

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

ROČNÍK 19 (XLVII)
PRAHA
DUBEN 1974
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

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 1974

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje stu-
die, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech vý-
zkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědecko-
technických informací. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56
Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné
Kčs 120,—.

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обо-
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 120 56 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 Informa-
tion. Issued monthly. Editorial office 120 56 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 120 56 Praha 2, Slezská 7.

Le journal scientifique VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publie
les études, analyses et traités scientifiques concernant les
tâches de recherches résolus dans le domaine de médecine
vétérinaire. Publie par l'Institut des Informations Scienti-
fiques et Techniques. Paraît une fois par mois. Rédaction
120 56 Prague 2, Slezská 7.

POKUS O OZDRAVENIE CHOVOV OŠÍPANÝCH ZAMORENÝCH AUJESZKÉHO CHOROBU

A. Žuffa, M. Michalovič, I. Dušek, K. Mráček

Výskumné stredisko, Bioveta, Nitra

Okresné veterinárské stredisko, Komárno

ŽUFFA A., MICHALOVIČ M., DUŠEK I., MRÁČEK K. *Pokus o ozdravenie chovov ošípaných zamorených Aujeszského chorobou.* Vet. Med. (Praha) 19 (4): 177-187, 1974.

Študovali sa možnosti likvidácie Aujeszského choroby (Au. ch.) v dvoch plemenných chovoch ošípaných s endemickým zamorením, resp. s akútnym vzplanutím nákazy. V endemicky zamorenom chove sa pretrvávajúce infekcie počas jedného roka dokazovalo len vysokým stupňom séropozitivity prasiat všetkých vekových skupín. Po podstatnom znížení stavu prasiat, a to odsunom odstavčiat a jatočne zreľých prasiat a dvojrázovom preočkovaní chovných zvierat a zbývajúcich behúňov živou vakcínou SUIVAK I, boli novoodstavované prasatá sérologicky negatívne. Séronegativita odchovu sa dokazovala počas siedmich mesiacov, načo došlo k akútnemu vzplanutiu nákazy. Získané údaje nedovoľujú vyjadriť sa o tom, či zdrojom infekcie bol vírus pretrvávajúci v chove alebo zavlečený zvonku. V druhom chove sa v období akútneho priebehu nákazy uskutočnilo dvojrázové očkovanie celého stavu prasiat živou vakcínou SUIVAK II, načo sa z chovu odsunuli odstavčatá a všetky staršie prasatá. Novonarodené prasatá sa očkovali ako 1—2týždňové a pri odstave, potom sa z chovu taktiež priebežne odsúvali. Po šiestich mesiacoch sa s očkovaním prestalo, nevakcinované prasatá zostali v chove a pri vyšetrovaní vo veku 4 mesiacov boli sérologicky negatívne. Po dorastení boli prasnice pripustené a použité k výmene pôvodne infikovaného základného stáda, ktorá sa uskutočnila na dve etapy. Tým sa dosiahla všeobecná séronegativita a ozdravenie chovu. Diskutuje sa o význame a účinku očkovania živou vakcínou v rámci ozdravovacieho procesu v uvedených chovoch.

Aujeszského choroba; endemické zamorenie chovov ošípaných; veterinárno-zdravotné opatrenia; imunoprofylaxia živou vakcínou; pokusy o ozdravenie

V chovoch ošípaných, v ktorých prebehla Aujeszského choroba (Au. ch.), ale došlo k vymiznutiu vírusu, sa dosiahla elimináciou zvierat s obsahom neutralizačných protilátok (NP) nulová prevalencia séropozitivity, a tým ozdravenie (Kretschmar 1970, Žuffa a Grunert 1973). Prítomnosť infekcie v chove prasiat sa len v iniciálnom štádiu, v období všeobecnej vnímavosti, manifestuje klinicky a neskôr vyvolaním séropozitivity. U väčšiny zvierat prebieha inaparentne s navodením perzistentnej časovo neohraničenej infekcie (Sabó a Grunert 1971, Žuffa a Grunert 1973). Existencia pretrvávajúcich asymptomatických infekcií má osobitný význam v plemenných chovoch, keďže z nich sa odsúvajú zvieratá do veľkého počtu chovov a na veľké vzdialenosti. Predpokladom pre ozdravenie endemicky zamoreného chovu je prerušenie pretrvávajúcej infekcie a eliminácia vírusu z chovu; to by umožnilo odchov zdravého potomstva, ktorým by sa naraz alebo postupne vymenili.

pôvodne infikované, sérologicky pozitívne zvieratá. Doposiaľ neboli predložené dôkazy o tom, že by sa bolo podarilo vytlačiť vírus Au. ch. z endemicky zamoreného chovu a dosiahnuť jeho ozdravenie.

