

VĚDECKÝ ČASOPIS

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

ROČNÍK 16 (XLIV)
PRAHA
DUBEN 1971
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí vedoucí redaktorka ing. Jovanka Václavíčková s redakční radou

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1971

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

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах 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. Published by the Institute of Scientific and Technical Information. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7.

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

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

IMUNIZÁCIA PROTI AUJESZKÉHO CHOROBE – IMUNOGENITA VYSOKO ATENUOVANÉHO KMEŇA BUK-TK-900/IV,a PRE OŠIPANÉ

A. Žuffa, J. Salaj

Bioveta, Nitra

ZUFFA A., SALAJ J. *Imunizácia proti Aujeszkeho chorobe – imunogenita vysoko atenuovaného kmeňa Buk-TK-900/IV,a pre ošipané*. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 221-233, 1971.

Študovala sa imunogenita vysoko atenuovaného kmeňa Aujeszkeho vírusu (AV) Buk-TK-900/IV,a. Zistilo sa, že jednorázové parenterálne podanie vírusu v dávkach 10^5 TKID₅₀ a vyšších vyvolá tvorbu neutralizačných protilátok (NP) v nízkych titroch, alebo zvieratá ostanú bez merateľnej protilátkovej odpovedi, pričom na opakované podanie dostatočnej dávky vírusu reagujú pohotovou tvorbou protilátok do vysokých titrov. Výška titrov NP je po dvojrázovom očkovaní úmerná veľkosti inokula použitého pri revakcinácii. Pri použití atenuovaných kmeňov o rozdielnej reziduálnej virulencii sa zistil priamy vzťah medzi intenzitou protilátkovej odpovedi a virulenciou vakcinančného vírusu. Čelenži, uskutočnenej *i. nas.* podaním virulentného vírusu za 14 dní a 5 mesiacov od očkovania, odolali všetky imunizované ošipané, ale intenzita reakcií zaznamenaných po infekcii bola úmerná obsahu NP v krvnom sére v čase jej uskutočnenia. Rýchly vzostup protilátok do vysokých titrov, ako aj nález infekčného vírusu u jedného zvierata za 20 dní po čelenži nasvedčuje tomu, že u ošipaných možno očkovaním živou Aujeszkeho vakcínou vyvolať klinickú, nie však biologickú imunitu.

Aujeszkeho choroba; atenuované vakcinačné vírusy; imunogenita; tvorba protilátok; rezistencia proti vyvolávajúcej infekcii

Sériovým pasážovaním Aujeszkeho vírusu (AV) na kuracích zárodkoch (Suhaci a kol. 1960, Bran a kol. 1963), kultúrach kuracích embryonálnych buniek (KEB) (Žuffa 1963b, 1964a, Škoda a kol. 1963b, 1964b) alebo obličkových buniek ošipaných (Bártha 1961, Bachmann 1969) sa získali atenuované kmene, ktoré sa použili pre prípravu živých vakcín. Testovaním reziduálnej virulencie vakcinačných vírusov na cicajúcich prasatách, teľatách, jahňatách a králikoch sa zistilo, že medzi jednotlivými kmeňmi sú v tomto smere značné rozdiely (Kojnok a Bártha 1962, Škoda a kol. 1964b, Žuffa 1964b). Dokázalo sa tiež, že medzi stupňom oslabenia a antigenitou AV je nepriama závislosť (Žuffa 1964b, Sokol a Jamrichová 1969). Pri rešpektovaní skutočnosti, že jednotlivé druhy hospodárskych a užitkových zvierat vykazujú rozdielnu rezistenciu proti experimentálnej infekcii AV, pri narastaní vnímavosti prasa, dobytok, ovca, kožušinové zvieratá, králik (Žuffa 1963b, 1964b, Kojnok 1964), javí sa ako najúčelnejšie oslabiť virulenciu vakcinačného vírusu, určeného pre daný druh zvierat, len do tej miery, aby sa zaručila neškodnosť pri maximálnom zachovaní jeho imunogenity.

V predchádzajúcich oznámeniach sme referovali o biologických a imunologických vlastnostiach kmeňa Buk-TK-200 (Žuffa 1964b, 1966), ktorý sa použil pre prípravu živej vakcíny proti Au. ch. v období 1963—1966. V r. 1967 bol nahradený vysoko atenuovaným vírusom Buk-TK-900/IV,a, o ktorého imunologických vlastnostiach pre ošipané referujeme v predkladanom oznámení.

MATERIÁL A METÓDY

VÍRUSY

Línia Buk-TK-900/IV,a bola izolovaná z kmeňa Bukurešť sériovo pasážovaného na kultúrach KEB. Podrobný popis postupu, ktorý sa použil pri získaní tejto línie vírusu, sme uviedli v predchádzajúcom oznámení tejto série (Žuffa 1966). Vírus je neškodný pre cicajúce prasatá aj pri inokulácii veľkých dávok *i. cer.* (okolo 10^7 TKID₅₀). Pre telatá a ovce je avirulentný pri *i. m.* podaní ľubovoľných dávok (Žuffa a Dlhý 1964, Žuffa 1966). Králiky pravidelne hynú len pri *i. m.* inokulácii veľkých dávok vírusu, kým pri použití riedeného inokula určitá časť zvierat preživa.

Viac atenuovaná línia Buk-TK-901/6,2 bola vyselektovaná z vírusu Buk-TK-900/IV,a. Z miskových kultúr KEB, infikovaných hraničnými riedeniami vírusu, sme vypichovali izolované plakové klóny, ktorými sme — po pomnožení vírusu na skúmavkových kultúrach — očkovali králiky *i. m.* Pre ďalšiu infekciu miskových kultúr sa použil klón, po očkovaní ktorým preživali králiky najdlhšie, resp. časť králikov prežila. Šesťnásobne opakovaným klónovaním takýmto postupom sa získala línia, označená ako Buk-TK-901/6,2, atenuovaná do tej miery, že z králikov očkovaných neriedeným inokulom *i. m.* (okolo 10^7 TKID₅₀) preživalo viac ako 50 %.

Kmeň K-61-Ph izoloval Bá r t h a (1961) plakovou technikou na prasačích obličkových bunkách; je avirulentný pre ošipané, dobytok a ovce a z *i. m.* očkovaných králikov preživa okolo 50 %. Používa sa k príprave živej vakcíny v Maďarsku (Bognár a Kucsera 1966) a v Juhoslávii.

Vírus Buk-621 bol derivovaný z kmeňa Bukurešť na úrovni 621. sériovej pasáže na kultúrach KEB (Š k o d a a kol. 1964b). U nás sa použil k pokusnej vakcinácii ošipaných proti Au. ch. v r. 1962—1967 (Š k o d a a kol. 1966a, Š k o d a 1967). Pri paraneurálnom podaní je neškodný pre cicajúce prasatá, ktoré však podľahnú *i. cer.* inokulácii veľkých dávok vírusu; ovce a králiky, očkované *i. m.*, hynú pravidelne bez ohľadu na veľkosť inokula.

TKANIVOVÉ KULTÚRY

Pri príprave kultúr KEB v skúmavkách pre titráciu vírusu a protilátok a miskových kultúr pre izoláciu čistých línii sme postupovali rovnako ako sme opísali v predchádzajúcich oznámeniach (Žuffa 1963a, Žuffa a Grígelová 1966).

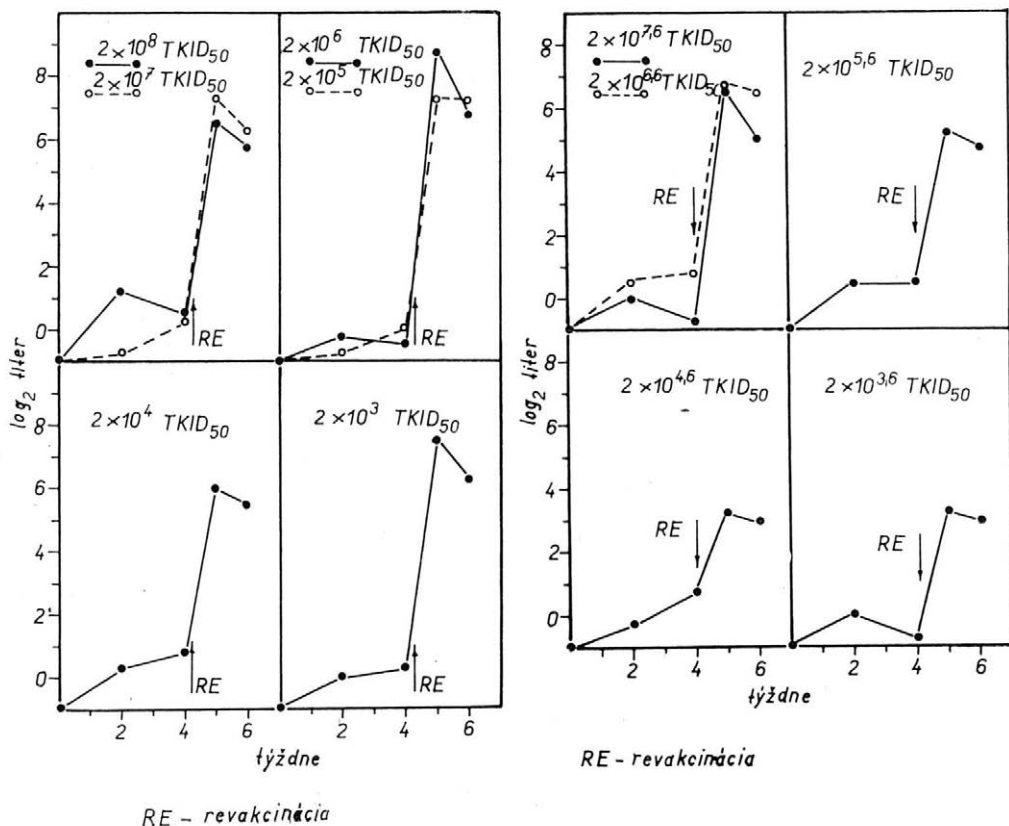
POKUSNÉ ZVIERATÁ

Použili sme odstavčatá ž. v. 20—25 kg, ktoré pochádzali z chovov prostých Au. ch. Krvné vzorky sme za účelom zistenia obsahu neutralizačných protilátok (NP) odoberali súčasne s očkovaním a potom v stanovených časových intervaloch. Séra sa inaktivovali počas 30 min. pri 56 °C a až do vyšetrenia skladovali pri -20 °C.

VÝSLEDKY

1. STANOVENIE DÁVKY VÍRUSU BUK-TK-900/IV,a POTREBNEJ NA VYVOLANIE TVORBY PROTILÁTKOV PO VAKCINÁCII A REVAKCINÁCII

Cieľom prvého pokusu bolo zistiť dávku vírusu, ktorá je potrebná na vyvolanie dokazateľnej protilátkovej odpovedi, resp. pri chýbaní protilátok po prvom očkovaní pre imunologické preladenie, vyjadrené pohotovou protilátkovou odpoveďou po opakovanom kontakte s vírusom. Ako ukázali výsledky našich predchádzajúcich vyšetrení, nevytvárajú ošipané po očkovaní vysoko atenuovanými kmeňmi AV ani po inokulácii veľkých dávok vírusu merateľné hodnoty NP, ale po kontakte s vírusom reagujú rýchlou tvorbou protilátok do vysokých titrov (Žuffa 1963b, 1964b). Dávkami vírusu Buk-TK-900/IV,a, odstupňovanými po jednej jednotke $\log_{10}$ od $2 \times 10^{8,0}$ TKID₅₀ až $2 \times 10^{3,0}$ TKID₅₀, boli očkované skupiny po 4 odstavčatách a za 28 dní všetky revakcinované jednotnou dávkou ($10^{8,5}$ TKID₅₀) rovnakého vírusu. Výsledky vyšetrenia sér na obsah NP sú znázornené na obr. 1. Ako vidieť, s klesajúcou inokulačnou dávkou vírusu sa znižuje počet zvierat, u ktorých sa po jednorázovom očkovaní dokázali nízke, ale preukazné hladiny protilátok. U všetkých prasiat, bez ohľadu na veľkosť ino-

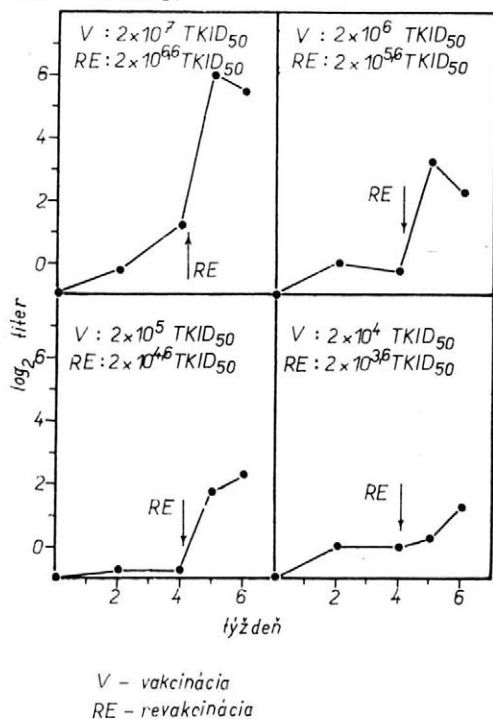


1. Hladiny NP u prasiat po očkovaní odstupňovanými dávkami a revakcinácii jednotnou dávkou ($10^{8,5}$ TKID₅₀) vírusu Buk-TK-900/IV,a

2. Hladiny NP u prasiat po očkovaní jednotnou dávkou ($10^{8,5}$ TKID₅₀) a revakcinácii odstupňovanými dávkami vírusu Buk-TK-900/IV,a

kula, sa však vyvinula imunologická pripravenosť pre pohotovú tvorbu protilátok do vysokých titrov pri opakovanej inokulácii veľkej dávky vírusu.

Účelom ďalšieho pokusu bolo určiť dávku vírusu Buk-TK-900/IV,a, potrebnú pri revakcinácii pre rýchly vzostup resp. tvorbu NP u zvierat imunologicky pripravených predchádzajúcim očkovaním. Dvadsať prasiat očkovaných dávkou $2 \times 10^{6.5}$ TKID₅₀ vírusu bolo za 28 dní revakcinovaných v skupinách po 4 zvieratá odstupňovanými dávkami vírusu, počnúc od $2 \times 10^{7.6}$ TKID₅₀ až do $2 \times 10^{3.6}$ TKID₅₀, s poklesom obsahu vírusu v inokulu vždy o jednu jednotku log₁₀. Z priebehu protilátkovej odpovedi po prvom očkovaní i revakcinácii, znázornenom na obr. 2, vyplýva, že výška titrov NP pri revakcinácii je v priamej závislosti od veľkosti inokula. Najnižšia dávka vírusu, schopná pri revakcinácii vyvolať preukazný vzostup protilátok u polovice ošetrovaných zvierat, predstavovala $10^{3.6}$ TKID₅₀.



3. Hladiny NP u prasiat po dvojrázovom očkovaní odstupňovanými dávkami vírusu Buk-TK-900/IV,a

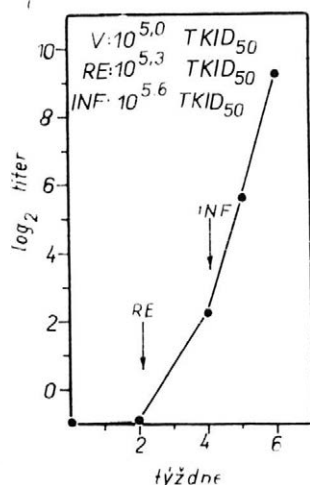
množstvo vírusu potrebné na vyvolanie merateľných titrov NP po dvojrázovom podaní sa pohybuje okolo $10^{4.0}$ TKID₅₀. Prasatá, ktoré dostali o jednu log₁₀ jednotku menšiu dávku vírusu, ostali bez protilátok rovnako ako neočkované kontroly.

2. ODOLNOSŤ OČKOVANÝCH PRASIAT PROTI I. NAS. VYVOLÁVAJÚCEJ INFEKČII VIRULENTNÝM VÍRUSOM

Pokusy s virulentnejším vírusom Buk-TK-200, ktorý aj pri aplikácii hraničných dávok vyvolá tvorbu NP v preukazných titroch ukázali, že dvojrázovo očkované prasatá odolávajú masívnej i. nas. infekcii (Žuffa 1964b). Úroveň

V obidvoch predchádzajúcich pokusoch boli odstavčatá aspoň jeden raz vakcinované veľkou dávkou vírusu, v podmienkach praktickej imunizácie sotva realizovateľnou, keď inokulum predstavovalo 2 ml neriedenej infekčnej tekutiny z tkanivových kultúr. Chceli sme preto zistiť, aká bude imunitná odozva u prasiat očkovaných odstupňovanými, ale pri prvom očkovaní i revakcinácii približne rovnakými dávkami vírusu. V tomto prípade sa, na rozdiel od obidvoch predchádzajúcich pokusov, použil lyofilizovaný vírus. Štyri ampulky s obsahom po 2 ml dehydrovaného vírusu sa riedili v 80 ml pufovaného fyziologického roztoku (riedenie 10^0) a z toho sa pripravili log₁₀ riedenia až do hodnoty 10^{-4} . Každým riedením, v množstve po 2 ml, boli očkované 4 prasatá dvojrázovo v intervale 4 týždňov, pričom jednotlivé dávky obsahovali okolo $10^{7.0}$ TKID₅₀ až $10^{3.0}$ TKID₅₀ vírusu. Zistené hodnoty NP sú znázornené na obr. 3. Vidieť, že intenzita protilátkovej odpovedi je priamo závislá na obsahu vírusu v inokulu, pričom minimálne

protilátkovej odpovedi je však po dvojrazovom očkovaní líniou Buk-TK-900/IV,a, pri použití rovnakého inokula, preukazne nižšia. Chceli sme preto zistiť stupeň chránenosti prasiat po očkovaní vírusom Buk-TK-900/IV,a, pričom cieľenou voľbou veľkosti inokula pri prvom podaní i revakcinácii sme u pokusných zvierat navodili tvorbu protilátok v nízkych až stredných titroch. Osem dvojmesačných prasiat bolo vakcinovaných dvojrázovo dávkami okolo $10^{5,0}$ TKID₅₀ vírusu v intervale dvoch týždňov a dve ostali neošetrené ako kontroly. Za 14 dní nato sme všetky infikovali i. nas. podaním 4 ml neriedenej infekčnej tekutiny (po 2 ml do každého nosného otvoru) z kultúr KEB infikovaných virulentným kmeňom OLD-TK-5 s obsahom $10^{5,6}$ TKID₅₀/ml. Obidve kontroly uhynuli na 6. deň od infekcie za klinických príznakov Au. ch., kým všetky vakcinované, bez ohľadu na obsah protilátok, prežili. V postvakačnom období došlo u väčšiny prasiat k prechodnému vzostupu telesnej teploty nad 40 °C bez poruchy celkového zdravotného stavu a k rýchlemu vzostupu protilátok do vysokých titrov (obr. 4).

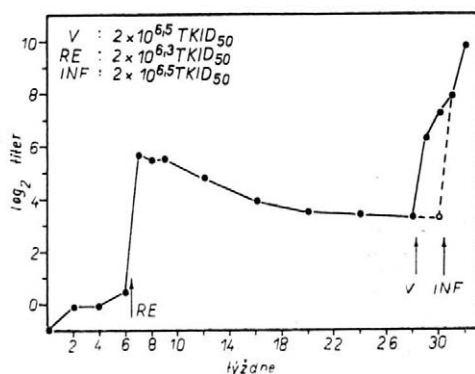


V vakcinácia
RE - revakcinácia
INF - infekcia

4. Hladiny NP u prasiat po dvojrazovom očkovaní kmeňom Buk-TK-900/IV,a a po infekcii virulentným AV

3. PRETRVÁVANIE PROTILÁTOK A ODOLNOSŤ PROTI VYVOLÁVAJÚCEJ INFEKCIÍ ZA PÄT MESIACOV PO DVOJRÁZOVOM OČKOVANÍ

Vo všetkých predchádzajúcich pokusoch sa úroveň protilátkovej odpovedi, resp. chránenosti proti vyvolávajúcej infekcii, hodnotila za krátky čas po očkovaní. Javilo sa preto účelným zistiť pretrvávanie protilátok i chránenosti proti čelení virulentným vírusom po uplynutí dlhšieho časového obdobia od uskutočnenia vakcinácie. Dvadsať odstavčiat bolo očkovaných dvojrázovo s. c. dávkami $2 \times 10^{6,5}$ TKID₅₀ resp. $2 \times 10^{6,3}$ TKID₅₀ vírusu v intervale šiestich týždňov; päť spoluumiestnených prasiat ostalo neočkovaných ako kontroly. Za päť mesiacov od revakcinácie dostala polovica z očkovaných prasiat ďalšiu dávku vakcinačného vírusu, druhá ostala neošetrená a za dva týždne nato boli všetky prasatá, včítne kontrol, podrobené vyvolávajúcej infekcii i. nas. podaním $4 \times 10^{6,6}$ TKID₅₀ virulentného vírusu OLD-TK-5 pomocou ručného zmlžovača. V čase infekcie bola priemerná ž. v. prasiat cca 90 kg. Priebeh titrov NP po vakcinácii a infekcii je graficky znázornený na obr. 5. Vidieť, že vrcholu dosiahli za 14 dní po revakcinácii, načo dochádza k pozvoľnému rovnomernému poklesu protilátok, ale ešte za päť mesiacov od očkovania pretrvávajú v stredných titroch (hodnoty 4–16). Opakovaná inokulácia vakcinačného vírusu vedie k vzostupu protilátok do titrov 32–256. Po čelení virulentným vírusom sa u prasiat, ktoré boli 14 dní predtým preočkované, nepozorovali (s výnimkou krátkodobého vzostupu telesnej teploty) zjavné príznaky ochorenia; u prasiat s nízkymi hladinami protilátok sa počnúc štvrtým dňom od infekcie dostavila malátnosť, nechutenstvo a sťažené dýchanie, doprevádzané horúčnatým stavom, ktoré za 4–5 dní vymizli, kým u nevakcinovaných kontrol sa spočiatku rovnaké klinické príznaky stupňovali a štyri z nich za príznakov dušnosti, ochrnutia a kŕčov medzi 6. až 10. dňom uhynuli.



5. Hladiny NP u prasíat po očkovaní kmeňom Buk-TK-900/IV,a a následnej infekcii virulentným AV

Infekcia viedla u všetkých vakcinovaných prasíat k rýchlemu vzostupu NP do vysokých titrov, a to bez ohľadu na východiskové hodnoty protilátok, čo poukazuje na zachytenie sa infekčného vírusu. Za účelom zistenia, či po prechodnej replikácii je zbavovanie sa infekčného vírusu z horných dýchadiel v nejakom vzťahu k aktuálnemu imunitnému stavu vyjadrenému úrovňou protilátok, odporazili sme za 12 a 20 dní po dve prasatá, ktoré v čase infekcie vykazovali stredné, resp. vysoké hodnoty NP a odoberali z nich mandle, sliznicu nosnú

I. Výsledok izolačných pokusov z dýchadiel prasíat očkovaných kmeňom Buk-TK 900/IV,a za 12 a 20 dní po i. nas. infekcii virulentným vírusom

Prasatá odporazené za dni p. i.	Čísla prasíat	Titre NP v čase infekcie	Titre NP v čase odporazenia	Výsledok izolačného pokusu z:			
				sliznice nosnej	sliznice priedušnice	mandlí	pľúc
12	11*	0	16	—**	—	—	—
	6	16	2048	—	—	—	—
	10	8	1024	—	—	—	—
	20	4	1024	—	—	—	—
	1	64	256	—	—	—	—
	16	128	1024	—	—	—	—
20	22	4	1024	—	—	—	—
	3	256	2048	—	—	—	—
	17	32	1024	—	—	1,0***	—

* — neočkované kontrolne prasa, ktoré prežilo infekciu

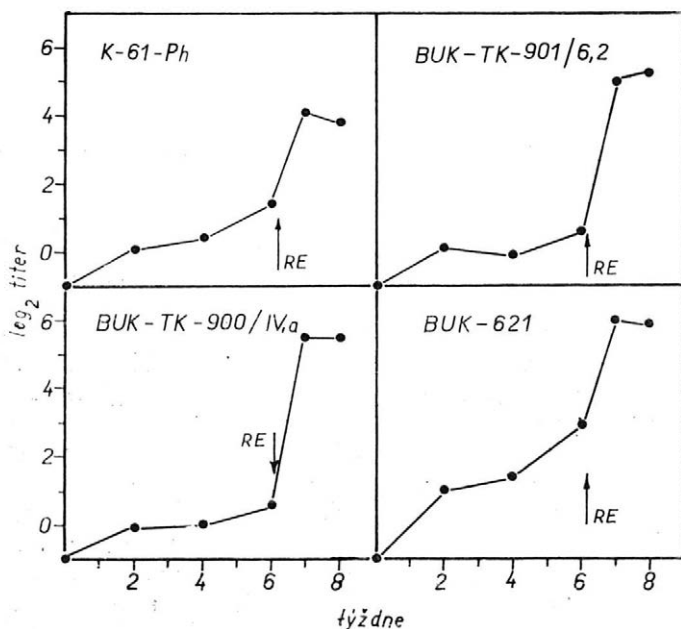
** — výsledok izolačného pokusu negatívny

*** — obsah vírusu v log TKID v 10% suspenzii

a priedušnice a časti zmeneného pľúcneho tkaniva a vyšetrovali na prítomnosť infekčného vírusu. Z výsledkov zhrnutých na tab. I vyplýva, že vírus sa dokázal len v jednom prípade, a to na mandliach prasata č. 17 odporazeného za 20 dní od infekcie, ktoré v tom čase malo titer NP 32. Všetky ostatné prasatá, včetně kontrolneho, boli bez vírusu.

