

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

12

ROČNÍK 17 (XLV)
PRAHA
PROSINEC 1972
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král (předseda), prof. MVDr. Kolo-
man Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr.
Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., MVDr.
Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., doc.
MVDr. Jozef Hrušovský, CSc., MVDr. Jaromír Lát, CSc.,
MVDr. Andrej Mačička, CSc., doc. MVDr. Ladislav Polák,
CSc., MVDr. Jiří Srna, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc.
Vedoucí redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1972

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

■
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзо-
ры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по науч-
ному исследованию в области ветеринарии. Издаёт Институт
научно-технической информации. Выход в свет ежемесячно.
Редакция Прага 2, Слезска 7.

■
The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes
studies, analyses and scientific treatises about the solved
research tasks in the line of the veterinary medicine. Pu-
blished by the Institute of Scientific and Technical Inform-
ation. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7.

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

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

TEPLOTNÍ A VHLKOSTNÍ REŽIM V HALÁCH PRO RODÍCÍ A KOJÍCÍ PRASNICE NA VELKOKAPACITNÍ FARMĚ PRO PRASATA*)

J. Zeman, J. Lisek, J. Lisková

Vysoká škola veterinární, katedra zoohygieny, Brno

ZEMAN J., LISEK J., LISKOVÁ J. *Teplotní a vlhkostní režim v halách pro rodící a kojící prasnice na velkokapacitní farmě pro prasata*. Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 705-712, 1972.

Ze studia výskytu a vzájemného vztahu teploty a relativní vlhkosti vzduchu ve dvou velkokapacitních porodnách pro prasata moderní konstrukce vyplývá, že novým problémem klimatizovaných porodů bez podestýlání v kotcích se stává nízká vzdušná vlhkost, která se podílí rozhodující mírou na výskytu nevhodného až škodlivého teplotního a vlhkostního režimu, zejména v obdobích intenzivního vytápění stáje (až přes 50 % pozorovací doby). Nízká vzdušná vlhkost může zhoršovat také jiné faktory mikroklimatu (zejména prašnost prostředí) a nepříznivě ovlivňovat přímo zdravotní stav, a tím i užítkovost zvířat (ve sledovaných porodnách to byly agalaxie a zácpy u prasnic a průjmy u selat). Je možné rovněž konstatovat, že zatímco tepelné a izolační vlastnosti stavby odpovídají dostatečně nárokům na vytváření vhodného stájového prostředí (snad s výjimkou podlah), instalované automaticky pracující klimatizační, tj. větrací a topné zařízení, dosud neumožňuje vytvořit pro ustájená prasata vyhovující teplotní a vlhkostní režim po celý rok.

velkokapacitní porodny prasat; mikroklima; teplota vzduchu; relativní vlhkost vzduchu; stavební provedení; klimatizace

Cílem současného rozvoje zemědělské výroby je dosáhnout průmyslové úrovně, přičemž dochází nutně k růstu koncentrací chovů a kapacit jednotlivých ustajovacích prostorů. Velká seskupení zvířat na malém prostoru a nová pojetí v budování staveb stáží přinášejí s sebou i nové problémy v řešení mikroklimatické situace. V současné době je to při budování specializovaných velkokapacitních podniků na výrobu vepřového masa i otázka vytváření vhodného teplotního a vlhkostního režimu v klimatizovaných bezokenních stájích pro prasata.

Stájové mikroklima ve velkochovech zvířat se stává „biologickým výrobním prostředkem“ (A a a J e n s c h 1966), protože vysoký dědičný potenciál se může přeměňovat v konkrétní produkci pouze v přiměřených podmínkách prostředí. Ve velkochovech pak význam stájového mikroklimatu nabývá dosud nedocenené hodnoty (M e h l h o r n 1968).

Většina mikroklimatických faktorů působí na zvířecí organismus nepřetržitě a současně. Zejména pak nelze od sebe oddělit působení teploty a relativní vlhkosti (R_v) vzduchu (B ä h r 1966; Z e m a n 1966, 1970a), které spolu s prouděním vzduchu rozhodují bezprostředně o tepelné rovnováze homoiotermních zvířat.

*) Předneseno a odměněno cenami na studentských vědeckých konferencích v Brně a Košicích v r. 1972.

Mezi zvířata zvláště citlivá na působení teploty a vlhkosti patří také prasata, zvláště pak selata. Proto tvorbě teplotního a vlhkostního režimu v porodnách pro prasata musí být věnována mimořádná pozornost.

Význam a vliv teploty a relativní vlhkosti pro selata a prasata vůbec shrnuli nejnověji Marschang (1971), u nás pak Zeman (1970a). Požadavky na teplotu pro selata až do stáří 21 dne činí 32 až 34 °C, resp. až 28 °C, pro prasnice pak 14 až 20 °C při Rv v rozmezí 50 až 75 %.

Podle posledních názorů o vlivu Rv na prasata škodí při optimálních teplotách, jichž díky vytápění bývá celkem všeobecně dosahováno, více než vysoká vzdušná vlhkost Rv nízká, tj. pod 50 %. Příliš suchý vzduch zvyšuje prašnost — prach pak dráždí a způsobuje mikroléze na sliznicích dýchacích cest, vstupní brány pro zárodky všeho druhu — dále suchý vzduch vysušuje sliznice — tím se poruší ochranný mechanismus řasinkového epitelu a vdechnuté prachové částice včetně choroboplodných zárodků zůstávají v dýchacích cestách dostatečně dlouho, aby mohly vyvolat patologické procesy.

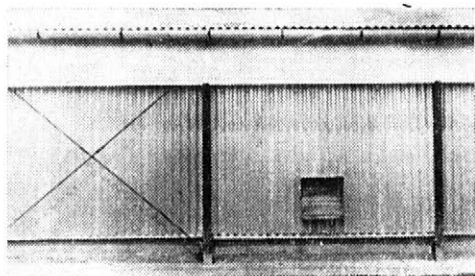
Tak může Rv vzduchu pod 50 % přispět ke vzniku enzootické pneumonie u prasat (Eikmeier 1968; Kalich 1970 aj.).

Příliš suché ovzduší může však narušovat i vodní režim organismu (nadměrné ztráty vody z organismu = dehydratace, vliv na mléčnost, zácpy). Tato otázka si zasluhuje zvláštního studia.

Jak vypadal teplotní a vlhkostní režim v moderní bezokenní porodně s automaticky řízeným větráním a vytápěním má naznačit tato práce.

MATERIÁL A METODY

Sledovali jsme mikroklima ve dvou porodnách o kapacitě 116 prasníc (kategorie vysokobřezí, rodící a kojící), ustájených v individuálních porodních kotcích při čtyřřadovém uspořádání bez podestýlky na pevných podlahách s boxitovým povrchem. Stěny i strop byly z panelů izolovaných 10 cm čedičové vaty, oboustranně krytých hliníkovým plechem a měly vynikající tepelně izolační vlastnosti („k“ max. 0,58 kcal/m² h °C). Porodny byly bezokenní, větrané automaticky ovládaným podtlakovým větracím systémem (8 + 8 ventilátorů v podélných stěnách, avšak bez přírodních otvorů) a vytápěné výkonným teplovzdušným agregátem a rozvodným potrubím ohřátého vzduchu pod stropem v podélné ose stáje. Výkaly a moč se ručně shrnovaly do zakrytého podpodlažního kanálu



1. Sledovaná bezokenní porodna — celkový pohled
2. Stěnový panel porodny z vlnitého hliníkového plechu s ventilátorem (oba foto-obrázky z archivu katedru zoohygieny VŠV Brno)

pod hnojnými chodbami, odkud se mechanicky shrnovaly do skladovacích jímek mimo stáj (obr. 1, 2).

Teplota (T) a relativní vlhkost (Rv) vzduchu byly pro hodnocení v této práci měřeny registračně dvěma termohygrografy na dvou stanovištích v každé porodně (asi uprostřed přední a zadní poloviny stáje), pásy byly jednou týdně vyměňovány a při tom byly přístroje přezkušovány na správnost chodu pomocí aspiračního psychrometru. Případné nepřesnosti v záznamech T a Rv mohly pak být průběžně i při vyhodnocování pásek upravovány.

V práci je vyhodnocen časový úsek od února (období mrazů) do konce srpna 1971.

Vyhodnocení pásek, tj. odečtení vysokých, optimálních a nízkých T a Rv bylo provedeno přímo z pásek v hodinách výskytu podle metodiky zpracované Z e m a n e m (1966, 1970b), a to v pásmech stanovených ve smyslu návrhu novelizace čs. veterinárních směrnic o veterinární péči v chovu prasat (tab. I).

Teplotní a vlhkostní režim byl pak hodnocen podle vzájemných vztahů = situací T a Rv podle tab. II a vyjádřen jako relativní četnost výskytu situací (kombinací) T/Rv v % (tab. III a IV, obr. 3 a 4).

Pořadí hodnocení situací v tab. II je přizpůsobeno v současné době obecně uznávaným požadavkům na mikroklima poroden pro prasata (ustájení prasníc vysokobřezích, rodících a kojících a selat v prvních týdnech života).

I. Pásma a hodnocení T a Rv v porodnách pro prasata

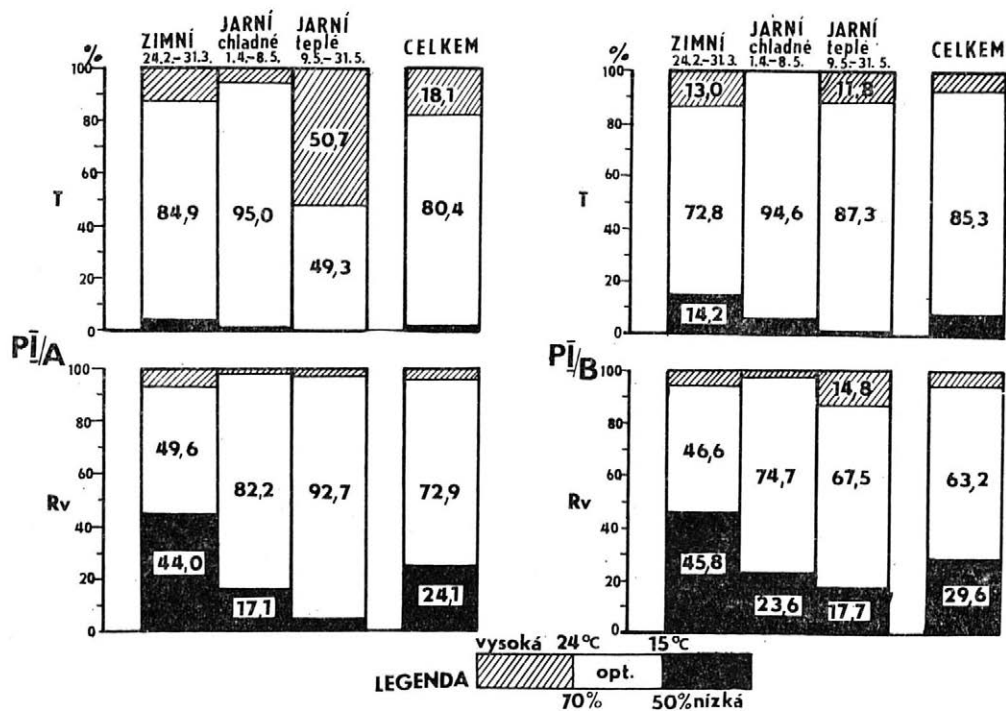
Faktor	Pásmo	Faktor	Pásmo	Hodnocení
T	pod 15 °C 15–24 °C nad 24 °C	Rv	pod 50 % 50–70 % nad 70 %	nízká optimální vysoká

II. Hodnocení situací T/Rv

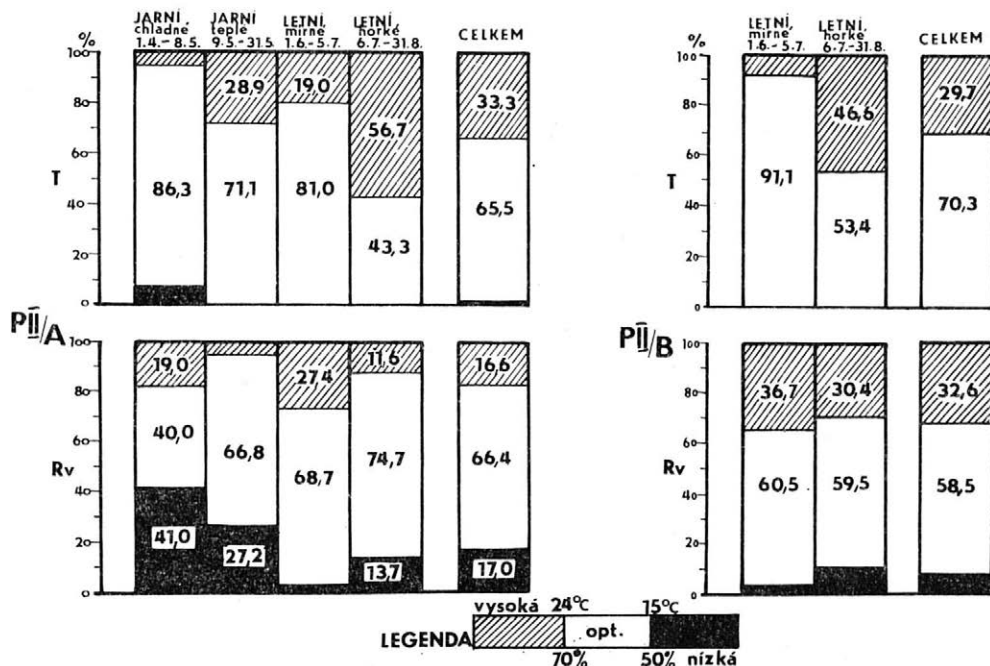
Situace		Hodnocení	
T	Rv		
optimální	optimální	optimální	příznivé
optimální vysoká	vysoká optimální	přijatelná	
optimální nízká	nízká optimální	v toleranci	nevhodné
vysoká vysoká nízká nízká	vysoká nízká nízká vysoká	nevhodná až škodlivá	

III. Relativní četnost výskytu (v %) situací T/Rv ve sledovaných porodnách v různých ročních obdobích

Stáj stanoviště	Hodnocení situace	Roční období (podle venkovního počasí)					Celkem
		zimní	jarní		mírné letní	horké letní	
			chladné	teplejší			
		24. 2. — 31. 3.	1. 4. — 8. 5.	9. — 31. 5.	1. 6. — 5. 7.	6. 7. — 31. 8.	
P I/A	příznivé	53,7	82,5	94,4	—	—	75,00
	nevhodné	46,3	17,5	5,6	—	—	25,00
P I/B	příznivé	47,3	73,4	81,5	—	—	66,50
	nevhodné	53,7	26,6	18,5	—	—	33,50
Vytápění		+	±	±			
P II/A	příznivé	—	53,2	72,8	93,8	79,80	78,85
	nevhodné	—	46,8	27,2	6,2	20,20	21,15
P II/B	příznivé	—	—	—	96,2	76,75	85,20
	nevhodné	—	—	—	3,8	23,25	14,80
Vytápění			+	±	(±)	—	



3. Relativní četnost výskytu T a Rv samostatně v porodně I



4. Relativní četnost výskytu T a Rv samostatně v porodně II

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky byly shrnuty v obr. 3 a 4, resp. v tab. III a IV podle různých ročních období, popř. venkovního počasí. Teplotní a vlhkostní režim je hodnocen odděleně v období zimním (do konce března), v chladnějším jarním (v dubnu), v teplejším jarním (v květnu), v mírném letním (v červnu) a v horkém letním (v červenci a srpnu). Z tohoto rozdělení je možné posoudit nejen vliv roční doby, ale i stupně klimatizace, zejména vytápění, na teplotně vlhkostní poměry ve sledovaných porodnách.

Obr. 3 a 4 slouží především k rozlišení podílu T a Rv na příznivém či nevhodném hodnocení stavu teplotního a vlhkostního režimu. Tab. IV poskytuje detailnější hodnocení teplotního a vlhkostního režimu než tab. III — rozlišuje více stupňů při jeho hodnocení (viz tab. II).

Ze souhrnu výsledků — především v tab. III — vyplývá, že mikroklima v porodnách se měnilo jak podle změn venkovního počasí, tak i v závislosti na vytápění stáje, a to i při předpokládané plně automatizované klimatizaci.

V zimním období (v porodně I) byl teplotní a vlhkostní režim do značné míry (kolem 50 % pozorovací doby) nevhodný, hlavně výskytem nízkých Rv vzduchu (44,0 — 45,8 % — obr. 3).

V dubnu se situace podstatně zlepšila zejména v porodně I, kde příznivá situace trvala 73,4 až 82,5 % pozorovací doby, zatímco v porodně II, která byla teprve postupně uváděna do provozu, byly podmínky horší (stále téměř 50 % nevhodných situací). Nevhodné situace vznikaly opět především vlivem nízkých Rv (17,1 — 23,6 % v porodně I, 41,0 % v porodně II).

V teplejším jarním počasí v květnu došlo v obou porodnách k dalšímu zlepšení teplotního a vlhkostního režimu — opět byl lepší v porodně I,

IV. Relativní četnost výskytu situací T/Rv ve sledovaných porodnách detailněji

Stáj	Stano- viště	Hodnocení situace	Roční období (období venkovního počasí)					Celkem
			zimní 24. 2. — 31. 3.	jarní chladné 1. 4. — 8. 5.	jarní teplé 9. 5. — 31. 5.	mírné letní 1. 6. — 5. 7.	horké letní 6. 7. — 31. 8.	
Porodna I	A	optimální	47,3	78,9	47,3	—	—	60,1
		příjemné	6,4	3,6	47,1	—	—	14,9
		v toleranci	33,5	16,0	0,3	—	—	18,5
		nevhodné až škodlivé	12,8	1,5	5,3	—	—	6,5
	B	optimální	39,8	70,9	65,0	—	—	58,4
		příjemné	7,5	2,5	16,5	—	—	8,1
		v toleranci	33,7	25,1	8,4	—	—	23,5
		nevhodné až škodlivé	20,0	1,5	10,1	—	—	10,0
	Vytápění		inten- zivní	stří- davé	stří- davé			
Porodna II	A	optimální	—	33,4	48,7	53,3	34,00	42,0
		příjemné	—	19,8	24,1	40,5	45,80	36,9
		v toleranci	—	39,6	16,4	2,7	4,10	11,0
		nevhodné až škodlivé	—	7,2	10,8	3,5	16,10	10,1
	B	optimální	—	—	—	53,3	34,60	42,7
		příjemné	—	—	—	42,9	42,15	42,5
		v toleranci	—	—	—	1,0	1,60	1,3
		nevhodné až škodlivé	—	—	—	2,8	21,65	13,5
	Vytápění			inten- zivní	stří- davé	ojeti- nělé	nevy- tápěno	

zatímco častější přitápění v porodně II i v tomto období přispívalo k výskytu nízkých Rv (27,2 %), a tím i k horšímu mikroklimatu.

V mírném letním období v červnu bylo mikroklima nejlepší — nevhodné bylo pouze v 3,8 až 6,2 % pozorovací doby. V tomto období se téměř netopilo a i při poměrně chladném a vlhkém počasí se dařilo udržet mikroklima ve velmi příznivém stavu.

V období horkého léta se opět mikroklimatická situace zhoršila (20,20 — 23,25 % nevhodných situací), tentokrát nejen nízkými Rv (10,1 — 13,7 %), ale také vysokými teplotami (46,6 — 56,7 % pozorovací doby). Výskyt nízkých Rv v tomto období byl pak důsledkem přivětrávání již přirozeně suchého a teplého venkovního vzduchu.

Celkově za celou dobu sledování bylo nevhodných situací teplotního a vlhkostního režimu v porodně I 25,0 až 33,5 %, v porodně II 14,8 až 21,1 % pozorovací doby, na čemž se podílela nízká Rv 24,1 až 29,9 % resp. 8,9 až 17,0 %, vysoká Rv 3,0 až 7,2 % resp. 16,6 až 32,6 % (v porodně II na stanovišti B je skresleno výskytem pouze za letní období). Nízké teploty se podílely na nevhodných situacích v porodně I 1,5 až 7,2 %, v porodně II

1,2 až 0,0 % (opět poněkud zvýhodněné hodnocení), vysoké teploty pak 7,5 až 18,1 % resp. 29,70 až 33,35 % (obr. 3, 4).

Rozdíly na jednotlivých stanovištích (A, B), které se vyskytovaly zejména v porodně I v jarním období, svědčí o nevyrovnanosti mikroklimatu ve sledovaných stájích. Tato nevyrovnanost mohla být způsobena mimo jiné nerovnoměrným přívodem ohřívaného (rozvodným potrubím) i neohřívaného vzduchu. Protože otvory pro přivádění venkovního vzduchu přímo zvenčí nebyly zřízeny, docházelo k jeho neregulovanému přísávání hlavně přes stájové dveře, což bylo zdrojem častých průvanů (zejména při intenzivnějším chodu ventilátorů).

Zjištěné skutečnosti ukazují, že především teplovzdušné vytápění vháněním ohřátého a současně téměř zcela vysušeného vzduchu a intenzivnější přivětrávání přirozeně teplého venkovního vzduchu o nízké relativní vlhkosti bez jakékoliv úpravy (chlazení, zvlhčování) byly příčinou poměrně častého výskytu nevhodného až škodlivého mikroklimatu ve sledovaných porodnách v zimě a v horkém létě. To vyvolává nutnost řešit vytváření vhodného mikroklimatu v bezokenných, nuceně větraných a vytápěných porodnách s bezstelivovým provozem nejen v zimě, ale i v létě, mají-li platit a být respektovány citované názory Aa a Jensch (1966), Eikmeiera (1968), Kalicha (1970) nebo uvedené v literárních souhrnech Zemana (1970a) a Marschanga (1971).

Literatura

- AA R. von der, JENSCH D., 1966, Empfehlung einer Methode zum Messen der wichtigsten Stallklimafaktoren. Mh. VetMed. 21 : 561-565.
- BÄHR H., 1966, Neue Forderungen an die Wärmedämmung von Stallbauten. Mh. Vet. Med. 21 : 497-508.
- EIKMEIER H., 1968, Beobachtungen über die Bedeutung des Stallklimas bei der Enzootischen Pneumonie der Schweine. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 81 : 140-142.
- KALICH J., 1970, Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Enzootischen Pneumonie (Ferkelgrippe) und Umwelt. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 83 : 289-308.
- MARSCHANG F., 1971, Stallklima : Seine Bedeutung für die Leistungsbereitschaft der Haustiere in der industriemäßigen Zucht und Haltung. Dte tierärztl. Wschr. 78 : 533-536.
- MEHLHORN G., 1968, Vorbereitung und Durchsetzung planmäßiger Hygienemaßnahmen in sozialistischen Landwirtschaftsbetrieben. Mh. VetMed. 23 : 161-169.
- ZEMAN J., 1966, Studie mikroklimatu v porodnách pro prasata. Kand. dis. práce, VŠZ, vet. fak., Brno.
- ZEMAN J., 1970a, Řešení otázek zdravotní hygieny velkochovů prasat. I. ÚVTI, Studijní informace, řada Veterinářství, 1 : 1-107.
- ZEMAN J., 1970b, Metody vyhodnocování výsledků mikroklimatických měření ve stájích. ÚVTI, Metodiky pro zavádění výsledků výzkumu do praxe č. 7.
- , Návrh čs. veterinárních směrnic „Veterinární péče v chovech prasat“ (zpracovává se).