V dvoch plemenných chovoch ošipáných sme sa pokúsili kombinovaním veterinárno-zdravotných opatrení a imúnoprofylaktických zákrokov prerušiť pretrvávajúcu infekciu a následnou elimináciou sérereagentov dosiahnuť ich ozdravenie. V predkladanom oznámení referujeme o postupe našej práce a dosiahnutých výsledkoch.

MATERIÁL A METÓDY

TKANIVOVÉ KULTÚRY

Kuracie embryonálne bunky (KEB), získané trypsinizáciou 11dňových zárodokov, sme zakladali do skúmaviek v množstve po 200 000 buniek na skúmavku. Ako médium sme použili Hanksov roztok s 0,3 % hydrolyzáta laktalbumínu (LAH) a 5 % inaktivovaného telacieho séra. Po 24–48hod. inkubácii pri 37 °C boli kultúry vhodné pre použitie.

VIŠETROVANIE SÉR NA OBSAH PROTILÁTKOV

Vírus (kmeň Buk-TK-200, Žuffa 1963), nariadený tak, aby obsahoval okolo 2×10^3 TKID₅₀/0,1 ml, sa zmiešal s rovnakým množstvom séra v neriedenom stave a v riedení 1 : 2. Zmes vírusu a séra sa inkubovala 1 hod. pri 37 °C a dávkou 0,1 ml sa očkovali po dve skúmavkové kultúry KEB. Výsledok sa odčítal po 48–72hod. inkubácii pri 37 °C. Za negatívne sa považovali tie séra, ktoré ani v neriedenom stave neneutralizovali cytopatický účinok vírusu. Použitie riedenia 1 : 2 umožnilo odčítať výsledok pri takých sérach, ktoré v neriedenom stave vykazovali nešpecifický cytopatický účinok.

VIROLOGICKÉ VIŠETRENIE

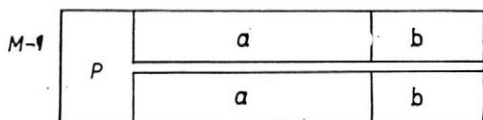
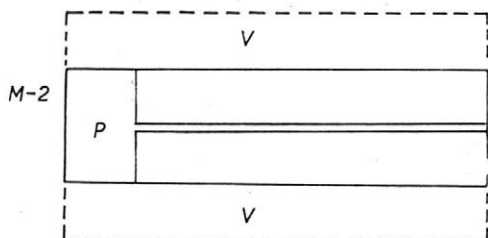
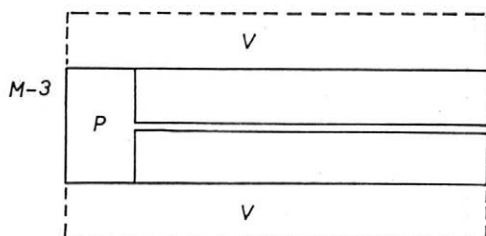
Pri pokusoch o dôkaz AV na živých zvieratách sme robili tampónové výtery z orofaryngu a tonzil. Eluáty získané ponorením tampónov na 24 hod. pri +4 °C do 3 ml Earlovho roztoku s 0,3 % LAH-u a 5 % inaktivovaného konského séra, sme očkovali jednotlivo na skúmavkové kultúry KEB v dávke 0,1 ml po štyri skúmavky na jednu vzorku. Zmesnými vzorkami, vždy po 10 výluhov, sme inokulovali po dva králiky v dávke 5 ml *i. m.*

POUŽITÉ VAKCÍNY

K očkovaniu prasníc v chove JRD M. Z. sme použili lyofilizovanú vakcínu SUIVAK I (Žuffa a Salaj 1971), očkovanie prasiat v chove ŠM-B. N. D. sa robilo vakcínou SUIVAK II (Žuffa 1963, 1964).

VÝSLEDKY

A. V plemennom chove JRD-M. Z. bolo okolo 650 zvierat, z toho 80 prasníc, 6 kancov, 186 ciciakov a 358 odstavčiat a odrastených prasiat. Celý chov pozostával z troch objektov, v ktorých boli ustajnené zvieratá podľa jednotlivých kategórií, ako je uvedené na obr. 1.