4. POROVNANIE IMUNOGENITY KMEŇA BUK-TK-900/IV,a S NIEKTORYMI ĎALŠIMI ATENUOVANÝMI KMEŇMI AV

Kmene Buk-TK-900/IV,a, Buk-TK-901/6,2, K-61-Ph a Buk-621 sme pomnožili na kultúrach KEB, narastených v Rouxových fľašiach jednej výrobnéj šarže. Infekčné tekutiny po odstredení a pridaní lyofilných substancií (Laktín 5 %, laktóza 1 %) sme dehydrovali v ampulkách v množstve po 2 ml (Ž u f f a a kol. 1969). Pri každom kmeni sme rozpustili obsah 4 ampuliek v 80 ml pufovaného fyziologického roztoku a každým z nich očkovali po 10 odstavčiat dávkou 2 ml s revakcináciou za 6 týždňov. Obsah vírusu v inokulu predstavo-

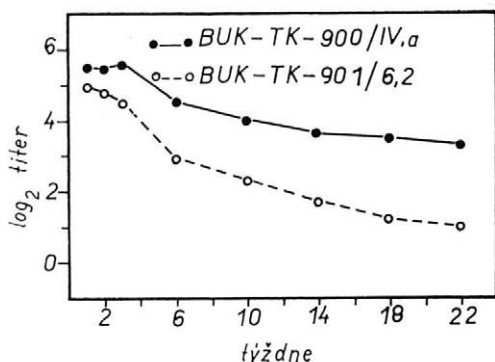


RE = revakcinácia

6. Hladiny NP u prasiat po dvojrázovom očkovaní viacerými atenuovanými kmeňmi AV

val pri kmeni Buk-TK-900/IV,a $2 \times 10^{6.5}$ TKID₅₀, pri kmeni Buk-TK-901/6,2 $2 \times 10^{6.6}$ TKID₅₀, pri kmeni K-61-Ph $2 \times 10^{6.0}$ TKID₅₀ a pri kmeni Buk-621 — $2 \times 10^{7.0}$ TKID₅₀. Priebeh protilátkovej odpovedi je znázornený na obr. 6. Najvyššie titry protilátok po prvom podaní i revakcinácii vytvorili prasatá očkované kmeňom Buk-621, najnižšie kmeňom K-61-Ph. Pre nízku antigenitu kmeňa K-61-Ph a pre úroveň reziduálnej virulencie kmeňa Buk-621 (Jamrichová a Škoda 1969, Sokol a Jamrichová 1969) sme od dlhodobého

sledovaní hladín protilátok u prasíat očkovaných uvedenými kmeňmi upustili. U prasíat očkovaných líniami Buk-TK-900/IV,a a Buk-TK-900/6,2 sa nezistili za krátky čas od vakcinácie preukazné rozdiely v úrovni protilátkovej odpovedi. Pri dlhodobom sledovaní sa však ukázalo, že pokles protilátok bol u prasíat očkovaných vírusom Buk-TK-901/6,2 preukazne rýchlejší ako u prasíat očkovaných vírusom Buk-TK-900/IV,a (obr. 7).



7. Priebeh hladín NP u prasíat po dvojrázovom očkovaní kmeňmi Buk-TK-900/IV,a, resp. Buk-TK-901/6,2

DISKUSIA

Živá Aujeszkeho vakcína, pripravená z atenuovaných kmeňov Buk-TK-200 (Žuffa 1963b, 1964b) a Buk-621 (Škoda a kol. 1964b, 1964c, 1966a) sa použila v r. 1962–1967 pre núdzové i ochranné očkovanie chovov ošipovaných v najsilnejšie zamorených oblastiach nášho štátu. Obidva vakcinačné vírusy vykazovali reziduálnu neurovirulenciu pre cicajúce prasatá pri i. cer. podaní (Žuffa 1964b, Škoda a kol. 1964b) a po s. c. inokulácii sa približne u 18 % prasíat dokázala prítomnosť vírusu v CNS bez vývoja akýchkoľvek klinických príznakov (Jamrichová a Škoda 1969). Pri očkovaní prasníc v rozličnom štádiu gravidity sa vírus neprenášal diaplacentárne (Žuffa 1964a). Inokulácia vírusu Buk-621 plodom vo veku 88 dní i. p. zapríčinila u 50 % odumretie a mumifikáciu (Sokol a Jamrichová 1969). Pri praktickom použití obidvoch vakcín na veľkom počte zvierat sa nezistili nežiadúce vedľajšie účinky (Žuffa 1965, Škoda a kol. 1966a), pričom očkovanie viedlo k podstatnému zníženiu hospodárskych strát i obmedzeniu vzplanutí Au. ch. v zamorených oblastiach (Škoda a kol. 1966a, Škoda 1967). Za nákazovej situácie, aká panovala pri zahajovaní očkovania (Grúnert a Škoda 1964, Škoda a Grúnert 1966), sa vychádzalo z predpokladu, že použitielivej vakcíny z virulentnejších kmeňov o vysokej imunogenite povedie k postupnému vytlačaniu terénnych virulentných vírusov, cirkulujúcich v populácii prasíat (Žuffa 1964b, 1965), s perspektívou, že po stabilizácii nákazovej situácie sa použije vakcína z avirulentného kmeňa, i keď o nižšej antigénnej potenci.

Postupom opísaným v metodickí časti tejto práce sme získali líniu Buk-TK-900/IV,a avirulentnú pre ovce (Žuffa 1966) a dobytok (Žuffa a Dlhý 1964). V pokusoch na ošipovaných sa dokázala neškodnosť tohoto vírusu pre zvieratá rozličného veku a pri rozličnom spôsobe aplikácie: Novonarodené bezkolostrálne a bezmikróbne prasatá prežívajú i. cer. inokuláciu vírusu v dávkach okolo 10^6 TKID₅₀ a po s. c. podaní cicajúcim prasatám pretrvávajú vírus v mieste vpichu len do 2. dňa bez toho, že by prenikol do priľahlých lym-

fatických uzlín; *i. perit.* infikované 88dňové plody sa po prechodnej replikácii zbavujú vírusu a vytvoria NP (Sokol a Jamrichová 1969). V predchádzajúcich oznámeniach sme konštatovali, že antigénna potencia AV je úmerná virulencii toho ktorého kmeňa (Žuffa 1964b). Tento nález, takmer všeobecne platný v imunológii vírusových infekcií, je pri Au. ch. doložený zisteniami, že infekcia prasiat virulentným AV vedie k tvorbe vysokých hladín NP (Škoda a kol. 1963a, McFerran a Dow 1965), jednorázové podanie kmeňov so zníženou virulenciou vyvolá tvorbu nízkych, ale merateľných hladín NP u všetkých zvierat (Škoda a kol. 1964b, 1964c, Žuffa 1964b), kým u prasiat očkovaných avirulentnými kmeňmi sa nezistujú nijaké, alebo len veľmi nízke hladiny NP a predchádzajúci kontakt s vírusom sa dokazuje len podľa pohotovej protilátkovej odpovedi pri revakcinácii (Kojnok a Bártha 1962, Kojnok 1964, Žuffa 1964b, 1966, Bognár a Kucsera 1966, Kucsera 1967). Prihliadajúc k stupňu atenuovania vírusu Buk-TK-900/IV, a bolo hlavným cieľom predmetného štúdia stanoviť jeho antigénnu potenciu pre ošipané. Výsledky uskutočnených pokusov ukázali, že po jednorázovom podaní je protilátková odpoveď veľmi slabá aj pri použití veľkých dávok vírusu. Pre navodenie imunologického preladenia, charakterizovaného pohotovou protilátkovou odpoveďou pri opakovanom antigénnom podnete, bolo potrebné prinajmenej 10^3 TKID₅₀ vírusu, ale pri revakcinácii bola pre vyvolanie vzostupu protilátok do vysokých titrov potrebná veľká dávka vírusu (10^6 TKID₅₀ a viac). V súhlase s nálezmi Bognára a Kucseru (1966) a Kucseru (1967), vzťahujúcimi sa na kmeň K-61-Ph, sa v našom pokuse s použitím odstupňovaných dávok vírusu pri prvom očkovaní i revakcinácii dokázala priama závislosť medzi veľkosťou inokula a obsahom NP v krvnom sére, pričom dvojrázové podanie vírusu v množstve okolo 10^3 TKID₅₀ ostalo bez merateľnej protilátkovej odpovedi. Táto dávka je preukazne väčšia ako pri virulentnejších líniiach Buk-TK-200 (Žuffa 1964b), resp. Buk-621 (Škoda a kol. 1964c), derivovaných z rovnakého kmeňa Bukurešť. Naproti tomu dvojrázové podanie veľkého inokula (10^6 TKID₅₀ a viac) vyvolalo tvorbu NP v stredných až vysokých titroch (32 až 512). Pri testovaní antigenity štyroch kmeňov AV o rozdielnej virulencii vyvolal najvýraznejšiu protilátkovú odpoveď kmeň Buk-621 s reziduálnou neurovirulenciou pre prasatá, najslabšiu avirulentný vírus K-61-Ph. Rýchlejší pokles protilátok v skupine prasiat očkovanej viac atenuovanou líniou Buk-TK-901/6,2 v porovnaní s líniou Buk-TK-900/IV, a poukazuje na ich rozdielnú antigenitu. Po potvrdení neškodnosti vakcinačného kmeňa Buk-TK-900/IV, a pre ovce (Žuffa 1966) a pre ošipané nie je ďalšie oslabovanie jeho virulencie želané, naľko vedie súčasne k poklesu antigenity vírusu. Porovnanie distribúcie AV v orgánoch experimentálne infikovaných ošipáných kmeňmi o rozdielnej virulencii (McFerran a Dow 1965, Sabó a kol. 1968, Rajčani a kol. 1969, Jamrichová a Škoda 1969) s úrovňou vyvolanej protilátkovej odpovedi poukazujú na to, že je priamy vzťah medzi rozsevom vírusu v organizme a zisťovanými titrami NP, tj. že hladiny NP sú úmerné množstvu produkovaného vírusového antigénu. Tento názor podporuje aj zistenie, že schopnosť rovnakého vírusu vyvolať merateľné hodnoty protilátok u rozličných druhov zvierat je určená aj ich vnímateľnosťou na experimentálnu infekciu AV; po jednorázovom očkovaní vírusom K-61-Ph ostali ovce bez reakcií, ale aj bez protilátok, kým psi, z ktorých väčšina po očkovaní ochorela a časť uhynula, vytvorili NP v preukazných titroch (Kojnok 1964). Navyac v inaktivovanom stave sa nezistili rozdiely v antigénnej potencii virulentných a atenuovaných kmeňov (Žuffa 1963a).

Vakcinované zvieratá prežili vyvolávajúcu infekciu, ktorej podľahli neočkované kontroly, a to bez ohľadu na to, či sa uskutočnila za krátky čas, alebo až za päť mesiacov od vakcinačného zákroku. Intenzita a trvanie reakcií boli však závislé od obsahu protilátok zisťovaných v krvnom sére v čase infekcie, čo je v súhlase s našimi pozorovaniami (Žuffa 1964b, 1966) i údajmi iných autorov (Kojnok 1964, Škoda a kol. 1964b, 1964c, Kucsera 1967). Vzostup protilátok zaznamenaný po infekcii u všetkých vakcinovaných zvierat možno považovať za výsledok antigénneho podnetu vyvolaného vírusom depónovaným, prípadne replikovaným na sliznici horných dýchadiel. I keď sa v rámci patogenetických štúdií (McFerran a Dow 1965, Sabó a kol. 1968, Rajčáni a kol. 1969) zisťoval obvykle priamy vzťah medzi objavením sa NP v krvnom sére a miznutím vírusu z organizmu, nález vírusu na mandliach na 20. deň od infekcie u prasata, ktoré v čase infekcie vykazovali titer NP 32 a v čase izolácie vírusu 1024 potvrdzuje, že takýto vzťah nie je všeobecne platný (Sabó 1969). Naše zistenia aj nálezy Saba (1969) nasvedčujú tomu, že pri Au. ch. možno očkovaním živou vakcínou vyvolať stav klinickej chránenosti, nie však imunitu biologickú, ktorá by bola vstave zabrániť uchyteniu a pretrvávaniu vírusu na sliznici horných dýchadiel. Zatiaľ však nie je ani známe, či biologická imunita sa pri Au. ch. vytvorí po prekonaní prirodzenej infekcie virulentným vírusom. U koní očkovaných atenuvanými vírusami infekčnej rhinopneumonitídy, resp. infekčnej arteritídy, patriacich taktiež do skupiny herpesvírusov, zistili Doll a kol. (1968) a Bryans (1969), že nízke titry protilátok sú prejavom klinickej a vysoké biologickej imunity pri kontakte s virulentnými vírusami.

Rozširujúce sa poznatky o stave chránenosti prasiat očkovaných živou vakcínou proti infekcii virulentným vírusom dovoľujú presnejšie vymedziť úlohu ochranného očkovania v boji proti Au. ch. Očkovanie je plne oprávnené v infikovaných a infekciou bezprostredne ohrozených chovoch nachádzajúcich sa v enzooticky zamorených oblastiach, ale kontraindikované v oblastiach nákazy prostých. Zvieratá s vysokými hladinami protilátok sú pri zavlečení virulentného vírusu do chovu chránené bezprostredne, kým u prasiat s nízkymi titrami NP sa ochrana proti infekcii zakladá na pohotovom vzostupe protilátok do vysokých titrov. Sérologická pozitivita vyvolaná očkovaním, ktorá nie je doprevádzaná stupňom chránenosti zabráňujúcim uchyteniu sa a pretrvávaniu vírusu v horných dýchadlách, vylučuje z ochranného očkovania chovy, ktorým nehrozí bezprostredné nebezpečenie infekcie. Z epizootologického hľadiska mimoriadne dôležitá otázka, či vakcinácia môže urýchliť elimináciu virulentného vírusu z infikovaného chovu, ostáva zatiaľ otvorená a pre jej objasnenie sú potrebné ďalšie pokusy.

Literatúra

- BACHMANN P. A., 1969, Attenuiertes Pseudorabies-Virus und seine Verwendung als Lebendimpfstoff. Internat. Pig Vet. Soc. Proc. of the 1st Congress, Cambridge 23.-28. 6. 1969.
- BÁRTHA A., 1961, Kísérletek az Aujeszky-féle vírus virulenciájának szélidítésére. Magy. állatorv. L. 16 : 42-45.
- BOGNÁR F., KUCSERA G., 1966, Untersuchungen mit schwach virulenter Aujeszky-Vakzine. Acta Vet. Ac. Sci. Hung. 16 : 73-82.
- BRAN L., SUHACI I., URSACHE R., 1963, Cercetari cu privire la imunizarea porcilor contra bolii lui Aujeszky cu un virus-vaccin avianizat. Lucr. Stiint. Inst. Pasteur. Bucuresti, 7 : 5-33.
- BRYANS J. T., 1969, On immunity to disease caused by Equine herpesvirus 1. J. Am. Vet. Med. Assoc. 155 : 294-300.

- DOLL E. R., BRYANS J. T., WILSON J. C., McCOLLUM W. H., 1968, Immunization against equine viral arteritis using modified live virus propagated in cell cultures of rabbit kidney. *Cornell Vet.* 57 : 497-524.
- GRÜNERT Z., ŠKODA R., 1964, Epizootológia Aujeszkého choroby v ČSSR. I. História a zemepisné rozšírenie. *Vet. Med. (Praha)* 9 : 351-360.
- JAMRICHOVÁ O., ŠKODA R., 1969, Multiplication and distribution of attenuated pseudorabies virus in the organism of vaccinated pigs. *Acta virol.* 13 : 42-51.
- KOJNOK J., BÁRTHA A., 1962, Immunizálási kísérletek a csökkent virulenciájú Aujeszký-féle vírussal. *Magy. állatorv. L.* 17 : 19-20.
- KOJNOK J., 1964, Versuche zur aktiven Immunisierung von Rindern, Hunden und Nerzen gegen die Aujeszkysche Krankheit. *Acta vet. Ac. Sci. Hung.* 14 : 281-286.
- KUCSERA G., 1967, Comparative study of the degree and duration of immunity conferred by freeze-dried and liquid Aujeszký's vaccine. *Acta vet. Ac. Sci. Hung.* 17 : 73-82.
- McFERRAN J. B., DOW C., 1965, The distribution of the virus of Aujeszký's disease (Pseudorabies virus) in experimentally infected swine. *Am. J. Vet. Res.* 26 : 631-625.
- RAJČANI J., SABÓ A., BLÁŠKOVIČ D., 1969, Studies on the pathogenesis of Aujeszký's disease. II. The distribution of virus after subcutaneous infection. *Acta virol.* 13 : 52-59.
- SABÓ A., RAJČANI J., BLÁŠKOVIČ D., 1968, Studies on the pathogenesis of Aujeszký's disease. I. Distribution on the virulent virus in piglets after peroral infection. *Acta virol.* 12 : 214-221.
- SABÓ A., 1969, Persistence of perorally administered virulent pseudorabies virus in the organism of non-immune and immunized pigs. *Acta virol.* 13 : 269-277.
- SOKOL A., JAMRICHOVÁ O., 1969, Distribúcia atenuovaných vakcinačných kmeňov vírusu Aujeszkého choroby v prasačích fétach po intraperitoneálnej aplikácii. Referát prednesený na 7. výročnom sjazde Čsl. spoločnosti mikrobiologickej pri ČSAV v Brne v dňoch 4.-6. 11. 1969.
- SUHACI I., URSACHE R., TOMESCU V., 1960, Cercetari asupra modificatorilor suferite de virusul Aujeszký prin treceri numeroase pe oul de gaina embrionat. *Studii si Cercet. de Inframicrobiol.* 11 : 263-272.
- ŠKODA R., SÁDECKÝ E., MOLNÁR J., 1963a, Über die bei Mutterschweinen nach natürlicher Infektion serologisch nachweisbare Immunität gegen die Aujeszkysche Krankheit. *Arch. exp. Veterinärmed.* 17 : 1361-1370.
- ŠKODA R., BRAUNER I., SÁDECKÝ E., SOMOGYIOVÁ J., 1963b, Imunizácia ošípaných proti Aujeszkého chorobe živou vakcínou z modifikovaného vírusu. *Veterinářství* 13 : 293-295.
- ŠKODA R., JAMRICHOVÁ O., 1964a, Maloplakové varianty vírusu Aujeszkého choroby na kuracích embryonálnych bunkách. Referát prednesený na medzinárodnom sympoziu o prevencii chorôb mláďat hosp. zvierat v Brne v dňoch 20. až 23. 10. 1964.
- ŠKODA R., BRAUNER I., SÁDECKÝ E., MAYER V., 1964b, Immunization against Aujeszký's disease with live vaccine. I Attenuation of virus and some properties of attenuated strains. *Acta virol.* 8 : 1-9.
- ŠKODA R., BRAUNER I., SÁDECKÝ E., SOMOGYIOVÁ J., 1964c, Immunization against Aujeszký's disease with live vaccine. II. Immunization of pigs under laboratory conditions. *Acta virol.* 8 : 123-134.
- ŠKODA R., BRAUNER I., SÁDECKÝ E., SOMOGYIOVÁ J., JAMRICHOVÁ O., 1966a, Imunizácia proti Aujeszkého chorobe živou vakcínou. III. Imunizácia ošípaných vakcínou BUK v terénnych podmienkach. *Vet. Med. (Praha)* 11 : 85-96.
- ŠKODA R., GRÜNERT Z., 1966, Epizootologie der Aujeszkyschen Krankheit in der ČSSR. II. Vorkommen wiederholter Ausbrüche der Seuche in der Westslowakei in den Jahren 1955-1964. *Arch. exp. Veterinärmed.* 20 : 427-434.
- ŠKODA R., 1967, Imunizácia proti Aujeszkého chorobe živou vakcínou. IV. Výskyt Aujeszkého choroby v chovoch ošípaných očkovaných vakcínou BUK. *Vet. Med. (Praha)* 12 : 283-292.
- ŽUFFA A., 1963a, Versuch zur Immunisierung von Laboratoriumstieren und Schweinen mittels Formaldehyd- und UV-Strahlen-inaktiviertem Aujeszký-Virus. *Arch. exp. Veterinärmed.* 17 : 593-613.
- ŽUFFA A., 1963b, Immunisierung gegen die Aujeszkysche Krankheit. I. Gewinnung des modifizierten Virus der Aujeszkyschen Krankheit. *Arch. exp. Veterinärmed.* 17 : 1325-1344.

- ZUFFA A., DLHÝ V., 1964, Immunisierung gegen die Aujeszky'sche Krankheit. VI. Vakzinierung von Rindern mit dem modifizierten Virus der Aujeszky'schen Krankheit. *Mh. Veterinärmed.* 19 : 801-803.
- ZUFFA A., 1964a, Immunisierung gegen die Aujeszky'sche Krankheit. III. Impfung der Mutterschweine mit dem modifizierten Virus mit besonderer Beachtung der diaplazentaren Übertragung des Virus und der kolostralen Übertragung der Antikörper. *Zbl. Bakt. I. Orig.* 192 : 280-287.
- ZUFFA A., 1964b, Immunisierung gegen die Aujeszky'sche Krankheit. IV. Einige immunologische Eigenschaften des modifizierten Virus der Aujeszky'schen Krankheit. *Arch. exp. Veterinärmed.* 18 : 1099-1117.
- ZUFFA A., 1965, Aujeszky's disease and its control in CSSR. *Bull. Off. int. Épiz.* 63 : 1865-1868.
- ZUFFA A., 1966, Immunization against Aujeszky's disease. VII. The use of a further modified virus for preventive vaccination of sheep. *Zbl. Bakt. I. Orig.* 201 : 423-431.
- ZUFFA A., GRIEGELOVÁ K., 1966, Immunisierung gegen die Aujeszky'sche Krankheit. II. Studium, der Zytopathogenität und Plaque-Morphologie verschiedener Virusstämme in Beziehung zu ihrer Virulenz für Schweine. *Arch. exp. Veterinärmed.* 20 : 127-140.
- ZUFFA A., ŽÁK O., DUBAJ J., 1969, Lyophilization of Aujeszky's (Pseudorabies) virus. I. Selection of protective medium. *Vet. časopis (Košice)* 12 : 73-83.

Došlo dne 18. 5. 1970

ЖУФФА А., САЛАЙ Й. (Биовета, Нитра, Чехословакия). Иммунизация против болезни Ауэски — иммуногенность высокоаттенуированного штамма Buk-TK-900/IV_a для свиней. *Vet. Med. (Praha)* 16 (4) : 221-233, 1971.

Изучалась иммуногенность высокоаттенуированного штамма вируса Ауэски (ВА) Buk-TK-900/IV_a. Оказалось, что одноразовая парентеральная подача вируса в дозах $10^{3.5}$ TKID₅₀ и выше вызвала образование нейтральных антител (НА) в низких титрах, или же животные на нее не реагируют, причем при повторной подаче достаточной дозы вируса животные реагируют моментальным образованием антител высоких титров. Уровень титров НА после двукратной прививки пропорционален размеру инокулы, введенной при повторной вакцинации. При применении аттенуированных штаммов с различной резидуальной вирулентностью понизилось прямое соотношение между интенсивностью реакции антител и вирулентностью вакцинируемого вируса. Нагрузку, вводимую i. nas. подачей вирулентного вируса через 14 дней в течение 5 месяцев после прививки, выдержали все иммунизированные свиньи, однако интенсивность реакции, отмеченной после инфекции, была соразмерна содержанию НА в сыворотке крови во время ее проведения. Быстрое повышение антител до высоких титров, так же как и диагноз инфекционного вируса у одного животного спустя 20 дней свидетельствуют о том, что у свиней путем прививки живой вакцины Ауэски можно вызвать клинический, а не биологический иммунитет.

болезнь Ауэски; аттенуированные вакцинальные вирусы; иммуногенность; образование антител; устойчивость к вызванной инфекции

ZUFFA A., SALAJ J. (Bioveta, Nitra, Czechoslovakia). *Immunization against Aujeszky's Disease — Immunogenicity of the Highly Attenuated Aujeszky's Virus Strain (AV) Buk-TK-900/IV_a for Pigs.* *Vet. Med. (Praha)* 16 (4) : 221-233, 1971.

The investigations revealed that the organism of the animals reacted on parenteral administrations of the virus in single doses of $10^{3.5}$ TKID₅₀ or higher either by the production of low titres of neutralization antibodies (NP) or the treated animals did not show any measurable antibody reaction. Consecutive administrations of sufficiently potent doses of the virus provoked prompt antibody production of high titre levels. The titre values of NP produced after two consecutive inoculations are in proportional relationship to the potency of the inoculum used for the revaccination. By the study of the administration of attenuated virus strains of different residual virulence it has been found that there existed a direct relationship between the intensity of the antibody response and the virulence of the virus used for the inoculation. It was revealed by the challenge effectuated by administration of the virulent virus i. nas. in intervals of 14 days and 5 months after the inoculation that all immunized pigs remained resistant although the intensity of response after the in-

fection was proportional to the NP values in the blood serum at the time of the treatment. The observed rapid antibody development reaching high titre values as well as the presence of the virus used for the infection in one of the experimental animals 20 days after the challenge, suggest that it is possible to attain clinical but not biological immunity in pigs by inoculations of live Aujeszky virus vaccine. vaccine clinical but not biological immunity.

Aujeszky's disease; attenuated vaccine viruses; immunogenicity; production of antibodies; infection resistance

ZUFFA A., SALAJ J. (Bioveta, Nitra, Tschechoslowakei). *Immunisierung gegen die Aujeszky-Krankheit — Immunogenität des hochattenuierten Stammes Buk-TK-900/IV,a für Schweine*. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 221-233, 1971.

Es wurde die Immunogenität des hoch attenuierten Aujeszky-Virusstammes (AV) Buk-TK-900/IVa untersucht. Es wurde festgestellt, daß die einmalige parenterale Verabreichung des Virus in Dosen von 10^5 TKID₅₀ und mehr die Bildung von Neutralisationsantikörpern (NA) mit niedrigen Titern verursacht oder daß bei den Tieren keine meßbare Antikörperreaktion nachgewiesen werden kann, wobei auf wiederholte Verabreichung einer genügenden Virusdosis die Tiere mit der Bildung von Antikörpern mit hohen Titern reagieren. Die Höhe der NA-Titer nach zweimaliger Impfung entspricht der Größe des bei der Revakzination benutzten Inokulums. Bei Verwendung attenuierter Stämme von unterschiedlicher Residualvirulenz wurde eine direkte Beziehung zwischen der Intensität der Antikörperreaktion und der Virulenz des Vakzinevirus festgestellt. Dem i. nas. verwirklichten Challenge (durch Verabreichung des virulenten Virus 14 Tagen und 5 Monaten nach der Impfung) widerstanden alle immunisierten Schweine, aber die nach der Infektion festgestellte Reaktionsintensität war proportionell dem NA-Gehalt des Blutserums in der Zeit ihrer Verwirklichung. Der schnelle Anstieg der Antikörper zu hohen Titern und auch der Befund des Infektionsvirus bei einem Tier 20 Tagen nach dem Challenge zeugt davon, daß man durch Impfung mit der lebenden Aujeszky-Virus-Vakzine eine klinische, nicht aber biologische Immunität hervorrufen kann.