Došlo dne 14. 6. 1972

ЗЕМАН Й., ЛИСЕК Й., ЛИСКОВА Й. (Высшая школа ветеринарной медицины Брно, Чехословакия). Температурно-водный режим в родильных помещениях и в помещениях для подсосных маток на крупногабаритной свиноферме. Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 705-712, 1972.

Изучение наличия и взаимоотношения между температурой и относительной влажностью воздуха в двух крупногабаритных родильных помещениях современной конструкции показало, что низкая влажность воздуха становится новой проблемой в боксах с кондиционированным воздухом и без подстилки и в решающей мере ухудшает температурно-водный режим, особенно в период интенсивного отопления помещений (не более 50 % изучае-

мого времени). Низкая влажность воздуха может ухудшать и другие факторы микроклимата (в частности запыленность среды), непосредственно угрожая здоровью и, следовательно, продуктивности животных (в изучаемых родильных помещениях отмечены агалактии и запоры у маток, поносы у поросят). Кроме того, если температурно-изоляционные свойства здания в достаточной мере удовлетворяют требования к животноводческой среде (может быть, за исключением полов), то автоматические установки по кондиционированию воздуха, т. е. вентиляционные и отоплительные устройства все еще не гарантируют для свиней создания подходящего температурно-водного режима в течение круглого года.

крупногабаритные родильные помещения для свиней; микроклимат; температура воздуха; относительная влажность воздуха; строительное выполнение; кондиционирование воздуха

ZEMAN J., LISEK J., LISKOVÁ J. (University School of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *The Temperature and Moisture Regimes in Halls for Farrowing and Suckling Sows on the Large-Capacity Pig Farm*. Vet. Med. (Praha) 17 (12) :705-712, 1972.

The study of temperature and relative air humidity and their interactions in two large-scale modern pig farrowing houses shows that low air humidity arises as a new problem in air-conditioned farrowing houses with litterless pens. Low air humidity plays the most important role in the formation of bad or even harmful temperature and moisture régimes, especially in the season of intensive heating of the house (even more than 50 % of the time of the study). The low level of air humidity may affect also other factors of the microclimate (especially the dust content in the environment); unfavourable influence may be exerted even directly on the health condition of the animals and thereby also on their efficiency (in the farrowing halls under study the animals suffered from agalaction (sows) and diarrhoea (piglets). Furthermore, it is stated that although the thermal-insulation parameters of the hall sufficiently meet the requirements for optimum housing environment (with the possible exception of the floors), the automatic air conditioning (i. e. the ventilating and the heating equipments) still fail to produce a suitable temperature and moisture régime for the housed animals throughout the year.

large-scale pig farrowing houses; microclimate; air temperature; relative air humidity; structure of the house; air conditioning

ZEMAN J., LISEK J., LISKOVÁ J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno, Tschechoslowakei). *Wärme- und Feuchtigkeitsregime in Hallen für abferkelnde und säugende Sauen auf Schweinegroßfarmen*. Vet. Med. (Praha) 17 (12) :705-712, 1972.

Aus Untersuchungen der Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse sowie der gegenseitigen Beziehungen zwischen Lufttemperatur und -feuchtigkeit in zwei Großkapazitäts-Abferkelställen moderner Konstruktion geht hervor, daß in klimatisierten, streulosen Abferkelställen die niedrige Luftfeuchtigkeit ein neues Problem darstellt, das sich in entscheidendem Maße an dem Vorkommen eines ungeeigneten bis schädlichen Wärme- und Feuchtigkeitsregimes, insbesondere in den Perioden der intensiven Heizung des Stalles (bis 50 % der Beobachtungszeit) beteiligt. Die niedrige Luftfeuchtigkeit kann auch andere Faktoren des Mikroklimas (insbesondere den Staubgehalt und -bildung des Milieus) verschlechtern und direkt den Gesundheitszustand und damit die Leistung der Tiere (in den untersuchten Fällen handelte es sich um Agalaxie und Verstopfungen bei Sauen und Durchfälle bei Ferkeln) ungünstig beeinflussen. Weiter kann man feststellen, daß die Wärmeisolationseigenschaften der Stallgebäude den Ansprüchen auf die Bildung eines geeigneten Stallmilieus in genügendem Maß entsprechen (vielleicht nur mit Ausnahme des Stallbodens), während die installierten automatisch funktionierenden Klimatisierungseinrichtungen, d. h. die Lüftungs- und Heizeinrichtungen, die Bildung eines den aufgestellten Schweinen entsprechenden Wärme- und Feuchtigkeitsregimes im Verlauf des ganzen Jahres nicht gewährleisten.

Großkapazitäts-Abferkelställe; Mikroklima; Lufttemperatur; relative Luftfeuchtigkeit; bauliche Ausführung; Klimatisierung

Adresa autorů:

MVDr. J. Zeman, CSc., J. Lisek, J. Lisková, Vysoká škola veterinární, Brno, Palackého 1-3

PTAČÍ SLOŽKA BIOCENÓZY DVOU DRŮBEŽÁREN A JEJÍ ÚLOHA V UDRŽOVÁNÍ A ROZŠÍŘOVÁNÍ AVIÁRNÍ TUBERKULÓZY

F. Balát

Ústav pro výzkum obratlovců ČSAV, Brno

BALÁT F. *Ptačí složka biocenózy dvou drůbežáren a její úloha v udržování a rozšiřování aviární tuberkulózy.* Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 713-724, 1972.

Během dvou let bylo zkoumáno kvalitativní a kvantitativní složení ptačí složky biocenózy ve dvou drůbežárnách s významným výskytem aviární tuberkulózy. U těch druhů ptáků, u nichž byly výsledky patologicko-anatomického a kultivačního vyšetření na toto onemocnění pozitivní, byly podrobně probrány ty stránky jejich bionomie, které mají důležitost při získávání nebo rozšiřování původce tohoto onemocnění, které je přenosné, tj. ohniskového rázu. Rozbor byl proveden i u těch druhů, jejichž způsob života je shodný s předcházejícími, takže je třeba s nimi v tomto směru počítat. Velkou důležitost má stupeň těsného kontaktu s prostředím zamořeným původcem aviární tuberkulózy, jeho častost a délka trvání. Negativně působí zmenšená nebo nepatrná vnímavost některých druhů vůči infekci (hrdlička zahradní — *Streptopelia decaocto*, havran polní — *Corvus frugilegus*). Náhodně se mohou infikovat i druhy vysloveně exoantropní, např. budníček menší (*Phylloscopus collybita*) nebo pěnice slavíková (*Sylvia borin*), avšak vzhledem ke způsobu života drtivé většiny populace je třeba označit je v tomto směru za bezvýznamné.

kur domácí; aviární tuberkulóza; volně žijící ptáci; reservoár; přenašeči

Moderní pojetí boje proti nakažlivým chorobám ve veterinární praxi předpokládá komplexní pojetí při objasňování nakažové situace. Toto komplexní pojetí spočívá nejen ve vyšetření postiženého druhu zvířat, nýbrž je nutno věnovat pozornost i všem dalším druhům, které jsou nebo by mohly připadat v úvahu jako zdroje nebo cesty šíření původců těchto onemocnění. V této souvislosti jsou pravidelně vyšetřovány i další druhy zvířat a ptactva volně žijících. Význam různých druhů volně žijícího ptactva pro šíření původců onemocnění byl častokrát prokázán. Aby mohla být zhodnocena úloha jednotlivých druhů pro šíření těchto přenosných onemocnění, je nutné spojit poznatky z veterinární medicíny s poznatky ornitologickými, a tak fundovaně posoudit význam jednotlivých druhů synantropních, hemisynantropních i exoantropních pro možnost přenosu původců onemocnění.

V rámci výzkumu epizootologie aviární tuberkulózy jsme udělali i konkrétní ornitologický průzkum v zamořených lokalitách s cílem získat poznatky o podílu jednotlivých druhů ptáků na šíření aviární tuberkulózy v drůbežárnách a využít jich k aplikaci na ohniskovou problematiku dalších přenosných onemocnění s přírodní ohniskovostí.

Výskyt aviární tuberkulózy u volně žijících druhů ptáků byl zaznamenán již koncem minulého století (Crips 1875, Sibley 1889). Intenzivněji byly zaměřeny výzkumy tímto směrem až okolo r. 1940. Byly prošetřeny

různé druhy ptáků z různých prostředí a neméně než u 45 druhů byly zaznamenány pozitivní výsledky. Byly mezi nimi jak druhy v různém stupni synantropní, tj. vrabec domácí (*Passer domesticus*), špaček obecný (*Sturnus vulgaris*), sova pálená (*Tyto alba*), havran polní (*Corvus frugilegus*) apod., tak i vyloženě exoantropní, tj. křepelka polní (*Coturnix coturnix*), kukačka obecná (*Cuculus canorus*), orel skalní (*Aquila chrysaetos*) aj. Při našich výzkumech výskytu aviární tuberkulózy u volně žijícího ptactva v letech 1966–1968 ve drůbežárnách JZD Hlína a JZD Vícenice byla proto věnována pozornost především prvně jmenované skupině, avšak nebyly pouštěny ze zřetele ani ostatní druhy, které se na zkoumaných místech vyskytovaly.

METODY

Ve zmíněných drůbežárnách a v jejich nejbližším okolí byl proveden během dvou let 11× ornitologický průzkum spojený s odběrem vzorků populací tam žijících druhů ptáků. Data výzkumu byla volena tak, aby byly podchyceny během celého roku všechny druhy, tj. jak hnízdící, tak i pouze protahující, stále i stěhovavé, příp. pouze zimující. Byl zjišťován nejen počet druhů a jedinců, ale i místa jejich pobytu, aby mohly být zjištěny možnosti infekce a podmínky, za jakých k ní oboustranně dochází. Získané poznatky byly srovnávány s výsledky patologicko-anatomického a kultivačního vyšetření ulovených ptáků (H e j l í č e k a B a l á t — v tisku).

Drůbežárna JZD Hlína je položena asi 400 m od obce, ve svahu, na horním konci strže porostlé až 15 m vysokými duby a akáty s hojným křovinným patrem (svida krvavá, růže šípková, líska obecná, brslen obecný) a akátovým mlázím. Zde bylo pozorováno a loveno na úseku 40 m širokém a 200 m dlouhém (0,8 ha). Vlastní objekt drůbežárny je na oploceném pozemku o výměře 0,6 ha, který je z poloviny zcela zarostlý keři (většinou růže šípková) a nízkými duby a zbytek — až na malou volnou plochu před budovou (= výběh) — je zarostlý řídké keři nebo řídké roztroušenými ovocnými stromy. Na přilehlých polích s četnými starými ovocnými stromy (jabloň, třešeň, švestka), rozdělených mezími s růží šípkovou a nízkými akáty a duby, bylo pozorováno a loveno v pruhu širokém 100 m a dlouhém 200 m (2 ha).

Drůbežárna JZD Vícenice je položena asi 700 m od obce, na mírném svahu. Oplocená plocha kolem obou objektů činila 1,5 ha: byla to většinou travnatá, téměř neobhospodařovaná plocha, zčásti sad s nevysokými ovocnými stromy (švestka, třešeň). Bylo pozorováno a loveno i v přilehlém jehličnatém lesíku, tvořeném vysokými stromy (smrk ztepilý, borovice lesní), s rozsáhlými keři trnky, o rozloze 0,5 ha a na travnaté, zčásti mokré sníženině s velkými trnkovými keři na okraji, o celkové rozloze 0,7 ha.

VÝSLEDKY

Ve drůbežárně JZD Hlína a v jejím bezprostředním okolí byly celkem zjištěny 54 ptačí druhy (tab. I), v drůbežárně JZD Vícenice rovněž 54 druhy (tab. II). Značný počet druhů byl společný pro obě místa. V některých směrech byly odchylky podmíněné pouze okolním prostředím: u Vícenice borový a smrkový les, a proto s druhy sýkora uhelníček (*Parus ater*) sýkora parukářka (*Parus cristatus*).

tus) aj. Na druhé straně v doubravě u Hlíny byla zjištěna žluva hajní (*Oriolus oriolus*), sedmhlásek hajní (*Hippolais icterina*) aj.

Jak je známo, dochází k infekci ptactva aviární tuberkulózou převážně perorálně (potravou i těsným stykem s kontaminovaným prostředím). Z volně žijících druhů ptáků tedy přicházejí v úvahu hlavně ty, které se přizívají v zamořených drůbežárnách nebo tam sletují na zem za jiným účelem. To potvrdily pozitivní nálezy u vyšetřovaných ptáků. Původci aviární tuberkulózy nebo jimi způsobené patologické změny byly zjištěny u následujících druhů (seřazeno abecedně): budníček menší (*Phylloscopus collybita*), konopka obecná (*Carduelis cannabina*), krutihlav obecný (*Jynx torquilla*), pěnice slavíková (*Sylvia borin*), rehek zahradní (*Phoenicurus phoenicurus*), stehlík obecný (*Carduelis carduelis*), strnad obecný (*Emberiza citrinella*), vlaštovka obecná (*Hirundo rustica*), vrabec domácí (*Passer domesticus*) a vrabec polní (*Passer montanus*). Pro oba posledně jmenované druhy je typické, že se vyskytují po celý rok v těsné blízkosti drůbežáren, kde se přizívají u drůbeže. Strnad obecný (*Emberiza citrinella*) se takto přizívá pravidelně pouze v zimním období. Vlaštovka obecná (*Hirundo rustica*) hnízdívá často přímo v objektech drůbežáren nebo v jejich těsné blízkosti. Živí se sice výhradně hmyzem, který chytá v letu, ale šlétuje na zem zcela pravidelně v předhnízdním i hnízdním období, aby nasbírala jednak stavební materiál (vlhkou hlínu), jednak výstelku, kterou tvoří různá stébla, žíně a peří. Je-li tento materiál kontaminován, jsou vytvořeny podmínky jak pro infikování dospělého ptáka, tak i jeho mláďat, a to trvale, po řadu let, neboť tento pták používá týchž hnízd opětovně a kromě toho každoročně obnovuje v nich výstelku ze stébel a peří*). Konopka obecná (*Carduelis cannabina*) a stehlík obecný (*Carduelis carduelis*) se všeobecně vyskytují od podzimu do pozdního jara v hejnech na plevelných rostlinách, které rostou zpravidla ve výběžích pro drůbež. Na zem sletují, aby se vykoupali nebo napili vody. Krutihlav obecný (*Jynx torquilla*) sletuje často na zem při sběru hmyzí potravy; u Hlíny hnízdil v jednom ze stromů rostoucích ve výběhu, avšak pozitivní nález u tohoto druhu považujeme za výjimečný a bude ještě — spolu s některými podobnými případy — prodiskutován dále.

Na místech námi zkoumaných jsme zjistili ještě další druhy, u kterých jsou reálné předpoklady pro infekci vzhledem k jejich způsobu života. Jsou to především: bažant obecný (*Phasianus colchicus*), hrdlička zahradní (*Streptopelia decaocto*), jiříčka obecná (*Delichon urbica*), konipas bílý (*Motacilla alba*), konopka obecná (*Carduelis cannabina*) a koroptev polní (*Perdix perdix*), podle místních podmínek pak popřípadě i chocholouš obecný (*Galerida cristata*), kos černý (*Turdus merula*), lejsek šedý (*Muscicapa striata*), linduška lesní (*Anthus trivialis*), skřivan polní (*Alauda arvensis*), sýkora koňadra (*Parus major*), špaček obecný (*Sturnus vulgaris*), zvonohlík zahradní (*Serinus serinus*) a další. Zvláště u prvně jmenované skupiny by bylo možné očekávat i na našich lokalitách pozitivní nálezy v případě, že by byl prošetřen větší počet jedinců, než mohlo být získáno pro náš výzkum.

Původce aviární tuberkulózy — *Mycobacterium avium* — je vylučován trusem. Jde o přenosné onemocnění ohniskového rázu. Původce tohoto onemocnění se může dostat z drůbeže na volně žijící ptáky i opačně několikerým způsobem.

*) To platí také pro jiříčku obecnou (*Delichon urbica*) a pokud se týká sběru stavebního materiálu a výstelky především pro oba druhy vrabců (*Passer domesticus* a *P. montanus*), jakož i pro všechny druhy ptáků, kteří stavějí na příslušné lokalitě hnízdo z materiálu získaného buď přímo na pozemku drůbežárny nebo v jejím blízkém okolí.

Druh ptáků	1966				1967				1968		
	29. IV.	22. VI.	8. IX.	25. X.	11. I.	21. II.	5. IV.	29. VI.	21. IX.	11. I.	18. IV.
<i>Aegithalos caudatus</i> (mlynářik dlouhoocasý)	3	—	—	8	17	—	—	—	—	—	—
<i>Alauda arvensis</i> (skřivan polní)	(9)	6	—	—	*	—	(11)	(10)	—	—	(11)
<i>Anthus trivialis</i> (línduška lesní)	2	7	—	—	—	—	2	8	—	—	3
<i>Asio otus</i> (kalous ušatý)	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
<i>Carduelis cannabina</i> (konopka obecná)	—	—	—	—	—	18	—	—	—	—	3
<i>Carduelis carduelis</i> (stehlík obecný)	(2)	—	—	—	—	(6)	—	—	(11)	—	(2)
<i>Carduelis chloris</i> (zvonek zelený)	2	—	6	7	—	5	3	4	3	—	2
<i>Carduelis spinus</i> (čížek lesní)	—	—	—	—	—	(20)	—	—	—	—	—
<i>Coccothraustes coccothraustes</i> (dlask)	—	13	—	—	—	—	3	—	—	—	—
<i>Columba palumbus</i> (holub hřivnáč)	—	—	—	—	—	—	—	—	(6)	—	—
<i>Corvus frugilegus</i> (havran polní)	—	—	—	—	—	(60)	—	—	—	—	—
<i>Cuculus canorus</i> (kukačka obecná)	(1)	—	—	—	—	—	—	(1)	—	—	—
<i>Delichon urbica</i> (jiříčka obecná)	6	6	(10)	—	—	—	6	5	—	—	4
<i>Dendrocopos major</i> (strakapoud velký)	—	—	—	1	2	—	—	—	—	—	—
<i>Emberiza citrinella</i> (strnad obecný)	5	8	—	—	7	(6)	4	5	—	—	5
<i>Eriothacus rubecula</i> (červenka obecná)	—	—	—	1	—	—	5	—	—	—	—
<i>Fringilla coelebs</i> (pěnkava obecná)	5	1	5	(12)	(2)	(2)	7	4	7	—	4
<i>Fringilla montifringilla</i> (pěnkava jíkavec)	—	—	—	(3)	—	(1)	—	—	1	—	—
<i>Galerida cristata</i> (chocholouš obecný)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Garrulus glandarius</i> (sojka obecná)	—	—	—	1	(1)	—	—	—	—	—	—
<i>Hippolais icterina</i> (sedmíhlásek hajní)	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
<i>Hirundo rustica</i> (vlašťovka obecná)	7	6	18	—	—	—	2	14	10	—	6
<i>Jynx torquilla</i> (krutihlav obecný)	3	6	—	—	—	—	1	1	—	—	2
<i>Lanius collurio</i> (tuhýk obecný)	—	11	—	—	—	—	—	7	—	—	—
<i>Lullula arborea</i> (skřivan lesní)	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1
<i>Motacilla alba</i> (konipas bílý)	2	—	—	—	—	—	2	2	—	—	2

<i>Muscicapa striata</i> (lejsek šedý)	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
<i>Oriolus oriolus</i> (žluva hajní)	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
<i>Parus caeruleus</i> (sýkora modřinka)	—	—	—	3	5	—	3	—	—	—	—
<i>Parus major</i> (sýkora koňadra)	6	9	5	8	10	1	6	3	4	—	5
<i>Parus palustris</i> (sýkora babka)	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—
<i>Passer domesticus</i> (vrabec domácí)	20	24	83	87	28	103	21	44	90	304	26
<i>Passer montanus</i> (vrabec polní)	18	19	71	86	48	105	12	45	83	315	14
<i>Phasianus colchicus</i> (bažant obecný)	—	—	2	—	3	—	—	—	—	—	—
<i>Phoenicurus ochruros</i> (rehek domácí)	3	—	2	—	—	—	—	1	—	—	—
<i>Phoenicurus phoenicurus</i> (rehek zahradní)	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Phylloscopus colybita</i> (budníček menší)	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—
<i>Pica pica</i> (straka obecná)	—	—	—	—	(1)	—	—	—	—	—	—
<i>Picus viridis</i> (žluna zelená)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
<i>Pyrrhula pyrrhula</i> (hýl obecný)	—	—	3	3	1	7	—	—	—	4	—
<i>Regulus regulus</i> (králíček obecný)	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—
<i>Serinus serinus</i> (zvonohlík zahradní)	5	—	—	(2)	—	—	4	6	—	—	8
<i>Sitta europea</i> (brhlík lesní)	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—
<i>Streptopelia decaocto</i> (hrdlička zahradní)	2	—	—	—	—	—	2	3	—	—	3
<i>Streptopelia turtur</i> (hrdlička divoká)	—	—	—	—	—	—	—	(1)	—	—	—
<i>Sturnus vulgaris</i> (špaček obecný)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(8)
<i>Sylvia atricapilla</i> (pěnice černohlavá)	—	4	3	—	—	—	—	3	—	—	—
<i>Sylvia borin</i> (pěnice slavíková)	—	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Sylvia nisoria</i> (pěnice vlašská)	—	5	—	—	—	—	—	5	—	—	—
<i>Troglodytes troglodytes</i> (střízlík obecný)	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—
<i>Turdus merula</i> (kos černý)	2	4	2	2	5	1	2	5	1	1	2
<i>Turdus philomelos</i> (drozd zpěvný)	6	—	4	(3)	—	—	5	4	(4)	—	4
<i>Turdus pilaris</i> (kvičala obecná)	—	—	—	—	—	(3)	—	—	—	—	—
<i>Turdus viscivorus</i> (brávník obecný)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—

Číslo v závorce značí počet pouze přelétnuvších, avšak neusednuvších jedinců

II. Přehled o výskytu jednotlivých druhů ptáků v drůbežárně JZD Vícenice a v jejím okolí

Druh ptáků	1966				1967					1968	
	29. IV.	22. VI.	8. IX.	25. X.	11. I.	21. II.	5. IV.	29. VI.	21. IX.	11. I.	18. IV.
<i>Accipiter nisus</i> (krahujec obecný)	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—
<i>Alauda arvensis</i> (skřivan polní)	6	8	6	—	—	—	4	7	2	—	4
<i>Anthus trivialis</i> (linduška lesní)	—	1	—	—	—	—	—	2	—	—	—
<i>Asio otus</i> (kalous ušatý)	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—
<i>Buteo buteo</i> (káně lesní)	—	—	—	—	(1)	—	—	—	—	—	—
<i>Carduelis cannabina</i> (konopka obecná)	—	—	5	—	—	7	2	2	—	—	2
<i>Carduelis carduelis</i> (stehlík obecný)	—	—	15	6	12	—	—	1	2	22	—
<i>Carduelis chloris</i> (zvonček zelený)	2	7	8	17	7	12	2	9	10	8	2
<i>Carduelis spinus</i> (čížek lesní)	—	—	—	—	(12)	—	—	—	—	—	—
<i>Coccothraustes coccothraustes</i> (dlask)	—	(2)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Columba palumbus</i> (holub hřivnáč)	—	—	—	—	—	—	—	(2)	—	—	—
<i>Corvus corone cornix</i> (vrána obecná šedá)	—	(1)	—	—	—	—	—	—	(2)	—	—
<i>Corvus frugilegus</i> (havran polní)	—	—	—	—	1	(30)	—	—	—	(20)	—
<i>Corvus monedula</i> (kavka obecná)	—	—	(8)	—	—	—	—	—	—	(4)	—
<i>Delichon urbica</i> (jiříčka obecná)	—	(4)	—	—	—	—	—	(3)	—	—	—
<i>Dendrocopos major</i> (strakapoud velký)	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—
<i>Emberiza citrinella</i> (strnad obecný)	6	3	—	—	4	4	2	4	6	6	3
<i>Erithacus rubecula</i> (červenka obecná)	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
<i>Falco tinnunculus</i> (poštolka obecná)	—	—	(1)	—	—	—	—	—	—	(1)	—
<i>Fringilla coelebs</i> (pěnkava obecná)	2	—	—	—	1	—	1	—	—	—	2
<i>Fringilla montifringilla</i> (pěnkava jikavec)	—	—	—	4	12	—	—	—	—	1	—
<i>Galerida cristata</i> (chocholouš obecný)	2	1	—	—	—	—	2	2	—	—	2
<i>Garrulus glandarius</i> (sojka obecná)	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—
<i>Hirundo rustica</i> (vlaštovka obecná)	6	7	—	—	—	—	4	21	—	—	6
<i>Lanius collurio</i> (tuhýk obecný)	—	4	2	—	—	—	—	5	—	—	—
<i>Motacilla alba</i> (konipas bílý)	2	5	—	—	—	—	2	8	—	—	2

Tato rozmanitost je důsledkem rozdílnosti ve způsobu života jednotlivých ptačích druhů, a to zvláště: 1. v různém stupni synantropismu; 2. v různém stupni stálosti, potulnosti nebo tažnosti; 3. ve změnách ve velikosti životního prostoru, v němž se určitý druh pohybuje v době hnízdění a mimo dobu hnízdění; 4. v sezónních změnách ve složení potravy v závislosti na ročním období. Proto se zdá být účelné probrat jednotlivé důležitější druhy zvlášť.

