-1313.
2. REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace, Praha SNTL, 1965, 210 s.
3. SHARPE, G. I.: Effect of thiabendazole on Syngamus trachea in pheasants. = „Nature“, 201, 1964 : 315-316.
4. SVOBODA, S. a V. JURAIDA: Použití Thiabendazolu při léčbě syngamózy kuřat = „Veterinářství“, roč. XVII, č. 6, 1967 : 248-251.
5. WILLOMITZER, J.: Příspěvek k terapii a chemoprophylaxi některých parazitóz u hrabavé drůbeže = „Veterinářství“ roč. XVII, č. 3, 1967 : 116-117.

ЮРАЙДА, В., СВОБОДА, С. (СХИ, факультет ветеринарии, кафедра болезней домашней птицы, Брно, Чехословакия). Влияние Тибензола и Сингамикса на яйценоскость и качество яиц. Вет. мед. (Прага) 13 (10) : 569-573, 1968.

Тиabendазол, применяемый к концентрации 0,05 % в корме (в препарате Тибензол) для несушек в течение 14 дней, уже через неделю после дачи весьма заметно снижает яйце-

кладку и нормальная яйцекладка восстанавливается лишь после трех недель после окончания подачи препарата. Сингамикс, однократно поданный несушкам в корме из расчета 60 мг препарата на 1 кг живого веса, еще в первой неделе вызывает сильное сокращение яйцекладки, для восстановления которой необходимо 4 недели, пока не будет достигнуто уровня продукции перед применением препарата. Остальные наблюдаемые показатели (индекс белка, удельная масса яиц, вес яиц, цвет желтка и вес отдельных несушек) не показывали существенных изменений.

Тибензол; Сингамикс; дача несушкам; понижение яйцекладки

JURAJDA, V., SVOBODA, S. (Agricultural University, Veterinary Faculty, Department of Poultry Diseases, Brno, Czechoslovakia). *The Influence of Thibenzole and Syngamix on the Laying and Quality of Eggs*. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 569-573, 1968. Thiabendazol applied in a 0.05 per cent concentration in feeds (in the Thibenzole preparation) to laying hens for 14 days, markedly lowers egg laying already in one week after administration, and a return to normal occurs within three weeks after termination of the application. Syngamix administered in a single dose to laying hens in their feed in a quantity of 60 mg per 1 kg of live weight causes a violent decrease of laying already in the first week, and a return to the level of production before the application requires four weeks. The other followed indices (the albumen index, the specific egg substance, the weight of eggs, the colour of the yolk, and the weight of individual laying hens) showed no substantial changes.

Thibenzole; Syngamix; application to laying hens; decrease of laying.

JURAJDA, V., SVOBODA, S. (Landwirtschaftliche Hochschule, Veterinärfakultät, Lehrstuhl für Geflügelkrankheiten, Brno, Tschechoslowakei). *Einfluß von Thibenzol und Syngamix auf die Legeleistung und die Qualität der Eier*. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 569-573, 1968.

Das in Mengen von 0,05 % dem Futter beigemischte und den Hennen 14 Tage hindurch beigefütterte Thiabendazol (Präparat Thibenzole) setzt bereits nach einer Woche der Verfütterung das Eierlegen wesentlich herab und zur Restitution kommt es innerhalb von 3 Wochen nach Beendigung der Applikation. Das den Hennen einmalig im Futter in einer Menge von 60 mg je 1 kg Lebendgewicht verabreichte Syngamix verursacht bereits in der ersten Woche eine starke Abnahme des Eierlegens, wobei es 4 Wochen bedarf, bis man das ursprüngliche Niveau der Eierproduktion wieder erreicht. Die übrigen verfolgten Kennwerte (Eiweißindex, spezifische Eimasse, Eigewicht, Dotterfarbe und Körpergewicht der einzelnen Legehennen) wiesen keine wesentlichen Veränderungen auf.

Thibenzol; Syngamix; Applikation bei Legehennen; Abnahme des Eierlegens.

---

#### Adresa autorů:

MVDr. Vladimír Jurajda, MVDr. Stanislav Svoboda, VŠZ, veterinární fakulta, katedra chorob drůbeže, Brno

Vedoucí: prof. MVDr. B. Klimeš, CSc.

### **Metabolismus kyseliny mléčné u prasat**

Hyperglykémie po tělesné námaze je pravděpodobně způsobena zvýšenou inkrecí adrenalinu. Interakce adrenalinu může rovněž vyvolat hyperlaktacidémii. Ta však není následkem hyperglykémie. Tělesná námaha vyvolává těžkou metabolickou acidózu s poklesem pH a alkalické rezervy krve. Nemá vliv na koncentraci CO<sub>2</sub>. Podání bikarbonátu sodného tlumí acidózu. Klinické příznaky pozorované u prasat po tělesné námaze mají svůj podklad v acidóze.

(Podle „Deutsche tierärztliche Wochenschrift“ zprac. Dr. Stan. Mudra)



### **Některé otázky profylaxe poruch vyvolaných nedostatečným přísunem vitamínu A v krmivech**

Používání koncentrátů vitamínů A a D<sub>2</sub> v krmné dávce dojníc, březích a na sucho stojících krav v zimním stájovém období umožňuje značně zlepšit špatný zdravotní stav vznikající z nedostatku vitamínu A v krmivu. Dávka vitamínu A závisí na množství karoténů v krmivu, dávka vitamínu D<sub>2</sub> činí 4.000—5.000 jednotek na krávu a den. Přídavek chloridu kobaltnatého — 40 mg a vitamínu D<sub>2</sub> — v množství 5.000 jednotek dojnícím v zimním období napomáhá lepšímu využití karoténu z krmiva. Nejúčinnější je komplexní aplikace.

(Podle „Veterinarija“ zprac. Dr. Stan. Mudra)



### **Příkrmování fosforem zvyšuje užitkovost ovcí**

Sovětská veterinární Ja. Babin a K. K. Kajrchanav popisují, jak se v sovchoze „Družba“ zkoumal v sérii pokusů vliv příkrmování fosforem na metabolismus u ovcí.