Aujeszky-Krankheit; attenuierte Vakzinationsviren; Immunogenität; Antikörperbildung; Infektionsresistenz

Adresa autorů:

Doc. MVDr. A. Žuffa, MVDr. J. Salaj, Bioveta, Nitra

O p r a v a

Prosíme čtenáře, aby si v časopise Veterinární medicína č. 9, ročník 1970, u článku L. Šlesingra ZMĚNY V KREVNÍM SÉRU U DISTOMATÓZNÍCH OVCÍ nahradili zastaralý výraz „distomatóza“ pojmem „dikrocelióza“.

Děkujeme Vám.

Redakce

LEČBA KOLIBACILÓZ NOVOROZENÝCH SELAT KOMBINACEMI FURAZOLIDONU S NEOMYCINEM NEBO S CHLORAMFENIKOLEM

J. Lebduška, M. Poláková, J. Bartoš

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

LEBDUŠKA J., POLÁKOVÁ M., BARTOŠ J. *Léčba kolibacilóz novorozených selat kombinacemi furazolidonu s neomycinem nebo s chloramfenikolem.* Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 235-246, 1971.

Ve čtyřech chovech na 731 novorozeném seletu nemocném kolibacilózou jsme současně ve stejných vrzích srovnávali terapeutickou účinnost kombinace neomycinu 50 mg s furazolidonem 20 mg a kombinace chloramfenikolu 50 mg s furazolidonem 20 mg. Tyto dávky byly aplikovány 1X denně. První kombinací bylo vyléčeno průměrně 99,1 %, druhou 99,7 % selat. U kombinace s chloramfenikolem byla však v průměru signifikantně kratší doba potřebná k vyléčení a nižší výskyt recidiv. Účinnost obou přípravků co do doby léčení a počtu recidiv byla v různých chovech různá. *In vitro* působí obě složky u obou kombinací synergicky na kmeny *E. coli* z uhynulých a nemocných selat v těch koncentracích, v nichž každá složka inhibuje jen část kmenů. Synergismus byl silněji vyjádřen u kombinace neomycinu s furazolidonem.

citlivost *E. coli in vitro*; gastroenteritis; kolienteritis; průjmy; synergismus *in vitro*

Velké produkční a ekonomické škody, které ve velkochovech prasat působí kolibacilózy a jiné gastroenteritidy novorozených selat, není potřebí zde podrobněji z literatury dokládat. Proto zdokonalení dosavadních způsobů terapie těchto chorob zůstává stále naléhavým úkolem.

V této práci popisujeme výsledky použití dvou kombinací uvedených v nadpisu. Z nich použití kombinace neomycinu s furazolidonem u selat nebylo dosud v literatuře nám dostupné popsáno. U telat jsme s ní pracovali rovněž jako první (Lebduška, Poláková, Bartoš 1966, Poláková, Lebduška 1967). Kombinaci chloramfenikolu s furazolidonem zkoušel u selat do 10 dní stáří Vačev (1966) resp. Vačev (1968), a to ve vysokých dávkách po 0,3 g obou součástí 2X denně (= 0,6 g *pro die*) po tři až čtyři dny, nebo dokonce po 0,5 g *pro sele*. Vzhledem k tomu, že dávky použité tímto autorem — zvláště u furazolidonu — se jeví příliš nadměrné proti ostatním autorům, shromáždili a zhodnotili jsme soustavně z dostupné literatury údaje o dózování všech tří složek obou zkoušených kombinací, abychom získali podklady pro výběr účelných a ekonomických dávek v našich pokusech. Z literatury citujeme pouze ty autory, kteří popisují vlastní pokusy u novorozených resp. sajících selat, nebo se alespoň rámcově zmiňují o svých klinických zkušenostech, pokud uvádějí použité dávky. Při soustavném studiu literatury se ukázalo, že u všech tří léčiv, s nimiž jsme pracovali, jsou v literatuře udávány velmi rozdílné dávky. Pro usnadnění přehledu citujeme autory ve skupinách podle výše

dávek, které používali a uvádíme i počet dávek *pro die*, pokud se o něm autoři zmiňují. Zahrnujeme pouze dávky pro novorozená selata nebo pro sající asi do 10 až 12 dní stáří, s nimiž jsme sami pracovali. Nepřihlížíme k pracím, které udávají dózování v jednotkách, protože optimální a dnes běžné oficiální přípravky se dávkují ve váhových mírách, a přepočty z jednotek na váhu se v novější literatuře již ani neuvádějí.

Neomycin v nízkých dávkách 20 až 30 mg pro kg. ž. v. resp. pro sele (což je u novorozených selat přibližně totéž) použili Kohler a Bohl (1964) — 20 mg 2X denně a Smith a Jones (1961) — 30 mg 2X denně. Do rozsahu těchto dávek na kg ž. v. spadá i množství, které užívali Kenworthy a Crabb (1965) — pro třítydenní sele 100 mg 1X *pro die*, i dávka doporučená v přípravku Neoamfo (Squibb 1966). Gould (1962) doporučuje jako účinnou dávku 30 až 66 mg/kg 1X denně nebo 15 až 33 mg/kg 2X denně. Dózi 10 až 22 mg/kg 1X denně označuje jako málo účinnou. Vysokou dávku — 100 mg neomycinu pro novorozené sele 1X denně — podával Mortimer (1968).

Z prací o chloramfenikolu citujeme jen ty, které byly provedeny s dnes běžných opticky aktivním a oficiálním (ČsL 3, 1970) chloramfenikolem (levomicetinem v SSSR). Necitujeme starší práce, ve kterých byl použit racemický chloramfenikol (v SSSR sintomicin), protože dávkování této formy je jiné, zpravidla dvojnásobné, než u nyní používaného opticky aktivního přípravku a uvádění dávek obou přípravků vedle sebe by mohlo vést k záměnám, jako tomu bylo v minulosti.

U chloramfenikolu doporučují nízké dávky v rozsahu 20 až 60 mg pro kg ž. v. resp. pro sele tito autoři: Čumačenko (1965) — 20 mg/kg, Amanov a Changel (1967) — 20 mg/kg 2X až 3X denně, Gould (1962) — první dávku 22 mg/kg a dalších 11 mg/kg každých 12 hod., Bockemühl (1958) — 25 až 30 mg/kg, jen jediná dávka, v případě potřeby 1X denně, Kohler a Bohl (1964) — 30 mg 2X *pro die*, Wege (1969) — minimálně 15 až 20 mg/kg ž. v., selatům spíše 50 mg/kg, English a Seawright (1961) — 25 až 50 mg/kg ž. v., Kopecký (1962) — 3X denně 62 mg bylo nejvhodnější. V přípravcích Enterotononu a Amfuridonu připadá podle složení a dávek udaných Dornem (1963), Bugnowskim a Liebaugem (1968) a výrobci asi 20–40 mg chloramfenikolu 2X denně pro sele ve stáří jeden až sedm dní. Středně vysoké dávky chloramfenikolu, tj. kolem 100 mg, použili Riemer (1961) — jen jediná dávka 100 mg, Kopecký (1962) — 1X až 2X denně 125 mg, Vačev resp. Vačev (1966, 1968) 100 mg 1X až 2X denně. Vysoké dávky 0,3 až 0,5 g užíli Diernhofer a Glawischmig (1963) — 0,3 g, Glawischmig (1965) — 0,3 až 0,4 g, Vačev resp. Vačev (1966, 1968) — 0,3 g 2X nebo 0,5 g 1X denně.

U furazolidonu nalézáme zvlášť velké rozdíly v udávaných dávkách. Nízké dávky 10 až 50 mg/kg ž. v. nebo pro sele doporučují Chomenko (1966a, b, c) — dóze 8 až 10 mg na kg ž. v. 2X denně po tři až pět dní, Ivanova (1962) — 10 mg/kg 2X denně po šest dní, Callear a Smith (1966) — 10 až 20 až 50 mg/kg *die* po čtyři dny, nejlépe 50 mg. Pohl a Thomas (1967) doporučují 25 až 50 mg/kg ž. v. V přípravcích Enterotononu a Amfuridonu se dózuje podle složení a dávek udaných Dornem (1963), Bugnowskim a Liebaugem (1968) a výrobci asi od 30 do 75 mg furazolidonu 2X denně pro selata ve stáří jeden až sedm dní. Podle návodu výrobce přípravku Furazolidon-Paste se podává selatům do stáří jednoho týdne 50 mg fura-

zolidonu. Dávku 0,1 g 1X až 2X denně po jeden až tři dny používal Hughes (1963). Vysoké dávky 0,2 až 0,5 g pro novorozené sele uvádějí Cloyd (1962) — *pro die* 0,2 g po tři dny a zvláště Vachev (1966) resp. Vachev (1968), který podával 0,3 až 0,5 g pro sele 1X až 2X denně po jeden až čtyři dny, dokonce použil prý dávku 3 g/sele/die po dva dny.

Důvody, které nás vedly k volbě dávek použitých v námi zkoušených a níže popsanych kombinacích z neobyčejně širokého rozsahu dozí uvedených v tomto přehledu literatury, popisujeme v diskusi.

MATERIÁL A METODY

Zkoušeli a porovnávali jsme účinnost dvou kombinací antibiotik s furazolidonem tohoto složení:

Lék zkušební značky S 2: síranu neomycinu v hodnotě báze 50 mg s 20 mg furazolidonu.

Lék zkušební značky S 5: chloramfenikolu 50 mg s 20 mg furazolidonu.

Neomycin byl podáván ve formě tablet (Spofa) po 50 mg báze, chloramfenikol v podobě dražé (Spofa) po 50 mg. Furazolidon v tabletách po 10 mg, které pro nás zhotovilo Zdravotnické zásobování, n. p., v Praze; na jednu dózi byly aplikovány dvě tablety. Léky ve formě tablet nebo dražé podávali zootechnici nebo ošetřovatelé přímo do hltanu selat s eventuálním zalitím lžičkou vody. O každé dávce a zdravotním stavu vedli zápis v předtištěných protokolech, vázaných v sešitech. Za pracovně únosné považovali ve všech chovech podání jen 1X denně vzhledem k velkým počtům léčených zvířat. V chovech, kde k vyléčení bylo nutné aplikovat léky po více než čtyři až pět dní, jsme doporučovali podávat léky 2X denně. Tento způsob označovali však zemědělci pro sebe za nepraktický z důvodů pracovních a časových. Je ovšem pravděpodobné, že při aplikaci 2X denně by se doba léčby zkrátila a výsledky eventuálně ještě dále zlepšily. Léky se podávaly selatům zpravidla ještě jeden den po zastavení průjmu, v těžších případech dva dny.

Pokusy s oběma léky byly uskutečněny celkem ve čtyřech chovech na 731 novorozeném seleti. Selata v každém vrhu, ve kterém některé z mláďat onemocnělo průjmem, byla rozdělena na dvě stejné nebo (u lichého počtu) přibližně stejné početné skupiny a každé sele zvlášť označeno barvou. Tyto skupiny v dalším popisu označujeme jako polovrhy. Selata v jednom polovrhu byla léčena jedním ze zkoušených léků, v druhém polovrhu druhým lékem. Na utvoření kontrolních neléčených skupin zemědělci v žádném chovu nepřistoupili z důvodů produkčních a ekonomických.

Léčili jsme dvojím způsobem, podle toho, který z nich považovali chovatelé v určitém chovu pro sebe za pracovně a provozně přijatelný. Při prvním způsobu byla léčena v obou srovnávaných polovrších jen ta selata, která měla průjem. Při druhém způsobu byl lék v polovrhu podáván všem selatům po tři dny, jakmile se u prvního mláďete objevil průjem. Po třídení aplikaci všem zvířatům byla dále léčena již jen selata s průjmy až do zastavení průjmu. Při tomto způsobu byla tedy vlastně léčena průjmující současně s profylaxií u neprůjmujících. Za recidivy jsme pokládali, když se průjem objevil znovu během čtyř dnů po skončení léčby. Opětovný výskyt průjmů za pět dní a více po ukončené léčbě jsme považovali za nové onemocnění, vzniklé z nové infekce v zamořeném prostředí.

Bakteriostatickou účinnost *in vitro* u kombinace ve srovnání s jejími oběma složkami jsme zjišťovali plotnovou diluční metodou (Grove, Randall

I. Účinnost kombinace neomycinu resp. chloramfenikolu s furazolidonem a jejích složek na *E. coli* ze selat *in vitro*
Stejný pokus na 30 kmenech proveden 3X; koncentrace udány v mg na 1 ml půdy

Kombinace	Látka	Koncentrace a počty inhibovaných ze 30 kmenů						
		1	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01
Neomycin s furazolidonem (S 2)	Neomycin (N)	1 25	0,5 23	0,2 14	0,1 8	0,05 4	0,02 0	0,01 0
	Furazolidon (F)	0,4 28	0,2 28	0,08 23	0,04 13**	0,02 5**	0,008 1	0,004 0
	Kombinace (N/F)	1/0,4 29	0,5/0,2 29	0,2/0,08 28	0,1/0,04 26**	0,05/0,02 19**	0,02/0,008 2	0,01/0,004 0
Chloramfenikol s furazolidonem (S 5)	Chloramfenikol (CHL)	1 20	0,5 20	0,2 19	0,1 15	0,05 7	0,02 0	0,01 0
	Furazolidon (F)	0,4 29	0,2 27	0,08 26	0,04 16**	0,02 8	0,008 0	0,004 0
	Kombinace (CHL/F)	1/0,4 29	0,5/0,2 29	0,2/0,08 28	0,1/0,04 27**	0,05/0,02 14	0,02/0,008 1	0,01/0,004 0

** vysoce významné (P = 0,01)

1955; Hejzlar, Výmola 1962; Výmola, Hejzlar 1964). Sledovali jsme, zda kombinace inhibuje více kmenů *E. coli* než obě její složky, tj. zda v ní je účinek složek zesílen. Pokusy jsme provedli se 30 kmeny *E. coli*, které byly izolovány z orgánů uhynulých selat nebo z výkalů nemocných a zařazovány na základě kultivačních a biochemických vlastností podle Sedláka a Rische (1961). Zkoušená léčiva působila na zárodky v sedmi sestupných koncentracích (tab. I). K oslabení vlivu variability jsme udělali tři stejné pokusy se 30 stejnými kmeny *E. coli*. Měřítkem účinnosti byl počet kmenů inhibovaných určitou koncentrací ve všech třech pokusech.

Statistickou významnost zjištěných rozdílů jsme hodnotili testem χ^2 (Roth a kol. 1962, Myslivec 1957).

VÝSLEDKY

Oba léky byly srovnávány současně a ve stejné době ve čtyřech chovech a ve čtyřech obdobích. Ve dvou pokusech se nekryla období použití obou léků zcela přesně, ale časové rozdíly nepřesáhly podstatně dobu kolem 14 dní v určité stejné roční době. Je tedy možné níže popsané výsledky pokládat plně za zjištěné srovnávacím způsobem. Selata onemocněla v jednotlivých chovech ve stáří průměrně 2,2 až 4 dny (min. v den narození, max. 14 dní). Pokusy jsme provedli v různých obdobích mezi 18. 8. 1969 až 2. 6. 1970.

a) SROVNÁVÁNÍ ÚČINNOSTI LÉKU S 2 A S 5

Co do procenta vyléčených selat nebyl mezi oběma léky téměř rozdíl, vyléčeno bylo 99 až 100 % selat. Výsledky s neomycinovou kombinací jsou při dolní hranici (99 %), s chloramfenikolovou při horní (99,5 až 100 %). Vysoce významný rozdíl ve prospěch chloramfenikolu jeví se však u rychlosti vyléčení. Za stejnou dobu tři dnů bylo vyléčeno kombinací S 5 při obou způsobech léčby dohromady celkem 365 selat, nevyléčena 32 selata. Lékem S 2 během tří dnů bylo vyléčeno 279 selat, nevyléčeno 55 selat. Obdobná čísla uzdravených během čtyř dnů jsou u kombinace S 5 — vyléčených 382 proti 15 nevyléčeným, u léku S 2 vyléčených 302 proti 32 nevyléčeným. Maximální doba léčby byla u léku S 5 asi o tři dny kratší než u kombinace S 2. V délce minimální doby potřebné k vyléčení nebyly jednoznačné rozdíly mezi oběma léky, i když nejkratší doba (uzdravení všech selat do 24 hod.) se vyskytla v jednom chovu u S 2. Vysoce významný rozdíl ($P = 0,01$) je také ve výskytu recidiv, kterých byla po kombinaci S 5 méně než polovina proti léku S 2. U výskytu nových onemocnění (od pátého dne po skončení léčby) nebyl však u obou přípravků jednoznačný rozdíl (tab. II).

b) ÚČINNOST OBOU ZPŮSOBŮ LÉČBY

Jak jsme uvedli v metodice, léčili jsme 1) v některých chovech jen selata s průjmy (2 chovy, 283 selata), nebo 2) v jiných chovech (3 podniky, 448 selat) jsme podávali léky všem selatům po tři dny, jakmile se u prvního mláděte objevil průjem; po třech dnech dostávala léky již jen selata s průjmy. U obou léků nebyl podstatný rozdíl mezi celkovým procentem vyléčených selat i rychlostí vyléčení v závislosti na tom, zda léky dostávala jen selata s průjmy nebo všechna v polovruhu (tab. II). Rozdíly asi 1 až 3 %, častěji ve prospěch druhého způsobu, nejsou statisticky významné.

II. Účinnost kombinací furazolidonu s neomycinem nebo s chloramfenikolem při
Lék S 2: Neomycin 50 mg s furazolidonem 20 mg 1× denně
Způsob léčby: A. lék podáván všem selatům po tři dny, potom jen průjmujičím

Lék	Způsob léčby	Počet chovů	Léčeno selat	Vyléčeno		Z uzdravených (= 100 %)				
				počet	%	1	2	3	4	5
S 2	A	3	233	231	99,1	45,9 (106)	68,8 (159)	84,0 (194)	91,8 (212)	94,8 (219)
	B	2	101	100	99,0	59,0 (59)	70,0 (70)	85,0 (85)	90,0 (90)	90,0 (90)
	A + B	4	334	331	99,1	49,8 (165)	75,2 (249)	84,3 (279)	91,2 (302)	93,4 (309)
S 5	A	3	215	215	100,0	53,9 (116)	79,9 (172)	93,4 (201)	97,1 (209)	97,1 (209)
	B	2	182	181	99,5	50,8 (92)	82,9 (150)	90,6 (164)	95,6 (173)	97,2 (176)
	A + B	4	397	396	99,7	52,5 (208)	81,3 (322)	92,2 (365)	96,5 (382)	97,2 (385)

c) ÚČINNOST V RŮZNÝCH CHOVECH

V pokusech se ukázaly veliké rozdíly v účinnosti léčby v různých chovech. Oba přípravky byly vysoce účinné v jednom chovu (B.), kde nastávalo uzdravení u všech léčených selat po léku S 2 do 24 hodin, po S 5 do 48 hodin. Přitom bez léčby byl velmi prudký průběh a vysoká mortalita. V jiném chovu (Ch.) bylo oběma léky uzdraveno 100 % selat během čtyř dnů. V dalším chovu (P.) lékem S 2 bylo uzdraveno 98,4 % selat během pěti dní (jeden úhyn), lékem S 5 všechna léčená selata během tří dnů. V chovu T. účinnost obou přípravků nebyla vyhovující pro praxi, protože léčba v některých polovrzích trvala příliš dlouho: u léku S 2 až i 11 až 12 dní, u léku S 5 dobu 8 až 9 dní. Přitom během čtyř dnů léčby bylo podle způsobu léčby uzdraveno lékem S 2 jen 65,5 až 86,2 % selat, lékem S 5 značně více, tj. 90,6 až 94 % z celkového počtu vyléčených selat. Přitom však úhrnem bylo i v tomto chovu dosaženo celkem vyhovující procento vyléčení: podle použitého způsobu léčby po léku S 2 bylo to 96,7 až 99,1 % selat, po S 5 o něco více, 98,8 až 100 % selat. V tomto chovu se vyskytoval také nejvyšší počet recidiv a nových onemocnění, které se ve dvou chovech neobjevily vůbec. Recidiv bylo v chovu T. po léku S 2 podle způsobu a období léčby 0 %, resp. 32,1 %, resp. 22,2 %, po léku S 5 bylo to 7 %, resp. 13 %. Nových onemocnění v témž chovu po léku S 2 bylo 0 %, resp. 5,1 %, resp. 14,3 %, po léku S 5 bylo to 7 %, resp. 8,1 %.

d) ÚČINNOST KOMBINACE A JEJÍCH SLOŽEK IN VITRO

V těch středních a nižších koncentracích, ve kterých každá ze složek působila jen na menší část kmenů *E. coli*, se v kombinaci projevil synergismus. Byl výrazný zvláště u neomycinu s furazolidonem, v užším rozsahu i u chlor-

kolibacilóze selat

Lék S 5: Chloramfenikol 50 mg s furazolidonem 20 mg 1X denně

B. lék podáván jen průmějným

vyléčeno % (počet) za dni							Recidivy (do 5 dnů)		Nová onemocnění		Uhynulo	
6	7	8	9	10	11	12	počet	%	počet	%	počet	%
96,5 (223)	96,9 (224)	97,3 (225)	98,2 (227)	99,1 (229)	100,0 (231)		32	13,7	6	2,6	2	0,9
94,0 (94)	94,0 (94)	95,0 (95)	95,0 (95)	97,0 (97)	98,0 (98)	100,0 (100)	9	8,9	4	4,0	1	1,0
95,8 (317)	96,1 (318)	96,7 (320)	97,3 (322)	98,5 (326)	99,4 (329)	100,0 (331)	41	12,3	10	3,0	3	0,9
99,0 (213)	99,5 (214)	100,0 (215)					14	6,5	7	3,3	0	0
99,4 (180)	99,4 (180)	99,4 (180)	100,0 (181)				6	3,3	7	3,8	1	0,5
99,2 (393)	99,5 (394)	99,7 (395)	100,0 (396)				20	5,0	14	3,5	1	0,3

amfenikolu s furazolidonem. První kombinace (S 2) inhibovala v mezích dvou koncentrací dokonce vyšší počet kmenů, než je součet kmenů tlumených oběma složkami dohromady (tab. I).

DISKUSE

Ze shromážděných citací je patrné, že při velikých rozdílech ve výši uváděných dávek — někdy až mnohonásobných — nebyla volba dózí pro naše kombinace jednoduchým úkolem. Proto je nutno stručně zdůvodnit výši dávek, které jsme pro zkoušené kombinace zvolili.

U neomycinu jsme se rozhodli pro dózi 50 mg, protože přibližně odpovídá středu dávek, kterými pracovali citovaní autoři. Bylo u ní možno předpokládat přijatelnou účinnost při aplikaci 1X denně, i možnost podání 2X denně ve zvlášť těžkých případech. Nepokládali jsme za účelné dávku 50 mg podstatně překročit, jako to učinil Mortimer (1968), vzhledem k tomu, že Kenworthy a Crabb (1965) u třítydenních selat (váha bývá 5 až 6 kg) pozorovali vznik průjmu po dózi 250 mg, tj. kolem 50 mg/kg.

U chloramfenikolu jsou v literatuře uváděny dávky až dvacetipětinásobně rozdílné (od 0,02 g do 0,5 g). K volbě dóze 50 mg nás vedly podobné důvody, jaké jsme uvedli u neomycinu. Aplikaci 3X denně, kterou doporučil Kopecký (1962), se podaří ve velkochovech prosadit jen zřídka, pro velkou spotřebu lidské práce a času. Vysoké dávky v rozsahu 0,3 až 0,5 g použili jen Diernhofer a Glawischinig (1963), Glawischinig (1965) a Vačev (1966) resp. Vachev (1968). Glawischinig označuje za nutné 0,3 až 0,4 g, ale současně podotýká, že tak vysokými dávkami se léčba neobyčejně prodrazí. Protože deset jiných autorů uvádí dávky blízké 50 mg nebo nižší, zvolili jsme tuto dózi jako dolní hranici středu.

U furazolidonu jsou rozdíly ve velikosti dávek v literatuře ještě větší, více než padesátinásobné (0,008 až 0,5 g, dokonce až 3 g — V a c h e v 1968). Abychom zachovali možnost podávání 1× i 2× denně, použili jsme dvojnásobné dávky než jaké doporučují Ch o m e n k o (1966a, b, c) a I v a n o v a (1962). Dávky 0,3 až 0,5 g resp. 3 g furazolidonu pro novorozená selata stáří do 10 dní, které podle dvou publikací podával V a c h e v (1966) resp. V a c h e v (1968), jeví se příliš vysoké ve srovnání s ostatními autory. Je u nich nutno uvažovat i otázku toxicity, ačkoliv H u g h e s (1963) uvádí, že ve zkouškách toxicity podával selatům 1,6 g furazolidonu po osm až deset dní bez nepříznivých následků. I v a n o v a (1962) udává, že u starších selat mohla léčebnou dávkou (10 mg na kg, ž. v. 2× až 3× denně) zvýšit, a to u jednoho zvířete až na desetinásobek (0,1 g) bez příznaků otravy. Na druhé straně se ale Ch o m e n k o (1966b) zmiňuje o případech otrav až úhynů u telat již při podání trojnásobné jednotlivé dávky. I když tento autor dodává, že selata jsou odolnější než telata, přece možnost, že by selata o váze kolem 1 až 1,5 kg snášela stejnou léčebnou dávkou *pro toto* jako 25× až 40× těžší telata, se jeví jako málo pravděpodobná. Tím více to platí pro dózi 3 g, kterou použil V a c h e v (1966) resp. V a c h e v (1968).