A) Druhy, u nichž byla ve zkoumaných drůbežárnách pozitivně zjištěna aviární tuberkulóza

Vrabec domácí (*Passer domesticus*). Stálý, hojný pták. Mladí jedinci se usazují v blízkosti rodného hnízda nebo v jeho okolí, někteří však zalétnou nebo snad přesídlí i do větší vzdálenosti (výjimečně až 100 km). Kde jednou zahnízdí, tam zůstává trvale. Po celý rok se zdržuje v blízkosti lidských obydlí a staveb. Po nasycení sedává v hejnech na stromech či keřích v blízkosti potravní základny, takže vylučovaným trusem jsou mykobakteria stále vylučována v blízkosti drůbežárny nebo přímo v ní. Při zlikvidování chovu drůbeže se přesunuje za potravou do dvorů v obci a opačně zase při zřízení drůbežárny či opětovném jejím osazení drůbeží se tam opět vrací. Takto může být zavlékána nákaza oběma směry.

Vrabec polní (*Passer montanus*). Stálý, hojný druh v nižších polohách. Mladí ptáci se usídlují rovněž v okolí a známe jen ojedinělé případy delších přeletů v našich podmínkách. V ostatních bodech se shoduje s předcházejícím druhem.

Strnad obecný (*Emberiza citrinella*). Hojný, stálý druh, v zimě zčásti potulný (někteří jedinci zaletují až do vzdálenosti 31 km — Kadlec 1958). Na zimu k nám přiletují příslušníci severnějších populací, např. až z Finska*). Celkový směr tahu v Evropě je na podzim na jih a jihozápad. Ptáci z obou německých států zaletují např. nejčastěji do jižní Francie, ojediněle až do jižního Španělska (Hasse 1963, Zink 1969). Některé výsledky kroužkování svědčí o tom, že v některých zimách zůstávají ve svém rodišti, v jiné zimě zase daleko zalétnou (Hasse 1963). Do blízkosti lidských obydlí a hospodářských objektů se stahují v zimě při trvalé sněhové pokrývce a zůstávají až do poloviny února nebo začátku března, podle průběhu počasí. Pak se rozsidlují po párech do okolí a příslušníci severnějších populací se vracejí. Při návratu chladnějšího počasí provázeného sněhem se ještě přechodně uchylují na dvorky a na místa, kde se krmí drůbež. To zvyšuje možnost dalšího rozvlékání choroby infikovanými jedinci. Epizootologicky velmi významná je i skutečnost, že strnad obecný, stejně jako oba druhy vrabců, zvonek zelený a někteří další pěnkavovití, se v zimě zdržují téměř po celý den v hejnech v blízkosti zdroje potravy a po nasycení usedávají na blízké stromy, často přímo nad místem s potravou. Trusem tedy mohou nakazit chov dosud zdravý. Na rozdíl od obou druhů vrabců je délka jejich pobytu v blízkosti drůbežáren během roku značně omezena. Na druhé straně je tu možnost rozvlékání nákazy do širšího okolí. Strnad obecný hnízdí v zemi v řídkých lesích a na jejich okrajích, na pasekách a může hnízdit i přímo v částech výběhů vegetací aspoň poněkud zarostlých.

Vlaštovka obecná (*Hirundo rustica*). Hojný, tažný druh. U nás od začátku dubna do konce září, v menším počtu i v říjnu. Možnosti infekce byly popsány. K větší koncentraci trusu, který může obsahovat původce onemocnění, dochází zpravidla pod hnízdem a pod sedátky v blízkosti hnízda nebo v okolí (nejčastěji elektrické dráty, méně často tenké suché větve stromů). Trus, obsahující původce aviární tuberkulózy, je vypuštěn i za letu a může být jen zcela náhodně a výjimečně zdrojem infekce. Cestou na zimoviště, která leží pro různé evropské populace vlaštovek v různých částech Afriky, se zastavuje na noc v rákosinách nebo ve skupinách stromů, často také na elektrických drátech a v nouzi i na domech, výstupcích skalních stěn nebo na jakémkoliv vyvýšeném místě (Vieitinghoff-Riesch 1955). Hnízdo staví vždy uvnitř budov, jen velmi zřídka vně budovy.

Konopka obecná (*Carduelis cannabina*). Hojný, stálý, zčásti potulný a tažný druh. Část našich populací zaletuje na zimu do severní a střední Itálie a do jižní Francie (Jirsík 1955), německé populace do jižní Itálie, Francie, Španělska a na středomořské ostrovy (Zink 1969). Od podzimu do jara se živí na plevelných rostlinách. Hnízdí rovněž v zahradách, ve křovinách mezi poli a při okrajích lesů.

*) Údaje o zimovištích a tahu jsou přejaty — pokud není uvedeno jinak — od Jirsíka 1955 (z ČSSR) a Zinka 1969 (z obou německých států).

Stehlík obecný (*Carduelis carduelis*). Hojný, stálý, zčásti potulný a tažný druh. Část našich populací odletuje na zimu do severní Itálie, jižní Francie a Španělska, příslušníci německých populací byli zjištěni i v Portugalsku, Jugoslávii a Řecku. Přes naše území protahují i jedinci ze Skandinávie (finští zastizení v Itálii — Jirsík 1955). Způsob života od podzimu do jara je zhruba shodný s předcházejícím druhem. Hnízdí ve větší výši na stromech a v zahradách, sadech, stromořadích a na pokrajích lesů.

Rehek zahradní (*Phoenicurus phoenicurus*). Obecně rozšířený, tažný druh. Přezimuje v oblasti Středozemního moře (jižní Francie, Španělsko, Baleáry, severní Afrika). Přilet k nám začátkem dubna, odlet v srpnu a začátkem září. Přes naše území přetahují příslušníci severnějších populací. Potravu sbírá ve větvích a často za ní zaletuje na zem. Hnízdí v lesích, zahradách i sadech. Ke stavbě hnízda používá dutin ve stromech i polodutin při lidských obydlích, umělých budek apod. Pokud se usadí v blízkosti drůbežárny, může dojít k nákaze při sletování na zem za potravou a hlavně při sběru materiálu na stavbu hnízda (vždy vystýlá hnízdní kotlinku peřím!). Při svém způsobu života a poměrně malé hustotě osídlení nemůže hrát vážnou úlohu v koloběhu mykobakterií.

Krutihlav obecný (*Jynx torquilla*), budníček menší (*Phylloscopus collybita*) a pěnice slavíková (*Sylvia borin*). Pro všechny tyto tři druhy je společné to, že jsou sice všeobecně rozšířeny, avšak jejich způsob života není ani zdaleka synantropní. Do blízkosti hospodářských objektů se dostávají více méně jen místy a k jejich infekci dochází také spíše náhodně, takže jejich význam v koloběhu mykobakterií je možno označit za mizivý. Všechny zmíněné druhy jsou tažné a nevytvářejí hejna.

B) Druhy, které mohou při svém způsobu života hrát úlohu v rozšiřování a udržování aviární tuberkulózy

Bažant obecný (*Phasianus colchicus*). Místy hojný, stálý pták. Žije hlavně v krajinách s mozaikou lesů a na pokrajích lesů, zčásti i v polích s větrolamy a křovina-tými mezemi. Pohybuje se stále po zemi. Za potravou vychází často do otevřeného terénu (pole, louky). Pokud leží drůbežárny mimo obce a sousedí s poli a úhory a pokud mají rozsáhlejší výběh, pak se dostávají tyto ptáci nezdědka na místa navštěvovaná drůbeží. Podle místních podmínek k tomu může docházet i po celý rok, zvláště však od pozdního podzimu do začátku jara. V místech, která to umožňují, se u drůbeže i přizívají, zvláště v zimě. Velká vnímavost bažantů vůči mykobakteriím je všeobecně známa.

Koroptev polní (*Perdix perdix*). V otevřené krajině v nižších polohách dosti hojný a stálý druh. Zdržuje se stále na zemi. Do blízkosti lidských obydlí se dostává jen náhodně, a to převážně v zimním období. Koroptev sbírá semena plevelů a drobnou živočišnou potravu. Může přijít do styku s drůbeží ve velkých výbězích sousedících s poli. Na krmivu předkládaném drůbeži se přizívá jen zcela výjimečně.

Havran polní (*Corvus frugilegus*). Hojný, tažný druh. Naši havrani zimují většinou v severozápadní Francii, někteří v Rakousku a malá část populace snad zůstává stále na místě. Havrani, které u nás vidíme v zimě, pocházejí ze severovýchodní a východní Evropy (Jirsík 1955, Baruš, Ryšavý, Groschafft a Folk 1972). Podzimní odlet našich probíhá v říjnu, kdy k nám přitahují také příslušníci cizích populací, jarní návrat spadá do února a začátku března. Potravu sbírá havran vždy jen v otevřeném terénu. V zimě se sletují tyto ptáci na každou noc z okruhu mnoha kilometrů na určité, často po desetiletí stejné místo. Půda je na těchto místech pak pokryta souvislou vrstvou trusu a vývržků, což poskytuje optimální podmínky pro infekování ptáků žijících v těchto místech na zemi (v první řadě bažanti!). Možnost infekce ve hnízdních koloniích havrana je táž. Kolonie čítají na sta a někdy i tisíce jedinců; na jednom stromě bývá i několik hnízd. Některé kolonie (např. na již. a vých. Slovensku) jsou přímo v obcích, takže se naskytá možnost přenosu mykobakterií na drůbež. V zimě zaletuje havran v hejnech mimo jiné i na silážní jámy a na příhodných místech i přímo na krmítka v drůbežárnách a velkochovech kachen, což poskytuje příhodné podmínky pro oboustrannou infekci. V souvislosti s tažností havrana může dojít k rozvlékání mykobakterií na velké vzdálenosti.

Hrdlička zahradní (*Streptopelia decaocto*). Ve vsích a městech velmi hojný, stálý pták. Po celý rok se drží v těsné blízkosti lidských stavení. Sbírá potravu jen na zemi. Velmi často, v zimě výhradně, se přizívá u drůbeže a ve skládkách zrní, slunečnicového semene apod. Po nasycení odpočívá v hejnech na okolních stromech. Od pozdního podzimu až do začátku jara nocuje pospolitě (v hejnech převyšujících i 100 kusů), vždy na týchž stromech. Podmínky k oboustranné infekci aviární tuberkulózou jsou

u tohoto druhu optimální, avšak brání jí velkou měrou neobvyklá odolnost hrdličky zahrádní vůči této nákaze, jak bylo pokusně opětovně ověřeno. Při větší vnímavosti by byla — vzhledem ke svému způsobu života — velmi vážným činitelem v rozšiřování a udržování tohoto onemocnění.

Holub domácí (*Columba livia* f. *domestica*). Platí o něm totéž co o hrdličce zahrádní, včetně velké odolnosti vůči tomuto onemocnění.

Jířička obecná (*Delichon urbica*). Pro úsek pobytu tohoto druhu u nás platí totéž co je napsáno o vlaštovce obecné (*Hirundo rustica*). Rozdíl je jen ve volbě místa pro hnízdo, pod kterým bývá rovněž po vyhnízdění značné množství trusu: bývá zpravidla postaveno pod střechou na zevní straně budov nebo pod návratím, jen zřídka uvnitř budov.

Zvonek zelený (*Carduelis chloris*). Hojný, stálý, částečně potulný a tažný druh. Od podzimu do jara sbírá semena na plevelných rostlinách, při vyšší sněhové pokrývce zalétá velmi často na ptačí krmítka. Přímou u drůbeže se přizpůsobuje v malé míře. Část našich populací odletuje již v říjnu do Itálie, populace z obou německých států táhnou i do jižní Francie a Španělska. Do střední Evropy zaletují příslušníci skandinávských populací. Část našich i německých populací zůstává i v zimě na místě nebo se potuluje v blízkém či vzdálenějším okolí. Své zimní potravní základny se mnohdy velmi pevně drží: Jedinec vypouštěný v různých částech Prahy se vrátil vždy velmi rychle na krmítka, na němž byl chytán, jiný byl od krmítka v Neschwitz (NDR, Lužice) převážně postupně do vzdálenosti 45, 50, 80, 135 a 150 km daleko a vždy se vrátil, jiný se vrátil dokonce ze vzdálenosti 350 km (Creutz 1957). Po nasycení — ať již na krmítka nebo ve výběhu drůbežáren — sedává na okolních stromech. Hnízdívá v zahradách, sadech a světlych listnatých lesích.

Konipas bílý (*Motacilla alba*). Všeobecně rozšířený, tažný druh. Přilet začátkem března, odlet během září a října, opozdil i v listopadu (včetně severských). Často pobíhá po zemi, zídkách, střechách apod. Živí se drobným hmyzem. Je obyvatelem otevřené krajiny. Pokud se usadí v blízkosti lidských obydlí, hnízdí často v různých výklencích ve zdi, pod střechami, na trámech apod. Možnosti infekce aviární tuberkulózou při příležitosti sběru hnízdního materiálu a hlavně výstelky jsou stejné, jako jsou popsány u vlaštovky obecné (*Hirundo rustica*). Podobně je tomu i v otázce rozšiřování mykobakterií trusem. Za jarního a podzimního tahu se zdržuje převážně na zcela otevřených místech, často u vod a na polích, kde jsou však možnosti infikování nebo rozvlékání mykobakterií téměř mizivé. Přezimuje v jižní Evropě, v severní a zčásti i ve střední Africe, kde se zdržuje převážně v blízkosti vod.

Rehek domácí (*Phoenicurus ochruros*). Všeobecně rozšířený, tažný pták. Přilet během března a začátkem dubna, odlet během října. Zdržuje se na střechách, zídkách a jiných vyvýšených místech u lidských stavení. Často žije na skalách. Na zem sletuje dosti často za potravou, velmi často pak při sběru hnízdního materiálu. Hnízdí (stejně jako předešlý druh) dvakrát ročně a pro druhé hnízdění si staví nové hnízdo. Za tahu se zdržuje nejčastěji v otevřené krajině v křovinách a po epizootologické stránce se shoduje s předcházejícím druhem. Přezimuje v jižní Evropě, v oblasti Středomoří a v severní Africe. K hodnocení možností infekce ve krajích mimo naše země nám chybějí potřebné podklady.

DISKUSE

V literatuře není dosud práce, která by se zabývala rozbořením ptačí složky biocenózy v místech výskytu aviární tuberkulózy, což má pro poznání nositelů původce tohoto onemocnění, cest nákazy hostitelů, jakož i možnosti prevence dalekosáhlý praktický význam. Ukazuje se, že pro nakažení ptáků zde platí tytéž zákonitosti, které jsme zjistili v ohnisku klíšťové encefalitidy pro jejich napadání klíštětem obecným (*Ixodes ricinus*) (Balát a Rosický 1954 a Rosický a Balát 1954); rozhodující roli hraje stupeň vzájemného těsného kontaktu s prostředím zamořeným původcem aviární tuberkulózy, jeho četnost a délka trvání. Tyto okolnosti jsou u různých druhů ptáků různé, avšak pro jednotlivé ptačí druhy tak typické, že zkušený ornitolog může po zevrubné prohlídce terénu přímo upozornit, na které druhy je třeba v daném místě zaměřit hlavní pozornost.

Literatura

- BALÁT F., ROSICKÝ B., 1954, Ptáci nížinného lesa, jejich pohyb a význam v přírodním ohnisku. Čs. parasit. 1 : 23-44.
- BARUS V., RYŠAVÝ B., GROSCHAFT J., FOLK Č., 1972, The helminth fauna of *Corvus frugilegus* L. (Aves, Passeriformes) in Czechoslovakia and its ecological analysis. Acta Sc. Nat. Brno 6 (3) : 1-53.
- CREUTZ G., 1957, Verfrachtungs-Versuche mit einem Grünfinken (*C. chloris*). Vogelwarte 19 : 58-59.
- CRIPS, 1875 : in FELDMAN W. H., Avian Tuberculosis Infections. Baltimore.
- HASSE H., 1963, Die Goldammer. Neue-Brehm-Bücherei, Band 316. Wittenberg.
- JIRSIK J., 1955, Naši pěvci, I. Praha.
- ROSICKÝ B., BALÁT F., 1954, Klíště *Ixodes ricinus* L. jako cizopasník ptáků v přírodním ohnisku. Čs. parasit. 1 : 45-76.
- SIBLEY, 1889 : in FELDMAN W. H., Avian Tuberculosis Infections. Baltimore.
- VIETINGHOFF-RIESCH A., 1955, Die Rauchschwalbe. Berlin. Duncker & Humboldt : 1-301.
- ZINK G., 1969, Ringfunde der Vogelwarte Radolfzell 1947-68. Aufgliederung nach Fundgebieten und Fundmonaten. 1. Teil : Passeres. Auspicium 3 (3) : 195-291.

Došlo dne 5. 8. 1972

BALÁT F. (Institut исследования позвоночных при Чехословацкой академии наук, Брно, Чехословакия). Птичий компонент биоценоза на двух птицефермах и его роль в сохранении и распространении птичьего туберкулеза. Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 713-724, 1972.

В течение двух лет изучали количественный и качественный состав птичьего компонента биоценоза на двух птицефермах, где отмечено большое распространение птичьего туберкулеза. У тех видов птиц, где результаты патолого-анатомического и культивационного исследования на болезнь были положительными, подробно изучались те стороны их биологии, которые важны для обнаружения или распространения возбудителя, так как болезнь переносная, т. е. характера очагов. Анализ касался также тех видов, способ жизни которых схож с предшествующим, с чем следует считаться. Большое значение имеет и степень тесного контакта со средой, зараженной возбудителем птичьего туберкулеза, частота и продолжительность. Отрицательно действует измененная или незначительная восприимчивость некоторых видов к инфекции (горлица — *Streptopelia decaocto*, грач *Corvus frugilegus*). Заражению могут быть случайно подвержены и типично экзотропные виды, например, пеночка (*Phylloscopus collybita*) или славка (*Sylvia borin*), но ввиду способа жизни подавляющего большинства популяции их следует обозначить в этом направлении незначимыми.

птица домашняя; птичий туберкулез; живущие на воле птицы; резервуар; переносчики

BALÁT F. (Institute of Vertebrate Zoology, Czechoslovak Academy of Sciences, Brno, Czechoslovakia). The Avian Component of the Biocenosis of Two Poultry Farms and its Role in Maintaining and Spreading Avian Tuberculosis. Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 713-724, 1972.

The qualitative and quantitative composition of the avian component of the biocenosis on two poultry farms showing high occurrence rate of avian tuberculosis was studied in the course of two years. Attention was focused on the species in which the results of the pathological and anatomic examination as well as the results of the cultivation examination for this disease were positive. Detailed analyses were performed in these species to examine the aspects of their bionomy pertinent to obtaining or spreading the causative agent of this disease which is of communicable (i. e. focal) nature. The analysis was performed also in the species the life processes of which were the same as those of the species mentioned above (from this point of view, these latter species had to be treated as of the same importance). Much depends on the degree of the close contact with the environment infested with the causative agent of avian tuberculosis (the frequency and duration of the contact). Negative influence is exerted by

decreased or low susceptibility of some species to the infection (*Streptopelia decaocto*, *Corvus frugilegus*). The purely exanthropic species, for instance *Phylloscopus collybita* or *Sylvia borin*, may be also exposed to occasional infection, yet they can be considered as unimportant in this respect due to the mode of life of the largest part of their population.

domestic fowl; avian tuberculosis; wild birds; reservoir; vectors

BALÁT F. (Institut für Wirbeltierforschung der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Brno, Tschechoslowakei). *Die Vogelkomponente der Biozönose in zwei Geflügelhöfen und ihre Rolle bei der Erhaltung und Verbreitung von Geflügeltuberkulose*. Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 713-724, 1972.

Im Laufe von zwei Jahren wurde die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Vogelkomponente von Biozönose in zwei Geflügelhöfen mit bedeutendem Anfall von Geflügeltuberkulose untersucht. Bei den Vogelarten, bei denen die Ergebnisse der pathologisch-anatomischen und Kultivationsuntersuchung auf diese Erkrankung positiv gewesen waren, wurden ausführlich die Seiten derer Bionomie erforscht, die eine Wichtigkeit für Gewinnung oder Verbreitung des Erregers dieser Erkrankung von Belang sind; diese Erkrankung ist übertragbar, d. h. sie hat einen Herdcharakter. Die Analyse wurde auch bei den Arten vorgenommen, deren Lebensweise übereinstimmend mit den erstgenannten Arten ist, sodaß mit ihnen in dieser Hinsicht zu rechnen ist. Eine wichtige Rolle spielt der Grad, die Häufigkeit und die Dauer des Kontaktes mit der vom Erreger der Geflügeltuberkulose verseuchten Umwelt. Negativ wirkt sich die verminderte oder geringe Empfindlichkeit einiger Arten gegen Infektion (Turteltaube, *Streptopelia decaocto*, Saatkrähe, *Corvus frugilegus*) aus. Zufällig können sich auch die ausgesprochen exanthropischen Arten infizieren z. B. Weidenlaubsänger (*Phylloscopus collybita*) oder Gartengrasmücke (*Sylvia borin*), aber mit Hinblick auf die Lebensweise der überwiegenden Populationsmehrheit sind sie in dieser Hinsicht als unbedeutend zu bezeichnen.

Haushuhn; Geflügeltuberkulose; freilebende Vögel; Reservoir; Überträger

Adresa autora:

RNDr. František Balát, CSc., Ústav pro výzkum obratlovců ČSAV, Brno, Květná 8

ŠTÚDIUM INFEKCIE PRIMÁRNYCH TELACÍCH OBLIČKOVÝCH BUNIEK VÍRUSOM INFEKČNEJ BOVINNEJ RHINOTRACHEITÍDY (IBR) POMOCOU IMUNOFLUORESCENCIE

A. Žuffa, R. Chumchal

Výskumné stredisko, Bioveta, Nitra

ZUFFA A., CHUMCHAL R. *Štúdium infekcie primárnych telacích obličkových buniek vírusom infekčnej bovinnej rhinotracheitídy ((IBR) pomocou imuno fluorescencie.* Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 725-736, 1972.