První skupina zvířat byla kontrolní, druhá dostávala 3 mg kobaltu, 6 mg mědi a 10 mg zinku a třetí skupina kromě stopových prvků dostávala 10 g mononátrijsulfátu denně na kus. Tato třetí skupina dostala 110,2 g bílkovin se 4,4 g fosforu.

Zjistilo se, že takovéto příkrmování příznivě ovlivnilo průměrné denní váhové přírůstky i množství vlny. Pokusy ukázaly, že příkrmování fosforem mělo příznivý vliv též na biochemické ukazatele krve a na zvýšení užitkovosti ovcí.

(Podle časopisu „Ovcevodstvo“, r. 1968, č. 1 zprac. Dr. Stan. Mudra)

# POROVNANIE AKTIVITY FSH U OVIEC A LH (ICSH) U HOVÁDZIEHO DOBYTKA URČOVANEJ BIOLOGICKÝM A IMUNOLOGICKÝM TESTOM

J. Arendarčík, L. Maraček

VSP, veterinárska fakulta, katedra porovnávacej fyziológie, Košice

ARENDAČÍK, J., MARAČEK, I. Porovnanie aktivity FSH u oviec a LH(ICSH) u hov. dobytky určovanej biologickým a imunologickým testom. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 575-582, 1968.

Porovnanie určenej aktivity FSH u oviec a LH(ICSH) u hov. dobytky v moči, hypofýzach a v sére biologickým (B) a imunologickým (I) testom nedalo zväčša vhodný diskriminačný index. Pomocou týchto dvoch metód nebolo možné vo väčšine prípadov určiť tú istú aktivitu hormónu z rovnakého biologického materiálu. Najnižšia aktivita FSH sa zistila u oviec v moči jak biologicky, B — 0,0029 m. j./ml, tak imunologicky, — I-0,0021 m. j./ml, vyššia aktivita bola v hypofýzach, B — 0,10 m. j./mg, I — 0,014 m. j./mg, najvyššia v sére, B — 0,27 m. j./ml, I — 0,42 m. j./ml. Aktivita LH(ICSH) u hov. dobytky bola najnižšia v moči, B — 0,013 m. j./ml, I — 0,112 m. j./ml, vyššia v hypofýze B — 0,28 µg NIH/mg, I — 0,52 m. j./mg a najvyššia v sére, B — 0,95 m. j./ml, I — 1,35 m. j./ml.

gonadotropíny, FSH folikulystimulujúci hormón; ovca; LH(ICSH) luteinizačný hormón; hov. dobytok; imunologický test; biologický test; imunoelektroforéza; Ouchterlony; AS-antisera, A-antigén.

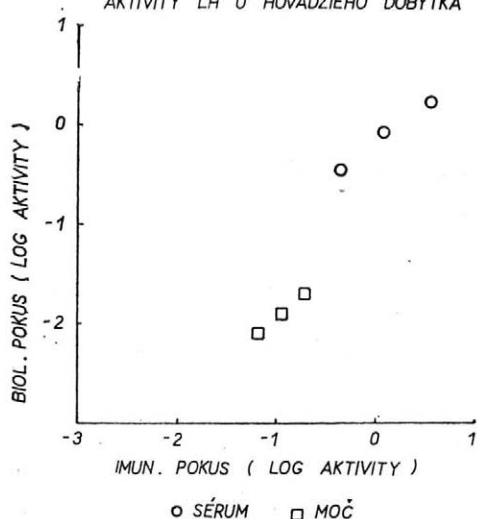
Běžné biologické metody k určování gonadotropínů sa považujú za časove náročné a drahé. Často nízka citlivosť v pokuse použitých zvierat voči podaným látkam, ako aj počet vyžadovaných zvierat ukazuje, že sa musí použiť relatívne veľký počet pokusných zvierat, aby pokus mohol byť štatisticky vyhodnotený. Zavedenie imunologických metód vyústilo vo vyvinutí špecifických a citlivých testov pre dôkaz trofických hormónov. Vývoj týchto metód sa však oneskoril pre ťažkosť získania dostatočne čistého tropného hormónu, ktorý by mohol vytvoriť špecifický antigén-protilátkový systém (Rizkallah a kol. 1965, Snook-Cole 1965).

V príspevku sa porovnávajú výsledky dosiahnuté biologickou a imunologickou metódou pri určovaní aktivity FSH u oviec a LH u hov. dobytky pomocou druhovo-špecifických čistených antigénov.

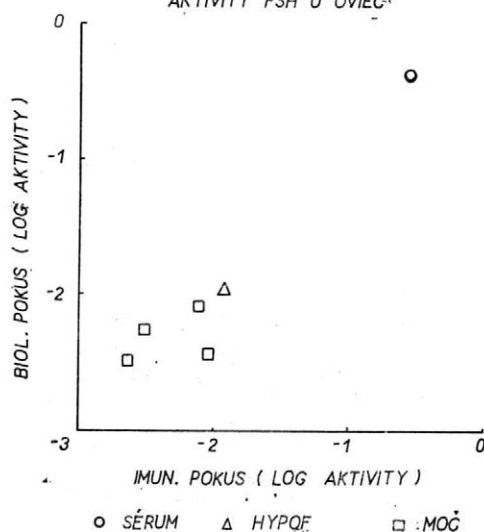
## MATERIÁL A METODIKA

1. Imunizácia králikov bola prevedená hormónom NIH-FSH-S-3 ovine a NIH-LH-B-5 bovine, Bethesda USA, podľa zložitej schémy ako podrobne uvádza Moudgal a Li (1961). Aktivita získaných antisér AS-FSH a AS-LH ako aj vzájomná reakcia týchto antisér s PMSG a HCG a krížová skúška medzi antisérmi AS-FSH AS-LH a ich príslušnými antigénami bola prevedená biologickým pokusom na infantných krysách kmeňa Wistar.