1. Objekty, v ktorých boli ustajnené zvieratá podľa jednotlivých kategórií: M-1 = matečník; P = prípravňa krmív; a = koterce pre prasnice a ciciaky; b = koterce pre vyprásené prasnice; M-2, M-3 = maštale pre odstav a odchov

V decembri r. 1970 uhynuli z jedného vrhu dve a z ďalšieho tri cicajúce prasatá a súčasne sa pri dospelých zvieratách zaznamenala krátkodobá inapetencia a mierna somnolencia. Poruchy zdravotného stavu zvierat sa dávali do súvislosti s predchádzajúcou zmenou krmiva. Z uvedených dôvodov sa odoslalo k laboratórnemu vyšetreniu krmivo a dva z uhynulých ciciakov, z ktorých bol izolovaný vírus Au. ch. Predtým sa v chove nepozorovali príznaky poukazujúce na prítomnosť infekcie AV a krátko po opísaných zmenách sa zdravotný stav celého stavu zvierat rýchlo upravil.

Sérologickým vyšetrením dňa 14. 5. 1971 sa dokázala prítomnosť protilátok u všetkých zvierat základného stáda, kým šesť zo siedmich odstavčiat uliahnutých za 7 týždňov od dôkazu vírusu reagovalo negatívne. Následný odber krvi sa robil 15. 7. 1971, t. j. za 8 týždňov, a to len od behúňov starších ako štyri mesiace. Súčasne sa robili tampónové výtery z orofaryngu od 20 prasníc a 20 behúňov. Virologické vyšetrenie dalo vo všetkých prípadoch negatívny výsledok, kým 27 zo 48 (56 %) vyšetrených odstavčiat reagovalo sérologicky pozitívne. Približne rovnaké výsledky dali aj ďalšie vyšetrenia počas 8 mesiacov, čo svedčilo pre pretrvávajúce inaparentnej infekcie a endemické zamorenie chovu. Po tomto zistení sa v chove uskutočnili nasledovné opatrenia:

a) Podstatne sa znížil počet zvierat v chove, a to odpredajom odstavčiat na výkrm a odsunom všetkých jatočne zreých ošípaných. Tým sa uvoľnila celá maštal č. 3 a polovica z maštale č. 2, v ktorej zostali ošípané, nevhodné pre jatočné zužitkovanie. Maštal č. 3 sa čiastočne prebudovala a všetky maštálne priestory a výbehy sa dezinfikovali.

b) Všetky prasnice a kanci základného stáda, ako aj odrastené ošípané, ktoré ostali v chove, boli preočkované dvojrázovo vakcínou SUIVAK I. v ča-

I. Prehľad výsledkov sérologických vyšetrení v chove JRD D. O.

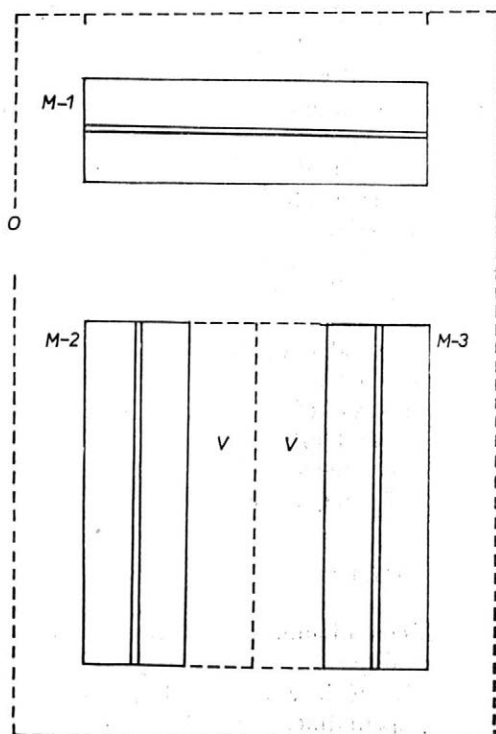
Por. č.	Dátum vyšetrenia	Vek prasiat	Počet vzoriek	Výsledok vyšetrenia		
				pozitívny	negatívny	nevhodné pre vyšetrenie
1	14. 6. 71	prasnice a kanci základného stáda	86	86	—	—
		4 mesačné	7	1	6	—
2	15. 7. 71	4-mesačné a staršie	48	27	21	—
3	25. 8. 71	4—5-mesačné	80	69	11	—
4	13. 12. 71	3-mesačné	24	24	—	—
		8—9-mesačné	9	9	—	—
18. 12. 71 uskutočnené očkovanie vakcínou SUIVAK I s revakínáciou za 4 týždne						
5	13. 1. 72	3-mesačné	20	19	1	—
6	1. 3. 72	6-mesačné	20	19	1	—
		3-mesačné	20	—	20	—
7	27. 4. 72	6-mesačné a staršie	70	—	70	—
8	27. 7. 72	6 mesačné a staršie	112	—	112	—
9	26. 9. 72	6-mesačné a staršie	108	—	108	—
10	28. 11. 72	6-mesačné a staršie	188	65	123	—
11	11. 12. 72	3-mesačné a staršie	341	200	139	2