Pokud se týče účinnosti obou zkoušených kombinací, není rozdíl mezi oběma statisticky významný co do celkového počtu vyléčených. Signifikantní je však rozdíl ve prospěch léku S 5 (s chloramfenikolem) u rychlosti vyléčení během tří, respektive čtyř dnů, dále pak u počtu recidiv onemocnění. Z těchto důvodů je nutno pokládat kombinaci furazolidonu s chloramfenikolem klinicky u selat za výhodnější a účinnější než kombinaci furazolidonu s neomycinem. Je to pravděpodobně podminěno resorbčním (systemickým) působením chloramfenikolu, neboť *in vitro* je výraznější synergismus mezi neomycinem a furazolidonem.

Č u m a c e n k o (1965) doporučuje, aby za účelem prevence recidiv se podávala antibiotika ještě tři až čtyři dny po zastavení průjmu. To by ovšem v řadě případů znamenalo zdvojnásobení doby lidské práce i nákladů na léčbu, neboť za vyhovující lék lze pokládat v praxi takový, který naprostou většinu selat či vrhů uzdraví nejpozději během tří až čtyř dnů. V našich pokusech procento výskytu recidiv u léku S 5 (3,3 až 6,5 %) nebylo tak vysoké, aby bylo možno pokládat tak značné prodloužení doby léčby za nutné a ekonomické. U kombinace S 2 s více než dvojnásobným výskytem recidiv (8,9 až 13,7 %) by bylo prodloužení léčby alespoň o dva až tři dny pravděpodobně účelné.

Úvahu zaslouží nutnost dlouhé léčby v chovu T. (8 až 12 dní), s poměrně častým výskytem recidiv. Kmeny *E. coli* izolované ze selat v tomto chovu byly *in vitro* celkem stejně citlivé k furazolidonu jako kmeny z ostatních tří chovů (vysoce citlivá 93 % kmenů proti 100 %), ale zřetelně méně citlivé k neomycinu (66,6 % proti 79 až 100 %) a zvláště k chloramfenikolu (20 % proti 40 až 68 až 100 %). Za tohoto stavu, zvláště vzhledem k furazolidonu, by však bylo sotva možno hledat příčinu obtížné léčby v nižší citlivosti *E. coli* v chovu. Vzhledem k tomu, že procento citlivých kmenů *E. coli* k látkám užitým při terapii se nelišilo podstatně od citlivosti v jiných chovech, je nutno vzít v úvahu i jinou etiologii než kolibacilární, snad i virovou.

Naše pokusy o citlivosti *in vitro* kmenů *E. coli* ze selat s průjmy přinesly nový poznatek o synergismu neomycinu s furazolidonem u těchto zárodků. V dostupném písemnictví nejsou o tomto jevu údaje, ani pokud se týče *E. coli* z jiných druhů zvířat.

Z literatury o citlivosti *E. coli* z novorozených selat s gastroenteritidami

hodnotíme jen práce, které byly provedeny podobně jako naše kvantitativní diluční metodou. V a c h e v (1968) popisuje výsledky zkoušek citlivosti diluční metodou u 20 kmenů *E. coli* ze selat nestejně v textu a v tabulce. Tak např. (mimo jiné nesrovnalosti) v textu udává, že furazolidon v koncentracích 3,12 až 25 $\mu\text{g/ml}$ bujónu nepůsobil inhibičně. Podle tabulky však při 25 $\mu\text{g/ml}$ bylo inhibováno 8 kmenů (= 40 %), při 3,12 $\mu\text{g/ml}$ 2 kmeny. V našich pokusech při 4 $\mu\text{g/ml}$ nebyl tlumen žádný kmen ze 30, při 8 μg 1 kmen, při 20 μg 5–8 kmenů (= 16,5–26,4 %), při 40 μg 13–16 kmenů (= 43–52,8 %). Naše kmeny byly tedy odolnější k furazolidonu, ale výsledky nejsou příliš odlišné. Velmi rozdílná od naší je však MIC neomycinu, kterou zjistili K e n - w o r t h y a C r a b b (1965): 100 % kmenů *E. coli* z mladých prasat bylo inhibováno koncentrací 5 $\mu\text{g/ml}$. U nás 20 $\mu\text{g/ml}$ netlumilo ani jediný kmen a 1000 $\mu\text{g/ml}$ inhibovalo jen 25 kmenů ze 30 (= 82,5 %). Nejvyšší z koncentrací námi zkoušených (neomycinu 1000 $\mu\text{g/ml}$, furazolidonu 400 $\mu\text{g/ml}$) odpovídaly přibližně těm, které vzniknou v žaludku novorozeného selete po aplikaci jedné dávky kombinace S 2 nebo S 5. Přitom počítáme s obsahem 50 ml tekutiny v žaludku (kapacita podle J e ž k o v é 1962).

Za technickou spolupráci děkujeme J. Vyhnálkové, B. Seidlové a H. Kalábové.

Literatura

- AMANOV K. A., CHANGELDIEV A., 1967, Léčenijs gastroenterita u teljat i porosjat. Veterinarija 44, 11 : 83-84.
- BOCKEMÜHL W., 1958, Versuche der Behandlung von diarrhöischen Erkrankungen der Ferkel mit Leukomycin. Diss. Hannover.
- BUGNOWSKI H., LIEBAUG E., 1968, Klinische Erfahrungen mit Amfuridon bei der Therapie von Saugferkeldurchfällen (*Escherichia-coli*-Infektionen). Mh. Vet. Med. 23 : 894-898, 919.
- CALLEAR E. F., SMITH I. M., 1966, The effect of furazolidone on *Escherichia coli* infection of newborn piglets. Br. vet. J. 122 : 169-176.
- CLOYD G. D., 1962, Colibacillosis therapy in baby pigs. Vet. Med. 57 : 610-611.
- CUMACENKO V. E., 1965, Vlijanije nekotorych antibiotikov i tkanevych preparatov na tečenijs kataralnogo gastroenterita u porosjat. Veterinarija 41, 1 : 67.
- DIERNHOFER K., GLAWISCHNIG E., 1963, Ein Beitrag zur Behandlung der Saugferkeldiarrhoe. Tierärztl. Umsch. 6 : 267-269.
- DORN H. J., 1963, Bericht über die erste klinische Prüfung eines Antidiarrhoicums an Kälbern und Ferkeln. Tierärztl. Umsch. 18 : 670-672.
- ENGLISH P. B., SEAWRIGHT A. A., 1961, Plasma and tissue concentrations of chloramphenicol in the pig. Aust. vet. J. 37 : 9-13.
- GLAWISCHNIG E., 1965, Probleme der Ferkelaufzucht. 6. Durchfälle bei neugeborenen oder wenige Tage alten Saugferkeln. Wien. tierärztl. Mschr. 52 : 985-997.
- GOULD C. M., 1962, Laboratory techniques in general practice. Vet. Rec. 74 : 1195-1202.
- GROVE C., RANDALL W. A., 1955, Assay methods of antibiotics. A laboratory Manual. New York, Medical encyclopedia, 238 s.
- HEJZLAR M., VÝMOLA F., 1962, K otázkám standardizace laboratorní práce s antibiotiky. II. část, Čs. Epidem. Mikrob. Imun. 11 : 260-266.
- HUGHES D. L., 1963, Colibacillosis in baby pigs. Vet. Med. 58 : 593-596.
- CHOMENKO V. S., 1966a, Nitrofurany, ich svojstva i primenenije. Veterinarija 42, 4 : 58-59.
- CHOMENKO V. S., 1966b, Toksičeskoje dejstvije preparatov nitrofuránovogo rjada na životnyh. Veterinarija 43, 12 : 54-55.
- CHOMENKO V. S., 1966c, Vlijanije furazolidona, furadonina a furacilina na krov i belkovyj obmen u teljat i porosjat. Materialy X. naučnoj konferenciji po farmakologii, část 2, Moskva : 31-32.

- IVANOVA P. S., 1962, Furazolidon pri protozojnych enterokolitach porosjat. Veterinarija 39, 4 : 34-35.
- JEŽKOVÁ D., 1962, Délkové, váhové a objemové změny střev a objemové změny žaludku u selat v raném postnatálním údobí. Vet. Čas. 11 : 499-508.
- KENWORTHY R., CRABB W. E., 1965, The effect of neomycin sulphate upon the intestinal flora of the young pig, with special reference to *Escherichia coli*. Vet. Rec. 77 : 1504-1506.
- KOHLER E. M., BOHL E. H., 1964, Prophylaxis of diarrhea in newborn pigs. J. Am. vet. med. Ass. 144, 11 : 1294-1297.
- KOPECKÝ O., 1962, Prevence a léčeni průjmů u sajících selat pomocí coli-streptokokového séra, chloramfenikolu a 1,5% roztoku procainu. Dipl. práce, VF Brno.
- LEBDUŠKA J., POLÁKOVÁ M., BARTOŠ J., 1966, Srovnání účinnosti nejlepších dosavadních a nových prostředků k profylaxi a léčbě gastroenteritid telat. Dílčí závěrečná zpráva o výzkumném úkolu A-O-13-12/12, VÚVL Brno : 156-205.
- MORTIMER D. T., 1968, Observations on the control of neonatal *Escherichia coli* scouring in piglets with sodium aminarsonate. Vet. Rec. 82, 19 : 539-540.
- MYSLIVEC V., 1957, Statistické metody zemědělského a lesnického výzkumnictví. Praha SZN.
- POHL P., THOMAS J., 1967, Sensibilité actuelle aux agents thérapeutiques des *Escherichia coli* et *Salmonella pathogènes* d'origine animale. Ann. Méd. vét. 111 : 235-247.
- POLÁKOVÁ M., LEBDUŠKA J., 1967, Léčba průjmových onemocnění novorozených telat neomycinem a jeho kombinacemi s nitrofurany. Veterinářství 17 : 495-499.
- RIEMER F., 1961, Ein Beitrag zur Diarrhöe der Ferkel und Läufer. Mh. Vet. Med. 14, 14 : 539-543.
- ROTH Z., JOSÍFKO M., MALÝ V., TRČKA V., 1962, Statistické metody v experimentální medicíně. Praha SZN.
- SEDLÁK J., RISCHE H., 1961, Enterobacteriaceae — Infektionen, Leipzig.
- SMITH H. W., JONES J. E. T., 1961, Neonatal scouring in piglets. Vet. Rec. 73 : 1280.
- SQUIBB E. R., Sons Ltd., 1966, Neoamfo. Vet. Rec. 78, 8 : XXVII.
- VACEV B., 1966, Bakteriostatično i léčebno dejství na chloramfenikola, furazolidona i sigmamicina vrchu *E. coli* i kolienterite pri novorození praseta. Vet. Sbir., Sofia, 63, 12 : 11-12.
- VACHEV B., 1968, Bacteriostatic and therapeutic effects of chloramphenicol, furazolidon and sigmamicin on *Escherichia coli* strains and gastroenteritis in newborn piglets. Polskie Archw. m. wet. 11 : 385-389.
- VÝMOLA F., HEJZLAR M., 1964, Kvantitativní zkoušky citlivosti mikrobů na antibiotika. Čs. Epidem. Mikrob. Imun. 13 : 112-120.
- WEGE V., 1969, Übersichtsreferat: Die Antibiotika- und Sulfonamidtherapie in der Schweinepraxis. Dt. tierärztliche Wschr. 76 : 158-164.
- , 1970, Československý lékopis. III. vydání, Praha.

Došlo dne 26. 10. 1970

LEBDUŠKA J., POLÁKOVÁ M., BARTOŠ J. (Naучно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия). Лечение колибациллез у новорожденных поросят комбинациями фуразолидона с неомицином или с хлорамфениколом. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 235-246, 1971.

V 4 stáдах на 731 новорожденном поросенке, больном колибациллезом, одновременно в одинаковых пометах мы сравнивали терапевтическую эффективность комбинации неомицина 50 мг с фуразолидоном 20 мг и комбинации хлорамфеникола 50 мг с фуразолидоном 20 мг. Эти дозы применялись 1 раз в день. При помощи первой комбинации было вылечено в среднем 99,1 %, при помощи второй — 99,7 % поросят. В комбинации с хлорамфениколом, однако, был в среднем более короткий период, необходимый для выздоровления, и было более низкое количество рецидивов. Эффективность обоих препаратов, что касается периода лечения и количества рецидивов, была в разных стадах различна. *In vitro* обе составные части у обеих комбинаций действуют синергически на штаммы *E. coli* из погибших и больных поросят в тех концентрациях, в которых каждая составная часть ингибирует только часть штаммов. Синергизм был сильнее выражен у комбинации неомицина с фуразолидоном.

чувствительность *E. coli in vitro*; гастроэнтерит; колиэнтерит; поносы; синергизм *in vitro*

LEBDUŠKA J., POLÁKOVÁ M., BARTOŠ J. (Veterinary Research Institute, Brno, Czechoslovakia). *The Therapy of New-Born Piglets' Colibacilloses with Furazolidone Combined with Neomycine or with Chloramphenicol*. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 235-246, 1971.

The therapeutical effect of neomycine (50 mgms) combined with furazolidone (20 mgms) and of the combination of chloramphenicol (50 mgms) and furazolidone (20 mgms) was compared in four breeds at the same time; 731 new-born piglets, suffering from colibacillosis, from adequate litters were treated. The doses were applied once daily. The first combination cured an average of 99.1 % and the second one 99.7 % of piglets. The combination with chloramphenicol proved to have a significantly shorter period needed for curing the animal, and the occurrence of relapse was lower. As to the curing period and the relapse rate the effect of the two preparations in each breed was different. Both the components in each combination *in vitro* have a synergical effect on the *E. coli* strains, obtained from the dead and ill piglets, in the concentration in which each of the components inhibits only a part of the strains. Synergism was more marked in the combination of neomycine and furazolidone.

sensitivity of *E. coli in vitro*; gastroenteritis; colienteritis; diarrhoea; synergism *in vitro*

LEBDUŠKA J., POLÁKOVÁ M., BARTOŠ J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). *Therapie der Kolibazillose bei neugeborenen Ferkeln mit Kombinationen von Furazolidon mit Neomycin oder mit Chloramphenicol*. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 235-246, 1971.

In vier Zuchten an 731 an Kolibazillose erkrankten neugeborenen Ferkeln haben wir gleichzeitig in denselben Würfen die therapeutische Wirkung der Kombination von Neomycin 50 mg mit Furazolidon 20 mg und der Kombination von Chloramphenicol 50 mg mit Furazolidon 20 mg verglichen. Diese Gaben wurden 1× täglich appliziert. Mittels erster Kombination wurden durchschnittlich 99,1 % und mittels zweiter Kombination 99,7 % von Ferkeln geheilt. Bei der Kombination mit Chloramphenicol war jedoch im Durchschnitt eine signifikant kürzere Zeit, die zur Heilung notwendig ist und ein niedrigeres Eintreten von Rezidiven. Die Wirksamkeit beider Präparate betreffs der Heilungsdauer und der Rezidivenanzahl war in verschiedenen Zuchten unterschiedlich. *In vitro* wirken beide Komponente bei beiden Kombinationen synergisch auf die *E. coli*-Stämme von den verendeten und kranken Ferkeln in denjenigen Konzentrationen, in denen jede Komponente nur einen Teil der Stämme inhibiert. Synergismus wurde bei der Kombination von Neomycin mit Furazolidon stärker ausgedrückt.

Empfindlichkeit des *E. coli in vitro*; Gastroenteritis; Kolienteritis; Durchfälle; Synergismus *in vitro*

LEBDUŠKA J., POLÁKOVÁ M., BARTOŠ J. (Institut de recherches vétérinaires, Brno, Tchécoslovaquie). *Traitement des colibacillose des porcelets nouveau-nés en combinant la furazolidone avec la néomycine ou le chloramphénicol*. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 235-246, 1971.

On comparait dans quatre élevages sur 731 porcelets nouveau-nés malades de la colibacillose, simultanément dans les mêmes portées, l'efficacité thérapeutique de la combinaison de 50 mg de néomycine avec 20 mg de furazolidone et la combinaison de 50 mg de chloramphénicol avec 20 mg de furazolidone. Les doses en question étaient appliquées une fois par jour. La première combinaison a guéri en moyenne 99,1 p. 100 et la seconde 99,7 p. 100 de porcelets. En ce qui concerne la combinaison avec le chloramphénicol, le temps nécessaire à la guérison était en moyenne significativement plus court et l'apparition des récides était plus faible. L'efficacité des deux préparations était différente dans les différents élevages et cela aussi bien quant à la durée de traitement que quant au nombre de récides. *In vitro* les deux éléments dans les deux combinaisons agissent d'une façon synergique sur les souches

d'*Escherichia coli*, issues des porcelets périss et malades, dans les concentrations dans lesquelles chaque élément n'inhibe qu'une partie des souches. Le synergisme était plus fortement exprimé dans la combinaison de néomycine avec la furazolidone.

sensibilité d'*E. coli* *in vitro*; gastro-entérite; coli-entérite; diarrhées; synergisme *in vitro*

Adresa autorů:

Prof. MVDr. J. Lebduška, DrSc., MVDr. M. Poláková, CSc., MVDr. J. Bartoš, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno-Medlánky

LÉČBA KOLIBACILÓZ NOVOROZENÝCH TELAT KOMBINACÍ NEOMYCINU S FURAZOLIDONEM

M. Poláková, J. Lebduška, J. Bartoš

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

POLÁKOVÁ M., LEBDUŠKA J., BARTOŠ J. *Léčba kolibacilóz novorozených telat kombinací neomycinu s furazolidonem.* Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 247-254, 1971.

V 16 chovech postižených těžkým průběhem kolibacilózy telat jsme v 19 různých obdobích na 225 telatech zkoušeli účinnost kombinace 0,75 g neomycinu (jako báze) a 0,3 g furazolidonu. Lék byl podáván většinou 2× denně, řidčeji 3× denně. Uzdraveno bylo 91,1 % telat, uhynulo nebo nutně poraženo bylo 4,9 % zvířat. Po pěti až šestidenním podávání bez zastavení průjmu se přešlo na jiný lék u 4 % telat. Průměrná doba léčby byla 2,3 dne, recidivy nastaly v celkovém průměru u 8,9 % telat. *In vitro* mají obě složky v kombinaci synergický (nadaddiční) účinek v těch koncentracích, v nichž každá složka inhibuje jen určitou část kmenů *E. coli* z telat.

citlivost *E. coli in vitro*; kolienteritis; průjmy; synergismus neomycinu a furazolidonu

V našich předchozích pracích (Lebduška, Poláková, Bartoš 1966; Poláková, Lebduška 1967) jsme popsali výsledky léčby průměrných onemocnění novorozených telat šesti kombinacemi neomycinu s furazolidonem nebo s nitrofurantoinem. Pro srovnání jsme uvedli i výsledky s neomycinem samotným a se streptomidem (tj. streptomycin s ftalazolem). Ze všech zkoušených prostředků se ukázala vcelku nejvýhodnější vzhledem k účinnosti i k tehdejší cenám léčiv kombinace se zkušebním číslem 36, obsahující 0,75 g neomycinu a 0,3 g furazolidonu, podávaná dvakrát až třikrát denně. Výsledky s uvedenou kombinací byly v našich pracích popsány v dostupné literatuře poprvé. Ani novější literatura neobsahuje experimentálně-klinické práce, které by kombinaci těchto dvou látek studovaly.

Pokusy s kombinací neomycinu s furazolidonem z let 1965–1966 ve čtyřech chovech na 87 telatech jsme dále rozšířili a spojený materiál z let 1965 až 1970 (celkem 16 chovů a 225 telat) popisujeme a hodnotíme v této práci.

MATERIÁL A METODA

Kombinace se zkušebním číslem 36 měla složení: neomycinu v hodnotě báze 0,75 g, furazolidonu 0,3 g. Jedna dávka se skládala ze tří tablet Neomycinu Spofa po 0,25 g báze neomycinu (v podobě síranu) a z jedné tablety po 0,3 g furazolidonu. Tato dávka byla aplikována dvakrát až třikrát denně podle závažnosti onemocnění. Tablety byly vpraveny teleti na jazyk k hltanu a eventuálně

zalitý douškem mléka, čaje nebo vody. Podávat jsme začali hned, jakmile byl zjištěn průjem; pokračovali jsme do vyléčení a ještě o jeden den déle. Když nastalo uzdravení během pěti až šesti dní, přešli jsme na jiný lék; takové případy hodnotíme ve výsledcích jako lékem č. 36 nevyléčené. Návrat průjmu během čtyř dnů po skončení léčby jsme pokládali za recidivu vzhledem k tomu, že neomycin je prokazatelný ve faeces telat do tří dnů po podání, u telat s průjmy do dvou dnů (M y l r e a 1968).

Jestliže se průjem objevil za pět a více dní po skončené léčbě, hodnotili jsme to jako nový, samostatný případ onemocnění, vzniklý reinfekcí v zamoreném prostředí. Když v některém chovu neměl lék č. 36 vyhovující účinnost (delší průběh léčby, úhyn mezi prvními třemi až pěti léčenými telaty), nepoužívali jsme jej tam dále a zkoušeli jsme jiná léčiva. V několika málo chovech s nejtěžším průběhem choroby jsme podávali telatům hned od narození preventivní prostředky (Vitalin, Preventan, Therasan, Gamavit, Hydrosol AD) po dobu pěti dní. Když se objevil průjem, zastavili jsme prevenci a léčili kombinací č. 36.

Uhynulá telata patřila skupina patologické morfologie VÚVL (dr. Valíček, dr. Mrva, dr. Pospíšil). Případy, kde pitva ukázala jako hlavní příčinu smrti omfaloflebitis nebo těžší bronchopneumonii a kde průjem bylo možno pokládat jen za průvodní příznak, nejsou do hodnocení zahrnuty. Mikrobiologicky jsme vyšetřili na přítomnost *E. coli* vzorky faeces, při pitvě obsah střev i orgány (játra, slezina, ledvina, mízní uzlina, plíce a pupek). Kmeny jsme zařazovali podle biochemických a kultivačních vlastností (S e d l á k, R i s c h e 1961). Citlivost kmenů k antimikrobiálním látkám jsme běžně určovali pomocí papírových Sensitivity Disc Lachema způsobem podle V ý m o l y a H e j z l a r a (1964). Citlivost k furazolidonu jsme zkoušeli tabletami s obsahem 200 µg účinné substance.

I. Počet a procento kmenů *E. coli*, inhibovaných *in vitro* ve třech stejných pokusech neomycinem, furazolidonem a kombinací obou

Celkem 50 kmenů *E. coli*, plotnová diluční metoda, koncentrace udány v mg na 1 ml půdy

Neomycin	koncentrace	0,750	0,375	0,150	0,075	0,0375	0,015	0,0075
	počet %	36 72,0	39 78,0	39 78,0	20 40,0	10 20,0	2 4,0	0 0
Furazolidon	koncentrace	0,3	0,15	0,06	0,03	0,015	0,006	0,003
	počet %	50 100,0	50 100,0	50 100,0	48 96,0	32 64,0**	27 54,0	14 28,0
Kombinace neomycinu (N) s furazolidonem (F)	koncentrace N	0,750	0,375	0,150	0,075	0,0375	0,015	0,0075
	F	0,300	0,150	0,060	0,030	0,0150	0,006	0,0030
	počet %	50 100,0	50 100,0	50 100,0	49 98,0	44 88,0**	31 62,0	18 36,0

** vysoce významné ($P = 0,01$)

V pokusech, kde jsme studovali, zda *in vitro* má kombinace neomycinu s furazolidonem vyšší účinnost než její složky každá sama o sobě, pracovali jsme diluční plotnovou metodou (Grove a Randall 1955; Hejzlar a Výmola 1962; Výmola a Hejzlar 1964). Koncentrace každé složky samotné byla stejná jako v kombinaci (viz tab. I). Tyto pokusy jsme udělali se 30 kmeny *E. coli* z uhynulých nebo nemocných telat. Stejný pokus jsme opakovali třikrát, aby se vyloučil vliv variability, která byla poměrně značná u koncentrací na dolní hranici inhibičního účinku. Účinnost hodnotíme podle počtu inhibovaných kmenů a za tlumený určitou koncentrací pokládáme jen ten kmen, který nerostl v žádném ze tří paralelních pokusů. Statistickou významnost zjištěných rozdílů jsme hodnotili testem χ^2 (Roth a kol. 1962, Myslivec 1957).

Klinické pokusy jsme dělali v součinnosti s příslušnými OVZ v době od 26. 6. 1965 do 28. 3. 1970 v 16 zemědělských závodech postižených těžkým průběhem kolibacilózy telat, v 19 různých obdobích, celkem na 225 telatech. Z toho v šesti chovech v sedmi obdobích bylo léčeno po 13–64 telatech, v osmi chovech v devíti obdobích po 3–8 telatech, ve třech chovech jen po 1–2 telatech.

VÝSLEDKY

V součtu léčených telat ze všech 16 chovů a 19 období léčby bylo uzdraveno 91,1 % ze 225 zvířat. Uhynulo nebo bylo nutně poraženo 4,9 % telat, přešlo se na jiný lék u 4 %. Průměrné hodnoty některých ukazatelů ze všech 225 případů byly: doba do zastavení průjmu 2,3 dne (min. 0,25 dne, max. 6,25 dní), počet dávek do vyléčení 5,4 (min. 1, max. 15), počet recidiv 8,9 % (min. 0, max. 33,3 %).

Další hodnoty zjištěné v jednotlivých chovech vyčíslíme jen ze 12 chovů a 13 období, ve kterých jsme léčili po 4–64 telatech. Celkový počet telat byl zde 211. Nezahrneme chovy a období, v nichž bylo léčeno jen jedno až tři zvířata, protože převod na procenta by zde dával nereálné hodnoty.

Uvedme nejprve, v kolika chovech bylo procento uzdravených telat v hranicích 90–100 %, které je možné pokládat u těžkých průběhů choroby ještě za přijatelné až plně vyhovující, dále v mezích 80–89 %, což by byly výsledky již méně přijatelné, a konečně pod 80 %, což lze považovat již za nepostačitelou účinnost. Do první skupiny (90–100 %) patří výsledky dosažené v šesti chovech a v sedmi léčebných obdobích s celkovým počtem 170 zvířat. Mezi 80–89 % vyléčených byla ve čtyřech chovech dohromady 23 telata. Méně než 80 % uzdravených bylo ve dvou chovech s 18 telaty (75 resp. 60 %). Do první skupiny tedy patří výsledky z 50 % chovů, do druhé ze 33 %, do třetí ze 17 % chovů.