KORELÁCIA BIOLOGICKEJ A IMUNOLOGICKEJ  
AKTIVITY LH U HOVÄDZIEHO DOBYTKA



KORELÁCIA BIOLOGICKEJ A IMUNOLOGICKEJ  
AKTIVITY FSH U OVIEČ

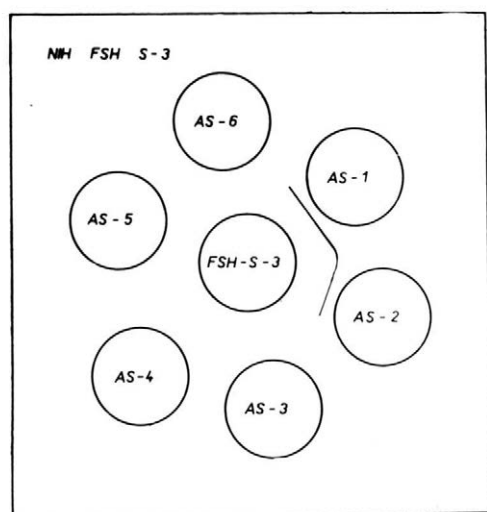
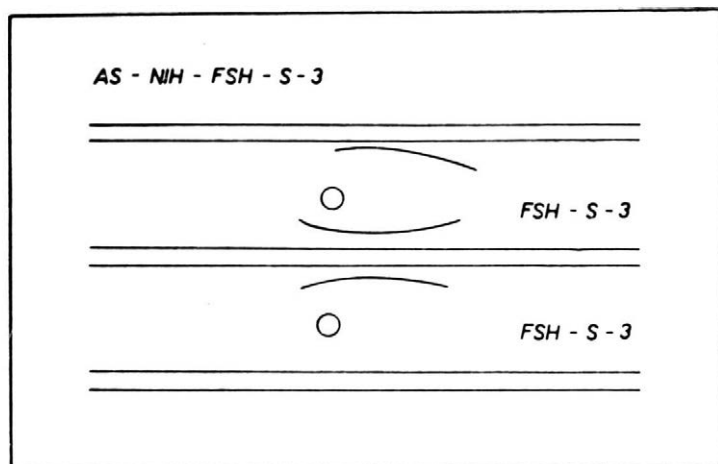


- Križové reakcie antigén-antisérum a opačne u obidvoch študovaných preparátov boli prevedené dvojitou agar-gel precipitáciou podľa Ouchterlonyho a mikroelektroforéza podľa Grabara a kol. (1963).
- Biologický pokus k dôkazu FSH bol prevedený na infantilných krysiach samiciach kmeňa Wistar augmentačnou metódou podľa Steelman-Pohley (1953) systémom 2 + 2. Biologický dôkaz LH bol prevedený na infantilných krysiach samcoch kmeňa Wistar podľa Diczfalussy-Heinrichs (1953) systémom 2 + 2. Štatistické zhodnotenie výsledkov sa previedlo podľa Borth a kol. (1957).
- Pre imunologický test sa pripravili antiséra AS-FSH ovine, titer 1:1600 a AS-LH bovine, titer 1:3200. Príprava antisér a červených ovčích krviniek senzibilizovaných príslušným antigénom sa pripravili metódou ako uvádza Wide (1962). Imunologický test sa prevádzal podľa schémy Butt a kol. (1964).
- Pre dôkaz LH v hypofýze bol použitý aj Parlowov OAAD test (1958). Extrakcia gonadotropínov z hypofýz bola prevedená metódou podľa Wilhelmiho (1959); extrakcia z moča a krvi bola prevedená metódou Butt a kol. (1959).

Biologický a imunologický test sa prevádzal z moča, séra a hypofýz oviec a hov. dobytká. Počet zvierat a biologický materiál je uvedený v tabuľkách.

## VÝSLEDKY

Imunoelektroforéza a Ouchterlonyho dvojité agar-gel precipitácia: získané králičie antisérum proti ovčiemu FSH vykázalo titer 1:1600 a v biologickom pokuse inhibovalo aktivitu antigénu FSH. V biologickom pokuse AS-FSH inhibovalo aj aktivitu PMSG a HCG (tab. I). Mikroimunoelektroforetický



1. Imunoelktroforéza

V strede FSH-S-3 ovine 0,006

I. U., po stranách anti-sérum

AS-FSH-S-3 ovine 0,1 ml, 1

hod., 90 V, 7, 5 mA

2. Ouchterlonyho agar-gel pre-  
cipitácia

V strede FSH-S-3 ovine 0,006

I. U., po stranách 0,1 ml anti-

sérum FSH-S-3 ovine riedené

1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16

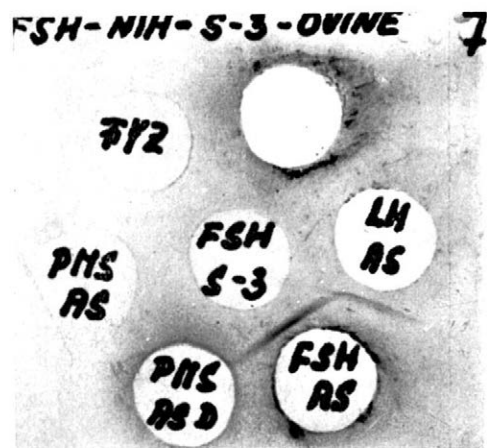
3. Ouchterlonyho agar-gel pre-  
cipitácia

V strede FSH-S-3 ovine 0,006

I. U., po stranách 0,1 ml rôz-

nych anti-sér: AS-LH, AS-FSH,

AS-PMSG



**LH B5 BOVINE - AS**

**LH B-5**

**LH B-5**

**LH B-5**

**AS - PMSG**

**4. Imunoelektroforéza**

V strede LH-B-5-bovine 0,006 I.U., po stranách 0,1 ml antisérum LH-B-5-bovine, 1 hod., 90 V, 7,5 mA

**5. Ouchterlonyho agar-gel precipitácia**

V strede LH-B-5-bovine, 0,012 I.U., po stranách 0,2 ml antisérum LH-B-5-bovine riedené 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16

**6. Ouchterlonyho agar-gel precipitácia**

V strede antisérum LH-B-5-bovine, po stranách LH-B-5 riedený 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16

**7. Ouchterlonyho agar-gel precipitácia**

V strede antigén LH-B-5-bovine 0,012 I.U., po stranách 0,2 ml antisérum LH-B-5-bovine, FSH-S-3-ovine, PMSG