Študoval sa priebeh infekcie kultúry buniek telacích obličiek, infikovaných vírusom infekčnej bovinnej rhinotracheitídy (IBR), vizualizáciou vírusových antigénov pomocou imuno fluorescencie. Pri infekcii kultúr odstupňovanými dávkami vírusu sa dokázal nepriamy vzťah medzi veľkosťou inokula a časovým nástupom špecifickej fluorescencie. Infekcia hraničnými dávkami vírusu sa dokazovala pomocou imuno fluorescencie po 48 hod. inkubácie kultúr, kým pomocou konvenčnej skúmavkovej metódy za 5–7 dní. Riedené inokulum vyvolalo tvorbu izolovaných fluoreskujúcich plakov, ktorých veľkosť narastala s predĺžovaním inkubácie. Rozpad buniek, spojený s uvoľňovaním vírusu do kultivačného média, viedol najprv k tvorbe sekundárnych plakov, neskôr ku generalizovanej infekcii bunkovej kultúry. Časový nástup rozsevu vírusu bol závislý od multiplicity infekcie a kvality bunkovej kultúry, čo nedovoľuje vymedziť časové obdobie, v ktorom sa dokazujú len primárne infekčné ložiská. Protilátky prítomné v kultivačnom médiu zabráni rozsevu neutralizáciou vírusu, uvoľňovaného extracelulárne, neinhibujú však priebeh primárnej infekcie a v ďalšom intercelulárny prenos vírusu. Potvrďuje sa tým, že tvorba plakov pri víruse IBR je výsledkom intercelulárneho šírenia vírusu.

vírus infekčnej bovinnej rhinotracheitídy; primárne telacie obličkové bunky; metóda fluoreskujúcich protilátok; tvorba fluoreskujúcich plakov; extra- a intracelulárny prenos vírusu; šírenie sa infekcie

Pri štúdiu vnímavosti bunkových kultúr telacích obličiek (PTOB) a semeníkov (TSEB) a buniek stabilnej línie telacích obličiek TL-72 na infekciu vírusom infekčnej bovinnej rhinotracheitídy (IBR) pomocou imuno fluorescencie sme zistili, že kultúry PTOB sú pre detekciu antigénov vírusu IBR vhodnejšie ako ďalšie dva druhy použitého tkaniva (Ruislová a kol. 1970). Fluorescenčné nálezy na kultúrach PTOB, infikovaných vírusom IBR, sú v inštalnom štádiu charakterizované jemnou granulárnou fluorescenciou v perinukleárnej oblasti s následnou akumuláciou splyvajúcej cytoplazmatickej fluorescencie (Gratzek a kol. 1966, Bergmann a Hahnefeld 1967, Žuffa a kol. 1970b), a v pokročilom štádiu intenzívnou splyvajúcou fluorescenciou v celom rozsahu zaguľatených buniek (Gratzek a kol. 1966, Žuffa a kol. 1970b). Na kultúrach infikovaných riedeným inokulum sa vizualizáciou vírusových antigénov pomocou imuno fluorescencie dajú identifikovať primárne infikované bunky za 16–20 hod. (Ruislová a kol. 1970). Šírenie infekcie kontaktom vedie k vzniku ložísk fluoreskujúcich buniek s následným rozsevom infekcie cestou kultivačného média a tým ku generalizovanej infekcii bunkovej kultúry. Zisťovanie rozsahu infekcie fluorescenčnou technikou umožňuje sledovať vznik a priebeh infekcie v bunkovej kultúre a pri cieľenom usporiadaní experimentálnych podmienok študovať mikroepidemiológiu vírusu v rámci jednovrstvej kultúry buniek.

Identifikovanie ložísk infikovaných buniek pomocou imuno fluorescencie poskytuje možnosť použiť fluorescenčnú techniku aj pre kvantitatívne stanovenia obsahu

živého vírusu vo vyšetrovanom materiáli. Prítomnosť špecifických protilátok v médiu zabráni šíreniu infekcie kultivačným mediom, čím sa značne predlžuje časové obdobie, v ktorom sa zisťuje len primárna infekcia. Štúdie zaoberajúce sa významom protilátok v médiu, v ktorom sa inkubujú kultúry infikované niektorými cytopatickými (Black a Melnick 1955, Žuffa a kol. 1970a), aj necytopatickými (Mengeling 1968) vírusmi, poukazujú na rozdielny účinok protilátok na priebeh infekcie pri rozličných vírusoch. Pri víruse IBR dokázali Hahnefeld a kol. (1965), že ani vysoký obsah protilátok v agarovej vrstve neovplyvnil počet ani veľkosť plakov na miskových kultúrach.

Fluorescenčná technika sa doposiaľ opakovane použila pre detekciu vírusu IBR (Gratzek a kol. 1966, Bergmann a Hahnefeld 1967, Žuffa a kol. 1970 a iní), nie však pre sledovanie priebehu infekcie v bunkovej kultúre s osobitným zreteľom na kvantitatívne stanovenia obsahu infekčných jednotiek vo vírusových preparátoch. Účelom predmetnej práce bolo študovať účinok protilátok na priebeh infekcie v jednovrstvej kultúre buniek, a tým mikroepidemiológiu vírusu, s perspektívou využiť fluorescenčnú techniku ako mikroplakovú metódu pre titráciu vírusu IBR.

MATERIÁL A METÓDY

VÍRUS

Pracovali sme s kmeňom IBR-IPV, ktorý nám v 5. pasáži na kultúrach PTOB láskavo poskytol prof. J. A. Gillespie z New Yorku State Veterinary College, Ithaca, N. Y. V našom laboratóriu prekonal ďalších 7 pasáží na kultúrach PTOB a 27 pasáží na bunkách stabilnej línie telacích obličiek TL-72.

IMÚNNE SÉRA

Pre prípravu konjugovaného imunoglobulínu a ako zdroj protilátok pre udrzovacie médium sme použili imúnne hovädzie sérum s titrom neutralizačných protilátok 512. Získali sme ho od dvoch mladých býčkov, ktorých sme po prvej *i. m.* inokulácii vírusu v množstve $2 \times 10^{7.5}$ TKID₅₀ hyperimunizovali súčasným *i. m.* a *i. v.* podávaním neriedeného vírusu v stúpajúcich množstvách od 10 do 50 ml vždy v sedemdňovom intervale; odber krvi sme robili za 10 dní po poslednej hyperimunizácii.

BUNKOVÉ KULTÚRY

Kultúry PTOB sme pripravovali trypsinizáciou telacích obličiek odobratých od zdravých jatočných teliat. Zakladali sme ich do Rouxových fliaš do média, ktoré predstavovalo Hanksov roztok s 0,3 % hydrolyzátu laktalbumínu, 10 % inaktivovaného telacieho séra s antibiotikami. Po vytvorení súvislej vrstvy sme bunky, uvoľnené pomocou verzénu a trypsinu, nakladali do skúmaviek s vloženými krycimi sklíčkami rozmerov 8×20 mm aj bez sklíčok. Po dvoj- až trojdňovej inkubácii boli kultúry pripravené na infekciu. Obsahovali 100 000 buniek na sklíčko. Médium, ktorým sa kultúry zalievali po infekcii, predstavovalo Earleov roztok s 0,3 % hydrolyzátu laktalbumínu a 2 % inaktivovaného konského séra.

TITRÁCIA VÍRUSU

Pri stanovení obsahu vírusu skúmavkovou metódou sa vypočítalo TKID₅₀ podľa vzorca Reeda a Muencha (1938) z titrácií, používajúc pritom najmenej štyri skúmavky PTOB na jedno riedenie, očkované log₁₀ riedeniami vírusu v dávke 0,1 ml.

INFEKCIA BUNKOVÝCH KULTÚR

Kultúry, narastené na sklíčkach štandardných rozmerov, sme opláklí v Earleovom roztoku s 0,3% LAH-u, premiestnili do vlhkej komôrky a infikovali patrične riedeným inokulom v 0,01 M TRIS-ovom pufri o pH 7,2 v množstve po 0,1 ml, použijúc najmenej štyri sklíčka na jedno riedenie. Po adsorpcii, ktorá prebiehala pri 37 °C, sme kultúry opäť opláklí, preniesli do nových skúmaviek obsahujúcich 1,5 ml udržovacieho media s rozličnými množstvami imúneho hovädzieho séra (IHS) alebo bez séra a inkubovali pri 37 °C. Za rozličný čas po infekcii, ako je uvedené pri opise jednotlivých pokusov, sme kultúry farbili konjugovaným globulínom a vyšetrovali mikroskopicky. Počet infikovaných sklíčok, prítomnosť a koncentrácia imúneho séra v médiu po infekcii kultúr, trvanie inkubácie pred fixáciou a farbením kultúr sa opisujú pri jednotlivých pokusoch.

IMUNOFLUORESCENCIA

Pracovali sme len priamou metódou. Prípravu protilátok, fixovanie a farbenie kultúr sme robili rovnako, ako sme opísali v predchádzajúcom oznámení (Ruislová a kol. 1970). Špecifita imuno fluorescencie sa overila týmito kontrolami: inhibičným testom (two step), opracovaním neinfikovaných kultúr konjugátom a pôsobením heterológneho konjugátu na infikované bunky.

Farbené kultúry sme vyšetrovali pomocou mikroskopu „ZETOPAN“ fy Reichert (filtre BG a OG 1, objektív Plan 10/20, okulár Plan 5X). Zdroj žiarenia predstavovala lampa HBO-200. Počítanie fluoreskujúcich plakov sa robilo vyšetrením celej sklíčkovej kultúry, posunujúc sklíčko rovnobežne s pozdĺžnou osou a kontrolujúc šírku prehliadnutého zorného poľa vždy na kratšej strane sklíčka. Fotografovanie fluoreskujúcich plakov sme robili na film ORWO 27 Din, s expozíčnym časom 8 min.

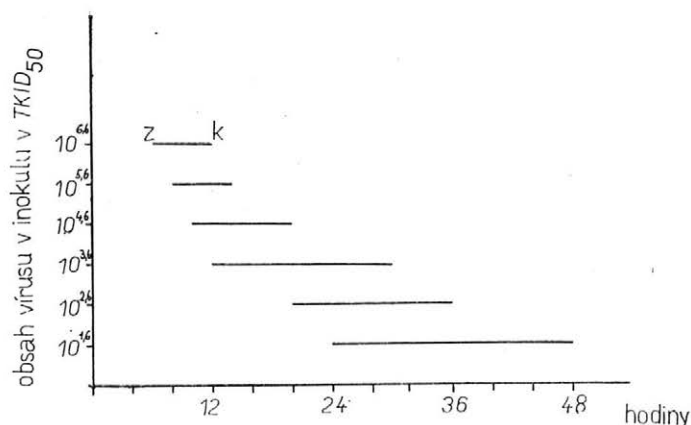
VÝSLEDKY

1. DETEKCIA VÍRUSU V ZÁVISLOSTI OD VEĽKOSTI INOKULA

Sklíčkové kultúry PTOB, infikované dávkami $10^{1.6}$ až $10^{6.6}$ TKID₅₀ vírusu, vždy s rozdielom jednej jednotky log₁₀, boli fixované a farebné za rozličný čas inkubácie. Zistilo sa, že prvé objavenie sa špecifickej fluorescencie je v nepriamej závislosti od dávky vírusu použitého k infekcii (obr. 1). Pri infekcii kultúr dávkou $10^{6.6}$ TKID₅₀ sa už za 6 hod. p. i. dokazovala v ojedinelých bunkách jemná fluorescencia na vonkajšej strane nukleárnej membrány, kým kultúry infikované menšími dávkami vírusu boli negatívne. Za 8 hod. p. i. vykazovala v kultúrach infikovaných dávkou $10^{6.6}$ TKID₅₀ väčšina buniek a v kultúrach infikovaných $10^{5.6}$ TKID₅₀ vírusu ložiská buniek cytoplazmatickú fluorescenciu, charakteristickú pre iníciaľne štádium infekcie. Kultúry infikované $10^{3.6}$ TKID₅₀ a nižšími dávkami vírusu vykazovali jednotlivé fluoreskujúce bunky alebo skupiny buniek, pričom v kultúrach infikovaných hraničnou dávkou vírusu sa prvá fluorescencia vo forme celkom ojedinelých ložísk dokázala až za 24 hod., potom došlo k rozsevu a generalizácii infekcie v celej bunkovej kultúre. Pri opakovaných pokusoch s rovnakým zameraním sa zistilo, že prvé objavenie sa špecifickej fluorescencie môže do značnej miery ovplyvniť kvalita bunkovej kultúry, pričom časový nástup fluorescencie je vždy v nepriamej závislosti od veľkosti inokula.

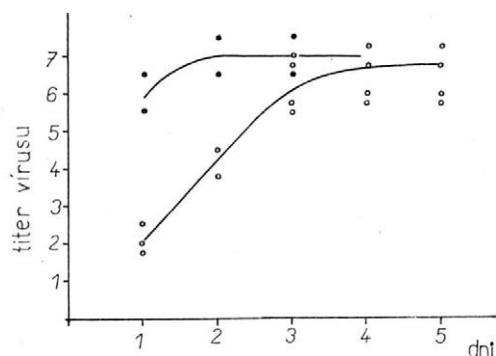
Fluorescenčné nálezy v primárne infikovaných bunkách boli bez ohľadu na veľkosť inokula rovnaké, ako sme ich opísali v predchádzajúcich oznámeniach

1. Detekcia vírusu IBR
na sklíčkových kultúrach
PTOB v závislosti od
veľkosti inokula



z začiatok infekcie
k generalizovaná infekcia

(R u i s l o v á a kol. 1970, Ž u f f a a kol. 1970b). Vírusom uvoľňovaným z primárne infikovaných buniek sa infikovali kontaktom prilahlé bunky, ktoré podľa štádia infekcie vykazovali rozdielne fluorescenčné nálezy: perinukleárnu fluorescenciu v čerstvo infikovaných bunkách (obr. 2a), splývajúcu cytoplazmatickú fluorescenciu v pokročilom štádiu infekcie morfológicky nezmenených buniek (obr. 2b, c) a intenzívne žiarenie v celom rozsahu zaguľatených primárne infikovaných buniek (obr. 2d). Tak vznikali ložiská infikovaných buniek, fluoreskujúce plaky. V závislosti od veľkosti inokula došlo za 20 až 36 hod. k rozsevu infekcie a tvorbe sekundárnych plakov.

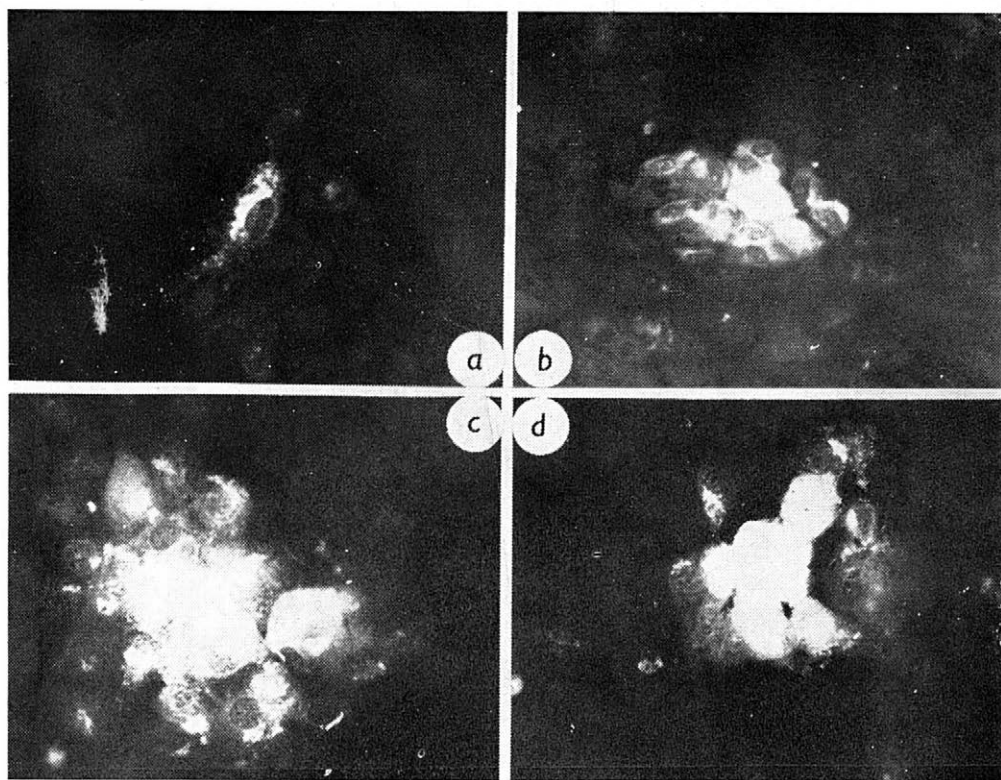


• FT
• CPE

3. Dôkaz infekcie kultúr PTOB vírusom IBR pomocou imunofluorescencie (FT) a podľa cytopatického účinku (CPE)

2. STANOVENIE NÁSTUPU ŠPECIFICKEJ FLUORESCENCIE NA SKLÍČKOVÝCH V POROVNANÍ S NÁSTUPOM CPE NA SKÚMAVKOVÝCH KULTÚRACH

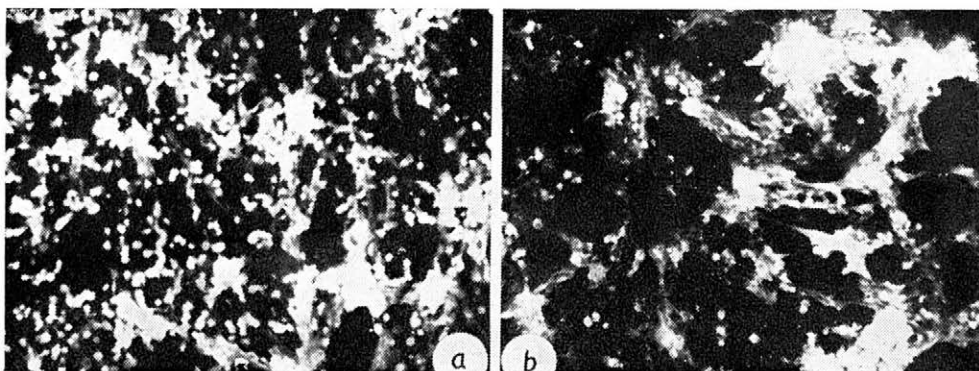
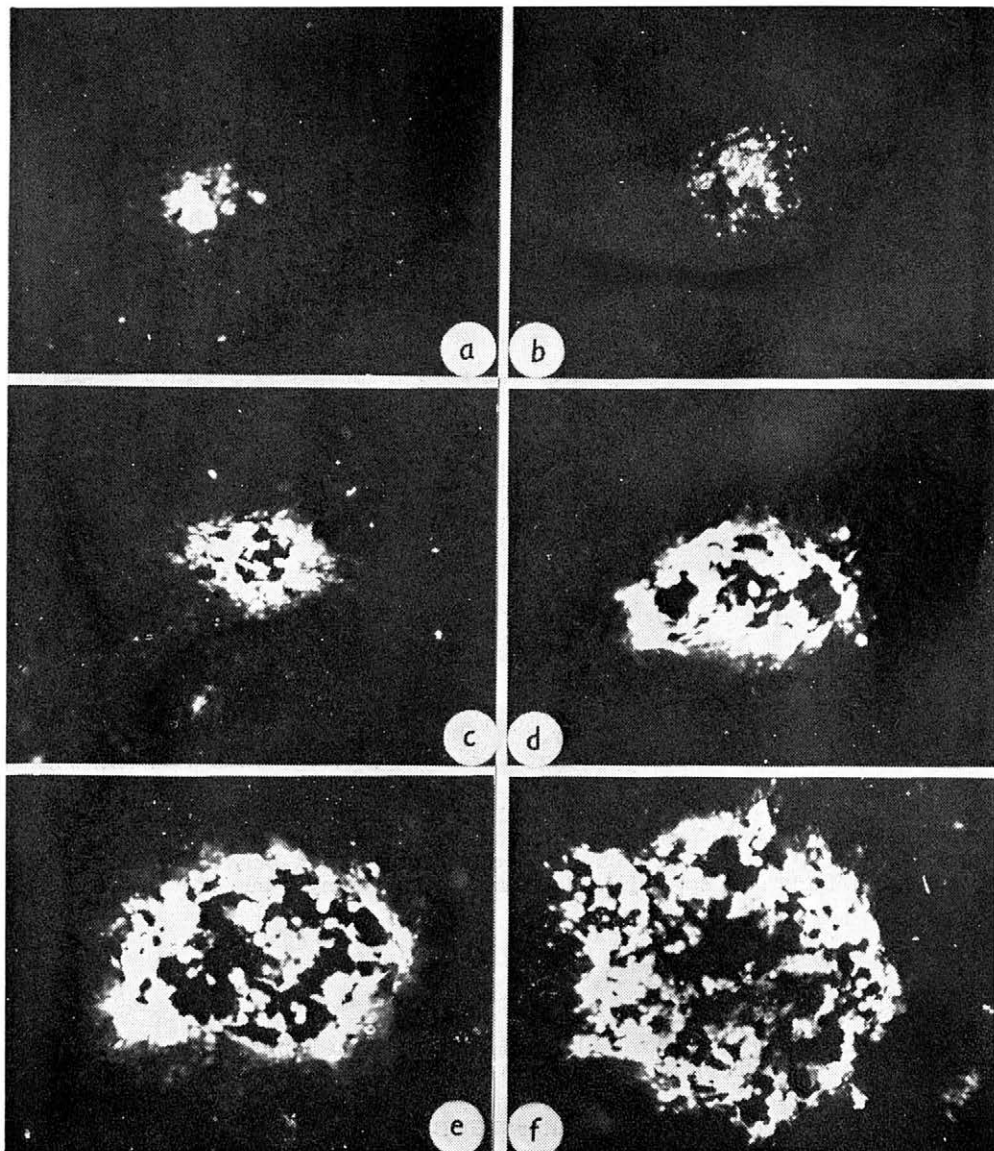
Pre porovnanie časového vývoja infekčných ložísk identifikovaných pomocou imunofluorescencie a cytopatických zmien sme infikovali dostatočný počet sklíčkových, resp. skúmavkových kultúr PTOB log₁₀ riedeniami vírusu a pritom-



2. Imunofluorescentné nálezy na kultúrach PTOB infikovaných vírusom IBR: a. cytoplazmatická fluorescencia primárne infikovaných buniek; b, c. fluorescencia v celom rozsahu primárne infikovaných buniek a cytoplazmatická v bunkách infikovaných kontaktom; d. intenzívna splývajúca fluorescencia zaguľatených buniek

4. Tvorba fluoreskujúcich plakov na kultúrach zaliatych médiom s obsahom protilátok za 16 hod. (a), 24 hod. (b, c), 36 hod. (d), resp. 48 hod. (e) p. i.