sovom odstupe štyroch týždňov. Odstavené prasatá sa držali v maštali č. 1 a do maštale č. 3 sa presunuli až po ukončení stavebných úprav. Medzičasom sa odsunuli aj zbývajúce prasatá z maštale č. 2, ktorá sa po dezinfekcii taktiež zaplňovala odstavovanými prasatami. Ako vidieť z tab. I, reagovali všetky prasatá, odstavené po uskutočnených opatreniach, v časovom rozpätí od 1. 3. 1972 do 26. 9. 1972, sérologicky negatívne. Všeobecná séronegativita odrastených prasiat počas sedemmesačného obdobia dovoľovala predpokladať, že sa podarilo eliminovať vírus Au. ch. z chovu, a že po vylúčení protilátok kolostrálneho pôvodu u mladých prasiat a po odsune pozitívnych prasníc sa dosiahne nulová prevencia séropozitívity a tým ozdravenie. V období od 1. 10. do 30. 10. 1972 sa dospelé zvieratá z chovu odsunuli do zamoreného produkčného chovu a maštálne priestory sa dezinfikovali. Nato sa uskutočnilo ďalšie vyšetrenie zvierat, pri ktorom zo 188 vzoriek reagovalo 65 pozitívne. Žiada sa poznamenať, že pri tomto odbere krvi vyslovili zootechnik a ošetrovatelia určité obavy z výsledku vyšetrenia, keďže asi dva týždne predtým prebehlo u prasiat v jednom

koteraci respiratórne ochorenie. Ošetrujúci veterinárny lekár naordinoval antibiotiká s poukazom na to, že za rovnakých príznakov prebehlo prednedávnom ochorenie dýchadiel v chove JRD-S, vzdialenom asi 6 km. Vyšetrenie ukázalo, že všetkých 25 prasíat v postihnutom koteraci a niekoľko aj v prilahlých kotercoch reagovalo pozitívne.

Pozitívne reagujúce zvieratá sa ihneď z chovu vyradili a za 13 dní sa uskutočnilo ďalšie vyšetrenie, ktorého výsledok (200 pozitívnych z 341 vyšetrených) svedčil pre značné rozšírenie infekcie v chove. Krátko nato sa začali prasíť pripustené prasnice pôvodne sérologicky negatívne, pričom došlo k prvým abortom, ochoreniu a hynutiu ciciakov. V priebehu 14 dní abortovalo 12 prasníc a uhynulo 56 cicajúcich prasíat. Väčšina dospelých zvierat v chove vykazovala počas niekoľkých dní somnolenciu a inapetenciu. Po virologickom potvrdení diagnózy sa celý stav zvierat preočkoval vakcínou SUIVAK II, načo hynutie ciciakov a aborty prestali.

B. V plemennom chove ŠM-B. N. D. bolo 60 prasníc, 4 kanci, 154 ciciakov a 270 odstavčiat a dorastajúcich prasíat. Rozloženie maštali a ustajnenie prasíat podľa jednotlivých kategórií je uvedené na obr. 2. Au. ch. prepukla v chove vo floridnej forme v januári 1971 a v priebehu troch týždňov abortovalo 5 prasníc a uhynulo 38 ciciakov a odstavčiat. U odrastených prasíat sa straty hynutím nezaznamenali. Za účelom eliminácie vírusu a ozdravenia realizoval sa v predmetnom chove nasledovný program: Celý stav prasíat, včítane novonarodených ciciakov a gravidných prasníc, sa dvojrázovo preočkoval vakcínou SUIVAK II v intervale štyroch týždňov. Po revakcinácii sa odsunuli všetky odstavčatá a staršie prasatá a v chove zostali len plemenné zvieratá a ciciaky. V ďalšom sa vakcinovali všetky novorodené ciciaky vo veku 2–3