**LH-B5 BOVINE**

AS 6  
AS 5  
LH B5  
AS 4  
AS 3  
AS 1  
AS 2

**AS-B5 BOVINE**

LH 5  
LH 6  
LH 4  
AS B5  
LH 1  
LH 3  
LH 2

**LH-B-5 BOVINE**

FY2.  
LH AS  
LH AS  
LH B5  
PMS AS  
PMS AS  
FSH AS



I. Účinok králičieho antiséra FSH\*) - ovine na endogennú aktivitu FSH a aktivitu PMS a HCG u normálnych krýs

| Skupina | Pohlavie krýs | Počet krýs | Pokusný materiál I. U. + ml | Celková dávka na krysu za 4 dni | Váha ovárií v mg | Štatistické porovnanie skupín** |
|---------|---------------|------------|-----------------------------|---------------------------------|------------------|---------------------------------|
| 1       | samice        | 5          | 0,9 % NaCl                  | 2,0 ml                          | 20,8 ± 2,58      | 2,3 P < 0,05                    |
| 2       | samice        | 5          | FSH - ovine                 | 0,3 mg                          | 32,4 ± 3,94      |                                 |
| 3       | samice        | 5          | FSH - ovine + AS - FSH      | 0,3 mg + 1 ml                   | 27,8 ± 3,11      |                                 |
| 4       | samice        | 5          | PMSG                        | 10 m. j.                        | 31,6 ± 3,57      | 4,5 P < 0,02                    |
| 5       | samice        | 5          | PMSG + AS - FSH - ovine     | 10 m. j. + 1 ml AS - FSH        | 23,0 ± 2,55      |                                 |
| 6       | samice        | 5          | Physex - HCG                | 25 m. j.                        | 45,8 ± 3,11      | 6,7 P < 0,01                    |
| 7       | samice        | 5          | Physex - HCG + AS - FSH     | 25 m. j. + 1 ml AS - FSH        | 37,2 ± 2,28      |                                 |

\* NIH - FSH - S - 3 - ovine, Bethesda, USA

\*\* P podľa Studentovho t - kritéria

II. Účinok králičieho antiséra LH - bovine\* na endogennú aktivitu LH a aktivitu PMSG a HCG u normálnych krýs

| Skupina | Pohlavie krýs | Počet krýs | Pokusný materiál I. U. + ml  | Celková dávka na krysu za 4 dni | Váha prostaty v mg | Štatistické porovnanie skupín** |
|---------|---------------|------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------|---------------------------------|
| 1       | samci         | 5          | 0,9 % NaCl                   | 2,0 ml                          | 17,0 ± 3,16        | 2,3 P < 0,01                    |
| 2       | samci         | 5          | LH - bovine                  | 0,3 m. j.                       | 25,5 ± 4,14        |                                 |
| 3       | samci         | 5          | LH-bovine + AS-LH-bovine     | 0,3 m. j. + 1 ml AS-LH          | 14,0 ± 3,08        |                                 |
| 4       | samci         | 5          | PMSG                         | 10 m. j.                        | 30,6 ± 5,68        | 4,5 P < 0,02                    |
| 5       | samci         | 5          | PMSG + AS-LH-bovine          | 10 m. j. + 1 ml AS-LH           | 20,0 ± 6,20        |                                 |
| 6       | samci         | 5          | Physex - HCG                 | 25 m. j.                        | 27,0 ± 4,58        | 6,7 P < 0,10                    |
| 7       | samci         | 5          | Physex - HCG + AS-LH -bovine | 25 m. j. + 1 ml AS-LH           | 23,8 ± 4,49        |                                 |

\* NIH - LH - B - 5 - bovine, Bethesda, USA

\*\* P podľa Studentovho t - kritéria

a dvojistou agar-gel precipitáciou študovaný A-FSH a AS-FSH vykazuje jednu precipitačnú líniu (obr. 1 a 2). Pri Ouchterlonyho precipitácii reagujú navzájom medzi sebou AS-FSH *ovine* a AS-LH-bovine ako aj A-FSH a AS-FSH *ovine* (obr. 3). Mikroimunoelektroforetická analýza LH *bovine* vykazuje dve precipitačné línie (obr. 4). Ouchterlonyho reakcia medzi LH-bovine a jeho antisérom v rôznom riedení vykazuje i v obrátenom nasadení výraznú precipitačnú líniu (obr. 5 a 6). Krížová Ouchterlonyho precipitácia medzi A-LH

### III. Porovnanie aktivity FSH u oviec, určenej biologickým a imunologickým (HIT) testom

| Zviera                          | Počet | Biolog. materiál | Biologický pokus<br>aktivita v ml/mg* | Lambda | Imunolog. (HIT)<br>pokus, aktivita<br>v ml/mg** |
|---------------------------------|-------|------------------|---------------------------------------|--------|-------------------------------------------------|
| ovce                            | 6     | hypofýza<br>1 mg | 0,0104<br>(0,0034 — 0,0145)           | 0,13   | 0,0148<br>(0,0264 — 0,2040)                     |
| ovce                            | 18    | sérum/<br>1 ml   | 0,2750<br>(0,2459 — 7,1079)           | 0,17   | 0,4240<br>(0,1840 — 1,6256)                     |
| ovce                            | 5     | moč/1 ml         | 0,0029<br>(0,0009 — 0,0055)           | 0,17   | 0,0021<br>(0,0005 — 0,0140)                     |
| ovce 14 dní po<br>ovarektómii   | 2     | moč/1 ml         | 0,0051<br>(0,0027 — 0,0088)           | 0,23   | 0,0086<br>(0,6070 — 0,0320)                     |
| ovce 48 dní po<br>ovarektómii   | 2     | moč/1 ml         | 0,0034<br>(0,0016 — 0,0052)           | 0,18   | 0,0082<br>(0,0062 — 0,0240)                     |
| ovce 105 dní po<br>ovarektómii  | 1     | moč/1 ml         | 0,0055<br>(0,0030 — 0,0087)           | 0,18   | 0,0027<br>(0,0023 — 0,0100)                     |
| ovce 21 dní po<br>thyreoektómii | 2     | moč/1 ml         | 0,0156<br>(0,0096 — 0,0294)           | 0,22   | 0,0040<br>(0,0037 — 0,0100)                     |
| ovce 28 dní po<br>thyreoektómii | 2     | moč/1 ml         | 0,0080<br>(0,0055 — 0,0113)           | 0,15   | 0,0073<br>(0,0024 — 0,0268)                     |

\* Steelman — Pohley (1953)

\* Butt a kol. (1964)

a AS-LH *bovine* a medzi AS-FSH-*ovine* s AS-LH-*bovine* vykazuje reakciu (obr. č. 7). V tabulke II sú výsledky účinku králičieho antiséra AS-LH *bovine* na endogennú aktivitu PMSG a HCG u normálnych krýs. Pokusy ukázali inhibičný účinok AS-LH *bovine* na PMSG, nie však na HGG.