5. Rozsev a generalizovaná infekcia kultúr PTOB za 24 hod. (a) a 48 hod. (b) p. i. vírusom IBR



nosť infekcie pomocou imunofluorescencie, resp. podľa CPE sme zisťovali v 24hodinových intervaloch. Detekcia vírusu IBR na kultúrach PTOB pomocou imunofluorescencie, resp. CPE je znázornená na obr. 3. Titer vírusu možno pri použití fluorescenčnej techniky odčítať za 48 hod., kým podľa CPE za 5 dní.

3. ÚČINOK PROTILÁTK NA TVORBU PRIMÁRNYCH A SEKUNDÁRNYCH FLUORESKUJÚCICH LOŽÍSK

Po zistení, že pri farbení kultúr po 22hodinovej inkubácii sa popri primárnych ložísk dokazujú aj sekundárne fluoreskujúce ložiská, chceli sme určiť, za aký čas po infekcii treba prerušiť inkubáciu a kultúry fixovať, aby sa dokázal maximálny počet primárnych plakov a aby ich identifikovanie nebolo brzdené sekundárnou infekciou, resp. do akej miery ovplyvňuje prítomnosť protilátok v médiu počet primárnych fluoreskujúcich ložísk.

V opakovaných pokusoch sme sklíčkové kultúry, infikované definovanými dávkami vírusu (od 10–150 PFU), zaliat médium bez IHS a s obsahom 5 % IHS (neutralizačný index média, stanovený na skúmavkových kultúrach PTOB, predstavoval 10^3), farbili v rozličných časových intervaloch. V závislosti od veľkosti inokula sa prvé fluoreskujúce bunky alebo skupiny buniek dokazovali za 16 hod. od infekcie a neskôršie. V kultúrach zaliatých médium s imúnnym sérom

I. Účinok protilátok na tvorbu primárnych a sekundárnych fluoreskujúcich ložísiiek

Kultúry farbené za hodín <i>p. i.</i>	Pokus 1.		Pokus 2.		Pokus 3.	
	NSe*	ISe**	NSe	ISe	NSe	ISe
16	51,0***	51,2	26,6	23,5	32	35,0
18	57,4	59,0	32,0	38,8	41	45,0
20	93,7	90,5	35,0	33,6	46	50,5
22	100,5	93,7	45,5	51,8	rozpad mono- layera	66,7
24	rozsev infekcie	120,3	tvorba sekun- dárnych plakov	53,8	rozpad	99,4
28	—	119,3	rozsev infekcie	59,0	—	33,4
36	—	nepočí- tateľné pre sply- vanie plakov	—	58,0	—	žiari celý mono- layer
48	—	—	—	54,0	—	—

* — Kultúry zaliat médium bez protilátok

** — Kultúry zaliat médium s 5 % IHS

*** — Priemerné počty plakov zistené na 4 sklíčkových kultúrach PTOB

zabránili protilátky sprostredkovanie infekcie cestou tekutého média, čím sa šírenie vírusu obmedzilo na prenos z bunky na bunku. Tým vznikali ostro ohraničené ložiská intenzívne fluoreskujúcich buniek — fluoreskujúce plaký — ktorých veľkosť narastala s predlžovaním inkubácie (obr. 4a, b). Rozpadom zaguľatených primárne infikovaných buniek sa vytváral v plakoch prázdny stred, ohraničený lemom zaguľatených, intenzívne fluoreskujúcich buniek (obr. 4c-f). S predlžovaním inkubácie došlo k narastaniu, vzájomnému splývaniu plakov a tým k rozrušeniu celej bunkovej kultúry. V kultúrach zaliatých médium bez protilátok došlo za 22—36 hod., v závislosti od veľkosti inokula, k rozsevu a generalizovanej infekcii monolayera buniek (obr. 5a, b).

Prítomnosť protilátok v kultivačnom médiu neovplyvnila časový nástup fluorescencie, narastanie a morfológiu fluoreskujúcich plakov až do obdobia, v ktorom v kultúrach v médiu bez protilátok došlo k rozsevu infekcie. Výsledky troch z viacerých uskutočnených pokusov sú uvedené v tab. I. K rozsevu infekcie a tvorbe sekundárnych plakov dochádza po 22hodinovej a dlhšej inkubácii infikovaných kultúr.

Pri ďalšom štúdiu účinku protilátok na objavenie sa, narastanie a celkový počet infekčných fluoreskujúcich ložísk sme skľíčkové kultúry PTOB infikovali hraničnými dávkami vírusu (2—20 PFU) a kultúry zaliat médium bez IHS, a s 5 % IHS fixovali a farbili v rozličných časových intervaloch. Prvé fluoreskujúce ložiská sa zisťovali za 20—28 hod. od infekcie a ich počet a veľkosť narastali časovo rovnako bez ohľadu na to, či boli kultúry zaliat médium bez protilátok alebo s nimi; v kultúrach v médiu s protilátkami došlo za 48 hod. od infekcie k zdvojnásobeniu počtu plakov, kým v kultúrach bez protilátok k rozsevu infekcie a fluorescencii takmer všetkých buniek (tab. II).

Rovnaké výsledky sa zistili aj v ďalších pokusoch, v ktorých skľíčkové kultúry infikované stanoveným počtom infekčných jednotiek a zaliat médium bez IHS, resp. s 5 % IHS, boli fixované a farbené za 22, resp. 28 hod. *p. i.* (tab. III).

II. Účinok predĺženej inkubácie kultúr PTOB infikovaných hraničnými dávkami vírusu na vývoj primárnych fluoreskujúcich plakov v médiu bez a s obsahom protilátok

Kultúry farbené za hod. <i>p. i.</i>	Pokus 1.		Pokus 2.		Pokus 3.	
	NSe	ISe	NSe	ISe	NSe	ISe
16	—	—	—	—	—	—
18	—	—	—	—	—	—
20	—	—	2	0,5	1,5	0,5
22	—	—	2	3,0	0,0	2,0
24	—	—	5	8,5	1,5	4,0
26	—	—	N	N	N	N
28	5	3	N	N	N	N
30	10	7	8	11,0	7,5	9
34	37	16	N	N	N	N
40	40	35	N	N	N	20,5
48	39	32	N	38,0	N	24,0

N = nerobené

III. Počty fluoreskujúcich plakov na kultúrach PTOB zaliatých mediom bez protilátok a s obsahom protilátok

Pokus	Priemerný počet plakov na kultúrach zaliatých mediom	
	bez protilátok	s protilátkami
1	123,0	109,4
2	111,0	101,3
3	88,2	79,8
4	56,0	49,6
5	51,2	51,0
6	40,0	37,8
7	25,5	25,1
8	23,6	30,0
Spolu	518,5	484,0

IV. Pribeh infekcie kultúr PTOB vírusom IBR zaliatých mediom bez a s obsahom protilátok

Pokus číslo	Kultúry zaliate p. i. mediom	Riedenie vírusu	Farbené za dní p. i.			
			1	2	3	4
1	s protilátkami	10^{-4}	57,6	58,6	rozsev infekcie	N
		10^{-5}	6,6	13,3	14,0	N
		10^{-6}	0	1,2	1,5	1,1
		10^{-7}	0	0	0	0
	bez protilátok	10^{-4}	62,3	rozsev infekcie	—	—
		10^{-5}	7,0	rozsev infekcie	—	—
		10^{-6}	0	1,7	rozsev infekcie	—
		10^{-7}	0	0	0	0
2	s protilátkami	10^{-4}	N	N	N	N
		10^{-5}	4,6	5,0	6,6	10,3
		10^{-6}	0	0,6	1,6	1,0
		10^{-7}	0	0	0	0
	bez protilátok	10^{-4}	N	N	N	N
		10^{-5}	5,0	rozsev infekcie	—	—
		10^{-6}	0	1,6	rozsev infekcie	—
		10^{-7}	0	0	0	0

V nasledovných pokusoch sme skličkové kultúry infikovali $\log_{10}$ riedeniami vírusu IBR, po 10 kultúr na jedno riedenie, a polovicu z nich zalievali médiom s obsahom protilátok, druhú polovinu mediom bez protilátok. Kultúry inkubované pri 37 °C sa fixovali a farbili v 24hodinových intervaloch počas 5 dní. Ako vidieť z výsledkov zhrnutých v tab. IV, nebolo rozdielu v počte fluoreskujúcich ložísk za 24 hod. *p. i.* v obidvoch skupinách. V kultúrach inkubovaných v médiu bez protilátok došlo za 48 hod. k rozsevu infekcie, kým v kultúrach s protilátkami sa zaznamenal vzostup počtu plakov v kultúrach infikovaných riedeniami 10^{-5} a objavenie sa fluoreskujúcich ložísk v kultúrach infikovaných riedeniami 10^{-6} . Z uvedených výsledkov je zrejmé, že pri infekcii tkanivovej kultúry hraničnými dávkami vírusu sa primárne infikované ložiská — fluoreskujúce plaky — dokazujú až po 48hodinovej inkubácii kultúr.

4. ÚČINOK ROZLIČNÉHO OBSAHU PROTILÁTKOV NA POČET A VEĽKOSŤ PLAKOV

V ďalších pokusoch sme zisťovali, či rozličný obsah protilátok v médiu ovplyvňuje tvorbu, počet a veľkosť fluoreskujúcich plakov. Za týmto účelom sme pripravili média s rozličným obsahom IHS (20 % a menej), ktorými sme zalievali kultúry infikované dávkami okolo 20 a 50 PFU vírusu. Kultúry s médiom bez imúnneho séra sme vyšetrovali za 22 hod., ostatné za 28 hod. *p. i.* Nezaznamenal sa významný rozdiel v počte plakov na kultúrach v médiu bez séra a s obsahom 1,25 % až 20 % IHS, ani rozdiely vo veľkosti plakov v médiách s rozličným obsahom protilátok (tab. V). Na kultúrach, ktoré obsahovali 5 % IHS a viac boli vonkajšie okraje plakov ostrejšie ohraničené ako na kultúrach s nižším obsahom imúnneho séra.

V. Účinok rozličného obsahu protilátok v UM na počet fluoreskujúcich plakov

Obsah imúnneho séra v UM v 96	Priemerný počet plakov na štyroch skličkových kultúrach					Priemerný počet celkom
0,00	19,0	N	35,0	42,7	N	31,90
1,25	20,6	23,5	40,5	51,3	56,0	38,38
2,50	20,0	20,2	41,6	43,4	40,0	33,04
5,00	20,0	23,0	39,3	46,0	50,4	35,74
10,00	19,2	20,6	40,0	42,5	55,5	35,52
20,00	22,6	32,0	39,2	45,0	44,2	36,60

DISKUSIA

Použitie techniky FP pri sledovaní infekcie bunkovej kultúry vírusom IBR malo doposiaľ za cieľ určiť charakter a lokalizáciu vírusových antigénov v bunkách v rozličnom štádiu infekcie (Gratzek a kol. 1966, Bergmann a Hahnfeld 1967, Schipper a Chow 1968, Žuffa a kol. 1970 a iní), ale málo sa urobilo pre zistenie rýchlosti detekcie a citlivosti metódy pre dôkaz malých množstiev vírusu. Pri štúdiu citlivosti kultur PTOB, PTSEB a buniek stabilnej línie TL-72 na infekciu vírusom IBR pomocou FT (Ruislová a kol. 1970) sa zistilo, že použitie riedeného inokula vyvolá za 16—24 hod. tvorbu izolovaných infekčných ložísk aj pri zaliati kultúr tekutým médiom bez protilátok; predĺženie inkubácie viedlo k rozsevu vírusu a generalizovanej infekcii bunkovej kultúry. V týchto pokusoch sa mestanovili pracovné

podmienky, dodržiavaním ktorých sa zistí maximálny počet primárnych infekčných ložísk, ktorých identifikovanie nie je inhibované rozsevom infekcie a tvorbou sekundárnych plakov. V opísaných pokusoch bol časový nástup špecifickej fluorescence v nepriamej závislosti na veľkosti inokula. Pri použití veľkého inokula sa už po 8 hod. inkubácie zisťovalo vo všetkých bunkách špecifická fluorescence, charakteristická pre počiatočné štádium infekcie vírusom IBR, kým použitie riedeného inokula vyvolalo tvorbu fluoreskujúcich ložísk zahrňujúcich 1–20 i viac buniek za 16–24 hod. Ukazuje sa, že množstvo vírusu v inokulu je faktorom určujúcim včasnosť jeho detekcie FT pri viacerých vírusoch (Cairns 1960, Carter 1965, Zuffa a kol. 1970a) tým, že vyššia koncentrácia vírusu pri infekcii vedie k jeho skoršej replikácii. Tento jav je, bez ohľadu na jeho mechanizmus, dôležitý preto, lebo koncentrácia vírusu v inokulu je limitujúcim faktorom jeho detekcie.

Pri simultánnej infekcii skľíkových a skúmavkových kultúr rovnakými infekčnými dávkami vírusu sa zistilo, že pomocou imunofluorescencie sa dajú už za 24 hod. dokázať také malé množstvá vírusu, ktoré na skúmavkových kultúrach vyvolávajú mikroskopicky zistiteľné cytopatické zmeny až na 3.–4. deň. Infekcia hraničnými dávkami vírusu sa pomocou FT detekuje za 48 hod., kým podľa CPE na 5.–7. deň, pričom titre vírusu, zistené obidvoma metódami, boli rovnaké. Včasná detekcia infikovaných buniek vizualizáciou vírusových antigénov pomocou imunofluorescencie môže najšť preto uplatnenie v prípadoch potreby rýchleho dôkazu vírusu IBR vo vyšetrovanom materiáli.

Dôležitým kritériom pre šírenie vírusu v bunkovej kultúre je priebeh infekcie za prítomnosti homológných protilátok. Za hlavný sa považuje prenos vírusovej infekcie cez kultivačné médium, keďže najväčšia časť monovrstvy buniek sa infikuje vírusom uvoľneným z buniek, kým intercelulárny spôsob šírenia je vedľajší. Presnejšie definovanie spôsobu šírenia jednotlivých vírusov v bunkovej kultúre poskytuje stanovenie časových intervalov medzi zahájením intercelulárneho prenosu infekcie a produkciou voľného vírusu. Čím skôr nasleduje extracelulárny prenos za intercelulárnym, tým výraznejší je inhibičný účinok protilátok na šírenie infekcie v bunkovej kultúre. Pre štúdium spôsobu šírenia vírusovej infekcie v monovrstve buniek poskytuje FT v porovnaní s identifikovaním infekčných ložísk až po degenerácii infikovaných buniek pomocou svetelného mikroskopu (Black a Melnick 1955, Wheeler a kol. 1968) prednosti v tom, že umožňuje odhadiť primárne infikované bunky vo včasnom štádiu a sledovať ďalší priebeh infekcie na úrovni bunky a tkaninovej kultúry. Fluorescenčné nálezy na kultúrach infikovaných definovanými dávkami vírusu, zaliatych médiom bez IHS a s 5% imunného séra ukázali, že špecifické protilátky neovplyvnili vznik a ďalší vývoj primárnej infekcie. Po objavení sa špecifickej perinukleárnej fluorescence v jednotlivých primárne infikovaných bunkách následovalo hromadenie vírusových antigénov v cytoplazme a viedlo ešte u morfológicky nezmenených buniek ku kontaktnej infekcii priľahlých buniek. Pokračujúca akumulácia špecifickej cytoplazmatickej fluorescence aj po infekcii priľahlých buniek svedčí o pretrvávajúcej produkcii vírusu; so zreteľom na povahu konjugovanej protilátky možno považovať antigény vizualizované FT za zrelé vírusové častice (Bergmann a Hahnfeldt 1967, Gratzek a kol. 1966, Zuffa a kol. 1970). Z uvedeného možno usudzovať, že vírus IBR sa šíri z bunky na bunku predtým, ako dosiahne maximálnu koncentráciu v primárne infikovaných bunkách. Intercelulárny spôsob prenosu vírusu trval dlhšie časové obdobie, nakoľko sa zisťovali fluoreskujúce ložiská s počtom 30 až 50 aj viac buniek na kultúrach v médiu bez protilátok, pričom počet primárnych fluoreskujúcich plakov bol na kultúrach s protilátkami aj bez protilátok rovnaký. Z uvedeného, ako aj zo skutočnosti, že rozličný obsah protilátok v médiu neovplyvnil počet ani veľkosť plakov vyplýva, že tvorba a narastanie počtu plakov spočíva pri vírusu IBR na intercelulárnom spôsobe šírenia, ktoré prebieha nerušené aj za prítomnosti špecifických protilátok. Tieto nálezy sú v plnom súlade s výsledkami rozsiahlych pokusov Hahnfeldta a kol. (1965), ako aj Stevensa a Gromana (1963), ktorí pracovali konvenčnou plakovou technikou.

Dôkaz fluorescence v bunkách priľahlých k primárne infikovaným pri zachovaní neporušeného monolayera a nezmenenej morfológii buniek poukazujú na to, že uvoľňovanie novotvoreného vírusu z hostiteľskej bunky prebieha najprv bez výrazného poškodenia bunecnej membrány. Dôležité pre nehatený intercelulárny prenos vírusu a tvorbu fluoreskujúcich plakov charakteristickej morfológie bolo tesné spojenie medzi jednotlivými bunkami monolayera. Elektronoptické štúdie Hahnfeldta a kol. (1965) poukazujú na to, že medzi priľahlými bunkami dochádza k výmene zreľých vírusových častíc.

Rozpad primárne infikovaných buniek vedie k uvoľneniu vírusu do kultivačného média, ktoré pri absenci protilátok sprostredkuje rozsev a generalizovanú infekciu

bunkovej kultúry. Rozsev infekcie na kultúrach s médiom bez protilátok sa zaznamenal za 22 až 36 hod. p. i. v závislosti od veľkosti infekčnej dávky. Na druhej strane sa zistovali na kultúrach infikovaných hraničnými dávkami vírusu primárne fluoreskujúce ložiská aj pri absencii protilátok až po 48 hod. inkubácie. Ukazuje sa preto, že nielen časový nástup fluorescencie, ale aj rozsev infekcie je závislý od multiplicity infekcie. Ďalším faktorom, ktorý určoval časový nástup rozsevu infekcie, bola kvalita bunkovej kultúry. Podobné pozorovania s vírusom herpes B zaznamenali Black a Melnick (1955). Z uvedených príčin nie je možné pri infekcii kultúr PTOB vírusom IBR vymedziť časové obdobie, v ktorom sa pri prítomnosti tekutého média bez protilátok zisťuje len primárna infekcia a použitie stanovenie počtu plakov pre mikroplovú titráciu vírusu, ako sa to darí pri víruse *herpes simplex* (Sattar a Westwood 1967, Wheeler a kol. 1968), alebo pri víruse Aujeszkeho choroby (Žuffa a kol. 1970a).

S výnimkou vírusu *polio* (Black a Melnick 1955) bol pri všetkých doteraz študovaných vírusoch zistený obojaký spôsob šírenia infekcie v bunkovej kultúre. Rozdiely medzi jednotlivými vírusami spočívajú v tom, že napr. pri víruse moru prasiat predchádzajú zrelé vírusové častice bezprostredne do kultivačného média a intercelulárne šírenie vírusu je druhotné (Mengeling 1968), kým pri vírusoch herpetickej skupiny je primárny intercelulárny prenos a až pri rozpade buniek dochádza k uvoľňovaniu vírusu do kultivačného média, ktoré sprostredkuje následnú generalizovanú infekciu bunkovej kultúry (Black a Melnick 1955, Hahnefeld a kol. 1965, Wheeler a kol. 1968, Žuffa a kol. 1970). Mohanty a Cottral (1970) zaznamenali rozdielny účinok protilátok na vývoj primárnej infekcie pri rozličných kmeňoch vírusu slintačky a krívačky. Poznatky získané s vírusom Aujeszkeho choroby (Žuffa a kol. 1970a) v porovnaní s predpokladanými výsledkami poukazujú na to, že v tomto smere sú rozdiely aj medzi jednotlivými zástupcami skupiny herpesvírusov.

Literatúra

- BERGMANN H., HAHNEFELD H., 1967, Immunofluoreszenzstudien mit Viren der infektiösen bovinen Rhinotracheitis und des Bläschenausschlages des Rindes in Kälbernierenzellkulturen. Arch. exp. VetMed. : 801-808.
- BLACK F. L., MELNICK J. L., 1955, Micro-epidemiology of poliomyelitis and herpes-B infections. Spread of the viruses within tissue cultures. J. Immun. 74 : 236-242.
- CAIRNS J., 1960, The initiation of vaccinia infection. Virology 11 : 603-623.
- CARTER G. B., 1965, The rapid detection and differentiation of variola and vaccinia viruses by fluorescent antibody-coverslip cell monolayer system. Virology 25 : 659-662.
- GRATZEK J. B., JENKINS R. A., CHENEKATU P. P., RAMSEY F. K., 1966, Isolation and characterization of a strain of infectious bovine rhinotracheitis virus associated with enteritis in cattle: Comparative development study by fluorescent antibody tracing and electron microscopy. Am. J. vet. Res. 27 : 1573-1578.
- HAHNEFELD H., HAHNEFELD E., SCHULZE P., 1965, Untersuchungen zum Ausbreitungsmodus des Virus der Infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) und des Bläschenausschlages des Rindes (IPV) in Kälbernieren-Einschichtzellkulturen. Arch. exp. VetMed. 19 : 1405-1429.
- MENGELING W. L., 1968, A fluorescent micro-plaque assay for hog cholera virus. Localization of infection with homologous antiserum. Arch. ges. Virusforsch. 23 : 27-39.
- MOHANTY G. C., COTTRAL G. E., 1970, Foot-and-Mouth disease virus: Rapid assay using the fluorescent antibody technique. Arch. ges. Virusforsch. 32 : 348-358.
- REED L. J., MUENCH H. A., 1938, A simple method of estimating fifty percent end-points. Am. J. Hyg. 27 : 493-497.
- RUISLOVÁ H., SALAJ J., ŽUFFA A., 1970, Štúdium vnímavosti stabilnej línie TL-72 pre infekciu vírusom infekčnej bovinnej rhinotracheitidy (IBR) v porovnaní s primárnymi kultúrami teľacích obličiek a semeníkov, pomocou imunofluorescencie. Vet. časopis, v tlači.
- SATTAR S. A., WESTWOOD C. N., 1967, Immunofluorescence in the study of viruses in the tissue culture. I. Development of an immunofluorescent focus assay for herpes simplex virus. Can. J. Mikrobiol. 13 : 1489-1498.
- SCHIPPER I. A., CHOW T. L., 1968, Detection of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) by immunofluorescence. Can. J. comp. Med. 32. 412-415.
- STEVENS J. G., GROMAN N. B., 1963, Properties of infectious bovine rhinotracheitis virus in a quantitated virus-cell culture system. Am. J. vet. Res. 24 : 1158-1163.

- WHEELER C. E., BRIGGAMAN R. A., HENDERSON R. R., 1968, Plaque titration of herpes simplex with antibody-free-liquid overlay. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 127 : 814-818.
- ŽUFFA A., MATIS J., SALAJ J., 1970a, Microplaque titration of pseudorabies virus by immunofluorescence. *Acta virol.* 14 : 133-144.
- ŽUFFA A., RAJČANI J., MATIS J., 1970b, Replication of infectious bovine rhinotracheitis virus in calf kidney cells studied by immuno-acridine orange-fluorescence. *Acta virol.* 14 : 459-466.

Došlo dne 20. 6. 1972

ЖУФФА А., ХУМХАЛ Я. (Научно-исследовательский центр, Биовета, Нитра, Чехословакия). Изучение заражения первичных телячьих почечных клеток вирусом инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота при помощи иммунофлуоресценции. *Vet. Med. (Praha)* 17 (12) : 725-736, 1972.