2. Rozloženie maštali a ustajnenie prasíat podľa jednotlivých kategórií: M-1, M-2 = matečníky; M-3 = maštal pre odstav a odchov; V = výbehy; O = oplotenie

II. Prehľad výsledkov sérologického vyšetrenia v chove ŠM B. N. D.

Por. čís.	Dátum vyšetrenia	Vek prasiat	Počet vzoriek	Výsledok vyšetrenia	
				pozitívny	negatívny
1	28. 12. 71	prasnice a kanci základného stáda	60	55	5
		4-mesačné	20	—	20
2	18. 4. 72	4-mesačné a staršie	102	—	102
3	7. 8. 72	6-mesačné a staršie	133	2	131
4	16. 10. 72	pripustené prasnice pripravené do plemenitby	43	—	43
5	20. 11. 72	prasnice a kanci nového základného stáda	61	—	61

týždňov a revakcinovali sa pri odstave, načo sa taktiež z chovu odsunuli. Takýto postup imunizácie, s následným odsunom odstavčiat, sa uskutočňoval počas šiestich mesiacov. Po tomto čase sa prestalo s očkovaním a naďalej sa odsúvali len vakcinované prasatá, kým tie, ktoré už očkované neboli, zostali v chove a pri odstave sa presúvali do maštale č. 3. Dňa 28. 12. 1971 sa uskutočnilo prvé sérologické vyšetrenie, pri ktorom reagovalo zo 60 zvierat základného stáda pozitívne 55 (91,7 %), kým všetkých 20 ca štvormesačných prasiat bolo bez protilátok. Pokračujúcim odstavom prasiat došlo v chove postupne k prevalencii sérologicky negatívnych zvierat. Pozitívne reagovali len prasnice a kanci základného stáda a novonarodené prasatá do vylúčenia kolostrálnych protilátok. Pôvodne infikované prasnice sa po odstave prasiat nepripúšťali a postupne sa z chovu odsúvali. Súčasne sa pripúšťali pohlavne zrelé a sérologicky negatívne prasničky novonakúpenými zdravými kancami. Jeden z matečníkov (č. 1) sa po vyprázdnení a dezinfekcii obsadil naraz mladými gravidnými prasnicami. Tak isto sa postupovalo aj pri obsadzovaní matečníka č. 2. Celý stav pôvodného stáda sa odsunul v období od mája do augusta r. 1972, pričom praseňie mladých sérologicky negatívnych prasníc započalo skôr ako boli odsunuté všetky zvieratá, prítomné v chove v čase infekcie. Po odsune pozitívnych dospelých zvierat reagovali všetky prasatá staršie ako tri mesiace sérologicky negatívne (tab. II). Pri vyšetrení dňa 20. 11. 1972 boli už vypraseňé všetky mladé prasnice, načo bol chov vyhlásený za ozdravený.

Ako vidieť z obr. 2, boli pôvodne infikované a vakcinované prasnice v priamom kontakte s negatívnym odchovom počas niekoľkých mesiacov, keďže výbehy obidvoch maštali boli navzájom oddelené len jednoduchým plotom z rúrkového železa, so vzdialenosťou jednotlivých tyčí 12 cm.

DISKUSIA

Mechanizmus a spôsob pretrvávania AV v endemicky zamorených chovoch nie je doposiaľ celkom objasnený. Autori, opierajúc sa o výsledky pokusov uskutočnených v terénnych podmienkach v zamorených chovoch, zastávajú názor, že prinajmenej niektoré z prasiat, ktoré prekonal prirozenú infekciu, ostá-