Imunologické určenie aktivity FSH a LH u uvedených zvierat z rôzneho biologického materiálu sa previedlo pomocou získaných antisér AS-FSH *ovine* a AS-LH *bovine*, hemaglutinačným inhibičným testom (tab. III a IV).

### IV. Porovnanie biologickej a imunologickej aktivity LH (ICSH) u hovädzieho dobytká

| Počet zvierat | Biolog. materiál | Biologický pokus, aktivita v ml/mg |               |
|---------------|------------------|------------------------------------|---------------|
| 18            | sérum            | 0,9572 (0,3370 — 1,8470)           | m. j.)*<br>ml |
| 16            | moč              | 0,0136 (0,0094 — 0,0202)           | m. j.<br>ml   |
| 6             | hypofýza         | 0,289 µg NIH-SI                    | NIH**<br>µg   |

\* Diczfalusy-Heinrichs (1956)

\*\* Parlow-OAADT (1958)

Diskriminačný index nevyhodnotený

Zistená aktivita FSH u oviec určená biologickou a imunologickou metódou v sére, moči a hypofýzach vykazuje spravidla vyššie hodnoty pri imunologickom teste v porovnaní s hodnotami získanými biologickým testom. Aktivita študovaných hormónov v moči normálnych oviec vykazuje temer rovnakú hodnotu u oboch metód. V pokuse po ovarektómii a tyreidektómii oviec aktivita FSH určená imunologickým testom bola spravidla vyššia ako aktivita určená biologickým testom. Aktivita LH u hov. dobytky (tab. IV) určená biologickou metódou vykazuje nižšie hodnoty ako boli získané imunologickou metódou.

## DISKUSIA

Krížové reakcie prevedené Ouchterlonyho dvojitou agar-gel precipitáciou a mikroimunoelktroforézou ukazujú, že použité antigény sú čistěné preparáty a že imunizáciou králikov vytvorené protilátky sú dostatočne aktívne pri neutralizácii aktivity FSH *ovine* a LH *bovine* v pokuse na krysách. Moudgal a Li (1961) uvádza, že AS-LH z ovčích hypofýz neinhbuje len aktivitu ovčieho LH, ale aj PMSG a ľudský LH. Naše výsledky potvrdzujú, že HCG a ovčí LH neprejavujú identické imunologické vlastnosti. McGarry a kol. (1963) uvádzajú, že pri precipitačných skúškach FSH a LH antigény vykazujú dve i viac precipitačných línií. Podľa toho v našej práci použitý FSH-*ovine* preparát by obsahoval stopy LH ako je zjavné z krížovej precipitácie.

Podobne LH *bovine* vykazuje stopy FSH. Tí istí autori uvádzajú, že po pokuse s AS-LH *ovine* a LH *porcine* nezistili pozitívnu krížovú reakciu ako sa dokázala pri inhibičnom štúdiu imunologickým a biologickým testom. Krížové reakcie nezistili ani s PMSG, extraktom z krysích hypofýz a HMG. Moudgal a Li (1961) zistili naproti tomu, že antisérum vyrobené z čistého ovčieho LH inhibovalo biologickú aktivitu PMSG a ľudského ICSH, hoci Ouchterlonyho precipitáciou nezistili žiadnu reakciu. Podľa toho by sa zdalo, že nemožnosť dokázať krížovú reakciu *in vitro*, nie je úplným dôkazom druhej špecifity hormónu. Táto rozdielnosť, ktorá sa ukázala medzi imunochemickou a biologickou identitou, môže aspoň niečo vysvetliť zo zmätku, ktorý existuje v náhľade na druhovú špecifitu gonadotropných hormónov. Sú dôkazy, ako uvádza McGarry a kol. (1963), že veľa biologickej aktivity prísudzovanej FSH je v skutočnosti vyvolávaná neúčinnou zložkou hormónu.

| Lambda      | Počet zvierat | Biolog. materiál | Imunologický pokus (HIT) aktivita v ml/mg |
|-------------|---------------|------------------|-------------------------------------------|
| 0,18 — 0,26 | 21            | sérum/1 ml       | 1,3500 (0,4237 — 3,5343)*                 |
|             | 26            | sérum/1 ml       | 1,4900 (0,4600 — 3,5200)**                |
| 0,13 — 0,28 | 18            | moč/1 ml         | 0,1120 (0,0595 — 0,1821)                  |
|             | 6             | hypofýza 1 mg    | 0,5254 (0,1898 — 1,1854)                  |

\* Butt W. R. a kol. (1964)

\*\* Wide L. (1962)

Synergizmus FSH a HCG je známy. HCG a LH majú podobné biologické a imunologické vlastnosti. Preto môže nastať pozitívna krížová reakcia medzi FSH a HCG. Mc Garry a kol. (1963) uvádzajú, že biologická aktivita FSH preparátu s obsahom 0,2 % LH môže byť inhibovaná antisérom LH. FSH antisérum, ktoré reaguje v krížovej skúške s LH môže inhibovať biologickú aktivitu FSH s tým, že inhibuje synergistu, v tomto prípade LH. Moudgal a Li (1961) uvádzajú, že ovčie AS-LH je schopné neutralizovať účinok PMSG i účinok ľudského hypofyzárneho LH. Ďalej, že ovčie AS-LH nedáva krížovú reakciu s HCG a s bravčovým LH. Flux a Li (1965) potvrdzujú vzájomnú reakciu medzi LH a PMSG. Sú tej mienky, že Ouchterlonyho precipitácia nebola dostatočne citlivá k detekcii vzájomnej reakcie medzi AS-LH a PMSG, hoci tieto zložky vytvárajú precipitačný komplex v kvantitatívnom precipitačnom teste. Menlivú citlivosť Ouchterlonyho reakcie môžeme súhlasne potvrdiť.