Изучали ход заражения культуры телячьих почечных клеток вирусом инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота посредством визуализации вирусных антигенов с помощью иммунофлуоресценции. В процессе заражения культур дифференцированными дозами вируса было доказано наличие прямой взаимозависимости между величиной инокуля и сроком начала специфической флуоресценции. Инфекцию предельными дозами вируса доказывали с помощью иммунофлуоресценции спустя 48 час. инкубации культур, а с помощью традиционного пробирочного метода — спустя 5—7 дней. Разбавленный инокуль вызвал образование изолированных флуоресцирующих бляшек, величина которых росла с продлением инкубации. Разложение клеток, связанное с переходом клеток в культивационную среду, вело сначала к образованию вторичных бляшек, а позже и к генерализованной инфекции клеточной культуры. Срок начала посева вируса зависел от количества инфекции и качества клеточной культуры, что не позволяет выделить период, в котором имеют место лишь первичные инфекционные очаги. Присутствующие в культивационной среде антитела препятствуют посеву из-за нейтрализации вируса, освобождаемого во внеклеточном порядке, но они не замедляют хода первичной инфекции и позже внутриклеточного переноса вируса. Это подтверждает, что образование блях в случае вируса инфекционного переноса вируса. Это подтверждает, что образование блях в случае вируса инфекционного вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота; первичные телячьи почечные клетки; метод флуоресцирующих антител; образование флуоресцирующих бляшек; вне- и внутриклеточный перенос вируса; распространение инфекции

ŽUFFA A., CHUMCHAL R. (Research Centre, Bioveta, Nitra, Czechoslovakia). *Studying the Infection of the Primary Calf Kidney Cells with the Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) Virus by the Immunofluorescent Method.* *Vet. Med. (Praha)* 17 (12) 725-736, 1972.

The course of the infection of a culture of calf kidney cells affected by infectious bovine rhinotracheitis virus (IBR) was studied. The virus antigens were visualized by the immunofluorescent method. An indirect relation between the amount of inoculum and the time of the beginning of specific fluorescence was observed in the infection of the cultures with different doses of the virus. The infection with the marginal doses of the virus was demonstrated by means of immunofluorescence after 48 hours of the incubation of the cultures, whereas the demonstration using the traditional test-tube method came after 5—7 days. Diluted inoculum evoked the formation of isolated fluorescent plaques the size of which increased with the course of incubation. The disintegration of cells combined with the release of the virus into the cultivation medium resulted in the formation of secondary plaques and, later, in the generalized infection of the cell culture. The time of the beginning of the virus dissemination depended on the multiplicity of the infection and on the quality of the cell culture. This makes it impossible to determine the period in which only the primary infection deposits are demonstrated. The antibodies present in the cultivation medium prevent dissemination by neutralizing the virus released in the extracellular manner.

However, they exert no inhibitory influence on the course of the primary infection and, later, on the intercellular transmission of the virus. This demonstrates that the formation of plaques in IBR virus infections is the result of intercellular distribution of the virus.

infectious bovine rhinotracheitis virus; primary calf kidney cells; method of fluorescent antibodies; formation of fluorescent plaques; extra- and intracellular transmission of virus; spreading of infection

ŽUFFA A., CHUMCHAL R. (Forschungszentrum, Bioveta, Nitra, Tschechoslowakei). *Untersuchungen über die Infektion der primären Kälbernierenzellen mit Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) mit Hilfe der Immunofluoreszenz*. Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 725-736, 1972.

Es wurde der Verlauf einer Infektion von Kälbernierenzellen-Kulturen mit dem Virus der bovinen Rhinotracheitis (IBR) durch Visualisierung von Virusantigenen mit Hilfe der Immunofluoreszenz untersucht. Bei Infektionen der Kulturen mit abgestuften Virus-Dosen wurde eine indirekte Beziehung zwischen der Inokulum-Menge und dem Zeitabstand der spezifischen Fluoreszenz nachgewiesen. Die Infektion mit Grenzdosen des Virus wurde mit Hilfe der Immunofluoreszenz nach 48 Stunden der Inkubation der Kulturen, bei Applikation der konventionellen Röhrchenmethode dagegen in 5 bis 7 Tagen nachgewiesen. Das verdünnte Inokulum rief die Bildung von isolierten, fluoreszierenden Plaques hervor, deren Größe mit der Inkubationszeitdauer zunahm. Der mit dem Freiwerden des Virus in Kultivationsmedium verbundene Zellenzerfall führte zunächst zur sekundären Plaquebildung, später zu generalisierter Infektion der Zellenkultur. Das zeitliche Eintreten der Viruszerstreuung war abhängig von der Infektionsmultiplizität und der Qualität der Zellenkultur. Dies erlaubt die Feststellung der Zeitperiode, in welcher nur primäre Infektionsherde nachgewiesen werden, nicht. Die im Kultivationsmedium vorhandenen Antikörper verhindern durch Neutralisierung des extrazellulär freiwerdenden Virus die Zerstreuung, hemmen aber den Verlauf der primären Infektion und im weiteren die interzelluläre Übertragung des Virus nicht. Damit wird bestätigt, daß die Plaquebildung beim IBR-Virus die Folge der interzellulären Virus-Verbreitung ist.

Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis; primäre Kälbernierenzellen; Methode der fluoreszierenden Antikörper; Bildung von fluoreszierenden Plaques; extra- und intrazelluläre Virusübertragung; Verbreitung der Infektion

Adresa autorů:

Doc. MVDr. A. Žuffa, ing. R. Chumchal, Výskumné stredisko, Bioveta, Nitra

TOXICKÁ AKTIVITA DESINTEGROVANÉ BUŇKY A ENDOTOXINŮM PODOBNÝCH LÁTEK *BACILLUS CEREUS*

K. Prokúpek

Bioveta, Ivanovice na Hané

K. PROKÚPEK *Toxická aktivita desintegrované buňky a endotoxinům podobných látek Bacillus cereus*. Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 737-742, 1972.

Desintegrovanou bacilární buňkou, jakož i endotoxinům podobnými preparáty, získávanými chemickou cestou, v dávkách adekvátních živé kultuře, nepodařilo se v našich pokusech na citlivých zvířatech vyvolat klinicky se projevující šok. Toxická aktivita těchto látek se projevila v testu kožní reakce na albinotických králících vznikem zánětlivé reakce pozdního typu a v testu letality na kuřecích zárodkách.

B. cereus; šoková aktivita; desintegrace bacilární buňky; endotoxinům podobné preparáty

V dřívějších pracích jsme se zabývali problematikou šokového působení živé kultury *B. cereus* v pokusech na vnímavých zvířatech a později toxickým účinkem zahřáté cereové kultury. Došli jsme k závěrům, že živá kultura při parenterální aplikaci může u citlivých zvířat vyvolat letální šok. Zahříváním se šoková aktivita kultury zmenšovala, až při devitalizaci populace se v biologickém pokuse klinicky neprojevila (Prokúpek 1972).

Třebaže dosavadní výsledky nebyly přesvědčivé, nespouštěli jsme stále se zřetele, zda se přece jen nejedná o šokový projev, vyvolaný endotoxinu podobnou aktivitou.

Pod pojmem endotoxin rozumíme obvykle lipopolysacharido-proteinový komplex s charakteristickými biologickými vlastnostmi. Komplex je součástí bakteriální buněčné stěny a je ztotožňován se somatickým O antigenem gramnegativních mikrobů (Ribi a kol. 1961a).

Jelikož podle současných představ je nositelem šokového působení lipopolysacharid (Westphal a Luderitz 1954), očekávali jsme, že si i po devitalizaci bacilárních buněk zahřátím zachová masa usmrcených buněk alespoň větší část své původní šokové aktivity. Proto bylo pro nás jistým překvapením, že usmrcením živé kultury zahřátím vymizela současně i schopnost vyvolat klinicky se projevující, popřípadě fatálně probíhající šok. Tento neočekávaný výsledek jsme přičítali rušivému zásahu do struktury složky vyvolávající šok. Domnívali jsme se, že použijeme-li při devitalizaci šetrnějšího postupu (desintegrace), zachová si usmrcená buňka svou původní šokovou aktivitu.

MATERIÁL A METODY

K m e n y. K pokusům jsme použili dvou cereových kmenů C 19 a C 314, které v předcházejících experimentech projevily standardní schopnost vyvolávat letálně probíhající šok. Pro srovnání jsme zvolili z gramnegativních zárodků

hemolytický kmen *E. coli* 5368, také už v předchozích pokusech prověřený. Referenční (srovnávací) materiál nám připravila podle Wheata a kol. (1963) z hemolytického kmene *E. coli* 5368 Bioveta, Ivanovice na Hané.

Kultura. Výchozí kulturou byla nám suspenze pětihodinové populace, vyrostlé na krevním agaru při 37 °C, ve sterilním fyziologickém roztoku o počtu 10^{10} bakteriálních buněk.

Zvířata. Dospělá morčata (350–450 g), event. syřští křečci (100 až 150 g), albinotičtí králíci (2–3 kg) a 10denní kuřecí zárodky.

Desintegrace. K rozdrčení živé bacilární buňky jsme použili laboratorního excentrického mixeru a balotiny č. 16 (Směkal, Břečka 1968). Fragmenty buněčné stěny jsme si připravili diferencovanou centrifugací masy rozdrčených bacilárních buněk. Přítomnost nepatrného počtu živých buněk (200 až 300) byla zanedbatelná v pokusech o vyvolání šoku i při stanovení kožní reakce na králících.

Chemická preparace. Pro přípravu preparátu, podobného endotoxinovému, jsme zvolili metodu Westphalovu (1957) v modifikaci podle Wheata a kol. (1963) a metodu podle Ribi a kol. (1961b). První způsob preparace používá extrakce horkou fenolovou vodou, druhý způsob získává účinnou látku extrakcí éterovou vodou. Účinné látky jednotlivých preparátů byly převedeny do vodního roztoku tak, aby 1 ml obsahoval 2 mg této látky. Toto množství bylo zhruba adekvátní počtu 10^{10} bacilární kultury. pH těchto pracovních roztoků se pohybovalo od 6,6 do 6,8.

Účinnost těchto preparátů byla hodnocena:

1. Testem šoku na citlivých pokusných zvířatech (morčata a křečci) dávkou 4 a 2 ml intraperitoneálně.
2. Testem letality na kuřecích zárodcích (0,2 ml do alantoidního vaku 10denních zárodků). Posouzení za 24 hodin.
3. Testem kožní reakce na albinotických králících (0,2 ml intradermálně). Sledován byl stupeň a rozsah zánětlivé reakce, event. nekrotické změny. Posouzení za 24 a 48 hodin. Dávky preparátů byly adekvátní dávkám živé kultury.

VÝSLEDKY

V první sérii pokusů jsme použili bacilárních buněk mechanicky devitalizovaných rozdrčením. Kontrolou desintegrované bacilární hmoty jsme zjistili, že obsahuje nepatrné množství živých mikrobů (ve 4 ml inokula asi 300 bacilárních buněk). Podle předchozích pokusů (Prokůpek 1972) nemohlo toto nepatrné množství živých mikrobů vyvolat klinickou odezvu u pokusných zvířat, a proto bylo zanedbatelné.

Dospělá morčata byla očkována intraperitoneálně 4 ml rozdrčené bacilární hmoty odpovídající 10^{10} pětihodinové kultury kmenů C 19 a C 314. U žádného z očkovaných morčat jsme nemohli zaznamenat klinické příznaky onemocnění. Pokusy byly opakovány se stejným výsledkem.

Další pokusy byly provedeny s kmenem C 19 tak, že k rozdrčené buněčné mase pětihodinové kultury (10^{10}) jsme přidali určitý díl živých bacilárních buněk téhož kmene a očkovali dospělým morčatům v dávce 4 ml intraperitoneálně. Přídavek živé kultury k desintegrované buněčné mase byl zvyšován takto:

$10^{10} + 10^3$ živých bacilárních buněk — bez klinické odezvy.

$10^{10} + 10^4$ živých bacilárních buněk — za 2 až 3 hodiny po aplikaci se dostavila mírná malátnost. Ze skupiny pěti morčat zašla dvě za 5 až 6 hodin.

Tři morčata přežila. Kontrolní zvířata, která dostala jen živou kulturu o koncentraci inokula 10^4 , zůstala bez klinické odezvy.

$10^{10} + 10^5$ živých bacilárních buněk — malátnost očkovaných morčat se dostavila za 2 až 3 hodiny. Z pokusných zvířat uhynulo jedno za 4 hodiny, druhé dvě za 6 až 8 hodin. Dvě morčata přežila. Kontrolní morčata byla bez klinických příznaků.

$10^{10} + 10^6$ živých bacilárních buněk — malátnost se dostavila za 1 až 2 hodiny. Zašla čtyři očkovaná morčata za 4 až 7 hodin po inokulaci, jedno přežilo. Kontrolní zvířata byla bez klinické odezvy.

$10^{10} + 10^7$ živých bacilárních buněk — malátnost za 1 až 2 hodiny, exitus všech morčat za 3 až 5 hodin. Kontrolní zvířata zůstala bez klinických příznaků.

Srovnávací pokusy s hemolytickým kmenem *E. coli* 5368 vyzněly analogicky. Masou 10^{10} desintegrovanych buněk pětihodinové kultury (včetně zanedbatelného počtu živých buněk) se nepodařilo vyvolat klinický projev letálního šoku na morčatech. Při použití dvojnásobné dávky se objevila u některých zvířat přechodná malátnost.

Po negativních výsledcích s desintegroványi buňkami jsme se pokusili obdobně jako u cereové kultury (C 19) přidáním živé kultury k mase rozdrčených buněk vyvolat šokový efekt. Přídavek živé kultury *E. coli* 5368 byl zvyšován takto :

$10^{10} + 10^3 - 10^6$ živé kultury — všechna očkovaná zvířata bez klinické odezvy. Kontrolní morčata, která dostala jen živou kulturu, zůstala rovněž bez klinické odezvy.

$10^{10} + 10^7$ živé kultury — za 2 až 3 hodiny pokusná zvířata malátná, dvě z nich zašla za 5 až 8 hodin po inokulaci, ostatní přežila. Kontrola bez klinické odezvy.

$10^{10} + 10^8$ živé kultury — malátnost očkovaných zvířat se dostavila za 1 až 3 hodiny. Čtyři z pokusných morčat zašla za 3 až 5 hodin, jedno přežilo. U některých kontrolních zvířat se projevila malátnost, všechna přežila.

Diferenciální centrifugací desintegrovanych bacilárních buněk se nám podařilo získat fragmenty buněčné stěny. Tuto frakci jsme zpravidla nemohli úplně zbavit živých mikrobů, takže jsme i zde museli počítat s nepatrným, zanedbatelným počtem živých buněk, obdobně jako u desintegrované kultury.

K pokusům jsme použili cereový kmen C 19 a hemolytický kmen *E. coli* 5368. Inokulum fragmentů buněčných stěn, aplikovaných morčatům intraperitoneálně v dávce adekvátní standardní dávce živé kultury (10^{10}), vyvolalo u vnímavých zvířat jen přechodnou malátnost, nikoliv však letální šok. Stejný klinický obraz se vyvinul u syrských křečků. Při testu kožní reakce u albinotických králíků vznikla v místě injekce mírná zánětlivá reakce, která za 2 až 3 dny vymizela, aniž zanechala po sobě nekrotické změny.

Výsledkem těchto pokusů je poznání, že rozdrčená devitalizovaná bacilární buňka i její fragmenty se vyznačují podstatně menší aktivitou nežli buňka živá.

Ve třetí skupině byly konány pokusy s lipopolysacharidovými komplexy *E. coli* a s obdobnými preparáty připravenými z kmenů *B. cereus*.

Test reprodukce šoku byl proveden na dospělých morčatech dávkou 1 ml (2 mg), doplněnou fyziologickým roztokem na celkový objem 2 ml, intraperitoneálně. Žádnou z uvedených látek, včetně referenčního preparátu získaného z *E. coli* podle Wheata, se nám nepodařilo vyvolat u pokusných zvířat příznaky šoku. Ani dvojnásobnou dávkou jsme nezaznamenali u očkovaných morčat klinickou odezvu.

Test kožní reakce na albinotických králících se projevil dosti výraznou zá-
nětlivou reakcí, která dosahovala vrcholu mezi 24 a 48 hodinou po aplikaci a vy-
mizela obvykle do pěti dní. V některých případech byly pozorovány i menší
nekrotické změny.

Účinek preparátu podobného endotoxinu se nejlépe projevil v testu letality
na kuřecích zárodcích. Aplikována byla standardní dávka 0,2 ml (0,4 mg). Vý-
sledky jsou v přehledu uvedeny v tab. I.

Z uvedeného přehledu je možno usuzovat, že endotoxinu podobný preparát
podle Ribiho byl poněkud účinnější než preparát získaný podle Wheata a že
lipopolysacharidové komplexy *E. coli* a obdobné preparáty, připravené z obou
kmenů cereových, se v účinku od sebe valně nelišily.

Orientačně jsme udělali několik pokusů o účinku vyšších teplot na šokovou
aktivitu endotoxinu *E. coli* a obdobných preparátů z *B. cereus*. Některé z pre-

I. Účinek endotoxinu *E. coli* a obdobných preparátů z *B. cereus* na kuřecí zárodky

Kmen a způsob přípravy preparátu	Počet zárodků	Počet uhynulých zárodků	Procento úhynu
<i>E. coli</i> 5368			
Wheat*	50	36	72
Ribi	50	38	75
<i>B. cereus</i> C 19			
Wheat	50	34	68
Ribi	50	40	80
<i>B. cereus</i> C 314			
Wheat	50	26	52
Ribi	50	35	70
Sterilní fyziologický roztok	50	0	0

* Referenční preparát

Všechny uhynulé kuřecí zárodky se vyznačovaly výraznou hyperemií a provlhlostí. Často jsme
nalézali četné tečkovité krevní výrony.

II. Účinek teploty na toxickou aktivitu endotoxinu *E. coli* a obdobných preparátů z *B. cereus*, testovanou na kuřecích zárodcích

Kmen a způsob přípravy preparátu	Působení teploty °C/min.	Počet očkovaných zárodků	Počet uhynulých zárodků	Procento úhynu
<i>E. coli</i> 5368				
Ribi	—	50	38	75
Ribi	110/30	50	10	20
<i>B. cereus</i> C 19				
Ribi	—	50	40	80
Ribi	110/30	50	14	28

parátů jsme zahřáli na 110 °C v autoklávu po dobu 30 minut. Výsledky pokusů jsou uvedeny v tab. II.

Výsledky pokusů uvedené v tab. II ukazují, že zahřátím se značně snížila účinnost endotoxinu a endotoxinům podobných preparátů v testu letality na kuřecích zárodcích.

DISKUSE

Podobně jako teplem usmrcená kultura, ztratila i desintegrací devitalizovaná populace bacilárních buněk schopnost vyvolávat u vnímavých zvířat klinicky se projevující, obvykle fatálně probíhající šok, třebaže živá kultura je, jak bylo prokázáno, nositelkou letální aktivity (Prokůpek 1972a). Že se autoklávovaná kultura nevyznačovala klinicky se projevujícím šokovým působením, poznával už Patočka (1934). Pokud se v našich pokusech nějaká reakce objevila, byla klinicky mírná a záhy odezněla. Podobně vyzněly i pokusy s endotoxinem *E. coli* a s obdobnými preparáty *B. cereus*, získanými chemickou cestou podle Wheata a Ribiho. Ani těmito látkami se nám nepodařilo vyvolat klinicky se projevující šok.

Určitý stupeň toxické aktivity u všech ověřovaných materiálů jsme však prokázali v testu kožní reakce na albinotických králících. Účinnost těchto látek se projevila vyvoláním zánětlivé kožní reakce s vrcholem za 24 až 48 hodin po aplikaci a mizením zpravidla do pěti dní. Lokální nekrotický účinek nebyl obvykle vyjádřen. Vyvolání zánětlivé kožní reakce je charakteristickým rysem endotoxinové aktivity, nebylo však dosud pozorováno, že by lipopolysacharidy tento typ kožní reakce u pokusných zvířat vyvolaly.

Nejspolehlivějším průkazem toxické aktivity zkoušených preparátů byl test letality na kuřecích zárodcích.

Podle výsledků dosažených tímto testem je možné usuzovat, že preparáty připravené postupem podle Ribiho vykazovaly větší toxickou aktivitu. Zahřátím na 110 °C se výrazně snížila toxicita těchto látek.

Přídavek živé kultury v množství, které samo o sobě není schopno vyvolat letální šok, zvyšuje účinek desintegrovaných bacilárních buněk tak, že lze vyvolat až letální šok, podobně, jak jsme toho byli svědky u kultury usmrcené zahřátím. Pravděpodobně se tu počítá účinek složky podobné endotoxinu s toxickou aktivitou živé kultury. Materiál připravený z *E. coli* 5368 měl obdobný účinek jako preparát z *B. cereus* C 19.

Závěrem je možné konstatovat, že nositelkou plné šokové aktivity, projevující se letálním šokem, je živá kultura. Desintegrovaná buňka anebo endotoxinům podobné preparáty, získané chemickými postupy, se vyznačovaly podstatně menším toxickým účinkem, dokazatelným jen intradermální aplikací a na kuřecích embryích. Intraperitoneální inokulací je jejich toxický účinek prokazatelný jen tím, že obdobně jako usmrcené buňky zvyšují šokový účinek živých kultur.

Literatura

- PATOČKA F., 1934, Experimentální studie o patogenních možnostech mikrobů podobných bacilu antraxu. Monografie Čs. akad. věd, Praha.
PROKÚPEK K., 1972a, Letální šok vyvolaný živou kulturou *Bacillus cereus*. Vet. Med. (Praha) 4 : 225-232.
PROKÚPEK K., 1972b, Toxický účinek zahřáté kultury *Bacillus cereus*. Vet. Med. (Praha) 9 : 551-559.

- RIBI E., HASKINS W. T., LANDY M., MILNER K. C., 1961a, Symposium on bacterial endotoxins. I. Relationship of chemical composition to biological activity. *Bact. Rev.* 25 : 427-436.
- RIBI E., HASKINS W. T., LANDY M., MILNER K. C., 1961b, Preparation and host-reaction properties of endotoxin with low content of nitrogen and lipid. *J. exp. Med.* 114 : 647-663.
- SMĚKAL F., BŘEČKA A., 1968, Jednoduchý způsob laboratorní desintegrace mikroorganismů. *Chem. listy* 62 : 1476-1478.
- WESTPHAL O., LÜDERITZ O., 1954, Chemische Erforschung von Lipopolysachariden gramnegativer Bakterien. *Angew. Chem.* 66 : 407-417.
- WHEAT R. W., ROLLINS E. L., LEATHERWOOD J. M., BARNES R. I., 1963, Studies of the cell wall of *Chromobacterium violaceum*. The separation of lipopolysaccharide and mucopeptide by phenol extraction of whole cells. *J. biol. Chem. (USA)* 238 : 26-29.

Došlo dne 18. 2. 1972

ПРОКУПЕК К. (Биовета, Ивановице на Гане, Чехословакия). Токсическая активность дезинтегрированной клетки и подобных эндотоксинам веществ *Bacillus cereus*. *Vet. Med. (Praha)* 17 (12) : 737-742, 1972.

В ходе наших опытов у чувствительных животных не удалось вызвать клинически проявляющегося шока с помощью дезинтегрированной бациллярной клетки и подобных эндотоксинам препаратов, полученных химическим путем в дозах адекватной живой культуры. Токсическая активность этих веществ проявила себя в тесте кожной реакции на кроликах-альбиносах из-за возникновения воспалительной реакции позднего типа и в тесте летальности на куриных эмбрионах.