vajú infekčné ako latentní vírusnosiči po časove nevymedzené obdobie (Nikitin 1961, Pascheff 1963, Mašič 1964, Ulbrich 1967, Wilke a Dannenberg 1968). Nakoľko experimentálne podmienky, za ktorých sa pracovalo, nemožno presne definovať, nie sú tieto údaje dostatočne presvedčivé: chýbajú napríklad údaje o tom, kedy sa jednotlivé zvieratá infikovali, a pri opakovanej izolácii vírusu od toho istého zvieratá dôkaz, či ide o pretrvávajúce vírusu alebo o reinfekciu. Na druhej strane výsledky pokusov uskutočnených za definovaných pracovných podmienok svedčia pre to, že ošipané sú za 14 až 21 dní od experimentálnej infekcie prosté vírusu (Akkermans 1963, McFerran a Dow 1965, Sabó a kol. 1968, Rajčáni a kol. 1969). V súlade s týmito nálezmi sú aj zistenia Drzemallu a kol. (1970) a menovite Kretszschmara (1970), ktorí pracovali v bežných chovateľských podmienkach. Výsledky našich predchádzajúcich (Škoda a Žuffa 1962, Žuffa a Grunert 1973) ako aj predkladaných vyšetrení svedčia pre to, že prasatá sa aj po prekonaní prirodzenej infekcie zbavujú infekčného vírusu, alebo prinajmenej, že dlhodobé vírusnosičstvo je zjavom celkom ojedinelým.

V jednom z chovov, ktoré sme vyšetrovali — JRD M. Z. — pretrvávala infekcia počas jedného roka bez zjavného klinického prejavu a dokazovala sa len vysokým stupňom séropozitivity u prasiat po vylúčení kolostrálnych protilátok, zatiaľ čo pokusy o dôkaz vírusu z orofaryngeálnych výterov boli negatívne. Ukazuje sa preto, že opakované sérologické vyšetrenie je spoľahlivejšou metódou pre dôkaz infekcie v chove ako pokusy o izoláciu vírusu na živých zvieratách. Vzťahuje sa to predovšetkým na chronicky zamorené chovy, kde treba brať do úvahy možnú neutralizáciu vírusu vo výluhoch výterov účinkom sekrektorických protilátok. Za najpravdepodobnejší mechanizmus pretrvávania infekcie možno považovať stále nové infekcie odstavovaných prasiat prisúvaných do maštali č. 2 a č. 3. Ak uvážime, že každých 14 dní se odstavovalo aspoň 40 prasiat, pričom každé infikované prasa mohlo prechovávať vírus až 21 dní (Sabó 1969, McFerran a Dow 1965) a že vírus sa za prirodzených podmienok šíri v chove len pozvoľna (Sabó a Grunert 1971), mohla infekcia v skupine napr. 25 prasiat, čo predstavovalo obsadenie jedného koterca, prebiehať aj niekoľko týždňov. Aj Sabó (1969) a Sabó a Grunert (1971) vysvetľujú pretrvávajúce virulentných kmeňov AV v endemicky zamorených chovoch neprerušenou cirkuláciou vírusu v rámci uzavretej populácie prasiat.

Údaje získané uskutočnenými vyšetreniami nedovoľujú zaujať stanovisko k tomu, do akej miery sa pri prerušení infekcie uplatnili realizované zdravotné opatrenia a akú úlohu zohralo očkovanie. V období šiestich mesiacov, v ktorom boli všetky odstavené prasatá bez protilátok, sa ponúkala možnosť zachrániť ich pred infekciou odsunom do zdravého prostredia. Žiaľ v tomto chove nebol takýto náš návrh realizovateľný pre nedostatok ustajňovacích priestorov. Nemôžeme sa tiež vyjadriť k problému, či prepuknutie Au. ch. v chove JRD M. Z. bolo zapríčinené vzplanutím infekcie, pretrvávajúcej v chove, alebo zavlečením vírusu zvonku. Absencia protilátok u všetkých vyšetrených prasiat po dlhšie časové obdobie poukazovala na to, že sa podarilo vírus z chovu eliminovať, čo viedlo k rozhodnutiu o odsune zvierat základného stáda. Predchádzajúce ochorenie prasiat v chove vzdialenom od sledovaného ca 6 km s rovnakým klinickým prejavom a následným dôkazom protilátok by svedčilo pre reinfekciu chovu. Na druhej strane treba mať na pamäti, že po celý čas bol v chove veľký počet pozitívne reagujúcich zvierat s obsahom protilátok kolostrálneho resp. postin-

fekčného pôvodu (zvieratá základného stáda), ktoré sa vymykali akejkolvek sérologickej kontrole. Bez ohľadu na to, či zdrojom infekcie bol pretrvávajúci alebo do chovu zavlečený vírus, platí zásada, že každý chov treba považovať za infikovaný dotiaľ, kým sa v ňom nachádzajú sérologicky pozitívne zvieratá.