K relatívnym hodnotám aktivity FSH *ovine* a LH *bovine* môžeme shodne konštatovať s Rizkallah a kol. (1965), že imunologické hodnoty sú zpravidla vyššie v porovnaní s hodnotami určenými biologickým testom. Zdá sa, že zvýšenie môže byť následkom prítomnosti stálych sŕp nešpecifických komponentov v FSH a LH antigén-protilátkovom systéme, alebo A-FSH a A-LH vykazujú prímies jednej alebo viacerých aktívnych látok alebo čiastočnú prímies LH v preparáte a naopak, vo forme neprecipitujúcich antigénov a snád aj v nízkom titri protilátok, ktoré sa nemôžu preukázať dvojitou agar-gel precipitáciou. Nazdávame sa, že stupeň rozdielnosti vo výsledkoch medzi biologickým a imunologickým pokusom nie je taký, ako to uvádza tiež Rizkallah a kol. (1965), aby znehodnocoval význam imunologickej metódy. Predpokladá sa, že imunologická a biologická aktivita hormónu sú dva rozdielne faktory (Hobson a kol. 1964 cit. Rizkallah a kol. 1965). Práve táto okolnosť dovoľuje, aby imunologická metóda mohla byť použitá pre určovanie biologickej aktivity. V r. 1961 Wide a kol. popísali podobnú metódu k dôkazu LH, použitím tanizovaných ovčích červených krviniek, senzibilizovaných s HCG. Dosiahli vynikajúci index diskriminácie. Pri porovnaní našich výsledkov vzhľadom na index diskriminácie — pomer hodnôt biologických ku imunologickým — naše hodnoty neboli homogénne. Wide a Hobson (1967) v posledných pokusoch pri porovnaní aktivity HCG určovanej biologickým a imunologickým testom dostali tak isto nehomogénne výsledky. Index diskriminácie kolíše podobne ako v našich pokusoch. Shodujeme sa s názorom, že príčinu tohoto úkazu je ťažko vysvetliť. Predpokladáme, že hemaglutinačný inhibičný test zatiaľ nemôže nahradiť biologické testy k určovaniu aktivity gonadotropínov.

Došlo dňa 16. 4. 1968

Ďakujeme National Institut of Health, Bethesda, USA a prof. Dr. E. Wilhelmimu, Atlanta, Georgia USA za poskytnutie preparátov NIH-FSH-S-*ovine* a NIH-LH-B-5-*bovine*.

## Literatúra

1. BUTT, W. R. - CROOKE, A. C. - CUNNIGHAM, F. I.: Further observations on a new method for the extraction of gonadotrophins from urine. = „Acta Endocrin. (Kbh.)“, 30, 1959 : 378-386.
2. BUTT, W. R. - CROOKE, A. C. - CUNNINGHAM, F. J. - INGRASSIA, F.: Immunological test for chorionic gonadotrophin in pregnancy. = „Proceedings of the Royal Society of Medicine, Section of Obstetrics and Gynaecology“, vol. 57, 1964 : 851-854 (31-34).

3. BORTH, R. - DICZFALUSY, E. - HEINRICHS, H. D.: Grundlagen der statistischen Auswertung biologischer Bestimmungen. = „Arch. Gynäk.“, 188, 1957 : 497-538.
4. DICZFALUSY, E. - HEINRICHS, H. D.: Gonadotropine und ihre Bestimmung. = „Arch. Gynäk.“, 187, 1956 : 556-594.
5. FLUX, D. S. - CHOH HAO LI: Immunological cross reactions among gonadotrophins. = „Acta endocrinologica“, 48, 1965 : 61-71.
6. GRABAR, P. - BURTEN, P.: Immunoelktroforetičeskij analiz. = Moskva 1963, str. 206, I. I. L. Moskva.
7. MC GARRY, E. E. - BECK, J. C.: Some studies with antisera to human FSH. = „Fertility and Sterility“, 14, 5, 1963 : 558-564.
8. MOUDGAL, N. R. - CHOH HAO LI.: An immunochemical study of sheep pituitary interstitial cell-stimulating hormone. = „Archives of biochemistry and biophysics“, 95, 1, 1961 : 93-98.
9. OUCHTERLONY, O.: „Acta Path. et microbiol. Scandinav“ 25, 186, 1953 : 32, 231/cit. Michalec Č., Kořínek J., Musil J., Růžicka J.: Elektroforesa na papíře a v jiných nosičích. 157, 1959, 279.
10. PARLOW, A. F.: A rapid bioassay method for LH and factors stimulating LH secretions. = „Fed. Proc.“ 17, 1958 : 402.
11. RIZKALLAH, T. - TAYMUR, M. L. - MAI PARK, - RONALD BATT.: An immunoassay method for human luteinizing hormone of pituitary origin. = „The Journal of clinical endocrinology and metabolism“, 25, 7, 1965 : 943-948.
12. SNOOK, R. B. - COLE, H. H.: Bioassay of antisera against human chorionic gonadotrophin. = „Endocrinology“, 76, 1, 1965 : 20-26.
13. STEELMAN, S. L. - POHLEY, F. M.: Assay of the follicle-stimulating hormone based on the augmentation with human chorionic gonadotropin. = „Endocrinology“, 53, 6, 1953 : 604.
14. WIDE, L. - GEMZELL, C.: Immunological determination of pituitary luteinizing hormone in the urine. = „Acta endocrinologica“ (Kbh.) 37, 1961 : 445-449.
15. WIDE, L. - HOBSON, B.: Immunological and biological activity of human chorionic gonadotrophin in urine and serum of pregnant women and women with a hydatidiform mole. = „Acta endocrinologica“, 54, 1967 : 105-112.
16. WIDE, L.: An immunological method for the assay of human chorionic gonadotrophin. = „Acta endocrinologica“, Suppl. 70, accomp. vol. 41, Copenhagen 1962.
17. WILHELM, A. E.: Fractionation of human pituitary glands. = „Can. J. Biochem. Physiol.“ 39, 1961 : 1659-1668.