B. cereus; шоковая активность; дезинтеграция бациллярной клетки; подобные эндотоксинам препараты

PROKŮPEK K. (Bioveta, Ivanovice na Hané, Czechoslovakia). *The Toxic Activity of the Disintegrated Bacillus cereus Cell and Substances Similar to Endotoxins*. *Vet. Med. (Praha)* 17 (12) : 737-742, 1972.

In our trials performed with susceptible animals, we failed to produce clinically manifested shock using disintegrated bacillary cell and chemically prepared substances similar to endotoxin in doses adequate to the live culture. In the skin response test performed in albinotic rabbits, the toxic activity of these substances was manifested as the occurrence of inflammatory response of the late type; the toxic activity was observed in the lethality tests in chick embryos.

B. cereus; shock activity; disintegration of the bacillary cell; preparations similar to endotoxins

PROKŮPEK K. (Bioveta, Ivanovice na Hané, Tschechoslowakei). *Toxische Aktivität der desintegrierten Zelle und der, den Endotoxinen ähnlichen Stoffe des Bacillus cereus*. *Vet. Med. (Praha)* 17 (12) : 737-742, 1972.

Mit der desintegrierten Bazillarzelle, als auch mit den auf dem chemischen Wege gewonnenen, den Endotoxinen ähnlichen Präparaten in den der lebendigen Kultur äquivalenten Gaben ist es in unseren Versuchen nicht gelungen, einen klinisch sich bemerkbar machenden Schock bei sensitiven Tieren hervorzurufen. Die toxische Aktivität dieser Stoffe kam im Test der Hautreaktion bei albinotischen Kaninchen durch die Bildung einer entzündlichen Reaktion des späten Typs und im Letalitätstest auf Hühnerembryos zum Vorschein.

B. cereus; Schockaktivität; Desintegration der Bazillarzelle; den Endotoxinen ähnliche Präparate

Adresa autora:

MVDr. K. Prok ů p e k, CSc., Bioveta, Ivanovice na Hané

PATOGENEZA EXPERIMENTÁLNÍ INVAZE HAEMONCHUS CONTORTUS A TRICHOSTRONGYLUS COLUBRIFORMIS U JEHŇAT A JEJÍ ZMĚNY PO LÉČBĚ NILVERMEM (ICI)

D. Zajíček

Parazitologický ústav ČSAV, Praha

ZAJÍČEK D. *Patogeneza experimentální invaze Haemonchus contortus a Trichostrongylus colubriformis u jehňat a její změny po léčbě Nilvermem (ICI)*. Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 743-752, 1972.

Experimentální invaze nematody druhu *Haemonchus contortus* a *Trichostrongylus colubriformis* u šesti jehňat plemene "Valaška" ve stáří 4 měsíců a o průměrné váze 12,0 kg vrcholila 32. až 34. den po podání larev. Projevila se úpornými průjmy, anemií sliznic a úbytkem na váze. U dvou jehňat byla příčinou úhynu a u jednoho jehněte vyvolala vypadávání vlny — *pseudoscabies* — počínaje 27. dnem invaze. Po aplikaci Nilvermu vymizely příznaky průjmu za dva dny a celkové příznaky onemocnění během 17. dnů. Vylučování vajíček zřetelně pokleslo již za 12 hodin po aplikaci léčiva a u většiny jehňat vymizela vajíčka z trusu za dva až deset dnů. U tří neinvadovaných jehňat nebyly pozorovány žádné klinické změny po aplikaci Nilvermu. Podle koprologického vyšetření efektivnost léčiva dosáhla 99,92 % na *Haemonchus contortus* a 99,55 % na *Trichostrongylus colubriformis*, celkově u obou druhů 99,78 %. V letním období na pastvě se intenzivněji přirozeně invadovala jehňata kontrolní skupiny než jehňata po vyléčené experimentální invazi. Rezistence vytvořená experimentální i přirozenou invazí snížila podstatně možnost reinvaze larvami *H. contortus* a *T. columbriiformis*. Nedošlo k výrazným projevům onemocnění a ke ztrátám na váze. Aplikace léčiva po reinvazi dosáhla celkové efektivity 99,14 % podle koprologických vyšetření. experimentální haemonchóza a trichostrongylóza; dynamika přirozené invaze; dehelmintizace; Nilverm (ICI)

Experimentální invaze gastrointestinálních nematodů umožňují studium fyziologických změn v organismu hostitele a jsou vhodnými objekty pro posouzení účinnosti léčiv. Obvykle se volí nematodi s největší patogenitou, jejichž larvy se dobře kultivují. Patří k nim druhy *Haemonchus contortus* a *Trichostrongylus colubriformis*, s nimiž dosáhli velmi dobrých výsledků Williams, Palmer (1964) a Silverman a kol. (1970). Oba druhy mají nejkratší vývoj a jsou dost odolné v kulturách i v přírodě (Erhardová 1962; Whitlock 1966; Andersen a kol. 1970; Waller a kol. 1970).

V předložené práci popisujeme experimentální invaze jmenovanými druhy nematodů, klinické příznaky onemocnění, výsledky reinvaze a změny vyvolané po aplikaci Nilvermu.

V pokusech jsme použili devíti jehňat (6 skopců a 3 jehniček) plemene „Valaška“ v počátečním stáří čtyř měsíců a o průměrné váze 12,0 kg. Po dobu jarní části pokusu od 15. 4. do 2. 7. 1971 byla jehňata krmena lučným senem *ad libitum*, pšeničným šrotem v dávce 20,0 dkg na kus a den s přísadou vitamínů a stopových prvků. Skupina (A), tj. šest invadovaných jehňat, byla umístěna odděleně od skupiny (B), tj. tří kontrolních jehňat. Podestýlka ze slámy se obnovovala každý týden. Od července do skončení podzimní části pokusu (30. 11. 1971) se obě skupiny pásly společně se stádem na ovčí pastvině.

Invační larvy k experimentální invazi jsme získávali z trusu přirozeně invadovaných skopců metodou podle Robertse, O'Sullivan a (1950), Theodoridese (1964) a Hulínské (1969). Larvy jsme koncentrovali centrifugací při 2000 ot/min po dobu 15 minut. Vlastní kultury jsme udržovali ve vodě s přísadou 1000 jednotek Nystatinu (Squibb) a 10 mg Chloramfenicolu (Spofa) na širokých Petriho miskách o průměru 150 mm při teplotě $+10^{\circ}\text{C}$. Provětrávali jsme je obden a jednou za čtyři až pět dní jsme doplňovali roztok. K invazi jsme použili larvy ve stáří 28 až 35 dní. K morfologickému určení jsme použili klíče podle Hulínské (1969). Pro podzimní část pokusů jsme použili larev nashromážděných v období vrcholu invaze jarní části pokusu. Reinvasze byla provedena larvami udržovanými při teplotě $+4$ až $+10^{\circ}\text{C}$ po dobu 3,5 až 4 měsíce. Před podáním larev jehňatům jsme kultury odstředili (2000 ot/min po dobu 15 min) a sediment larev jsme suspendovali ve 100 ml vody. Ze suspenze jsme odebrali 1 ml, rozdělili po 0,1 ml do 10 kapek, v nichž jsme spočítali larvy. Počet larev obsažených v suspenzi jsme stanovili úměrou $x = a \cdot 100$, přičemž a se rovnalo součtu larev v 1 ml suspenze. Standardní odchylku jsme stanovili z deseti součtů. Během doby přechování kultur v chladničce uhynuly larvy *Ostertagia* sp. a vývojová stadia *Strongyloides papillosus*.

K invazi jehňat jsme použili tři dávky po 2000 ± 200 larvách, podaných perorálně pipetou obden (10.—14. 5. 1971 a 10.—14. 10. 1971), tj. v celkové dávce 6000 ± 600 larev. Dávky jsme odměřovali ze suspenze krátce před podáním. Larvy *Haemonchus contortus* a *Trichostrongylus colubriformis* byly ve vzájemném poměru 20 : 1.

Po dobu pokusů jsme odebírali vzorky trusu mezi 6.00 až 7.00 hodinou ranní a k vyšetření jsme používali ovoskopickou flotační metodu podle Brezy (1959), modifikovanou na přepočít vajíček v 1 g trusu pomocí počítací komůrky podle Mc Mastera (E. P. G. — ekvivalent per gram).

V jarní části pokusu (15. 4. — 2. 7. 1971) jsme odebírali vzorky trusu dvakrát týdně (úterý, pátek), v období vrcholu invaze, tj. od 28. dne po invazi, každý den. V den podání léčiva jsme odebrali trus třikrát za den v šestihodinových intervalech a následující dva dny. Potom jsme opět zachovali odběry dvakrát za týden. Během letního období jsme vyšetřovali jedenkrát za 14 dnů (pondělí) a v podzimní části pokusu (22. 9. — 30. 11. 1971) jedenkrát za týden (pondělí).

Preparát Nilverm (ICI — Bioveta, Ivanovice) jsme aplikovali v dávce 15 mg/kg ž. v., tj. 10 ml pro kus v intraruminální injekci (Thienpont a kol. 1966) jak invadovaným, tak i kontrolním jehňatům na vrcholu invaze, tj. v jarní části pokusu 34. den a v podzimní části 31. den po invazi. Po léčbě jsme sledovali výsledek po dobu 21 dne.

Jehňata uhynulá během pokusu jsme vyšetřili helmintologickou pitvou a u odporažených jehňat po skončení pokusu na podzim.

Zdravotní stav jehňat jsme posuzovali sledováním tělesné váhy, triasu a celkovou klinickou prohlídkou jedenkrát za týden, v letním období jedenkrát za 14 dnů.

VÝSLEDKY

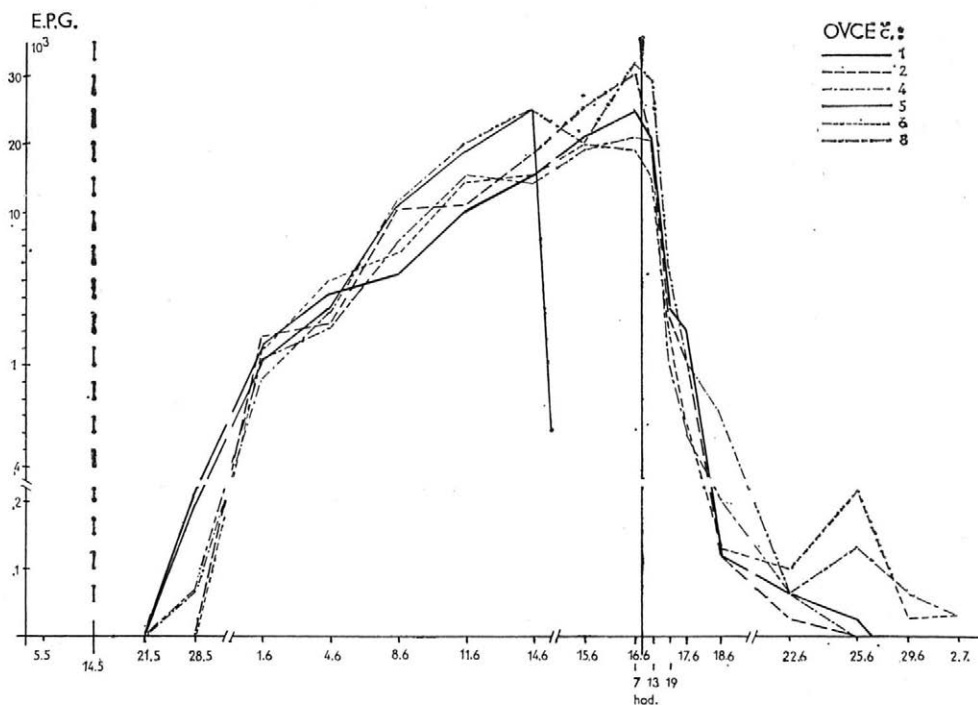
JARNÍ ČÁST POKUSU

V této etapě jsme měli možnost posoudit projevy akutní invaze *Haemonchus contortus* a *Trichostrongylus colubriformis*. Invaze u pokusných jehňat skupiny A začala vrcholit 25. den, vrcholu dosáhla 32. až 34. den. U jehňete, které uhynulo ze příznaků anémie, progresivního hubnutí a úporných průjmů 32. den po invazi, jsme zjistili invazi následující intenzity: *Haemonchus contortus* 2178 ♀, 1886 ♂, celkem 4064 jedinci; *Trichostrongylus colubriformis* 669 ♀, 206 ♂, celkem 875 jedinců. V seškrabech slizničního epitelu jsme zjistili ojediněle vývojová stadia 5^o a 6^o obou druhů nematodů.

Průběh invazí u jednotlivých jehňat podle koprologických vyšetření je uveden na obr. 1. Nálezy obou druhů vajíček stoupaly téměř rovnoměrně a 34. den se u všech jehňat vyrovnaly na maximálních hodnotách.

Nilverm jsme aplikovali 34. den invaze v 7.00 hod. a sledovali jsme úbytek vajíček v trusu ve 13.00 a 19.00 hod. a po další dva dny v ranních odběrech. Počet vajíček poklesl již ve 13.00 hod. (obr. 1), zjevný pokles nastal v 19.00 hod. a v následujících dvou dnech. U některých jehňat vymizela vajíčka 10. den po léčbě, u některých se udržela s výkyvy na minimálních hodnotách ještě 17. den. Efektivnost léčebného zásahu podle koprologických vyšetření je rozvedena v tab. I.

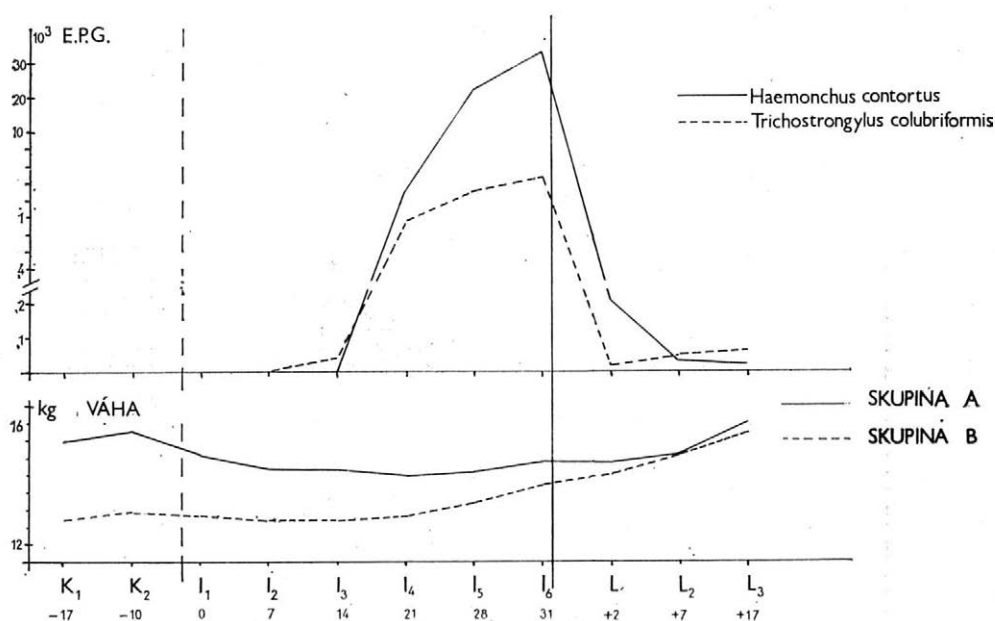
Porovnáním průměrné váhy jehňat jsme prokázali, že během invaze nastal



1. Vývoj invaze *H. contortus* a *T. colubriformis* u jednotlivých jehňat před léčbou a po ní v jarní části pokusu

I. Účinnost Nilvermu u experimentálně invadovaných jehňat podle výsledků koprologického vyšetření

	<i>H. contortus</i> + <i>T. colubriformis</i>		<i>H. contortus</i>		<i>T. colubriformis</i>	
	E. P. G.	účinnost %	E. P. G.	účinnost %	E. P. G.	účinnost %
3 dny před léčbou	27002	—	22214	—	2883	—
24 hodiny po léčbě	4084	84,87	3168	85,74	916	68,23
48 hodin po léčbě	225	99,17	205	99,08	20	99,31
7 dnů po léčbě	92	99,66	33	99,85	59	97,95
9 dnů po léčbě	59	99,78	46	99,79	13	99,55
13 dnů po léčbě	91	99,66	33	99,85	58	97,99
17 dnů po léčbě	79	99,71	17	99,92	62	97,85



2. Vztah tělesné váhy k vývoji experimentální invaze v jarní části pokusu

pokles ve váze jehňat skupiny A a po léčbě rapidní vzestup, zatím co u kontrolní skupiny B váha pravidelně vzrůstala (obr. 2).

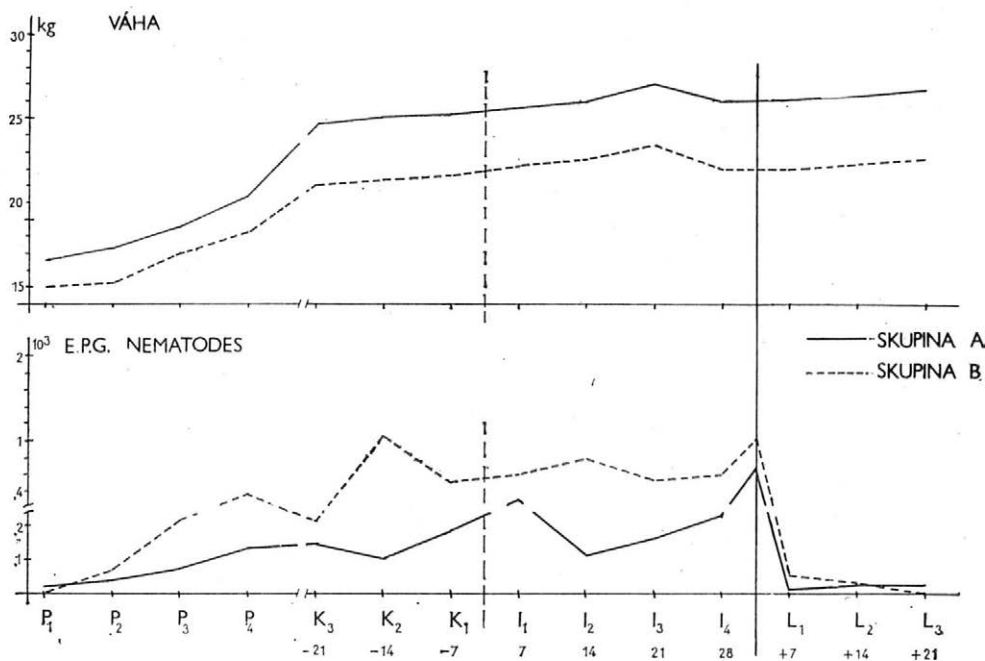
Z klinických příznaků onemocnění byl nejmarkantnějším projevem katarální průjem, zejména na vrcholu invaze. S průměrnými stavy souvisela zvýšená žíznivost zvířat, malátnost a u jehněte č. 4 jsme pozorovali uvolňování a vypadávání vlny, ke kterému došlo 27. den invaze. U všech invadovaných jehňat byla vlna na pohmat suchá a nelesklá. Souběžně s těmito příznaky jsme pozorovali u slabších jehňat zrychlení tepu až na 120 za minutu, ztížený a zrychlený dech v počtu až 25 za minutu, anemii viditelných sliznic. Po aplikaci léčiva vymizel průjem,

trus se začal formovat již druhý den a pravidelné konzistence dosáhl sedmý den. Klinické příznaky onemocnění, vyjma vypadávání vlny, vymizely během 17 dnů postaplikační pozorovací doby. Desátý den po léčbě uhynulo jehně č. 1 (váha 10,0 kg), které od 25. dne invaze trpělo úpornými průjmy, těžko vstávalo, ale neztratilo chuť k přijímání potravy. Helmintologická pitva neprokázala invazi a potvrdila účinnost léčiva na zmíněné druhy nematodů.

PODZIMNÍ ČÁST POKUSU

Všechna jehňata se od 2. 7. do 30. 11. 1971 pásala se stádem. V letním období jsme zjišťovali přirozené invaze nematodů druhu *Trichostrongylus sp.*, *Ostertagia sp.*, *Chabertia ovina* a *Trichocephalus sp.* Invaze však nedosáhly v žádné skupině intenzity vylučování vajíček jarní invaze (obr. 3), pravděpodobně sníženou vitalitou invazních larev na pastvině, pro něž dlouhotrvající sucho vytvořilo nepříznivé podmínky pro vývoj. Kontrolní skupina B byla přesto intenzivněji invadována než skupina A, léčená na vrcholu invaze. Skupina B však nedosáhla během celého pokusu intenzity vylučování vajíček pozorované u skupiny A při experimentální invazi.

Vlastní podzimní část pokusu začala 22. 9. a trvala do 30. 11. 1971. Reinvasi všech jehňat larvami obou druhů nematodů ve stejné dávce jako na jaře se neprojevila u žádné skupiny výrazněji v hodnotách E. P. G. Přesto se zřetelně projevil vrchol invaze 31. den reinvasi; v této době byla všechna jehňata léčena Nilvermem ve stejné dávce. Po aplikaci se snížil počet vajíček na minimum během 14 dnů, tj. efektivnost podle koprologického vyšetření byla 99,14 %. Jehňata byla odporazena 21. den po začátku léčení, helmintologická pitva neprokázala ani dospělé nematody ani vývojová stadia.



3. Růst tělesné váhy jehňat během letního a podzimního období vzhledem k přirozené invazi a experimentální reinvasi

Během podzimní části pokusu jsme u jehňat nezjistili zjevné příznaky onemocnění, ani vyšetření triasu se neodchýlilo od fyziologické normy. V období vrcholu invaze se projeví příznaky mírného průjmu, které po léčbě ustoupily a trus se záhy normálně formoval.

Po přechodu na zelené krmení (2. 7. 1971) nastal rychlý vzestup váhy jehňat, která během dvou letních měsíců rovnoměrně stoupala až na 25,0 kg. V podzimní části pokusu váha rovněž rovnoměrně narůstala, s vrcholící invazí (31. den) však mírně poklesla. Aplikace léčiva umožnila její opětovnou vzestupnou tendenci (obr. 3).

DISKUSE

Akutní gastrointestinální nematodózy patří svou patogenitou mezi nejobávanější parazitózy u přežvýkavců (Doran 1955; Baker a kol. 1959, Kates, Turner 1960, Herlich 1962, Smith 1970). Experimentální práci jsme zaměřili na dva nejčastější druhy nematodů, které působí vážné ekonomické ztráty v chovech ovcí (Gordon 1948, Hovorka 1963, Šulc 1969, Brundson 1970, Swan 1970).

Při zakládání kultur jsme využili jarního vzestupu vylučování vajíček s vyšší vitalitou, zejména u druhu *Haemonchus contortus* a *Trichostrongylus colubriformis*, pozorovaného Fieldem a kol. (1960) a Gibsonem (1966); tento postup se osvědčil i v našich pokusech. Na rozdíl od Hulínské (1969) jsme ponechávali vzorky trusu pět až šest dní při teplotě laboratoře, která dostává k vývoji larev obou druhů nematodů, ale není ještě dostatečně dlouhá pro vývoj larev ostatních nematodů. Vlastní koncentraci larev ve vodě jsme dělali Baermannovou metodou v termostatu při teplotě 26 °C po dobu 12 hodin. Při kultivaci larev jsme potvrdili jev pozorovaný Whitlockem (1966), že larvální stadia *Ostertagia sp.* a vývojová stadia *Strongyloides papillosus* hynou při delším udržování kultur v chladničce. Udržováním larev v kulturách rychle klesá jejich invazeschopnost; tím si vysvětlujeme menší úspěch při experimentální invazi v podzimní části pokusu.