Počet uhynulých a nutně poražených byl rozložen následovně: v pěti chovech s celkovým počtem 59 léčených telat nebyly ztráty. Ve třech chovech a ve čtyřech obdobích (dohromady 121 tele) uhynulo a bylo nutně poraženo 3,1 až 8,3 % zvířat. Ve čtyřech chovech (celkový počet 31 tele) bylo to 14,3 až 20 % telat. Recidivy se neobjevily ve třech chovech s 19 léčenými telaty. Výskyt recidiv pod celkovým průměrem (8,9 %) byl v mezích 5,3 až 8,3 % ve čtyřech chovech dohromady se 135 telaty, nad celkovým průměrem (14,3 až 33,3 %) v pěti chovech s úhrnným počtem 44 telata.

Při hodnocení, jaký vliv na léčebné výsledky u všech 225 případů ze všech chovů měl počet denních dávek léku, zjistíme toto: Procento uzdravených bylo nejvyšší (95,1 %) v případech, kdy jsme častost podávání dvakrát nebo třikrát denně přizpůsobovali závažnosti průběhu u jednotlivých telat. Tímto způsobem bylo pracováno ve čtyřech chovech u 81 telete. V chovech, kde jsme dodržovali zásadu podávat jen dvakrát denně bez ohledu na to, zda průběh byl lehčí nebo těžší, byl počet vyléčených nižší (88,9 % ze 117 telat v 11 chovech a 13 obdobích). Rozdíl mezi počty uzdravených při obou způsobech není však statisticky významný. Důsledné podávání třikrát denně jsme uplatnili jen ve dvou chovech u 27 telat s velmi těžkým průběhem choroby. Uzdraveno bylo 88,9 % telat, tedy stejně jako při aplikaci dvakrát denně. Výsledek s podáváním třikrát denně byl však zjištěn na podstatně menším počtu chovů i telat, a proto jeho platnost nelze v širším měřítku zevšeobecňovat.

Ve třech chovech s velmi těžkým průběhem onemocnění jsme 26 telatům hned po narození podávali preventní prostředky; když se objevil průjem, léčili jsme kombinací č. 36 dvakrát denně. Jako preventní léčivo byl použit Vitalin (u šesti telat), Preventan (u deseti telat), Therasan (u sedmi telat) a colimycin (fy. Roger-Bellon, v léčebné dávce u tří telat). Uzdraveno bylo jen 84,6 %, uhynulo 7,7 %, převedeno na jiný lék 7,7 %. Recidiv bylo 3,8 %. Prevence tedy nezlepšila výsledky tak, jak by se dalo očekávat. Dále jsme použili kombinaci č. 36 dvakrát denně v šesti chovech u 16 telat, kde léčba jinými prostředky nebyla úspěšná, ač trvala přes pět až šest dní. Všechna tato telata byla po přechodu na č. 36 uzdravena průměrně za 2,9 dne při 6,3 % recidiv.

Pokusy *in vitro* ukázaly, že furazolidonem je inhibován větší počet kmenů než neomycinem (tab. I). V rozsahu koncentrací, ve kterých obě složky působí jen na určitou část kmenů, inhibuje kombinace číselně více kmenů než furazolidon a neomycin. To dokazuje, že obě látky ve směsi v daném poměru působí synergicky. Platí to zvláště pro dvě střední koncentrace (0,0375 + 0,015 a 0,015 + 0,006 mg/ml), ve kterých je součet kmenů tlumených dohromady oběma složkami nižší, než kolik jich inhibuje sama kombinace. Statisticky vysoce významný rozdíl ($P = 0,01$) mezi furazolidonem a kombinací je jen u koncentrace 0,0375 s 0,015 mg, což znamená, že u těchto zředění je spolehlivě prokázán synergismus, a to vyšší než addiční (potencování). Synergické a nadaddiční působení se neprojevuje v těch zředěních, ve kterých jedna ze složek inhibuje buď všechny či téměř všechny kmeny, nebo naopak žádný z nich, nýbrž jen ve středních koncentracích, které jsou přechodem mezi těmito dvěma krajními případy a kde každá ze složek inhibuje jen určitou část kmenů.

DISKUSE

Srovnáme-li výsledky léčby telat kombinací č. 36 v letech 1965–1966 (Poláková a Lebduška 1967) a celkový výsledek za leta 1965–1970, zjišťujeme, že za první z uvedených období bylo vyléčeno 94,9 % z 87 telat ve čtyřech chovech, kdežto za druhé období jen 91,1 % z 225 telat v 16 chovech v 19 obdobích. Tento rozdíl není statisticky významný. Kdybychom i přes nevýznamnost přihlíželi k pouhému číselnému rozdílu, bylo by možno pro něj hledat vysvětlení hlavně v té okolnosti, že po zjištění velmi dobré účinnosti tohoto léku v letech 1965–1966 jsme jej v následujících letech používali hlavně v chovech se zvláště těžkým průběhem choroby, kde jiná zkoušená léčiva neměla vyhovující účinnost. To se ovšem projevovalo i v nižších číslech uzdravení. Kromě

toho je možno zde uvažovat i o zvýšené rezistenci *E. coli* za delší období užívání léku. Přitom však počet recidiv byl za leta 1965—1970 poněkud nižší (8,9 % proti 9,9 %).

Uzdravení 91,1 % léčených telat nelze ovšem pokládat za plně vyhovující. Význam léku č. 36 byl v tom, že se jím dosahovalo uspokojivých výsledků v některých chovech, kde jiná dostupná léčiva dala výsledky méně vyhovující. Vcelku platí stále pozorování, které jsme přednesli již v r. 1964 (Lebduška, Gilka, Poláková) a publikovali v r. 1966 (Lebduška, Poláková, Bartoš) a v r. 1967 (Poláková, Lebduška), že totiž nemáme a asi nikdy nebudeme mít lék, který by působil ve všech chovech lépe než léky jiné a měl by být univerzálně používán všude jako první. Stav je a zřejmě bude takový, že v určitém chovu působí nejlépe jeden lék, v jiném chovu to může být lék jiný. Z toho vyplývá pro praxi nutnost kontrolovat při začátku léčení v chovu určitým prostředkem u prvních tří až pěti telat výsledek i trvání léčby a přejít na jiné léčivo, když účinnost prvního není vyhovující. Při volbě prvního a zvláště dalšího prostředku doporučujeme uplatnit výsledky zkoušek citlivosti zárodků *E. coli in vitro*, i když účinnost léčiva *in vitro* neodpovídá u části případů klinické účinnosti *in vivo* (Lebduška a Poláková 1968).

U kombinace neomycinu s furazolidonem v dávkách a v poměru, které jsou v léku č. 36, jeví se na základě dosavadního klinického a experimentálního materiálu některé výhodné vlastnosti proti jejím složkám, jak o tom svědčí tyto výsledky a skutečnosti:

1. V našich pokusech z let 1964—1966 (Poláková, Lebduška 1967) bylo uzdraveno neomycinem 88,7 % telat, kombinací 94,9 %. I když tento rozdíl není statisticky významný, jeho číselné hodnoty uzdravených zvířat nejsou v praxi zanedbatelné.

2. V našich pokusech s furazolidonem samotným bylo v letech 1962—1963 uzdraveno 82,5 % telat, po vyloučení pěti případů omfaloflebitid 85,6 % (Bartoš, Lebduška, Gilka 1963). V souhrnu pokusů za leta 1962 až 1965 (Lebduška, Poláková, Bartoš 1966) bylo vyléčeno 79,6 % zvířat; po vyloučení úhynu na pupeční infekce 83,9 %. Rozdíly výsledků s furazolidonem za leta 1962—1965 a výsledků s lékem č. 36 za blízké období 1965—1966 i za širší období 1965—1970 jsou statisticky významné ($P = 0,05$). Kombinace byla tedy průkazně účinnější než furazolidon samotný. Definitivní úsudek o klinické účinnosti kombinace č. 36 a jejích složek bude ovšem možné vyslovit až po srovnání účinnosti ve stejných chovech a ve stejné době. K těmto pokusům přistupujeme.

3. V této práci jsme přinesli nový poznatek v dostupné literatuře dosud nepopsaný, že *in vitro* ve středně účinných koncentracích mají furazolidon s neomycinem v kombinaci synergický účinek. Kombinace zde působí na větší počet kmenů *E. coli* z telat, než je součet kmenů inhibovaných oběma složkami dohromady. Tato okolnost v trávicím ústrojí může mít značný význam. Nejvyšší z koncentrací uvedených v tabulce vznikne, podáme-li jednu dávku kombinace v jednom litru mléka. Podle Jančaříka (1960, 1961a, b, 1969) se na trávení jednoho litru mléka do žaludku telete vyloučí průměrně jeden až dva litry vody. Tím se koncentrace obou složek dále sníží asi na polovinu až třetinu. Látkově nesmírně složitý obsah trávicí roury ještě dále snižuje antimikrobiální účinnost podaných léčiv. Lze tedy soudit, že částečný účinek obou složek, jako předpoklad synergického působení, bude v trávicím ústrojí častým případem.

4. Naše jiné práce ukázaly, že k neomycinu a zvláště k furazolidonu je u nás *in vitro* citlivý podstatně vyšší počet kmenů *E. coli* z nemocných novo-

rozených telat, než k chloramfenikolu, streptomycinu a zejména k chlortetracyklinu (Bartoš 1963, Bartoš, Lebduška, Salajka 1967, Bartoš, Lebduška 1968, Poláková 1968). Je tedy i tím dán předpoklad pro vyšší účinnost.

5. Léčiva neomycinové řady (micerin, kolimicin, nověji i neomicin) jsou široce užívána v SSSR, stejně jako neomycin v jiných státech. Lze to doložit celou řadou publikací, z nichž podstatnou část jsme citovali v našich jiných pracích (Poláková a Lebduška 1967, Poláková a Lebduška 1968).

Všechny uvedené skutečnosti nasvědčují tomu, že kombinace neomycinu 0,75 g s furazolidonem 0,3 g, která ukázala v určitých směrech zlepšenou účinnost proti neomycinu i furazolidonu samotnému, by byla v našich podmínkách užitečným doplněním palety léčiv proti gastroenteritidám novorozených telat. Praxe by tím dostala přípravek, který je původním čs. přínosem a může se příznivě uplatnit v řadě chovů, kde se nedosáhne vyhovujících výsledků s léčivy založenými na streptomycinu, chloramfenikolu a chlortetracyklinu. Indikační oblast kombinace by byla ovšem vymezena tou okolností, že neomycin i furazolidon působí jen místně ve střevě. Proto při průjemových onemocněních, kde je současně podezření na bronchopneumonii nebo pupeční infekci, bude zapotřebí použít léčiva *per os* vstřebatelná a účinná celkově, eventuálně injekční terapii.

Technická spolupráce: J. Vyhnálková, B. Seidlová, H. Kalábová.

Literatura

- BARTOŠ J., 1963, Účinek některých antibiotik a chemoterapeutik na kmeny *Escherichia coli* izolované z nemocných nebo uhynulých telat. Věstník výzk. Úst. zem. 10 : 210-212.
- BARTOŠ J., LEDDUŠKA J., 1968, Vývoj rezistence a polyrezistence *E. coli* z novorozených telat v letech 1962-1964 vzhledem k léčbě. Vet. Med. (Praha) 13 : 527-536.
- BARTOŠ J., LEDDUŠKA J., GILKA F., 1963, Účinnost furazolidonu a Furantoinu při léčbě toxické dyspepsie novorozených telat. Věstník výzk. Úst. zem. 10 : 465-469.
- BARTOŠ J., LEDDUŠKA J., SALAJKA E., 1967, Citlivost *E. coli* z telat v různých chovech k lékům. Vet. Med. (Praha) 12 : 127-132.
- GROVE C., RANDALL W. A., 1955, Assay methods of antibiotics. A laboratory manual. New York, Medical encyclopedia, 238 s.
- HEJZLAR M., VÝMOLA F., 1962, K otázkám standardizace laboratorní práce s antibiotiky. II. část. Čs. Epidem. Mikrob. Imun., 11 : 260-266.
- JANČAŘÍK A., 1960, pH ve slezu sajícího telete. Scripta medica 33 : 182-183.
- JANČAŘÍK A., 1961a, Koncentrace vodíkových iontů ve slezu sajícího telete a její vztah k přesunům vody a chlóru v jeho organismu. Věd. Práce výzk. Ústavu krmiv. 5 : 61-79.
- JANČAŘÍK A., 1961b, Trávení bílkovin kyselého mléka ve slezu sajícího mláděte. Vet. čas. 10 : 38-47.
- JANČAŘÍK A., 1969, Wasser- und Chlorhaushalt bei Kälbern in der Periode der Milchernährung. Mh. Vet. Med. 24 : 24-28.
- LEDDUŠKA J., POLÁKOVÁ M., 1968, Agreement in Effectiveness of therapeutic agents between in vitro tests and clinical response of calves in colibacillosis. Docum. vet., Brno, 7 : 19-25.
- LEDDUŠKA J., POLÁKOVÁ M., BARTOŠ J., 1966, Srovnání účinnosti nejlepších dosavadních a nových prostředků k profylaxi a léčbě gastroenteritid telat. Dílčí závěrečná zpráva o výzkumném úkolu A-0-13-12/12, VÚVL Brno : 156-205.
- LEDDUŠKA J., GILKA F., POLÁKOVÁ M., 1964, Účinek antimikrobiálních léčiv a jejich kombinací při gastroenteritidách novorozených telat. Přednáška na Mezinárodním symposiu o prevenci mláďat hospodářských zvířat. Brno.

- MYLREA P. J., 1968, Passage of antibiotics through the digestive tract of normal and scouring calves and their effect upon the bacterial flora. Res. vet. Sci. 9, 1 : 5-13.
- MYSLIVEC V., 1957, Statistické metody zemědělského a lesnického výzkumnictví. Praha, SZN.
- POLÁKOVÁ M., 1968, Citlivost *E. coli* z kolibacilóz novorozených telat na antibiotika a chemoterapeutika. Vet. Med. (Praha) 13 : 269-275.
- POLÁKOVÁ M., LEBDUŠKA J., 1967, Léčba průjemových onemocnění novorozených telat neomycinem a jeho kombinacemi s nitrofurany. Veterinářství 17 : 495-499.
- POLÁKOVÁ M., LEBDUŠKA J., 1968, Colimycin, mycerin a Sigmamycin při kolibacilózách novorozených telat. Vet. Med. (Praha) 13 : 601-609.
- ROTH Z., JOSÍFKO M., MALÝ V., TRČKA V., 1962, Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, SZN.
- SEDLÁK J., RISCHE H., 1961, Enterobacteriaceae — Infektionen. Leipzig.
- VÝMOLA F., HEJZLAR M., 1964, Kvantitativní zkoušky citlivosti mikrobů na antibiotika. Čs. Epidem. Mikrob. Imun. 13 : 112-120.

Došlo dne 26. 10. 1970

ПОЛАКОВА М., ЛЕБДУШКА Я., БАРТОШ Я. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия). Лечение колибациллеза у новорожденных телят комбинацией неомицина с фуразолидоном. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 247-254, 1971.

В 16 стадах телят, пораженных тяжелым колибациллезом, мы в 19 разных периодах на 225 телятах пробоvalи эффективность комбинации 0,75 г неомицина (в качестве основания) и 0,3 г фуразолидона. Лекарство давалось в большинстве случаев 2 раза в день, реже — 3 раза в день. Было вылечено 91,1 % телят, погибло ли вынужденно забито 4,9 % животных. После 5—6 дневного лечения без прекращения поноса у 4 % телят перешли на другое лекарство. Средняя продолжительность лечения составляла 2,3 дня, рецидивы появлялись в среднем у 8,9 % телят. *In vitro* обе составные части в комбинации имеют синергическое (сверхддитивное) действие в тех концентрациях, в которых каждая составная часть ингибирует только определенную часть штаммов *E. coli* из телят.

чувствительность *E. coli in vitro*; колиэнтерит; поносы; синергизм неомицина и фуразолидона

POLÁKOVÁ M., LEBDUŠKA J., BARTOŠ J. (Veterinary Research Institute, Brno, Czechoslovakia). The Therapy of Colibacilloses in New-Born Calves with the Combination of Neomycine and Furazolidone. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 247-254, 1971.

In 16 breeds suffering from a severe course of calf colibacillosis the effect of the combination of 0.75 gms of neomycine (as a base) and 0.3 gms of furazolidone was examined in 225 calves in 19 different periods. The medicine was applied twice daily or, less often, three times a day. 91.1 % of calves were cured, 4.9 % of the animals died or had to be killed. After five to six days' administration not stopping the scourings, another medicine was applied to 4 % of calves. The average curing time was 2.3 days; relapse occurred on the total average of 8.9 calves. Both the components have an *in vitro* synergical (overadditional) effect in those concentrations, in which only a part of the *E. coli* strains, obtained from calves, is inhibited by each component.

sensitivity of *E. coli in vitro*; colienteritis; scourings; synergism of neomycine and furazolidone

POLÁKOVÁ M., LEBDUŠKA J., BARTOŠ J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). Therapie der Kolibazillose bei neugeborenen Kälbern mittels Kombination von Neomyzin und Furazolidon. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 247-254, 1971.

In 16 Kälberzuchten, die durch einen schweren Verlauf der Kolibazillose betroffen wurden, haben wir in 19 verschiedenen Zeitperioden an 225 Kälbern die Wirksamkeit der Kombination von 0,75 g Neomyzin (als Basis) und 0,3 g Furazolidon geprüft.

Dieses Arzneimittel wurde meistens 2× täglich, seltener 3× täglich verabreicht. Es wurden 91,1 % Kälber geheilt, verendet oder notgeschlachtet 4,9 % der Tiere. Nach 5—6 tägiger Verabreichung ohne Heilung des Durchfalls ging man bei 4 % der Kälber auf ein anderes Arzneimittel über. Die durchschnittliche Heilungsdauer war 2,3 Tage, im Gesamtdurchschnitt traten bei 8,9 % der Kälber Rezidiven ein. *In vitro* haben beide Komponente in Kombination eine synergische (Überadditions-) Wirkung, und zwar in denjenigen Konzentrationen, in denen jede Komponente nur einen bestimmten Teil der *E. coli*-Stämme aus den Kälbern inhibiert.

Empfindlichkeit des *E. coli in vitro*; Kolienteritis; Durchfälle; Synergismus des Neomyzins und Furazolidons

Adresa autorů:

MVDr. M. Poláková, CSc., prof. MVDr. J. Lebduška, DrSc., MVDr. J. Bartoš, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno-Medlánky

TOXOPLAZMA U ONDATER *ONDATRA ZIBETHICA* (Linné) 1766 A U KUNY SKALNÍ *MARTES FOINA* (Erxleben) 1777

K. Rašín

Bioveta, Ivanovice na Hané

RAŠÍN K. *Toxoplasma u ondater Ondatra zibethica* (Linné) 1766 a u kuny skalní *Martes foina* (Erxleben) 1777. Vet Med. (Praha) 16 (4) : 255-260, 1971.

Z patnácti ondater, vyšetřených na toxoplazmózu, dalo pět kusů negativní výsledek, u čtyř byl zjištěn RVK titr 5 a vždy v jednom případě titry: 10, 20, 40, 160, 640, 2560. V nativních preparátech z přední části velkého mozku byly u dvou ondater (♂ s titrem 2560, ♀ s titrem 640) nalezeny mikroskopicky četné cysty toxoplazmy o průměru 50–90 μ . Z obou těchto zvířat a z další samice s titrem 160 byly izolovány, s použitím mozkové suspenze jako infekčního materiálu, již v první pasáži na myších kmeny toxoplazmy málo patogenní pro myši. Toxoplazmóza byla prokázána i u kuny skalní. Mikroskopicky se v orientačních nativních preparátech nepodařilo nalézt v jejím mozku cysty toxoplazmy, RVK však byla pozitivní 160 +++ a kmen toxoplazmy byl zachycen v první pasáži z mozkové suspenze.

toxoplazmóza; titry RVK; izolace kmenů; ondatra; kuna

O výskytu toxoplazmózy u ondater a zejména u kuny, předmětu našeho sdělení, je celkem málo zpráv.

Pridham (1961) prokázal histologicky v mozku dvou z patnácti vyšetřených, zdánlivě zdravých ondater cysty a izoloval dva kmeny *Toxoplasma gondii*. Stalo se tak v souvislosti s pátráním po zdroji toxoplazmózy, která způsobila těžké ztráty mláďat v několika velkochovech norků v kanadské provincii Ontario, kde zkrmovali, kromě jiného, i maso ondater, popřípadě zajíců a svišťů, čerstvé nebo zamražené. Na farmách, kde nekrmili zvěřinou, se toxoplazmóza nevyskytla.

Karstad 1963, který vyšetřoval ondatry ve stejné provincii, při podobné nebo snad téže příležitosti, našel v mozku některých zvířat typické cysty toxoplazmy, v mozku jiných ondater pak velké, laločnaté cysty o průměru až 1,0 mm: M-organisms.

Levit a kol. 1965 zpracovali 476 ondater, ulovených v zimě v povodí řeky Ili. Ze 470 sér, vyšetřených na toxoplazmózu vazbou komplementu, reagovalo pozitivně 140 (29,8 %); titry: 5, 10, 20, 40, 80 se vyskytly ve 107, 10, 17, 4, 2 případech. Toxoplazmové protilátky zjistila u ondater Syrdarinské oblasti Butabaeva (1969), kmen se jí nepodařilo zachytit. U nás uvádějí Havlík a Hübner 1958 pozitivní titr SFR u jediného zvířete tohoto druhu, které měli možnost vyšetřit.

Toxoplazma byla zjištěna a popsána u řady lasicovitých šelem (*Mustelidae*). Autor ji u nás našel již r. 1944 u dvou uhynulých fretek (Rašín 1948).

Výskyt u kuny skalní zaznamenali Fankhauser a Fischer (1965), a to u tří kusů z kantonu Zürich ve Švýcarsku, při vyšetřování volně žijících zvířat na vzteklinu. V mozku kun našli histopatologické změny a cysty, na myších izolovali kmen toxoplazmy.

MATERIÁL, TECHNIKA

V letošní sezóně lovu ondatr jsme vyšetřili na toxoplazmózu 15 kusů tohoto hlodavce, které pocházely ze čtyř vodních lokalit katastru města Ivanovice na Hané. Ondatra je v povodí říčky Hané značně rozšířena. Poměrně čerstvý materiál — celá těla zvířat bez kůže — byl pitván, do zkumavek byla odebrána — k získání séra — krevní koagula ze srdce, vén, popřípadě tekutina z dutiny hrudní; neotevřené hlavy a části orgánů byly uloženy v Petriho miskách v lednici k eventuálnímu pozdějšímu použití podle výsledku sérologického vyšetření.

Krevní séra — poměrně nevelká množství — byla inaktivována 40 minut při 56 °C a vyšetřena RKV s myším antigénem při 37 °C (Rašín 1970b). Teprve potom byly hotoveny a prohlédnuty mikroskopicky na přítomnost cyst toxoplazmy celosklíčkové nativní preparáty z přední části velkého mozku. Při negativním výsledku prvního vyšetření byly u sérologicky pozitivních zvířat připraveny a prohlédnuty preparáty další.

K pokusu na zvířatech — laboratorních myších prostých toxoplazmózy — bylo použito buď suspenze smíšeného materiálu některých orgánů včetně mozku nebo mozku samotného, ve dvou případech odděleně jednak mozkové suspenze, jednak suspenze jiných orgánů; ve třech případech sérologicky negativních bylo od pokusu na zvířatech upuštěno. Infekční materiál, přibližně desetiprocentní suspenze v Lockeho fyziologickém roztoku s antibiotiky, byl inokulován *i. p.* vždy dvěma myším, v dávce zpravidla 1,0 ml. Je třeba dodat, že k pokusu na zvířatech došlo teprve asi za 10 dní po ulovení ondatry.

Uhynulé pokusné myši byly pitvány, mozek byl vyšetřen mikroskopicky v nativních, popřípadě i v giemsou obarvených preparátech, otisky peritonea a roztěr z plic po obarvení. Pokusné myši, které přežily, byly za 25 až 29 dní po inokulaci vykřevny, krev obou zvířat téže skupiny byla zpracována obvykle ve společném vzorku, séra byla vyšetřována RVK. Mozky všech usmrčených myšek byly vyšetřeny mikroskopicky v nativních preparátech ze standardního vzorku (Rašín 1970a) i ze vzorku z přední části velkého mozku. Další pasáže materiálem z usmrčených pokusných myši byly dělány pouze v případech s pozitivním sérologickým a mikroskopickým nálezem — tyto se vždy kryly, z uhynulých pokusných zvířat pak při kladném mikroskopickém nález, hrozila-li ztráta kmene. Vždy bylo použito mozkové suspenze, někdy kromě toho samostatně suspenze sleziny.

Kuna skalní, která je rovněž předmětem našeho sdělení, pocházela ze zcela jiné lokality než ondatry. Byla vyšetřena podobným postupem jako ondatry.