АРЕНДАРЧИК, Й., МАРАЧЕК, И. (СХИ, Ветеринарный факультет, кафедра сравнительной физиологии, Кошице, Чехословакия). Сравнение активности FSH у овец и LH (ICSH) у круп. рог. скота, определенной биологической и иммунологической пробой. Вет. Мед. (Прага) 13 (10) : 575-582, 1968.

Сравнение определенной активности FSH у овец и LH (ICSH) у крупного рогатого скота в моче, гипофизах и в сыворотке путем биологической (В) и иммунологической (I) пробы в основном не показало подходящего дискриминационного индекса. При помощи обоих этих методов нельзя было в большинстве случаев определить такую же активность гормона из того же биологического материала. Самую низкую активность FSH установили у овец не только биологически В — 0,0029 м. е./мл, но и иммунологически I — 0,0021 м. е./мл, более высокая активность оказалась в гипофизах: В — 0,10 м. е./мл, I — 0,14 м. е./мл, самая высокая в сыворотке: В — 0,27 м. е./мл, I — 0,42 м. е./мл. Активность LH (ICSH) у крупного рогатого скота оказалась самой низкой в моче В — 0,013 м. е./мл, I — 0,112 м. е./мл, более высокой в гипофизе В — 0,28 мкг NIH/мг, I — 0,52 м. е./мг и самой высокой в сыворотке В — 0,95 м. е./мл, I — 1,35 м. е./мл.

Гонадотропины; FSH; гормон стимулирующий фолликулы; овца; LH (ICSH) лютеинизирующий гормон; крупный рогатый скот; иммунологическая проба; биологическая проба; иммуноэлектрофорез; Ouchterlony; AS — антисыворотка; A-антиген.

ARENDAŘČIK, J., MARAČEK, I. (Agricultural University, Veterinary Faculty, Chair of Comparative Physiology Košice, Czechoslovakia). Comparison of the FSH Activity in Sheep and of the LH (ICSH) Activity in Cattle Determined by Means of the Biological and Immunological Test. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 575-582, 1968.

Comparison of the activity of FSH in sheep and of LH (ICSH) in cattle in the urine, in the hypophyses, and in the serum determined by means of the biological (B) and immunological (I) test produced, as a rule, no suitable discrimination index. By means of these two methods it was not possible, in a majority of cases, to determine the same activity of the hormone of an equal biological material. The lowest FSH activity was found in sheep in the urine, both biologically, B — 0,0029 m. u./ml and immunologically, — I-0,0021 m. u./ml. A higher activity was found in the hypophyses, B — —0,10 i. u./mg, I — 0,014 m. u./mg, and the highest was found in serum, B — 0,27 i. u./ml, I — 0,42 i. u./ml. In cattle the LH(ICSH) activity was lowest in the urine, B — 0,013 i. u./ml, I — 0,112 i. u./ml, it was higher in the hypophysis, B — 0,28  $\mu$ g NIH/mg, I — 0,52 i. u./mg, and it was highest in the serum, B — 0,95 i. u./ml, I — 1,35 i. u./ml.

gonadotropins, FSH, follicle-stimulating hormone, sheep, LH(ICSH) luteinizing hormone, cattle, immunological test, biological test, immunoelectrophoresis, Ouchterlony, AS-antiserum, A-antigen

ARENDARČIK, J. - MARAČEK, I. (Landw. Hochschule, Veterinärfakultät, Lehrstuhl für vergleichende Physiologie, Košice, Czechoslovakia). *Vergleich der FSH-Aktivität bei Schafen und LH- (ICSH) Aktivität beim Rind auf Grund eines biologischen und immunologischen Testes*. Vet. Med. (Praha) 13 (10) : 575-582, 1968.

Vergleich der durch einen biologischen (B) und immunologischen (I) Test im Harn, den Hypophysen und Serum festgestellten Aktivität des FSH bei Schafen und des LH (ICSH) beim Rind ergab vorwiegend keinen geeigneten Diskriminationsindex. Mit Hilfe dieser beiden Methoden war es in der Mehrzahl der Fälle unmöglich, die gleiche Aktivität des Hormons aus demselben biologischen Material zu bestimmen. Die niedrigste Aktivität des FSH wurde bei Schafen im Harn sowohl biologisch, B — 0,0029 i. E./ml, als auch immunologisch, — I-0,0021 i. E./ml, eine höhere Aktivität in den Hypophysen, B — 0,10 i. E./mg, I — 0,014 i. E./mg und die höchste Aktivität im Serum, B — 0,27 i. E./ml, I — 0,42 i. E./ml festgestellt. Die Aktivität des LH (ICSH) beim Rind war am niedrigsten im Harn, B — 0,013 i. E./ml, I — 0,112 i. E./ml, höher in der Hypophyse, B — 0,28  $\mu$ g NIH/mg, I — 0,52 i. E./mg, und am höchsten im Serum, B — 0,95 i. E./ml, I — 1,35 i. E./ml.

Gonadotrophine, FSH, follikelstimulierendes Hormon, Schaf; LH (ICSH) luteinisierendes Hormon; Rind; immunologischer Test; biologischer Test; Immunoelektrophorese; Ouchterlony; AS-Antiserum, A-Antigen

---

#### Adresa autorov:

Doc. MVDr. Jozef Arendarčík, CSc., MVDr. I. Maraček, VŠP, veterinárska fakulta, katedra porovnávacej fyziológie, Košice

---



## OBSAH

|                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Hubík R., Fedák R., Láznická F.: Purifikace viru slintavky a kulhavky fluorokarbonem . . . . .                                               | 521 |
| Bartoš J., Lebduška J.: Vývoj rezistence a polyrezistence <i>E. coli</i> z novorozených telat v letech 1962—1964 vzhledem k léčbě . . . . .  | 527 |
| Grígelová R., Turzová M.: Výskyt aviárných mykobakterií v ľudských materiáloch . . . . .                                                     | 537 |
| Straka J.: Chemoprophylaxe INH u telat v procesu eradikace tbc skotu ve velkovýrobních podmínkách . . . . .                                  | 545 |
| Kouba V.: Incidence brucelózy skotu v Československu . . . . .                                                                               | 551 |
| Hložánek I., Sovová V.: Použití COFAL a FA testů při přípravě bezleukóзовého hejna drůbeže . . . . .                                         | 561 |
| Jurajda V., Svoboda S.: Vliv Thibenzolu a Syngamixu na snášku a kvalitu vajec . . . . .                                                      | 569 |
| Arendarčík J., Maraček I.: Porovnanie aktivity FSH u oviec a LH (ICSH) u hov. dobytku určovanej biologickým a imunologickým testom . . . . . | 575 |