Podle zkušeností Silvermana a kol. (1970) jsme zvolili optimální dávku mezi 5000 a 10 000 larvami a dosáhli jsme invazi s výraznými klinickými projevy onemocnění popisovanými Andrewsem (1942), Brambellem a Charlestonem (1964) a Charlestonem (1965). Dávky larev jsme záměrně podali ve třech stejných množstvích, abychom předešli lokálním reakcím sliznice, které často mají nepříznivý vliv na vývoj invaze (Charleston 1965, Herlich 1966, Ratcliff a kol. 1968, Silverman a kol. 1970, Malczewski 1971, Peregudov 1971). Jde o vývoj rezistence, která způsobuje předčasný odchod larev. Takto si lze vysvětlit pomaleji postupující invazi u skupiny A v letním a podzimním období než u skupiny B.

I když jsme neměli možnost dodržet podmínky pro odchov jehňat, uváděné Mansfieldem a kol. (1967), dosáhli jsme v jarní etapě pokusu vytčeného cíle. Jehňata před počátkem pokusu při převzetí na ovčíně vylučovala velmi malé množství vajíček *Strongyloides papillosus* (E. P. G. mezi 33–66), která vymizela při postupující invazi. Experimentální invaze se vyvíjela v souladu s poznatky Andrewse (1939), Herliche (1957), Katese, Turnera (1960), Silvermana a kol. (1970) a Malczewského (1971).

Vliv potravních poměrů a diety (Shumard a kol. 1957, Poeschel, Todd 1969), právě tak jako vliv jarního zeslabení a vyšší vitality invazních

larev (Proctor, Gibbs 1968) má velký význam při invazích *H. contortus* a *T. colubriformis*. Tohoto fenomenu jsme využili a jehněta v jarní etapě jsme krmili krmivem se sníženým obsahem bílkovin. Naopak v podzimní části byla široká škála nutričních složek potravy jednou z příčin nízké invadovanosti. V této souvislosti je třeba upozornit na ztrátu vlny u jehněte č. 4, kterou uvádějí Olteanu, Dida (1971) do souvislosti s individuální nutriční deficiencí při gastroenterohelminthozách.

Anthelmintická účinnost Nilvermu je dostatečně známá (Thienpont a kol. 1966, Smith, Bell 1968, Colglazier a kol. 1970, Gordon 1970, Chroust 1972 a jiní) a plně se potvrdila v našich pokusech. Mimo účinku na dospělce a preimaginální stadia ověřili jsme si i jeho ovicidní účinek pozorovaný Rosem a kol. (1970). Potvrzují jej koprologická vyšetření v rozmezí 6 hodin po podání anthelmintika, neboť pasáž vajíčka střevem hostitele trvá minimálně 24 hodiny. Neúplné vymizení vajíčka po léčení (obr. 1 a 3), pohybující se v nízkých hodnotách E. P. G., vysvětluje anthelmintickou rezistenci *T. colubriformis* vůči některým preparátům thiabendazolové řady (Hotsón a kol. 1970) a nálezy nedospělých nematodů v 5. a 6. stadiu vývoje prokázaných helmintologickou pitvou u uhynulého jehněte č. 1 týden po aplikaci léčiva. Vymizení dospělců urychlilo vývoj těchto stadií nematodů.

V podzimní části pokusu jsme již nekontrolovali invazi helmintologickou pitvou, protože šlo o doplňující ověření vlivu invaze a působení léčiva na hodnoty hematologického a biochemického vyšetření, které jsme již dříve sledovali u přirozeně invadovaných ovcí (Zajíček a kol. 1972a, b).

Literatura

- ANDERSEN T. L., LEVINE N. D., BOATMAN P. A., 1970, Survival of thirdstage *Trichostrongylus colubriformis* larvae on pasture. *Parasitology* 56 : 209-239.
- ANDREWS J. S., 1939, Experimental trichostrongylosis in sheep and goats. *J. agric. Res.* 58 : 761-770.
- ANDREWS J. S., 1942, Stomach worm *Haemonchus contortus* infection in lambs and its relation to gastric haemorrhage and general pathology. *J. agric. Res.* 65 : 1-18.
- BAKER N. F., COOK E. F., DOUGLAS J. R., CORNELIUS C. E., 1959, The pathogenesis of trichostrongylid parasites. III. Some physiological observations in lambs suffering from acute parasitic gastroenteritis. *J. Parasit.* 45 : 643-651.
- BRAMBELL M. R., CHARLESTON V. A. G., 1964, Abomasal bleeding caused by immature stages of *Haemonchus contortus* in sheep showing age resistance. *J. comp. Path.* 74 : 338-345.
- BREZA M., 1959, Zlepšenie metodiky koproovoskopického vyšetřovania trusu ošípaných s použitím nového flotačného roztoku a mukogélu. *Vet. čas.* 8 : 569-576.
- BRUNSDON R. V., 1970, Evaluation and control of economic losses resulting from trichostrongyle worm infection in sheep. *J. Parasit.* 56 (Sect. 2.) : 40.
- COLGLAZIER M. L., KATES K. C., ENZIE F. D., 1970, Activity of L-tetramisole, pyrantel tartrate and MK — against two thiabendazole-tolerant isolates of *Haemonchus contortus*, and two species of *Trichostrongylus* in sheep. *J. Parasit.* 56 (Sect. 2.) : 59.
- DORAN D. J., 1955, The source of infection and pathogenic effect of *Trichostrongylus axei* in calves. *Am. J. vet. Res.* 16 : 401-409.
- ERHARDOVÁ B., 1962, Příspěvek k ekologii cizopasných červů přežvýkavců. *Čs. Parasit.* 9 : 191-199.
- FIELD A. C., BRAMBELL M. R., CAMBELL J. A., 1960, Spring rise in faecal worm-eggs counts of housed sheep and its importance in nutritional experiments. *Parasitology* 50 : 387-399.
- GIBSON T. E., 1966, The ecology of the infective larvae of *Trichostrongylus colubriformis*. *Biology of Parasites*. Acad. Press New York, London : 2-14.
- GORDON H. McL., 1948, The epidemiology of parasitic diseases with special references to studies with nematode parasites of sheep. *Aust. vet. J.* 24 : 17-45.

- GORDON H. McL., 1970, The rational use of anthelmintics in the control of parasitic gastroenteritis in sheep. *J. Parasit.* 56 (Sect. 2.) : 120-121.
- HERLICH H., 1957, Preliminary observations on calves experimentally infected with *Trichostrongylus colubriformis*. *Proc. Helm. Soc. Wash.* 24 : 139-140.
- HERLICH H., 1962, Studies on calves experimentally infected with combinations of four nematode species. *Am. J. vet. Res.* 23 : 521-528.
- HERLICH H., 1966, Immunity to *Trichostrongylus colubriformis* in guinea pigs and lambs. *J. Parasit.* 52 : 871-874.
- HOTSON I. K., CAMPBELL N. J., SMEAL M. G., 1970, Anthelmintic resistance in *Trichostrongylus colubriformis*. *Aust. vet. J.* 46 : 356-360.
- HOVORKA J., 1963, Helminthy a helmintohostitelské vzťahy. SAV Bratislava.
- HULÍNSKÁ I., 1969, Die Determinationsmerkmale der Invasionslarven bei Schaf-darmhelminthen. *Acta Sci. Nat. Acad. Sci. Bohemoslov., Brno, III. Nova Series* (8) : 1-35.
- CHARLESTON W. A. G., 1965, Pathogenesis of experimental haemonchosis in sheep with special reference to the development of resistance. *J. comp. Path.* 75 : 55-67.
- CHROUST K., 1972, Evaluation of the anthelmintic effect of tetramisole and levamisole against pneumo- and gastroenterohelminths in sheep. *Acta vet. Brno* 41 : 19-30.
- KATES K. C., TURNER J. H., 1960, Experimental *Trichostrongylosis (axei)* in lambs with a discussion of recent research on this disease in ruminants. *Am. J. vet. Res.* 21 : 254-261.
- MALCZEWSKI A., 1971, Experimental *Haemonchus contortus* infection in lambs. — Parasitology and pathogenesis of single infection. Pathology of parasitic diseases, Purdue Univ. Studies, Lafayette, Ind., USA : 309-316.
- MANSFIELD M. E., LEWIS J. M., MCKIBBEN G. E., 1967, Rearing lambs free of gastrointestinal nematodes. *J. A. V. M. A.* 151 : 1182-1185.
- NICKEL S., DIMITROV G., HIEPE Th., 1971, Tetramisole gegen Magen-Darm-Strongylaten bei Schafen. *Angew. Parasit.* 12 : 2-10.
- OLTEANU G., DIDA I., 1971, Helmintho-dermatitis of pseudoscabies in sheep. — 1er Multicolloque européen de Parasitologie, Rennes, 1. au 4. Sept.
- PEREGUDOV T. A., 1971, Patomorfologičeskie izmenenia v syčuge ovec pri gemonchoze. *Veterinaria (SSSR)* (1) : 63-65.
- POESCHEL G. P., TODD A. C., 1969, Relationship of the host's diet to the parasitic development of *Haemonchus contortus*. *Am. J. vet. Res.* 30 : 1223-1228.
- PROCTOR G. P., GIBBS H. C., 1968, Spring rise phenomenon in ovine helminthiasis. II. In stabled ewes experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Expl. Parasit.* 23 : 323-330.
- RATCLIFF C. A., BROWN M. O., 1968, Some host response to nematode infections. *Am. J. Gastroent.* 50 : 442-448.
- ROBERTS F. H. S., O'SULLIVAN P. J., 1950, Methods for egg count and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. J. agric. Res.* 1 : 99-102.
- ROSA W. A., NIEC R., LUKOWICH R., MENA SEGURA C. A. R., 1970, Evaluación de la acción ovidica y antihelmintica por exámenes coproparasitológicos. III. Tetramisol. *Rev. Invest. Agropec. Buenos Aires, Ser. A.*, 7 : 35-44.
- SHUMARD R. F., BOLIN D. W., EVELETH D. F., 1957, Physiological and nutritional changes in lambs infected with the nematodes *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* and *Nematodirus spathiger*. *Am. J. vet. Res.* 18 : 330-337.
- SILVERMAN P. H., MANSFIELD M. E., SCOTT H. L., 1970, *Haemonchus contortus* infection in sheep: Effect of various levels of primary infections on nontreated lambs. *Am. J. vet. Res.* 31 : 841-857.
- SMITH H. J., 1970, On the development of gastrointestinal parasitism in bovine yearlings. *Can. J. comp. Med.* 34 : 303-308.
- SMITH J. P., BELL R. R., 1968, Further studies on the anthelmintic activity of L-tetramisole against gastrointestinal helminths in sheep. *Swest. Vet.* 22 : 25-28.
- SWAN R. A., 1970, The epizootology of haemonchosis in sheep. *Aust. vet. J.*, 46 : 485-492.
- SULC R. S., 1969, Problems in pathology, immunology and chemoprophylaxis of helminthiasis of farm animals. *Tr. Kazach. Naučno-issled. Vet. In-ta, Alma-Ata*, 13 : 157-167.
- THEODORIDES V. J., A simple method for the culture and recovery of larvae of intestinal nematodes of sheep. *Vet. Rec.* 76 : 353.

- THIENPONT V. J., VANPARIJS O. F. J., RAEYMAEKERS A. M. M., VANDENBERK J., DEUWEN P. J. A., ALLENIJF F. T. N., MARSBOOM R. P. H., NIEMEGERES C. J. E., SCHELLEKENS K. H. L., JANSSEN P. A. J., 1966, Tetramisole (R 8299), a new broad spectrum anthelmintic. *Nature* 209 : 1084-1086.
- WALLER P. J., DONALD A. D., 1970, The response to dessiccation of eggs of *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae). *Parasit.* 61 : 195-204.
- WHITLOCK J. H., 1966, The environmental biology of nematode. *Biology of Parasites*, Acad. Press. New York, London : 184-197.
- WILLIAMS G. A. H., PALMER B. H., 1964, *Trichostrongylus colubriformis* (a nematode parasite of sheep and other ruminants) as a test organism in screening for sheep anthelmintics in the laboratory. *Nature* 203 : 1399-1400.
- ZAJÍČEK D., MÁROVÁ M., KALOÚS F., 1972, Dehelminthizace ovcí preparáty Davainex (Spofa), Helmatac (SKF), Nilverm (ICI) a její vliv na některé hodnoty klinického vyšetření. *Vet. Med. (Praha)* 6 : 341-350.
- ZAJÍČEK D., VOREL F., MAKOC Z., 1972, Změny v aktivitě aminotransferáz (SGOT, SGPT) po dehelminthizaci ovcí s polyvalentní invazí helmintů. *Vet. Med. (Praha)* 7 : 437-442.

Došlo dne 8. 6. 1972

ЗАЙЧЕК Д. (Паразитологический институт ЧСАН, Прага, Чехословакия). Патогенез экспериментальной инвазии *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* у ягнят и ее изменения в результате лечения Нилвермом (ICI). *Vet. Med. (Praha)* 17 (12) : 743-752, 1972.

Экспериментальная инвазия нематоды вида *Haemonchus contortus* и *Trichostrongylus colubriformis* у 6 ягнят породы «Волошская» в возрасте 4 месяца и со средним весом 12, — кг была в апогее лишь на 34-й день после подачи личинок. Болезнь проявила себя сильными поносами, анемией слизистых оболочек и убылью веса. У 2 ягнят *pseudoscabies* вызвала падеж, а у 1 ягненка — выпадение шерсти, начиная 27-м днем инвазии. После введения Нилверма признаки поноса исчезли спустя 2 дня, а общие признаки заболевания — в течение 7 дней. Выделение яиц заметно сократилось уже спустя 12 час. после дачи лекарства, у большинства ягнят они исчезли из экскрементов через 2—10 дней. У 3 неинвазированных ягнят не наблюдали никаких клинических изменений после введения Нилверма. Согласно копрологическому исследованию эффективность лечения достигла 99,92 % у *Haemonchus contortus* и 99,55 % у *Trichostrongylus colubriformis*, итого у обоих видов 99,78 %. В летний период на пастбище естественным путем болезней интенсивно заражались ягнота контрольной группы, чем прошедшие через экспериментальную инвазию. Созданная как посредством естественной, так и искусственной инвазии устойчивость существенно ослабила возможность рецидива личинками *H. contortus* и *T. colubriformis*. Не отмечено ни сильных проявлений болезни, ни весовых потерь. Согласно копрологическим исследованиям, эффективность лекарства, подаваемого после новой инвазии, составила 99,14 %.

экспериментальный гемонхоз и трихостронгилез; динамика естественной инвазии; дегельминтизация; Нилверм (ICI)

ZAJÍČEK D. (Parasitological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague, Czechoslovakia). The Pathogenesis of the Experimental Invasion of Lambs by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* and its Changes Resulting from Nilverm (ICI) Treatment. *Vet. Med. (Praha)* 17 (12) : 743-752, 1972.

The experimental infection of 6 lambs of the „Valaška“ breed weighing 12 kgs, on an average at the age of 4 months by the nematodes of the species *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* reached its peak only on the 34th day after the application of the larvae. The invasion caused severe diarrhoea, anemias of mucous membranes and reduction of weight. In two cases the invasion was the cause of the death of the lambs and in one case it resulted in wool shedding — *pseudoscabies* — beginning on the 27th day of infection. After the application of Nilverm the symptoms of diarrhoea disappeared in two days and the general symptoms of the disease were removed within 17 days. Egg production was significantly reduced

already 12 hours from the application of the drug, and in most lambs the eggs disappeared from the faeces in 2 – 10 days. No clinical changes after the application of Nilverm were observed in three uninfected lambs. As indicated by the results of the coprological examination, the effectivity of the drug reached the levels of 99,92 % (*Haemonchus contortus*) and 99,5 % (*Trichostrongylus colubriformis*). The average effectivity for both species was 99,78 %. In the summer grazing season the natural infection was more intensive in the lambs of the control group, as compared with those recovered from the experimental infection. The resistance resulting from the experimental and natural infection considerably reduced the possibility of new infection by the larvae of *H. contortus* and *T. colubriformis*. No apparent symptoms of disease and no weight loss were observed. The application of the drug in cases of reinvasion reached the overall effectivity of 99,14 %, as indicated by the results of coprological examination.

experimental haemonchosis and trichostrongylosis; dynamics of natural infection; dehelminthization; Nilverm (ICI)

ZAJÍČEK D. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha Tschechoslowakei). *Pathogenese der experimentellen Haemonchus contortus- und Trichostrongylus-colubriformis-Invasion bei Lämmern und ihre Veränderungen nach Nilverm-(ICI)-Therapie*. Vet. Med. (Praha) 17 (12) : 743-752, 1972.

Die experimentelle Nematodeninvasion der Arten *Haemonchus contortus* und *Trichostrongylus colubriformis* bei 6 Lämmern der Walachischen Schafrasse im Alter von 4 Monaten und bei 12 kg Durchschnittsgewicht erreichte am 32. bis 34. Tag nach Verabreichung der Larven ihren Höhepunkt. Bei zwei Lämmern war die Invasion Ursache des Verendens und bei einem Lamm verursachte sie Wollausfall (*Pseudo-scabies*) ab 27. Invasionstag. Nach Applikation des Präparates Nilverm verschwanden die Durchfälle innerhalb von zwei Tagen und die gesamten Erkrankungssymptome innerhalb von 17 Tagen. Bereits in 12 Stunden nach Anwendung des Medikamentes nahm die Ausscheidung von Eiern wesentlich ab und bei der Mehrzahl der Lämmer verschwanden die Eier in 2 bis 10 Tagen aus dem Kot. Bei drei nichtinvierten Lämmern wurden nach Nilvermapplikation keine klinischen Veränderungen beobachtet. Der koprologischen Untersuchung gemäß betrug der Effekt des geprüften Medikamentes bei *Haemonchus contortus* 99,92 %, bei *Trichostrongylus colubriformis* 99,55 %, insgesamt bei beiden Parasiten 99,78 %. In der Sommerweideperiode wurden auf natürliche Weise die Lämmer der Kontrollgruppe intensiver als die von experimenteller Invasion geheilten Lämmer invadiert. Die bei der experimentellen und natürlichen Invasion entstandene Resistenz verringerte wesentlich die Möglichkeit der Reinvasion von *H. -contortus*- und *T. -colubriformis*- Larven. Es kam zu keinen ausgeprägten Krankheitserscheinung und Gewichtsverlusten. Die Applikation des Medikamentes nach Reinvasion erreichte eine Effektivität von 99,14 % auf Grund der koprologischen Untersuchung.

experimentale Haemonchose und Trichostrongylose; Dynamik der natürlichen Invasion; Dehelminthisierung; Nilverm (ICI)

Adresa autora:

MVDr. D. Z a j í č e k, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Praha 6, Flemingovo n. 2

Zeman J., Lisek J., Lisková J.: Teplotní režim v halách pro rodící a kojící prasnice na velkokapacitní farmě pro prasata	705
Balát F.: Ptačí složka biocenózy dvou drůbežáren a její úloha v udržování a rozšiřování aviární tuberkulózy	713
Žuffa A., Chumchal R.: Štúdium infekcie primárnych teľacích obľichových buniek vírusom infekčnej bovinnej rhinotracheitídy (IBR) pomocou imunofluorescencie	723
Prokúpek K.: Toxická aktivita desintegrované buňky a endotoxinům podobných látek <i>Bacillus cereus</i>	737
Zajíček D.: Patogeneza experimentální invaze <i>Haemonchus contortus</i> a <i>Trichostrongylus colubriformis</i> u jehňat a její změny po léčbě Nilvermen (ICI)	743

СОДЕРЖАНИЕ

Земан Й., Лисек Й., Лискова Й.: Температурно-водный режим в родильных помещениях и в помещениях для подсосных маток на крупногабаритной свиноферме	711
Балат Ф.: Птичий компонент биоценоза на двух птицефермах и его роль в сохранении и распространении птичьего туберкулеза	723
Жуффа А., Хумчал Я.: Изучение заражения первичных телячьих почечных клеток вирусом инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота при помощи иммунофлуоресценции	735
Прокупек К.: Токсическая активность дезинтегрированной клетки и подобных эндотоксинам веществ <i>Bacillus cereus</i>	742
Зайчек Д.: Патогенез экспериментальной инвазии <i>Haemonchus contortus</i> , <i>Trichostrongylus colubriformis</i> у ягнят и ее изменения в результате лечения Нилвермом (ICI)	751

CONTENTS

Zeman J., Lisek J., Lisková J.: The temperature and Moisture Regimes in Halls for Farrowing and Suckling Sows on the Large-Capacity Pig Farm	712
Balát F.: The Avian Component of the Biocenosis of Two Poultry Farms and its Role in Maintaining and Spreading Avian Tuberculosis	723
Žuffa A., Chumchal R.: Studying the Infection of the Primary Calf Kidney Cells with the Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) Virus by the Immunofluorescent Method	735
Prokúpek K.: The Toxic Activity of the Disintegrated <i>Bacillus cereus</i> Cell and Substances Similar to Endotoxins	742
Zajíček D.: The Pathogenesis of the Experimental Invasion of Lambs by <i>Haemonchus contortus</i> and <i>Trichostrongylus colubriformis</i> and its Changes Resulting from Nilverm (ICI) Treatment	751

INHALT

Zeman J., Lisek J., Lisková J.: Wärme- und Feuchtigkeitsregime in Hallen für abferkelnde und säugende Sauen auf Schweinegroßfarmen	712
Balát F.: Die Vogelkomponente der Biozönose in zwei Geflügelhöfen und ihre Rolle bei der Erhaltung und Verbreitung von Geflügeltuberkulose	724
Žuffa A., Chumchal R.: Untersuchungen über die Infektion der primären Kälbernierenzellen mit Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) mit Hilfe der Immunofluoreszenz	736
Prokúpek K.: Toxische Aktivität der desintegrierten Zelle und der, den Endotoxinen ähnlichen Stoffe des <i>Bacillus cereus</i>	742
Zajíček D.: Pathogenese des experimentellen <i>Haemonchus-contortus</i> - und <i>Trichostrongylus-colubriformis</i> - Invasion bei Lämmern und ihre Veränderungen nach Nilverm-(ICI)-Therapie	752

- Zeman J., Lisek J., Lisková J.: Régime de température et d'humidité dans les halls destinés aux truies qui mettent bas et allaitent dans la ferme à grande capacité pour les porcins (res. An, Al/712).
- Balát F.: L'élément aviaire de la biocénose de deux poulaillers et son rôle dans le maintien et l'extension de la tuberculose aviaire (res. An/723, Al/724).
- Žuffa A., Chumchal R.: Etude de l'infection des cellules rénales primaires de veau à l'aide du virus de la rhinotrachéite bovine infectieuse (IBR) en appliquant l'immunofluorescence (res. An/735, Al/736).
- Prokůpek K.: Activité toxique de la cellule désintégrée et des substances semblables aux endotoxines de *Bacillus cereus* (res. An, Al/742).
- Zajiček D.: Pathogénèse de l'invasion expérimentale de *Haemonchus contortus* et de *Trichostrongylus colubriformis* dans les agneaux et ses modifications après le traitement par Nilverme (ICI) (res. An/751, Al/752).