VÝSLEDKY

Na toxoplazmózu bylo vyšetřeno celkem 15 ondatr, 8 ♀♀, 7 ♂♂, v každé skupině 5 zvířat mladých. Přehled výsledků podává tabulka I. V několika případech nebyly při pitvě zjištěny žádné zjevné patologicko-anatomické změny. Poměrně často byly některé regionární mízní uzliny — ve srovnání s týmž orgá-

I. Vyšetření ondatr na toxoplazmózu — přehled výsledků

Lokalita	Ondatry					Izoiace kmenů				
	poř. čís.	pohl. vzrůst	pítevní nález	RVK titr	cysty v mozku	infekční materiál	pokusné myši			
							označení	usmr- cena, + úhyn za dní	RVK titr	cysty v mozku
A	1	♀ mladá	negativní	—	—					
B	2	♂ mladý	negativní	—	—					
	3	♂ mladý	negativní	5 +++	—	plice, slezina, mozek	a b	29	—	— —
	4	♀ mladá	levá uzlina pod- pažní zvětšená	5 +++	—	plice, slezina, uzlina, mozek	a b	29	—	— —
	5	♀ mladá	uzliny krční zvětšené	20 ++	—	plice, slezina, uzlina, mozek	a b	29	—	— —
	6	♂ starý	negativní	—	—					
	7	♀ stará	levá uzlina pod- kyčelní zvětšená	10 ++	—	plice, slezina, uzlina, mozek	a b	29	—	— —
	8	♂ mladý	slezina mírně zvětšená, v játrech více kusů zralých <i>Cysticercus</i> <i>fasciolaris</i>	2560 ++	+++	mozek	a b	+16 +15	? ?	+ +
C						plice, slezina, uzliny	c d	+ 6 + 6	? ?	— —
	9	♀ mladá	slezina zduřelá, uzl. podpažní zvětšené, v játrech mnoho <i>Cyst. fasciolaris</i>	160 +++	—	mozek	a b	25	320 ++	+ +
	10	♀ mladá	slezina, uzliny nezvětšené, v játrech ojed- nělý <i>Cyst.</i> <i>fasciolaris</i>	640 ++	+++	mozek	a b	25 +10	1280 +++ ?	+ ?
	11	♀ stará	levá uzlina pod- pažní zvětš., v játrech četný <i>Cyst. fasciolaris</i>	5 ++	—	mozek	a b	25	—	— —

pokračování

Lokalita	Ondatry					Izolace kmenů				
	poř. čís.	pohl. vzrůst	pitěvní nález	RVK titr	cysty v mozku	infekční materiál	pokusné myši			
							ozna- čení +	usmr- cena, + úhyn za dni	RVK titr	cysty v mozku
	12	♂ starý	slezina zvětšená, v játrech oje- dinělý Cyst. fasciolaris	40 ++	—	mozek	a b	26	—	—
						plice, slezina, uzliny	c d	+ 1 + 1		
	13	♀ stará	slezina zvětšená, v játrech četný Cyst. fasciolaris	5 ++	—	mozek	a b	26	—	—
D	14	♂ mladý	slezina silně zvětšená	—	—	mozek	a b	25	—	—
	15	♂ mladý	slezina ne- zvětšená, v játrech více Cyst. fasciolaris	—	—	mozek	a b	25	—	—

nem druhé strany — značně zvětšené, bledé, tuhoelastické, mírně provlhlé. Ve-
likost sleziny kolísala i u zvířat téhož vzrůstu a přitom toxoplazmapozitivních.
Téměř v polovině případů, u sedmi kusů, se vyskytoval v játrech ojedinelý až
velmi četný *Cysticercus fasciolaris*. Šest těchto ondatr pocházelo z téže lokality
a ve třech případech byly z nich izolovány také kmeny toxoplazmy.

Sérologickým vyšetřením ondatr RVK na toxoplazmové protilátky byly
zjištěny titry: 0 5 10 20 40 160 640 2560
u kusů: 5 4 1 1 1 1 1 1

Sameček s titrem 2560 a samička s titrem 640 měli v mozku velmi četné cysty
toxoplazmy o průměru 50–90 μ . Kmeny toxoplazmy byly izolovány z právě
uvedených zvířat a z další samičky s titrem 160, v jejímž mozku (v prohléd-
nutých vzorkových preparátech) nebyly cysty nalezeny. Kmeny nevyvolávají
zatím tvorbu exsudátu, jeden z nich má již IV. pasáž.

Vyšetřená kuna skalní byla nalezena mrtvá letos v červnu. Šlo o mohutného
samce, dobrého výživného stavu, s rupturou jater a vykrvácením do dutiny
břišní. V žaludku měla třeseň. Všechny regionální mízní uzliny měla zvětšené,
tuhoelastické, bledé. Vazba komplementu s myším antigénem 160 + + +. Mi-
kroskopickým vyšetřením nativních preparátů ze vzorků tkáně z několika míst
velkého mozku se nepodařilo nalézt cysty toxoplazmy. Mozkovým materiálem,
v suspenzi cca 1 : 5, dávkou 1 ml i. p. infikované dvě myši projeví za šest
dní po inokulaci klinické příznaky onemocnění: chlup zježený, nežravost. Jedna
z nich byla desátý den pokusu usmrcena. V giemsou obarveném roztěru ze stan-
dardního vzorku mozku byly nalezeny malé cysty toxoplazmy s cca 30 až 60
zárodky.

DISKUSE

Údaje dřívějších autorů a výsledky našeho orientačního průzkumu dokazují, že toxoplazmóza není u **ondatry řídkým zjevem**, že je nutné, aby s tím počítali lovci této **kožešinové zvěře**, aby **dodržovali zásady osobní hygieny** při veškeré manipulaci s úlovkem a aby zvěřina byla **zužikovávána** ke krmení zvířat pouze řádně tepelně opracovaná. Výstrahou jsou katastrofy v chovech norků, o nichž jedná práce **Priddy a** 1961.

Zajímavé je zjištění současného výskytu toxoplazmy a *Cystic. fasciolaris* u všech šesti ondatr jedné z našich lokalit. Jde o zvířata poř. čís. 8–13 (viz tabulka I); u všech byly zjištěny vazbou komplementu toxoplazmové protilátky, izolovány z nich tři kmeny toxoplazmy, u dvou byly nalezeny i mikroskopicky cysty v mozku. U všech ondatr této skupiny se vyskytoval v játrech ojediněle až velmi četný *Cysticercus fasciolaris*. Tato okolnost budí podezření, že invaze ondatr oběma parazity má společný zdroj. Že jde o domněnku oprávněnou, potvrzují nejnovější poznatky (Hutchison a kol. 1970, Overdulve 1970) o roli kočky (možná i jiných šelem) v epidemiologii a epizootologii toxoplazmózy.

Literatura

- BUTABAEVA M. V., 1969, Spontannyj toksoplazmoz nutrij i ondatr v Uzbekistane. Ekologija i biologija životnych Uzbekistana. Taškent, „FAN“ : 49-52.
- FANKHAUSER R., FISCHER K., 1965, Toxoplasmosen bei Marder und Eichhörnchen Schweiz. Arch. Tierheilk., 107 : 611-614.
- HAVLÍK O., HÜBNER J., 1958, Sérologický průkaz toxoplazmosy domácích i volně žijících zvířat. Českoslov. epidemiol. mikrobiol. imunol., 7 : 396-402.
- HUTCHISON W. M., DUNACHIE J. F., SIM J. CHR., WORK K., 1970, Coccidian-like nature of *Toxoplasma gondii*. Brit. Med. J. : 142-144.
- KARSTAD L., 1963, *Toxoplasma microti* (the M-organism) in the muskrat (*Ondatra zibethica*). Canad. vet. J. 4 : 249-251.
- LEVIT A. V., VUSTINA U. D., GUBENKO L. N., 1965, Toksoplazmoz gryzunov. Toksoplazmoz životnych. Alma-Ata : 238-273.
- OVERDULVE J. P., 1970, The probable identity of *Toxoplasma* and *Isospora* and the role of the cat in the transmission of toxoplasmosis. Tijdschr. Diergeneesk., deel 95, afl 2 : 149-155.
- PRIDHAM D., 1961, An outbreak of toxoplasmosis in ranch mink. Canad. J. Publ. Hlth., 52 : 389-393.
- RAŠÍN K., 1948, Toxoplasmosa zajíce (*Lepus europaeus* Pall.). Věstník Čs. zoolog. společnosti, 12 : 157-179.
- RAŠÍN K., 1970a, Kmeny *Toxoplasma gondii* Nicolle et Manceaux 1909 izolované ze zajíců (*Lepus europaeus* Pall.). Vet. Med. (Praha), 15 (XLIII) : 127-145.
- RAŠÍN K., 1970b, *Toxoplasma gondii* Nicolle et Manceaux 1909 — protilátky u zajíců (*Lepus europaeus* Pallas). Vet. Med. (Praha) 15 (XLIII) : 335-340.

Došlo dne 3. 8. 1970

РАШИИ К. (Биовета, Ивановице, Чехословакия). Токсоплазма у ондатр *Ondatra zibethica* (Linné) 1766 и у каменной куницы *Martes foina* (Erxleben) 1777. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 255-260, 1971.

Из 15 ондатр, обследуемых РСК на токсоплазму, у пяти голов наблюдался отрицательный результат, у четырех был установлен титр 5 и всегда по одному случаю титры: 10, 20, 40, 160, 640, 2560. В нативных препаратах из передней части большого мозга у двух ондатр (♂ с титром 2560, ♀ с титром 640) были обнаружены микроскопические многочисленные цисты токсоплазмы диаметром 50–90 м. Из обоих этих животных и из других ♀ с титром 160 были изолированы уже в первом пассаже на мышах, с применением мозговой суспензии в качестве инфекционного материала, штаммы токсоплазмы, мало патогенной

для мышей. Штамм токсоплазмы также был выделен от каменной куницы ♂ (разрыв печени и истечение кровью в брюшную полость), опять же в первом пассаже суспензии мозга. В ориентировочных нативных препаратах не удалось микроскопически обнаружить в мозге куницы цисты токсоплазмы, по РСК была положительной 160+++.

токсоплазмоза; титры РСК; изоляция штаммов; ондатра; куница

RAŠÍN K. (Bioveta, Ivanovice, Czechoslovakia). *Toxoplasma in Muskrat Ondatra zibethica (Linné) 1766 and in Stone Marten Martes foina (Erxleben) 1777*. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 255-260, 1971.

The CFT was used as a method of diagnosing toxoplasmosis and the examination of fifteen muskrats revealed negative results in 5 of the specimen, in four there were ascertained titre values of five while the remaining number of animals registered respectively titres of 10, 20, 40, 160, 640 and 2560. In native (non-coloured) preparations of the cerebrum there was found in two muskrats (♂ with titres of 2560, and 640 ♀ respectively) by the microscopic methods numerous toxoplasma cysts with an average diameter of 50–60 μ . From these two animals and from a further ♀ one with titre 160, by using as inoculum a suspension of the brain substance there have been isolated already after the first passage in mice numerous toxoplasma strains with slight pathogenicity for mice. There has been also revealed a toxoplasma strain in one stone marten ♂ (registering rupture of the liver and haemorrhage in the abdominal cavity) which was isolated already after the first passage in mice to whom a suspension of the marten brain had been inoculated. By the microscopic examination there were not detected any toxoplasma cysts in the native preparations obtained from the marten brain, however, the CFT was positive in 160 +++.

toxoplasmosis; titre determination by CFT; isolation of strains; muskrats; marten

RAŠÍN K. (Bioveta, Ivanovice, Tschechoslowakei). *Toxoplasma bei der Bisamratte Ondatra zibethica (Linné) 1766 und beim Steinmarder Martes foina (Erxleben) 1777*. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 255-260, 1971.

Von fünfzehn mit Hilfe der Komplementprobe auf Toxoplasmose untersuchten Bisamratten wiesen fünf ein negatives Resultat auf, bei vier wurde der Titer 5 und in je einem Fall wurden die Titer 10, 20, 40, 160, 640 und 2560 festgestellt. In nativen Präparaten aus dem Vorderteil des Großhirns wurden bei zwei Bisamratten (♂ mit Titer 2560, ♀ mit Titer 640) mikroskopisch zahlreiche Toxoplasmazysten mit 50–90 μ Durchmesser festgestellt. Aus beiden diesen Tieren und aus einem weiteren ♀ mit Titer 160 wurden unter Benützung einer Hirnsuspension als Infektionsmaterial, bereits in der ersten Passage an Mäusen, für Mäuse nur gering pathogene Toxoplasmasträmme gewonnen. Ein Toxoplasmastramm wurde auch beim Steinmarder ♂ (Leberruptur und Verblutung in die Bauchhöhle) ebenfalls durch die erste Hirnsuspensionspassage gezüchtet. In nativen Orientationspräparaten gelang es nicht, im Hirn des Steinmarders Toxoplasmazysten nachzuweisen. Die Komplementbindungsreaktion war aber mit 160 +++ positiv.

Toxoplasmose; Titer der KBR; Isolierung der Stämme; Bisamratte; Steinmarder

Adresa autora:

MVDr. K. Rašín, Bioveta, Ivanovice na Hané

DETEKCE LEPTOSPIR POMOCÍ FLUORESCENČNÍCH PROTILÁTEK

L. Starošík, K. Semotán, J. Machová

Bioveta, Ivanovice na Hané

STAROŠÍK L., SEMOTÁN K., MACHOVÁ J. *Detekce leptospir pomocí fluorescenčních protilátek*. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 261-268, 1971.

Z hyperimunního králičího antiséra byl připraven a zkoušen konjugát k detekci *L. copenhageni* (*L. icterohaemorrhagiae*) přímou metodou fluorescenčních protilátek. Diagnostická použitelnost a specifická konjugátu byla prověřena průkazem antigenu v kultivačním mediu a v některých orgánech experimentálně infikovaných morčat a myši. Imunofluorescenční diagnostika se jeví při srovnání s kultivační metodou jako citlivější a rychlejší.

L. copenhageni (*L. icterohaemorrhagiae*); infekce; průkaz; kultivace; imunofluorescence

Na výhodnost imunofluorescenční metody pro průkaz leptospir upozornil ve své práci již Sheldon (1953). Vizualizace leptospir, prováděná pomocí fluorescenčních protilátek (dále jen FP), se jako diagnostická metoda objevuje v práci Moultona a Howartha (1957) pro detekci *L. canicola* v tkáni křeččích ledvin a dále v práci Whitea a Ristica (1959) pro průkaz *L. pomona* v morčecí a hovězí moči. Dacres (1961) popisuje techniku FP, která dovoluje identifikovat leptospirové sérotypy. Coffin a Maestrone (1962) dosáhli dobrých výsledků při průkazu leptospir pomocí FP jak v materiálu čerstvém, tak v materiálu zmraženém a kontaminovaném, kde jiné vyšetřovací metody nelze uplatnit. Maestrone (1963) popisuje také příznivé výsledky při detekci leptospir v čerstvém i formalinem fixovaném materiálu za použití metody FP. Radu a kol. (1965) při sledování citlivosti a efektivnosti metody FP ve srovnání s klasickými metodami studia leptospir ukázali, že metoda FP je 8X citlivější než metoda pozorování v temném poli. Na rozdíl od klasických metod bylo možno pomocí imunofluorescence identifikovat leptospiry i tehdy, když lýzou ztratily svůj charakteristický tvar. Smith a kol. (1967) dosáhli použitím metody FP při průkazu leptospir z tkání bovinních fétů pozitivních výsledků i tehdy, když infekční materiál vykazoval mírnou autolýzu a když výsledky kultivačních a histopatologických vyšetření byly negativní. Du Plessis (1966) vyšetřoval lidská séra nepřímou metodou FP a výsledky srovnával s mikroskopickou aglutinací; obě metody byly v úplné korelaci.

Cílem této práce byla příprava a prověření konjugátu vhodného k průkazu antigenu *L. copenhageni* (*L. icterohaemorrhagiae*) v kultivačním mediu a v infekčním materiálu metodou FP.

MATERIÁL A METODY

Pracovali jsme s následujícími leptospirovými kmeny:

- a) *L. bratislava* — Bratislava, *L. grippotyphosa* — ž. 6, *L. jalná* — Jalná, *L. sejroe* — Jihlava;
- b) *L. copenhageni* (*L. icterohaemorrhagiae*) — Rn 1539/68;
- c) *L. canicola* — SSSR, *L. copenhageni* (*L. icterohaemorrhagiae*) — SSSR, *L. pomona* — SSSR, *L. tarassovi* — SSSR, *L. biflexa* — Patoc.

Leptospirové kmeny byly udržovány běžnou kultivační technikou na Korthofově a souběžně na Fletcherově živné půdě (Wolf 1954, Cruickshank 1962, Halaša a kol. 1969). K pomnožování kmenů bylo též použito syntetické živné půdy s hovězím albuminem a Tweenem 80 (Starostík, Horňáková 1969).

HYPERIMUNIZACE KRÁLÍKŮ

Pro imunizaci jsme použili králíky o živé váze 2 kg. Séra těchto králíků, získaná před imunizací, neobsahovala žádné leptospirové protilátky. Imunizace byla prováděna kulturami *L. copenhageni* (*L. icterohaemorrhagiae*) vyrostlými na Korthofově živné půdě. Po vytvoření základní imunity leptospirovou kulturou inaktivovanou (56 °C 30 minut) jsme králíky dále hyperimunizovali podle schématu uvedeného v práci Moody a kol. (1956).

K hyperimunizaci jsme používali živou kulturu, kterou jsme aplikovali i. v. ve třech očkovacích cyklech. Zkušební odběr krve byl dělán za týden po poslední injekci a sérum bylo zkoušeno na obsah protilátek aglutinačně lytickou reakcí. Hlavní odběr krve pro získání séra jsme dělali srdeční punkcí. Byla zpracována séra, mající titr protilátek větší než 1 : 100 000. Před vlastním zpracováním byla séra zamražena a skladována při teplotě -20 °C.

PŘÍPRAVA KONJUGÁTU

Globulinová frakce byla získána z hyperimunního králíčího séra srážením pomocí nasyceného roztoku síranu amonného do 40 % nasycení, sráženina byla promyta 50 % nasyceným roztokem této soli, rozpuštěna v minimálním množství destilované vody a roztok dialyzován proti 0,45 % roztoku NaCl do úplného odstranění síranových iontů. Koncentrace bílkovin v roztoku globulinů byla upravena na 4 % a provedena konjugace a FITC izomérem I čs. výroby, š. č. 030568, při obsahu 3 % FITC. Jeden díl roztoku FITC v borátovém pufru o pH = 9,0 byl povolna a za míchání přidán k jednomu dílu 4 % roztoku globulinů při laboratorní teplotě. Konjugační proces probíhal 24 hodiny při 4 °C. Volný FITC byl odstraněn gelovou filtrací na kolonce Sephadexu G-25. Konjugát byl dále adsorbován na organový prášek (50 mg/ml), pH upraveno na 7,4 a provedena lyofilizace. U výsledného preparátu byla stanovena bílkovina biuretovou metodou a koncentrace FITC na základě standardního barviva fluorescein diacetátu (McKinney a kol. 1964) a z výsledků byl vypočten váhový a molekulární poměr FITC/B.

K experimentální infekci byla použita dvě morčata ve váze 150 g a dvacet bílých laboratorních myšek ve váze 12–15 g. Myšky byly osm hodin před infekcí ozářeny X-paprsky dávkou 450 r (Kemenes 1966). Morčatům byly aplikovány i. p. 3–4 ml, myškám 0,2 ml dobře narostlých kultur *L. copenhageni* — (SSSR) nebo *L. copenhageni* — (Rn 1539/68). Bližší údaje o těchto kulturách jsou obsaženy v tabulce II a III. Průkaz leptospir v infekčním ma-

teriiálu byl proveden metodou kultivační a imunofluorescenční. Ke kultivaci bylo použito Korthofovy a v některých případech také syntetické živné půdy s hovězím albuminem a Tweenem 80. Inkubace probíhala v termostatu při 28 °C po dobu pěti týdnů. U morčat bylo kultivováno z jater, sleziny, ledviny, peritoneálního exsudátu a moče, u myši pouze z jater.

IMUNOFLUORESCENČNÍ BARVENÍ

Roztěry kultur z Korthofovy nebo syntetické půdy a otisky z infikovaných orgánů byly fixovány po zaschnutí plamenem nebo ponořením na 15 minut do acetonu. U myšek byly vyšetřeny touto metodou kromě jater také ledviny. Na preparáty byl aplikován konjugát v pracovním ředění a provedena inkubace ve vlhké komůrce při 37 °C 30 minut. Následovalo opláchnutí a promývání 30 min. v 3X vyměněném pufovaném fyziologickém roztoku o pH 7,4 a po osušení preparátů montáž do 80% pufovaného glycerinu o pH 7,4. Specifita fluorescence byla kontrolována souběžným barvením negativních preparátů, popřípadě aplikací negativního konjugátu (normální králíci) na pozitivní preparát. K imunofluorescenčnímu vyšetření sloužil mikroskop typ ML-2, mikrofotografie byly pořizovány na film ORWO 27 DIN.

VÝSLEDKY

PRŮBĚH PO INFEKCI

Morče infikované kmenem *L. copenhageni* (SSSR) bylo čtvrtý den po infekci utraceno éterem. Morče infikované kmenem *L. copenhageni* (Rn 1539/68) šestý den po infekci uhynulo.

Ze dvou skupin po pěti myškách infikovaných kmenem *L. copenhageni* Rn 1539/68 uhynuly první myšky čtvrtý den po infekci a téhož dne byly ostatní myšky ze stejných skupin utraceny éterem. Ze skupiny myšek infikovaných kmenem *L. copenhageni* (SSSR) uhynula první myška sedmý den, druhá devátý den a třetí desátý den po infekci. Téhož dne byly zbývající myšky z této skupiny utraceny éterem.

Z pěti kontrolních myšek neinfikovaných, pouze ozářených X-paprsky, uhynula jen jedna myška sedmý den po zahájení pokusu, ostatní myšky přežily.

HODNOCENÍ DIAGNOSTICKÉ POUŽITELNOSTI KONJUGÁTU

Specifičnost anti *L. copenhageni* konjugátu jsme prověřovali na leptospirových kulturách výše uvedených kmenů vyrostlých na Korthofově nebo na syntetické živné půdě. Specifická fluorescence se projevila pouze u kultur *L. copenhageni* (*L. icterohaemorrhagiae*) a *L. canicola*. Přehled vlastností konjugátu je uveden v tabulce I. Celkově lze hodnotit konjugát jako středně účinný a vhodný k diagnostickému použití.

I. Údaje o vlastnostech anti-leptospirového konjugátu

Koncentrace FITC	Koncentrace bílkoviny	Váhový poměr FITC bílkovina	Molekulární poměr FITC bílkovina	Pracovní ředění	Barvicí titr
215 γ/ml	18 mg/ml	$11,9 \cdot 10^{-3}$	5,1	1 : 8—1 : 16	1 : 64

KULTIVAČNÍ A IMUNOFLUORESCENČNÍ VYŠETŘENÍ

V tabulce II jsou zachyceny nálezy z obou infikovaných morčat. Kmen *L. copenhageni* (SSSR) nebyl z prvního morčete izolován, zatímco kmen *L. copenhageni* (Rn 1539/68), který byl izolován, vyvolal u druhého morčete omezené končící šestý den po infekci úhynem s *p. a.* příznaky ikteru. Při imunofluorescenčním vyšetření byly všechny nálezy u morčete č. 1 negativní a u morčete č. 2 pozitivní.

II. Výsledek kultivačního a imunofluorescenčního vyšetření morčat

Označení pokusného morčete	Kmen pro infekci	Dávka	Po- známka	Kultivační nálezy (K) a imunofluor. vyšetření (F)									
				játra		slezina		ledvina		perit. ex.		moč	
				K	F	K	F	K	F	K	F	K	F
č. 1	<i>L. copenhageni</i> — SSSR (Korthof a Fletcher)	3 ml i. p.	4. den po inf. utraceno	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
č. 2	<i>L. copenhageni</i> — Rn 1539/68 (Korthof a Fletscher)	4 ml i. p.	6. den po inf. uhynulo	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+

+ Po sedmidenní inkubaci ojedinelé leptospiry a po 10 dnech ve všech případech husté kultury leptospir
Při kultivaci ze srdce byl u morčete č. 1 nález negativní, u morčete č. 2 nález pozitivní

V tabulce III shrnujeme kultivační a imunofluorescenční nálezy ozářených a infikovaných myšek. Ze skupiny myšek *K*, infikovaných kmenem *L. copenhageni* (Rn 1539/68) z Korthofovy půdy, bylo možno z jater všech myšek (100 %) kultivačně zachytit infekční kmen. Rovněž u všech myšek (100 %) byl pozitivní nález v játrech a ledvinách imunofluorescencí. Ve druhé skupině myšek označené *S*, infikované týměž kmenem vyrostlým na syntetické půdě s hovězím albuminem a Tweenem 80, se nám naproti tomu podařilo izolovat kultivačně infekční kmen z jater jen od jedné myšky (20 %), zatímco imunofluorescencí byl prokázán v játrech u všech myšek (100 %) a v ledvinách u čtyř myšek (80 %). V další skupině myšek infikovaných po ozáření kmenem *L. copenhageni* (SSSR) jsme kultivačně nezachytili infekční kmen z jater od žádné z myšek, z nichž bylo kultivováno. Dvě uhynulé myšky z této skupiny nebylo možno zpracovat. Pozitivní imunofluorescence byla zaznamenána pouze u jedné myšky v ledvinách. Z kontrolní skupiny myšek uhynula jen jedna sedmý den po ozáření, ostatní přežily.

Pozitivní kultivační nálezy z jater infikovaných myšek byly získány jediné při naočkování infekčního materiálu do Korthofovy půdy. V syntetické půdě s hovězím albuminem a Tweenem 80 nebyl infekční kmen ani v jednom případě zachycen. Při přeočkování čerstvě izolovaných kultur z Korthofovy půdy do půdy syntetické byl jejich růst hned v první pasáži mohutnější než v půdě Korthofově. Uvedená syntetická půda není tedy vhodná pro záchyt těchto kmenů z infekčního materiálu, ale osvědčuje se jako půda pomnožovací (obr. 1 a 2).