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Губик Р., Федак Р., Лазничка Ф.: Очищение вируса ящура при помощи флюоронагара . . . . .                                                                  | 525 |
| Бартош Я., Лебдушка Я.: Развитие резистенции и полирезистенции <i>E. coli</i> при лечении колибациллезов телят в 1962—1964 гг. . . . .                    | 535 |
| Григелова Р., Турцова М.: Появление птичьих микобактерий в человеческом организме . . . . .                                                               | 543 |
| Страка Й.: Химиопрофилактика INH у телят в процессе истребления туберкулеза крупного рогатого скота в условиях крупных хозяйств . . . . .                 | 549 |
| Коуба В.: Появление случаев бруцеллеза крупного рогатого скота в Чехословакии . . . . .                                                                   | 559 |
| Гложанек И., Совова В.: Применение COFAL и FA проб при подготовке безлейкозного стада домашней птицы . . . . .                                            | 568 |
| Юрайда В., Свобода С.: Влияние Тибензола и Сингамикса на яйценоскость и качество яиц . . . . .                                                            | 572 |
| Арендарчик Й., Маречек И.: Сравнение активности FSH у овец и LH (ICSH) у круп. рог. скота, определенной биологической и иммунологической пробой . . . . . | 581 |

## CONTENT

|                                                                                                                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Hubík R., Fedák R., Láznická F.: Purification of the Foot-and-Mouth Virus by Means of Fluorocarbon . . . . .                                                                      | 526 |
| Bartoš J., Lebduška J.: The Development of the Resistance and Polyresistance of <i>E. coli</i> in the Treatment of Colibacilloses of Calves in the Years 1962 — 1964 . . . . .    | 535 |
| Grígelová R., Turzová M.: The Occurrence of Avian Mycobacteria in Human Materials . . . . .                                                                                       | 543 |
| Straka J.: INH Chemoprophylaxis in Calves in the Process of the Eradication of Bovine Tuberculosis under the Conditions of Large-Scale Production . . . . .                       | 549 |
| Kouba V.: The Incidence of Brucellosis of Cattle in Czechoslovakia . . . . .                                                                                                      | 559 |
| Hložánek I., Sovová V.: Application of COFAL and FA Tests in the Preparation of a Leukosis-Free Poultry Flock . . . . .                                                           | 568 |
| Jurajda V., Svoboda S.: The Influence of Thibenzole and Syngamix on the Laying and Quality of Eggs . . . . .                                                                      | 572 |
| Arendarčík J., Maraček I.: Comparison of the FSH Activity in Sheep and of the LH (ICSH) Activity in Cattle Determined by Means of the Biological and Immunological Test . . . . . | 581 |



# INHALT

|                                                                                                                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Hubík R., Fedák R., Lázníčka F.: Purifikace des Maul- und Klauen-<br>seuche-Virus mit Fluorokarben . . . . .                                                                    | 526 |
| Bartoš J., Lebduška J.: Entwicklung der Resistenz und Polyresistenz der<br><i>E. coli</i> bei der Therapie der Kälberkolibazillose in den Jahren 1962—1964 . . . . .            | 535 |
| Grigelová R., Turzová M.: Vorkommen aviärer Mykobakterien in<br>menschlichen Materialien . . . . .                                                                              | 543 |
| Straka J.: INH-Chemoprophylaxe bei Kälbern im Prozesse der Ausrottung<br>der Rindertuberkulose unter Großproduktionbedingungen . . . . .                                        | 549 |
| Kouba V.: Rinderbrucellose-Inzidenz in der Tschechoslowakei . . . . .                                                                                                           | 560 |
| Hložánek I., Sovová V.: Benützung der COFAL- und FA-Teste bei der<br>Vorbereitung einer leukosefreien Geflügelherde . . . . .                                                   | 568 |
| Jurajda V., Svoboda S.: Einfluß von Thibenzol und Syngamix auf die<br>Legeleistung und die Qualität der Eier . . . . .                                                          | 573 |
| Arendarčík J., Mareček I.: Vergleich der FSH-Aktivität bei Schafen<br>und LH- (ICSH) Aktivität beim Rind auf Grund eines biologischen und im-<br>munologischen Testes . . . . . | 582 |

## TABLE DES MATIÈRES

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Hubík R., Fedák R., Lázníčka F.: Purification du virus de la fièvre<br>aphteuse par le fluorocarbène (res. An Al/526). — Bartoš J., Lebduška J.:<br>Développement de la résistance et de la polyrésistance d' <i>E. coli</i> provenant des<br>veaux nouveaux-nés dans les années 1962—1964, par rapport à la thérapie<br>(res. An. Al/535). — Grigelová R., Turzová M.: Apparition des myco-<br>bactéries aviaires chez les hommes (res. An, Al/543). — Straka J.: Propy-<br>laxie chimique d'INH effectuée chez les veaux pendant le processus d'éradica-<br>tion de la tuberculose bovine dans les conditions de grosse production (res. An,<br>Al/549). — Kouba V.: Incidence de la brucellose bovine en Tchécoslovaquie<br>(res. An/559, Al/560). — Hložánek I., Sovová V.: Application des tests<br>COFAL et FA lors de la préparation d'une bande de volaille exempte de<br>leucose (res. An, Al/568). — Jurajda V., Svoboda S.: Influence du Thi-<br>benzol et du Syngamix sur la ponte et la qualité des oeufs (res. An/572,<br>Al/573). — Arendarčík J., Mareček I.: Comparaison de l'activité de<br>FSH chez les brébis et de LH(ICSH) chez les bovins, déterminée au moyen<br>d'un test biologique et immunologique (res. An/581, Al/582). — |  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS -  
ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ul. 14,  
Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky  
do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku,  
Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, Lege-  
rova 22, Praha 2.