III. Výsledek kultivačního a imunofluorescenčního vyšetření myšek ozářených X-paprsky 450 r.

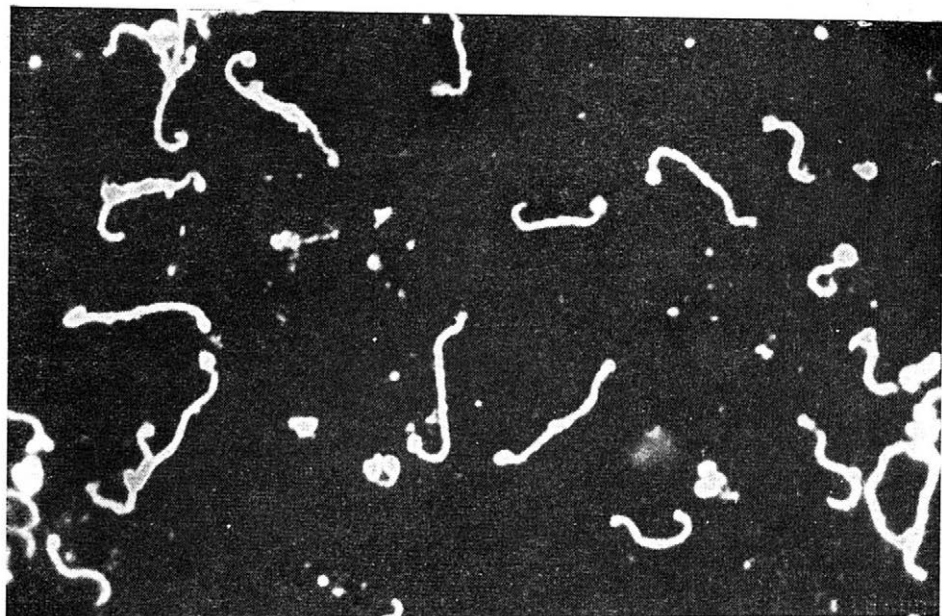
Označení pokusných myšek	Skupina	Kmen pro infekci	Dávka	Poznámka	Kultivační nálezy z jater	Imunofluorescenční vyšetření	
						játra	ledvina
1 2 3 4 5	K	<i>L. copenhageni</i> — Rn 1539/68 (Korthof — 1)	0,2 ml <i>i. p.</i>	4. den uhynula	+	+	+
				4. den utracena	+	+	+
				4. den utracena	+	+	+
				4. den utracena	+	+	+
				4. den utracena	+	+	+
1 2 3 4 5	S	<i>L. copenhageni</i> — Rn 1539/68 (syntetická půda — 2)	0,2 ml <i>i. p.</i>	4. den uhynula	0	+	+
				4. den utracena	+	+	+
				4. den utracena	0	+	+
				4. den utracena	0	+	0
				4. den utracena	0	+	+
1 2 3 4 5	—	<i>L. copenhageni</i> — SSSR (Korthof)	0,2 ml <i>i. p.</i>	7. den uhynula	—	—	—
				9. den uhynula	0	0	0
				10. den uhynula	—	—	—
				10. den utracena	0	0	0
				10. den utracena	0	0	+
1 2 3 4 5	kontroly	—	—	7. den uhynula	—	—	—
				zůstala na živu			
				zůstala na živu			
				zůstala na živu			
				zůstala na živu			

+ Po sedmidenní inkubaci ojedinelé leptospiry a po 10 dnech ve všech pozitivních případech husté kultury leptospir
1 — po pasáži morčetem 2. pasáž na Korthofově půdě
2 — po pasáži morčetem a po zachytu na Korthofově půdě 1. pasáž na syntetické půdě

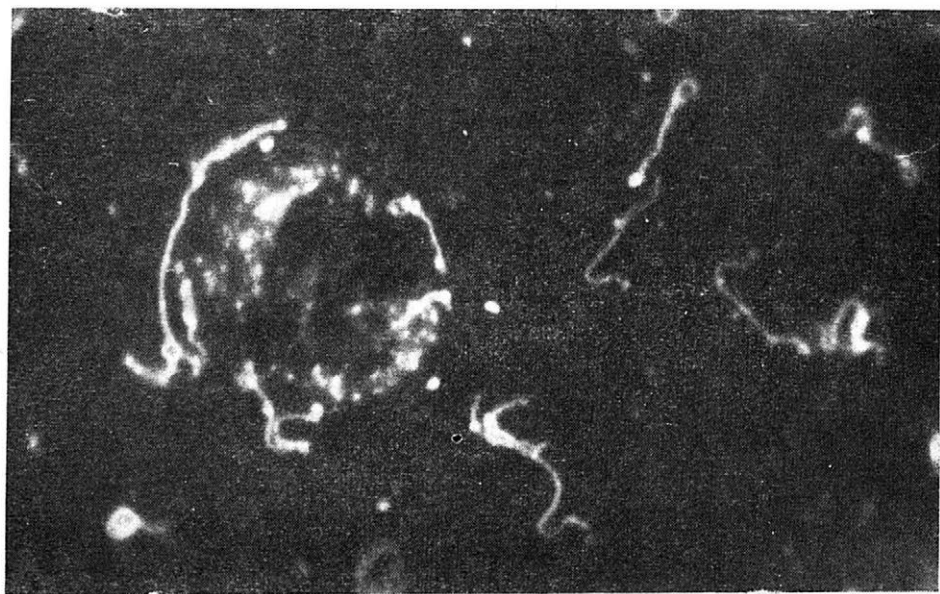
DISKUSE

Pokusy s laboratorními zvířaty umožnily získat infekční materiál. Roztěry z jednotlivých orgánů u morčat jsme vyšetřili čtvrtý a šestý den po infekci. Podle Wolfa (1954) trvá v typických případech leptospirové onemocnění u morčat 5—10 dnů a je závislé na virulenci kmene a na stáří zvířete. Nejvyšší zachytanost *L. copenhageni* z krve infikovaných morčat je první čtyři dny onemocnění. V orgánech jsou leptospiry přítomny ve velkém množství v játrech a o něco méně v ledvinách. Podle zkušeností řady autorů, uvedených Wolfem (1954), jsou bílé myšky k infekci *L. copenhageni* nerovnoměrně vnímavé. Poměrně konstantnějších výsledků při práci s bílými myškami dosáhl Kementes (1966) po jejich ozáření X-paprsky dávkou 450 r.

Zajímavá je skutečnost, že jediná pasáž virulentního kmene *L. copenhageni* (Rn 1539/68) na syntetické půdě provedená před infekcí myšek podstatně snížila procento jeho kultivačního zachytu při zpětné izolaci z jater infikovaných myšek. Je velmi pravděpodobné, že při růstu leptospir v syntetické živné půdě dochází ke snižování jejich virulence. Toto pozorování je v souladu s pracemi Stalheima (1966).



1. Specificky fluoreskující *Leptospira copenhageni* (*Leptospira icterohaemorrhagiae*) v pomnožovací syntetické půdě s albuminem. Zvětšení 720X



2. Specifická fluorescence *L. copenhageni* (*L. icterohaemorrhagiae*) v otisku z ledviny myši uhynulé čtvrtý den po infekci; v levé části obrázku je zachycena nespecifická fluorescence tkáně ledviny a specificky svítící části rozpadlých leptospir. Zvětšení 720X

Imunofluorescenční metoda se ukázala v případě detekce leptospir jako citlivější a rychlejší ve srovnání s kultivací. U použitého konjugátu jsme volili kvocient F/B okolo $12 \cdot 10^{-3}$, který doporučují mnozí autoři jako optimální poměr pro konjugáty určené k přímé metodě FP (Király, Jobbagy 1966, Noskov 1968). Naše prozatímní zkušenosti tento poznatek potvrzují (Karl a kol. 1968). Nedosáhli jsme zvláště vysokého pracovního ředění konjugátu, které by prakticky vylučovalo nespecifické přibarvování. Přesto jej můžeme doporučit v imunofluorescenční diagnostice leptospir, neboť slabou nespecifickou fluorescenci lze snadno rozlišit od pozitivní fluorescence leptospirového antigenu morfologicky (obr. 2). I když se v literatuře udávají zkřížené reakce mezi *L. copenhageni* (*L. icterohaemorrhagiae*), *L. pomona*, *L. sejroe* a *L. canicola*, zaznamenali jsme tyto reakce pouze u *L. canicola*.

Poděkování

Za poskytnutí leptospirových kmenů (a) jsme zavázáni díky panu RNDr. B. Pokornému — ÚSVÚ Praha, Suchbát, kmenů (b) panu RNDr. Z. Šebkovi, CSc. — Národní referenční laboratoř pro leptospiry Jihlava a kmenů (c) paní Dr. C. Lelutiu — Pasteurův ústav Bukurešť.

Dále děkujeme panu ing. Sedláčkovi z radiobiologické laboratoře VÚVL v Brně za ozáření myšek X-papřsky.

Literatura

- COFFIN D. L., MAESTRONE G., 1962, Detection of leptospire by fluorescent antibody. Amer. J. Vet. Res. 23 : 159-164.
- CRUICKSHANK R., 1962, Handbook of bacteriology. E & S Livingstone Limited Edinburgh and London : 240.
- DACRES W. G., 1961, Fluorescein-labelled antibody technique for identification of leptospiral serotypes. Amer. J. Vet. Res. 22 : 570-572.
- HALAŠA M., PLEŠKO I., HRUZÍK J., 1969, Leptospirózy zvierat a ľudí. SVPL, Bratislava.
- KARL Z., SEMOTÁN K., NOVICKÝ R., 1968, Příprava antirabických globulinů značených FITC. Imunoprofylaxia 1 : 18-19.
- KEMENES F., 1966, *Leptospira icterohaemorrhagiae*-infection of experimental animals with artificially decreased resistance. Ann. Soc. belge Méd. trop. 46 : 235-244.
- KINNEY Mc R. M., SPILLANE J. T., PEARCE G. W., 1964, Fluorescein diacetate as a reference color standard in fluorescent antibody studies. Anal. Biochem. 9 : 474-476.
- KIRALY K., JOBBAGY A., 1966, Control of conjugation of fluorescent protein tracing. Path. Microbiol. 29 : 865-872.
- MAESTRONE G., 1963, The use of an improved fluorescent antibody procedure in the demonstration of *Leptospira* in animal tissues. Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 27 : 108-112.
- MOODY M. D., GOLDMAN M., THOMASON B. M., 1956, Staining bacterial smears with fluorescent antibody. 1. General methods for *Maleomyces pseudomalei*. J. Bact. 72 : 357-361.
- MOULTON J. E., HOWARTH J. A., 1957, The demonstration of *L. canicola* in hamster kidneys by means of fluorescent antibody. Cornell Vet. 47 : 524-532.
- NOSKOV F. S., 1968, K ocenke serologickéj aktivnosti lžuminiscirujuščich antitěl protiv virusa kleščevogo encefalitida. Lab. dělo 4 : 227-229.
- PLESSIS Du J. L., 1966, Detection of leptospiral antibodies by means of the indirect fluorescent antibody method. J. S. Afr. vet. med. Ass. 37 : 271-275.
- RADU I., STURDZA N., RADU A., 1965, Études des leptospire au moyen des anticorps fluorescents. II. Mise en évidence des leptospire dans l'organisme du cobaye infecté par *L. icterohaemorrhagiae*. Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol. 24 : 713-726.

- SHELDON W. H., 1953, Leptospiral antigen demonstrate by the fluorescent antibody technic in human muscle lesions of *L. icterohaemorrhagiae*. Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med. 84 : 165-167.
- SMITH R. E., REYNOLDS I. M., CLARK G. W., 1967, Immunofluorescence in the diagnosis of bovine fetal leptospirosis. Cornell Vet. 57 : 517-526.
- STALHEIM O. H. V., 1966, Leptospirae selection, growth and virulence in synthetic media. Amer. J. Vet. Res. 92 : 946-951.
- STAROŠTÍK L., HORNÁKOVÁ M., 1969, Syntetická půda s hovězím albuminem domácí výroby pro kultivaci leptospir. Veterinářství 19 : 301-303.
- WHITE F. H., RISTIC M., 1959, Detection of *L. pomona* in guinea pig and bovine urine with fluorescein-labelled antibody. J. Inf. Dis. 105 : 118-123.
- WOLF J. W., 1954, The laboratory diagnosis of leptospirosis. Springfield — Illinois — USA.

Došlo dne 22. 7. 1970

STAROŠTÍK L., SEMOTÁN K., MAXOVA I. (Биовета, Ивановице на Гане, Чехословакия). Детектирование лептоспир при помощи флуоресцирующих антител. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 261-268, 1971.

Из кроличьей гипериммунной антисыворотки был приготовлен и проверено соединение для детектирования *L. copenhageni* (*L. icterohaemorrhagiae*) прямым методом флуоресцирующих антител. Диагностическая применимость и специфичность соединения была проверена доказательством антигена в питательной среде и в некоторых органах искусственно инфицированных морских свинок и мышей. Иммунофлуоресцентная диагностика по сравнению с методом культивирования является более скорым и чувствительным методом.

L. copenhageni (*L. icterohaemorrhagiae*); инфекция; доказательство; культивация; иммунофлуоресценция

STAROŠTÍK L., SEMOTÁN K., MACHOVÁ J. (Biovet, Ivanovice na Hané, Czechoslovakia). Detection of *Leptospira* by Means of Fluorescent Antibodies. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 261-268, 1971.

The conjugate for the detection *L. copenhageni*, (*L. icterohaemorrhagiae*) by the direct method of fluorescent antibodies was prepared from the hyperimmune rabbit antiserum and subsequently tested. Diagnostic usefulness and the specificity of the conjugate was confirmed by the evidence of antigen in the growth medium as well as in some organs of experimentally infected guinea pigs and mice. As compared with the cultivation method was the immunofluorescent technique speedier and showed the higher sensitivity.

L. copenhageni, (*L. icterohaemorrhagiae*); infection; evidence; cultivation; immunofluorescence

STAROŠTÍK L., SEMOTÁN K., MACHOVÁ J. (Biovet, Ivanovice na Hané, Tschechoslowakei). Der Detektionsnachweis der Leptospiren mittels fluoreszierender Antikörper. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 261-268, 1971.

Aus einem hyperimmunen Kaninchen-Antiserum wurde ein Konjugat hergestellt und zur Detektion der *L. copenhageni* (*L. icterohaemorrhagiae*) mittels direkter fluoreszenz-immunologischen Technik ausgewertet. Die diagnostische Nutzenanwendung und Spezifität des Konjugates wurde durch Antigennachweis im Nährmedium und in manchen Gewebepreparaten aus inneren Organen künstlich infizierter Meer-schweinchen und Mäusen nachgewiesen. Die Verwendungstechnik der FA zur praktischer Diagnose ist durchaus geeigneter als die Kultivierungsmethoden durch die Verkürzung der Untersuchungszeit und durch den Empfindlichkeitsgrad.

L. copenhageni (*L. icterohaemorrhagiae*); Infektion; Nachweis; Kultivation; Immunofluoreszenz

Adresa autorů:

MVDr. L. Starošík, RNDr. K. Semotán, MVDr. J. Machová, Biovet, Ivanovice na Hané

KONTROLA ÚČINNOSTI VAKCÍNY PROTI SLINTAVCE A KULHAVCE NA MORČATECH

F. Lázníčka, R. Hubík, J. Hříb

Bioveta, Terezín

Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Terezín

LAZNÍČKA F., HUBÍK R., HŘÍB J., *Kontrola účinnosti vakcíny proti slintavce a kulhavce na morčatech.* Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 269-280, 1971.

Prověřili jsme použitelnost testu účinnosti vakcín proti slintavce a kulhavce na morčatech — albínech. Výsledky na morčatech jsme porovnali s výsledky účinnosti vakcín na skotu a vzájemný vztah byl statisticky vyhodnocen. Prokázali jsme, že na základě zjištěné hodnoty PD_{50} pro morčata lze stanovit hodnotu PD_{50} pro skot s 95 % jistotou.

slintavka a kulhavka; kontrola vakcíny na morčatech

Každá vyrobená vakcína proti slintavce a kulhavce (dále jen slak) musí být před použitím v terénu státně kontrolována na neškodnost a účinnost. Spolehlivost a průkaznost zkoušek účinnosti je přímo závislá na možnosti použití plně vnímavého skotu. Tento požadavek je v důsledku stále stoupajícího rozsahu preventivních očkovacích akcí proti slak v mnohém směru značně komplikovaný. Rada prací publikovaných v tomto směru dokazuje, že se velmi intenzívně hledají možnosti používání laboratorních zvířat, která by mohla buď doplnit a zpřesnit kontrolní zkoušky na skotu, nebo je zcela či alespoň částečně nahradit.

Hlavní pozornost je pochopitelně věnována morčatům, i když se někteří autoři zaměřují na myšky (Uhlmann a kol. 1958, Bülow 1962, Bülow a Lorenz 1963, Gayot a kol. 1964, Traub a kol. 1969, 1970a, b) nebo na slepice (Petermann a kol. 1961, Fellowes 1962, Davies a kol. 1963, Hubík a kol. 1969).

Imunizační hodnoty různých kmenů viru slak studoval na morčatech po prvé Ubertini a kol. (1959), možnost aktivní imunizace morčat pomocí vakcín zkoušel Rosenbush a kol. (1957), Ubertini a kol. (1960), Rivenston (1960), Leunen a kol. (1962) a později pak řada dalších autorů. Přes velmi dobrou citlivost morčat na virus slak byly však výsledky zkoušek účinnosti vakcín na různých pracovištích zatíženy velkou variabilitou, nepřesnostmi a nedostatečnou relací k výsledkům kontrol účinnosti na skotu (Röhner 1967).

Série prací francouzských autorů, kteří se s problémem vyhodnocování obchodních vakcín na morčatech zabývali velmi obšírně od r. 1964 (Fontaine a kol. 1964, Mackowiak a kol. 1965, 1966, Roumiantzeff a kol. 1965, Terre a kol. 1966) postavila možnost kontroly vakcín proti slak na morčatech na zcela reálnou základnu. Ukázalo se, že pro získání přesných vý-

sledků je nutné používat morčata albínů stejného původu, rodu, váhy a dobrého zdravotního stavu. Zavedení a postupné rozšiřování albino morčat z Pirbrightu v Anglii (Davis a kol. 1959, H o y l a n d 1965) umožňuje uvažovat i o srovnatelnosti kontrolních zkoušek na morčatech na různých pracovištích.

Nejdůležitějším problémem je přirozeně relace mezi hodnotou vakcíny zjištěnou na morčatech a mezi skutečnou hodnotou vakcíny pro skot, pro který je především tato očkovací látka určena. Citovaní autoři prokázali, že relace mezi oběma hodnotami jsou velmi konkrétní, že však nejsou pro jednotlivé kmeny a typy viru slak stejné a že je třeba je pro všechny používané výrobní kmeny viru slak zvláště prověřovat.

V naší práci jsme studovali spolehlivost a reprodukovatelnost kontrol účinnosti námi vyráběných vakcín proti slak na morčatech a tyto výsledky jsme porovnali s hodnotami získanými na skotu.

MATERIÁL A METODY

MORČATA

Používali jsme morčata — albínů o průměrné váze 400—450 g, dobrého zdravotního stavu, dodávaných ze dvou chovů, kde se chovají výhradně bílá morčata.

VAKVINACE MORČAT

Zkoušená vakcína se těsně před aplikací morčatům naředí sterilním 50% roztokem hydroxidu hlinitého do dvojnásobných postupných ředění. Z každého ředění (počínaje od koncentrované vakcíny až do ředění 1 : 8—1 : 16) se vakcinuje skupina čtyř až osmi morčat dávkou 2,0 ml intramuskulárně. Pro vyhodnocení jedné šarže vakcíny se tedy použije 20—40 morčat.

Za 14 dní po vakcinaci se morčata infikují příslušným výrobním kmenem viru slak, který je předem několika pasážemi na morčatech ustálen tak, že spolehlivě vyvolává generalizovanou formu nemoci za 48 hod. *p. i.* K infekci morčat se používá 0,2 ml virové suspenze s obsahem 1000 ID₅₀ (podle výsledku předběžné titrace na morčatech), která se vetře do jedné skarifikované zadní patky vakcinovaného morčete. Infikovaná vakcinovaná morčata spolu s pěti stejně infikovanými nevakcinovanými kontrolami se posuzují denně po sedm dní. Jako neimunní se hodnotí ta morčata, u nichž během této pozorovací doby dojde ke vzniku generalizované formy nemoci na neinfikovaných patkách. Lokální změny na infikované patce se nehodnotí. U kontrolních zvířat musí vzniknout generalizovaná forma slak.

Výsledná dávka vakcíny, která chrání polovinu vakcinovaných morčat, se vypočte podle Reeda a Muencha a označí se jako poloviční ochranná dávka (PD₅₀).

VAKVINACE SKOTU

K vyhodnocení hodnoty vakcíny na skotu jsme používali plně vnímavý skot o váze 450—550 kg, který pocházel z oblastí, kde se nedělá pravidelná vakcinace proti slak. Pro stanovení poloviční ochranné dávky (PD₅₀) se zkoušená vakcína aplikovala v dávkce 5,0 ml *s. c.* (resp. 10,0 ml *s. c.* u bivalentní vakcíny) počínaje neředěnou vakcínou a pak vakcínou ředěnou 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8 a 1 : 16. Na každou dávku vakcíny se použily čtyři kusy, tzn. pro vyhodnocení jedné vakcíny se použilo 20 kusů skotu.

Za 14—21 dní po vakcinaci se provede čelenžová infekce vakcinovaného

I. Výsledky titrací PD₅₀ na morčatech a na skotu

Vakcína	Morčata			Skot		
	dávka ml	% imunních	PD ₅₀	dávka ml	% imunních	PD ₅₀
VIII – A 30% TK BPL	1,0 0,5 0,25 0,12	100 100 100 100	<0,12	5,0 2,5 1,2 0,6 0,3	100 100 100 100 50	0,30
XII – C 30% TK BPL	1,0 0,5 0,25 0,12	75 100 100 75	<0,12	5,0 2,5 1,2 0,6 0,3	100 100 100 100 50	0,30
XVI/69 – O 30% TK HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25 0,12	100 100 100 60 60	0,14	5,0 2,5 1,2 0,6 0,3	100 100 100 25 33	0,70
II – A 30% TK HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25 0,12	100 100 50 67 50	0,17	5,0 2,5 1,2 0,6 0,3	100 100 100 100 75	<0,30
7 – O 2% aftý HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25 0,12	80 100 80 60 75	0,18	5,0 2,5 1,2 0,6 0,3	100 100 100 100 25	0,39
XVI/68 – A 2% aftý HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	100 100 100 100	<0,25	5,0 2,5 1,2 0,6 0,3	100 100 100 100 100	<0,30
XVII – O 2% aftý HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	100 75 75 75	0,25	5,0 2,5 1,2 0,6 0,3	100 100 100 100 100	<0,30
VI – O 2% aftý HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	100 100 100 100	<0,25	5,0 2,5 1,2 0,6 0,3	75 100 100 100 100	<0,60
IX – O 30% TK BHK	1,0 0,5 0,25 0,12	50 25 0 0	0,83	5,0 2,5 1,2 0,6 0,3	75 50 50 100 25	0,91

pokračování

Vakcína	Morčata			Skot		
	dávka ml	% imunních	PD ₅₀	dávka ml	% imunních	PD ₅₀
I – A 6% Fren. HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25 0,12	20 60 40 17 0	1,00	5,0 2,5 1,2 0,6 0,3	25 75 50 25 0	1,70
3 – AO 2% afty TK HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	12 0 0 0	> 2,00	20,0 10,0 5,0 2,5 1,2	25 0 0 0 0	> 20,0
VII – O 2% afty HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	20 40 0 0	> 2,00	10,0 5,0 2,5 1,2 0,6	100 100 75 75 100	< 0,60

skotu natřením jazyku a tlamy virulentní suspenzí příslušného výrobního kmene viru (aftový virus) s obsahem 10 000 ID₅₀/0,5 ml. Současně se stejným způsobem infikují tři až čtyři kusy nevakcinovaných kontrol. Po infekci se všem zvířatům měří denně tělesná teplota a sedmý den *p. i.* se porazí a posoudí vznik a rozsah patologicko-anatomických změn na predilekčních místech. Jako neimunní se posuzují ty kusy, u nichž došlo během pozorovací doby k vzniku generalizované formy slak alespoň na jedné noze. Lokální změny na jazyku a v tlamě se nehodnotí. Výsledná dávka zkoušené vakcíny, která chrání polovinu vakcinovaných zvířat, se vypočítá podle Reeda a Muencha a označí se jako PD₅₀.

VÝSLEDKY

Pro ověření průkaznosti a spolehlivosti zkoušek účinnosti vakcín proti slak na morčatech jsme vyhodnotili celkem 27 operačních čísel různých druhů a typů vakcín, připravovaných z virových materiálů různého původu. Vyhodnocovali jsme jednak obchodní, běžně vyráběné adsorbátové vakcíny inaktivované formalinem (HCHO), připravené buď pouze z hovězího přirozeného viru (v tabulkách označené jako 2% afty), nebo z viru kultivovaného *in vitro* na tkáňových kulturách z primárních telecích ledvin nebo na přežívajících sliznicích z hovězích jazyků podle Frenkela (v tabulkách označené podle koncentrace virového materiálu ve vakcíně jako 10% TK, 30% TK, 6% Frenkel), jednak pokusně připravené nové druhy vakcín z viru kultivovaného *in vitro* a inaktivovaného beta-propiolaktone (BPL).

K objektivnímu porovnání vztahu mezi hodnotou vakcíny, zjištěnou na morčatech a skutečnou účinností zkoušené vakcíny na skotu, jsme u 12 operačních čísel různých vakcín současně titrovali PD₅₀ na morčatech a na skotu. Výsledky těchto kontrol jsou uvedeny v tab. I.

Z přehledu vyplývá, že osm vakcín mělo poloviční protekční dávku pro

morčata 0,25 ml nebo nižší. Odpovídající poloviční dávka pro skot byla u pěti vakcín nižší než 0,3 ml, u jedné vakcíny 0,4 ml, u dalších dvou nižší než 0,6 ml a 0,7 ml.

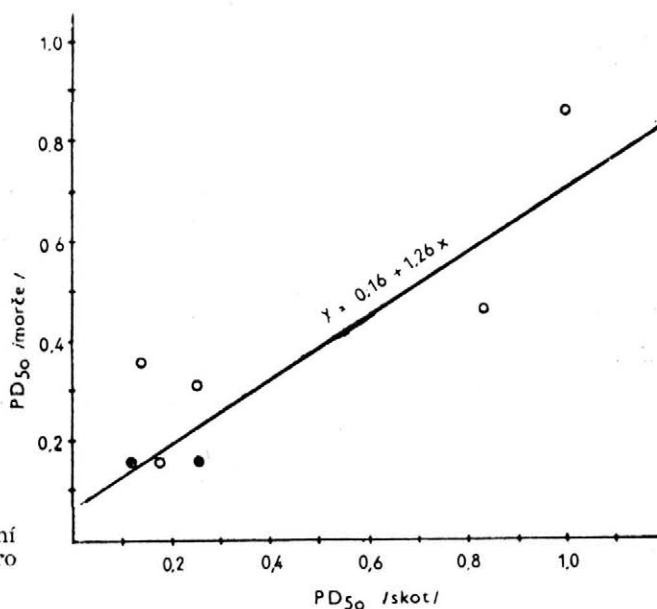
Dvě vakcíny vykázaly protekční dávku pro morčata větší než 0,5 ml. Odpovídající hodnoty u skotu byly z těchto dvou vakcín 0,9 ml a 1,7 ml.

Zbývající dvě vakcíny nebyly pro morčata účinné, tzn., že nechránily ani v nejvyšší dávce 2,0 ml polovinu vakcinovaných morčat. Z těchto vakcín byla jedna rovněž pro skot neúčinná a druhá měla poloviční ochrannou dávku nižší než 0,6 ml.

Získané výsledky vyjádřené v polovičních protekčních hodnotách vakcín pro morčata a skot byly vzájemně srovnány a jejich vztah byl statisticky vyhodnocen. Bylo zjištěno, že vzájemné vztahy mají lineární charakter a lze je vyjádřit regresní přímkou s rovnicí (viz obr. 1)

$$y = 0,162 + 1,26 x$$

Na základě propočtu korelačního koeficientu regresní přímky $r = 0,784$ bylo zjištěno, že takto vyjádřený poměr vztahů platí nejméně s 95% jistotou. (Pro jistotu $P = 95\%$ odpovídá v našem souboru výsledků kritická hodnota $r =$



1. Grafické znázornění vztahů hodnot PD_{50} pro morčata a pro skot

$= 0,666$ a pro jistotu $P = 99\%$ hodnota $r = 0,798$.) Průkaz správnosti výpočtu regresní rovnice a jistoty její platnosti byl dále potvrzen zjištěním hodnoty variace korelačního koeficientu $s_r = 0,177$, jejíž trojnásobek při 95% jistotě nesmí přesahovat hodnotu korelačního koeficientu. V našem případě platí, že $3 \times 0,177$ je menší než 0,784.

Uvedená data a jejich grafické znázornění umožňují stanovit hodnotu PD_{50} vakcíny pro skot na základě známé hodnoty PD_{50} pro morčata a naopak s 95% jistotou.

V další části práce jsme porovnali výsledky titrace vakcín na morčatech s výsledky zkoušek účinnosti na skotu, uskutečněných podle technické podmínky, podle které se prokazuje minimální účinnost vakcíny na třech až pěti kusech

II. Hodnoty PD₅₀ na morčatech a výsledky kontroly na skotu

Vakcína	Dávka ml	Morčata		Výsledek testu na skotu
		% imunních	PD ₅₀	
9 – O 2% afty HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25 0,12	100 67 100 100 67	0,12	vyhověla v dávce 5,0 ml
V – O 2% afty HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	100 100 100 100	<0,25	vyhověla v dávce 5,0 ml
IX – O 2% afty HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	100 100 100 100	<0,25	vyhověla v dávce 5,0 ml
4 – O 2% afty HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25 0,12	75 100 100 50 0	0,30	vyhověla v dávce 5,0 ml
VIII – O 2% afty HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	60 100 75 75	0,33	vyhověla v dávce 5,0 ml
X – AO 2% afty TK HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	Typ A 50 50 100 83	0,34	vyhověla v dávce 10,0 ml proti oběma typům
	2,0 1,0 0,5 0,25	Typ O 50 66 80 33	0,50	
XI – O 2% afty HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	80 80 60 60	0,44	vyhověla v dávce 5,0 ml
XIV – AO 2% afty TK HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	100 50 66 20	0,50	vyhověla v dávce 10,0 ml
7 – C 10% TK HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	80 40 0 50	0,90	vyhověla v dávce 5,0 ml

pokračování

Vakcína	Dávka ml	Morčata		Výsledek testu na skotu
		% imunních	PD ₅₀	
2 – C 10% TK HCHO	1,0 0,5 0,25 0,12	25 0 0 0	> 1,00	vyhověla v dávce 5,0 ml
6 – C 10% TK HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	66 16 33 33	1,20	nevyhověla v dávce 5,0 ml
483 – O TK HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	40 0 25 20	2,00	nevyhověla v dávce 5,0 ml
1 – C 10% TK HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	0 16 50 0	> 2,00	nevyhověla v dávce 5,0 ml
III – O 2% afty HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25	0 0 0 0	> 2,00	nevyhověla v dávce 5,0 ml
10 – O 2% afty HCHO	2,0 1,0 0,5 0,25 0,12	40 0 0 0 0	> 2,00	nevyhověla v dávce 5,0 ml

vnímavého skotu, vakcinovaných jednou předepsanou dávkou vakcíny (tj. 5,0 ml u vakcíny monovalentní a 10,0 ml u vakcíny bivalentní). Tímto způsobem jsme porovnali celkem 15 různých operačních čísel vakcíny. Výsledky jsou uvedeny v tab. II.

V těchto vyšetřeních jsme na morčatech zjistili u devíti operačních čísel poloviční protekční dávku 0,5 ml a nižší. Všechny tyto vakcíny vyhověly minimálním požadavkům uvedeného kontrolního testu na skotu v předepsané dávce. U jedné vakcíny jsme zjistili hodnotu PD₅₀ pro morčata 0,9 ml a tato vakcína rovněž vyhověla v testu účinnosti na skotu.

Dvě vakcíny měly PD₅₀ pro morčata větší než 1,0 ml – z nich jedna vyhověla minimálním požadavkům technické podmínky, druhá nevykázala u skotu potřebnou účinnost.

U čtyř vakcín jsme prokázali na morčatech hodnotu PD₅₀ 2,0 ml a větší. Z těchto vakcín ani jedna nevyhověla požadavkům zkoušky účinnosti na skotu.

Abychom si ověřili reprodukovatelnost testu na morčatech, zvláště proto, že jsme při zpracování této práce neměli zatím k dispozici zcela homogenní zvířata a museli jsme používat morčat ze dvou chovů, opakovali jsme u čtyř operačních čísel zkoušku dvakrát až třikrát. Výsledky jsou uvedeny v tab. III.

III. Výsledky opakovaných zkoušek účinnosti na morčatech

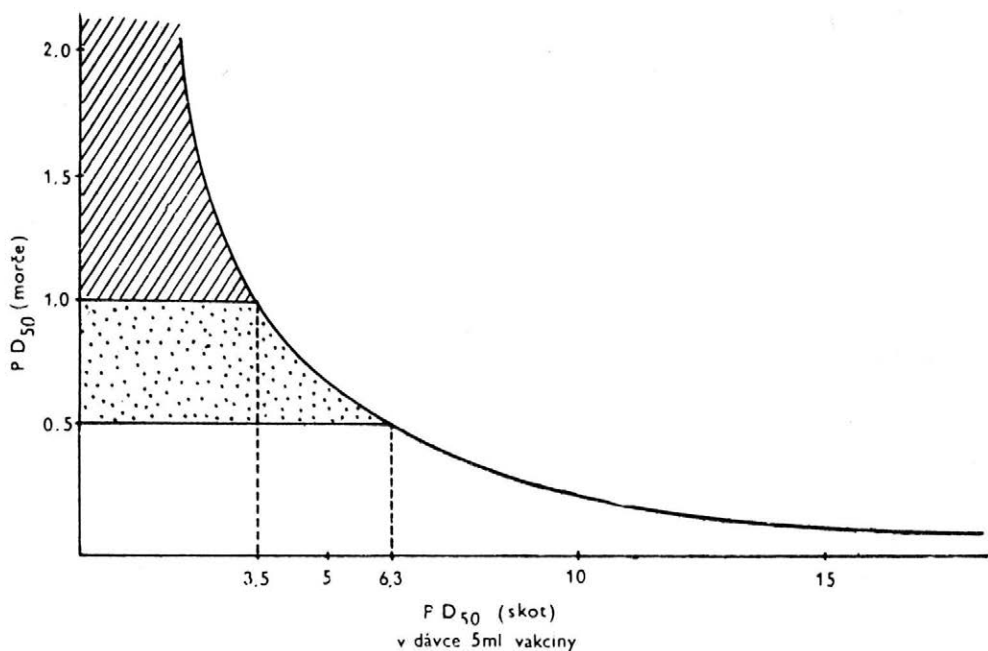
Vakcína	Dávka ml	% imunních	PD ₅₀	2. test za dny	% imunních	PD ₅₀	3. test za dny	% imunních	PD ₅₀
VI - O	2,0 1,0 0,5 0,25	100 100 100 100	<0,25	7	100 100 100 100	<0,25			
VII - O	2,0 1,0 0,5 0,25	20 40 0 0	> 2,00	7	40 33 0 0	2,00	36	25 25 0 0	2,00
V - O	2,0 1,0 0,5 0,25	100 100 100 100	<0,25	0	100 100 100 100	<0,25			
XVI - O	2,0 1,0 0,5 0,25	100 100 100 40	0,14						
XVI - O zahuštěná	0,5 0,25 0,12 0,06	75 80 100 10	0,09						

Tyto pokusy ukázaly, že jsme v opakovaných testech dostali vždy stejné hodnoty. Vyšetření vakcíny op. č. XVI, která byla pomocí dekantace supernatantu zahuštěna cca o 1/3 původního objemu, rovněž potvrzuje velmi dobrou reprodukovatelnost a přesnost samotného testu na morčatech.

Závěrem jsme vyhodnotili vztahy mezi zjištěnými hodnotami PD_{50} na morčatech a jim odpovídajícím množstvím PD_{50} pro skot v používané vakcinační dávce (obr. 2).

Vakcína proti slak, která vytváří 50% ochranu morčat v dávce 0,5 ml, obsahuje ve vakcinační dávce pro skot 5,0 ml 6,3 PD_{50} . U vakcín s nižšími hodnotami PD_{50} pro morčata je obsah PD_{50} pro skot ve vakcinační dávce úměrně vyšší.

Hodnoty morčecích PD_{50} od 0,51 do 1,0 ml odpovídají rozsahu počtu PD_{50} pro skot ve vakcinační dávce mezi 6,3–3,5. Má-li vakcína již hodnotu PD_{50} pro morčata vyšší než 1,0 ml, obsahuje v dávce pro skot méně než 3,5 PD_{50} .



2. Vztah hodnoty PD_{50} pro morčata k počtu PD_{50} pro skot ve vakcinační dávce 5,0 ml

DISKUSE

Kontrola účinnosti vakcíny proti slak je velmi závažnou otázkou jak pro výrobce vakcíny, tak pro státní kontrolu očkovacích látek. Rozhodující metodou kontroly účinnosti vakcín proti slak je zatím zkouška na vnímavém skotu. Je však řada důvodů a příčin, pro které je třeba tento způsob kontroly doplňovat, zpřesňovat a eventuálně i nahrazovat metodami kontroly na laboratorních zvířatech. Soustavné kvantitativní vyhodnocování a porovnávání účinnosti vyráběných vakcín proti slak je již dnes bez použití vhodných laboratorních zvířat téměř neuskutečnitelné.

V naší práci jsme prověřili použitelnost morčat — albinů ze dvou chovů pro kontrolu účinnosti vakcíny proti slak. Vyzkoušeli jsme citlivost morčat na různé druhy a typy vakcín proti slak, připravených jak z přirozeného aftového viru, tak z viru kultivovaného *in vitro*. Vedle běžných komerčně připravovaných vakcín jsme hodnotili i vakcíny nového vývojového typu. Získané výsledky celkem potvrdily dobrou citlivost používaných morčat a prokázaly dobrou reprodukovatelnost a relaci výsledků na morčatech k výsledkům na skotu. Pomocí titrace vakcíny na morčatech bylo možno s postačující přesností odvodit skutečnou hodnotu vakcíny pro skot, což jsme prokázali řadou srovnávacích zkoušek.

Ze získaných výsledků vyplynulo, že vakcíny, které dosahují u morčat hodnotu PD_{50} 0,5 ml a menší (tj. mají ve vakcinační dávce pro skot 6,3 nebo více PD_{50}), vyvolávají u skotu vždy velmi dobrou imunitu. U vakcín, které mají hodnotu morčecích PD_{50} v rozmezí mezi 0,5 ml až 1,0 ml (tj. mají ve vakcinační dávce pro skot 3,5 až 6,3 PD_{50}), je u skotu dosahována vesměs dostatečná imunita, i když výsledek testu již nemusí být jednoznačný a může vyžadovat i opakování zkoušky. U vakcín s hodnotami PD_{50} pro morčata vyššími než 1,0 ml (tj. mají ve vakcinační dávce pro skot méně než 3,5 PD_{50}) lze předpokládat jen nízkou imunogenní hodnotu pro skot.

Této pravidelnosti se v naší práci vymyká pouze výsledek s vakcínou op. č. VII, ovšem ten ukazuje spíše ve prospěch dobré citlivosti morčat. Z technických důvodů nebylo možno titraci na skotu opakovat.

Přesnost dosahovaných výsledků je jistě závislá na kvalitě používaných morčat. Lze předpokládat, že zkoušky účinnosti na morčatech z vlastního chovu, o stejné váze, stáří, kondici a citlivosti vytvoří všechny předpoklady pro zavedení testu na morčatech jakožto alternativní metody kontroly účinnosti obchodních vakcín proti slak.

Literatura

- BÜLOW V., 1962, Wirksamkeitsprüfung von MKS-Formoladsorbatvakzinen an der Maus mit Hilfe der Säuglingsimmunität. Zblt. f. Vet. Med. IX : 499.
- BÜLOW V., LORENZ R., 1963, Weitere Versuche zur Wirksamkeitsprüfung von MKS Vakzinen an der Maus mit Hilfe der Säuglingsimmunität. Mh. f. Tierheilk. 14 : 391.
- DAVIES E., MARTIN W., PETO S., 1963, A test in chicks for the potency of inactivated foot-and-mouth disease vaccines. Res. Vet. Sci. 4 : 413.
- DAVIS W. C., WILLIAMSON D. E., 1959, Observations on the build-up of large guinea-pig colony. J. of Anim. Tech. Assoc. X : 1.
- FELLOWES O. N., 1962, Antibody response of adult chickens to infectious and non-infectious foot-and-mouth disease virus. J. Immunol. 88 : 488.
- FONTAINE J., ROUMIANTZEFF M., MACKOWIAK C., 1964, Control of FDM vaccines in guineapigs. Rep. Meet. Res. Group St. Tech. Com. OIE, Amsterdam : 35.
- GAYOT G., DHENNIN L., 1964, Utilisation d'une souche aphteuse murinisée pour la détermination du potentiel antigénique du vaccin anti-aphteux inactivé. Bull. OIE 61 : 1079.
- HOYLAND F., 1965, Further observation on the build-up of a large guinea-pig colony. J. of Inst. of Anim. Techn. XVI : 3.
- HUBÍK R., LÁZNICKÁ F., JIRANOVÁ M., FEDÁK R., 1969, Vývoj inaktivované vakcíny proti slintavce a kulhavce. Závěrečná zpráva, Praha.
- LEUNEN J., MAMMERICKX M., 1962, Contribution à l'étude d'un vaccin antiaphteux préparé à partir de virus produits en cultures de cellules rénales. Bull. OIE 57 : 601.
- MACKOWIAK C., LANG R., PETERMANN H. G., ROUMIANTZEFF M., 1965, Contrôle quantitatif du vaccin antiaphteux. Titration des anticorps neutralisants chez les cobayes vaccinés. Rev. Méd. vét. 28 : 497.
- MACKOWIAK C., TERRE J., STELLMANN C., ROUMIANTZEFF M., 1966, Contrôle quantitatif du vaccin anti-aphteux. Étude de la 10-dose-effect et corrélation entre cobayes et les bovidés. Bull. OIE 65 : 131.

- PETERMANN H., LANG R., MACKOWIAK C., 1961, Contrôle du vaccin antiaphteux par vaccination de poussins de 21 jours et séroneutralisation de leur sérum. C. R. Acad. Sci. 253 : 2614.
- RIVENSON F., 1960. Une nouvelle technique de contrôle d'efficacité des vaccins antiaphteux sur le cobaye. Bull. OIE 53 : 679.
- ROSENBUSCH C. T., CARDARELLI A. C., 1957, Utilización del cobayo en la modificación antigénica inmunitaria de vacunas anti-aftosas. Trab. Congr. Argentino de fiebre aftosa.
- ROUMIANTZEFF M., STELLMANN C., MACKOWIAK C., 1965, Contrôle quantitatif du vaccin antiaphteux. Détermination de la dose vaccinante 50 % chez le cobaye. Rev. Méd. vét. 28 : 597.
- RÖHRER H., 1967, Handbuch der Virusinfektionen bei Tieren. Jena : 23.
- TERRE J., STELLMANN C., BORNAREL P., ROUMIANTZEFF M., FAVRE H., FONTAINE J., MACKOWIAK C., 1966, Quantitative control in guinea-pigs of inactivated monovalent and trivalent FDM vaccines. Study of the dose effect law and equivalence between the 50 % guineapig vaccinating doses and protection in cattle. Rep. Meet. Res. Group Stand. Tech. Comm. FAO, Pirbright : 11.
- TRAUB E., BECHMANN P., 1969, Indirekte Komplementbindung mit Mäuseserum nach Schutzimpfung mit monovalenter MKS Vakzine. Zblt. f. Vet. Med. : 16.
- TRAUB E., THEIN P., KESTING F., 1970a, A simple potency test for FMD vaccines in mice and comparison of results with those of potency test in cattle. Zblt. f. Vet. Med. : 389.
- TRAUB E., THEIN P., KESTING F., 1970b, Antibody response in mice inoculated with monovalent or trivalent foot-and-mouth disease vaccines. Zblt. f. Vet. Med. : 497.
- UBERTINI B., PANINA G., 1959, Comparaison du pouvoir immunogène du virus aphteux cultivé in vivo, in vitro par la méthode de Frenkel et sur cellules rénales. Comm. 16. Intern. Vet. Congr. 2 : 397.
- UBERTINI B., NARDELLI L., DAL PRATO A., PANINA G., 1960, La détermination quantitative des anticorps neutralisants et le titrage de l'antigène contenu dans le vaccin antiaphteux. Bull. OIE 53 : 1307.
- UHLMAN W., 1958, Beobachtung über die Empfindlichkeit erwachsener Mäuse für die intraperitoneale Infektion mit dem Virus der MKS. Mh. f. Tierheilk. 10 : 234.

Došlo dne 8. 10. 1970

ЛАЗНИЧКА Ф., ГУБИК Р., ГРЖИБ Й. (Биовета, Терезин, Институт государственного контроля ветеринарных биопрепаратов и медикаментов, Терезин, Чехословакия). **Контроль эффективности вакцины от ящура на морских свинках.** Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 269-280, 1971.

В статье нами проверялась применимость теста эффективности вакцин от ящура на морских свинках — альбиносах. Результаты, полученные с морскими свинками, сравнивались с результатами эффективности вакцины у крупного рогатого скота; взаимное отношение обрабатывалось статистически. Нами было доказано, что на основе полученного значения PD₅₀ у морских свинок для крупного рогатого скота значение PD₅₀ можно определить с 95 % надежностью.

ящур; контроль вакцины на морских свинках

LÁZNÍČKA F., HUBÍK R., HRIB J. (Biovet Terežín, State Institute for the Control and Supervision of Veterinary Biopreparations and Medicaments, Terežín, Czechoslovakia). **Use of Guinea-Pigs for the Control of Effectiveness of Vaccines against the Foot-and-Mouth Disease.** Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 269-280, 1971.

We verified the possibility of testing the effectiveness of vaccines against the foot-and-mouth disease on albino guinea-pigs. We compared the results achieved in these animals with those registered in cattle and assessed statistically the mutual relationship between the data obtained. We proved that on base of the PD₅₀ value in guinea-pigs it was possible to determinate with 95 % reliability the PD₅₀ value for cattle.

foot-and-mouth disease; use of guinea-pigs for the control of vaccines

LÁZNIČKA F., HUBÍK R., HŘIB J. (Bioveta, Terezín, Staatliche Kontrollanstalt für veterinäre Biopräparate und Medikamente, Terezín Tschechoslowakei). *Kontrolle der Wirksamkeit der Maul- und Klauenseuche-Vakzine bei Meerschweinchen*. Vet. Med. (Praha) 16 (4) : 269-280, 1971.

Die Verfasser überprüften die Benutzbarkeit des Testes der Wirksamkeit von Vakzinen gegen Maul- und Klauenseuche bei Albino-Meerschweinchen. Die gewonnenen Resultate wurden mit den Ergebnissen der Wirksamkeit beim Rind verglichen und das gegenseitige Verhältnis wurde statistisch bewertet. Es wurde der Nachweis dafür erbracht, daß auf Grund des ermittelten PD₅₀-Wertes für Meerschweinchen der PD₅₀-Wert für Rinder mit 95 prozentiger Sicherheit festgestellt werden kann.

Maul- und Klauenseuche; Kontrolle der Vakzine bei Meerschweinchen

Adresa autorů:

MVDr. F. Lázníčka, MVDr. R. Hubík, CSc., Bioveta Terezín, MVDr. J. Hřib, Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Terezín

Rukopis odevzdán k tisku 22. 1. 1971 – Podepsáno k tisku 5. 4. 1971

OBSAH

Zuffa A., Salaj J.: Imunizácia proti Aujezského choroby — imunogenita vysoko atenuovaného kmeňa Buk-TK-900/IV, a pre ošípané	221
Lebduška J., Poláková M., Bartoš J.: Léčba kolibacilóz novorozených selat kombinacemi furazolidonu s neomycinem nebo s chloramfenikolem	235
Poláková M., Lebduška J., Bartoš J.: Léčba kolibacilóz novorozených telat kombinací neomycinu s furazolidonem	247
Rašín K.: Toxoplasma u ondatr <i>Ondatra zibethica</i> (Linné) 1766 a u kuny skalní <i>Martes foina</i> (Erxleben) 1777	255
Starošík L., Semotán K., Machová J.: Detekce leptospir pomocí fluorescenčních protilátek	261
Láznička F., Hubík R., Hřib J.: Kontrola účinnosti vakcíny proti slintavce a kulhavce na morčatech	269

СОДЕРЖАНИЕ

Жуффа А., Салай И.: Иммунизация против болезни Ауэски — иммуногенность высокоаттенуированного штамма Buk-TK-900/IV, a для свиней	232
Лебдушка Я., Полакова М., Бартош Я.: Лечение колибациллёза у новорожденных поросят комбинациями фуразолидона с неомицином или с хлорамфениколом	244
Полакова М., Лебдушка Я., Бартош Я.: Лечение колибациллёза у новорожденных телят комбинацией неомицина с фуразолидоном	253
Рашин К.: Токсоплазма у ондатр <i>Ondatra zibethica</i> (Linné) 1766 и у каменной куницы <i>Martes foina</i> (Erxleben) 1777	259
Староштик Л., Семотан К., Махова И.: Детектирование лептоспир при помощи флуоресцирующих антител	268
Лазничка Ф., Губик Р., Гржиб Й.: Контроль эффективности вакцины от ящура на морских свинках	279

CONTENT

Zuffa A., Salaj J.: Immunization against Aujeszky's Disease — Immunogenicity of the Highly Attenuated Aujeszky's Virus Strain (AV) Buk-TK-900 IV, a for Pigs	232
Lebduška J., Poláková M., Bartoš J.: The Therapy of New-Born Piglet's Colibacilloses with Furazolidone Combined with Neomycine or with Chloramphenicol	245
Poláková M., Lebduška J., Bartoš J.: The Therapy of Colibacilloses in New-Born Calves with the Combination of Neomycine and Furazolidone	253
Rašín K.: Toxoplasma in Muskrat <i>Ondatra zibethica</i> (Linné) 1766 and in Stone Marten <i>Martes foina</i> (Erxleben) 1777	260
Starošík L., Semotán K., Machová J.: Detection of Leptospira by Means of Fluorescent Antibodies	268
Láznička F., Hubík R., Hřib J.: Use of Guinea-Pigs for the Control of Effectiveness of Vaccines against the Foot-and-Mouth Disease	279

INHALT

Zuffa A., Salaj J.: Immunisierung gegen die Aujeszky-Krankheit — Immunogenität des hochattenuierten Stammes Buk-TK-900/IV, a für Schweine	233
Lebduška J., Poláková M., Bartoš J.: Therapie der Kolibazillozen bei neugeborenen Ferkeln mit Kombinationen von Furazolidon mit Neomycin oder mit Chloramphenicol	245
Poláková M., Lebduška J., Bartoš J.: Therapie der Kolibazillozen bei neugeborenen Kälbern mittels Kombination von Neomycin und Furazolidon	253
Rašín K.: Toxoplasma bei der Bisamratte <i>Ondatra zibethica</i> (Linné) 1766 und beim Steinmarder <i>Martes foina</i> (Erxleben) 1777	260
Starošík L., Semotán K., Machová J.: Der Detektionsnachweis der Leptospiren mittels fluoreszierender Antikörper	268
Láznička F., Hubík R., Hřib J.: Kontrolle der Wirksamkeit der Maul- und Klauenseuche-Vakzine bei Meerschweinchen	280

- Žuffa A., Salaj J.: Immunigénité de la souche Buk-TK-900/IV, a hautement atténuée, pour les porcs (res. An/232, Al/233)
- Lebduška J., Poláková M., Bartoš J.: Traitement des colibacillose des porcelets nouveau-nés en combinant la furazolidone avec la néomycine ou le chloramphénicol (245)
- Poláková M., Lebduška J., Bartoš J.: Traitement des colibacillose des veaux nouveau-nés en combinant la néomycine avec la furazolidone (res. An, Al/253)
- Rašín K.: Toxoplasma chez les ondatras *Ondatra zibethica* (Linné) 1766 et chez la fouine *Martes foina* (Erxleben) 1777 (res. An, Al/260)
- Starostík L., Semotán K., Machová J.: Détection des leptospires à l'aide des anticorps fluorescents (res. An, Al/268)
- Lázníčka F., Hubík R., Hřib J.: Contrôle de l'efficacité du vaccin utilisé dans la lutte contre la fièvre aphteuse sur les cobayes (res. An/279, Al/280)