Pri ozdravovaní chovu ŠM B. N. D. sme volili radikálnejší postup. V tomto prípade bola voľba metódy uľahčená tým, že sa ponúkala kooperácia medzi viacerými chovmi pozitívnymi na Au. ch., patriacimi do jednej hospodárskej jednotky, čo dovoľovalo uskutočňovať potrebné presuny zvierat bez toho, že by z nich vyplývali akékoľvek hospodárske straty. Aj očkovanie sa robilo systematicky a po dlhší čas, pričom sa použil virulentnejší a tým aj imunogénnejší typ vakcíny. Opatrenia sa stretli s plným úspechom, keďže za jeden a pol roka po akútnom vzplanutí nákazy bol celý stav prasiat nahradený zdravým potomstvom, pričom už okolo 80 % novozastavaných prasníc sa vyprasilo. Nakoľko infikované a následne vakcinované prasnice boli v priamom kontakte s vnímavými prasatami počas viac ako 12 mesiacov, možno mať za to, že očkovanie živou vakcínou nenavodí v chove permanentnú infekciu, ktorá by si vyžadovala nepretržité očkovanie (Gustafson a kol. 1972). Naopak sa potvrdili predchádzajúce nálezy, že očkovaním navodená séropozitivita interferuje s cirkuláciou vírusu v populácii zvierat daného chovu (Sabó a Grunert 1971) a vedie k zriadeniu infekcie alebo až eliminácii vírusu tým, že limituje replikáciu a urýchľuje vylučovanie vírusu z organizmu.

V chove ŠM B. N. D. sa u 5 zo 60 (8,3 %) prasníc nedokázali NP napriek tomu, že tieto prasnice boli v chove v čase akútneho priebehu nákazy a že boli podrobené dvojrázovému očkovaniu. Neschopnosť produkovať alebo vylučovať protilátky kolostrom (Wellmann a kol. 1962) alebo aspoň v nedostatočných titroch je najpravdepodobnejšou príčinou ochorenia a uhynutia celých vrhov prasiat od ojedinelých prasníc v endemicky zamorených chovoch.

Kretzschmar (1970) zaznamenal vo viacerých chovoch za 3–10 mesiacov po prepuknutí infekcie 25 až 53 % séropozitivitu a elimináciu séroreagentov dosiahol v pomerne krátkom čase ich ozdravenie. Tieto zistenia sú nápadne rozdielne od údajov Saba a Grunerta (1971), ktorí rovnako ako my v chove JRD M. Z. dokázali vo dvoch chovoch pretrvávajúcu infekciu počas jedného roka. Príčiny týchto rozdielov by mohli spočívať v rozdielnej rezistencii populácie prasiat, v rozdieloch vo virulencii kmeňov, alebo konečne v rozdielnych podmienkach vonkajšieho prostredia, ktoré môžu ovplyvniť vzájomné vzťahy medzi infekčnými zárodkami a makroorganizmom. Mašič (1964) už dávnejšie upozornil na to, že v Juhoslávii sa zaznamenáva enzootický výskyt Au. ch. len v oblastiach podunajskej nížiny, kým hornatejšie oblasti sú nákazy prosté, aspoň pokiaľ ide o klinický prejav. Obdobne v rámci ČSSR je oddávna najsilnejšie zamorené juhozápadné Slovensko, t. j. nižinatá podunajská oblasť (Škoda a Grunert 1963). Ak uvažíme rozdielny priebeh Au. ch. v rozličných oblastiach jedného štátu, resp. v jednotlivých štátoch, je nám zrejmé, že metódy, s ktorými sa vystačí pri tlení nákazy na istom území alebo za daných chovateľských podmienok, sú celkom nepoužiteľné v iných, v ktorých zatiaľ nedefinovateľné faktory podporujú uchytenie a pretrvávajú AV v populácii prasiat. Priebeh Au. ch. a jej tendencia šíriť sa a vytvárať ohniská s pretrvávajúcou infekciou sú veľmi dôležité pre spôsob jej kontroly, včítane metód špecifickej profylaxie. Kým v štátoch s miernym priebehom možno odmietnuť akýkoľvek imunoprofylaktický zákrok alebo odporučiť nanajvýš pasívnu imunizáciu (Gustafson a kol. 1972), v štátoch strednej a juhových-

chodnej Európy sa za súčasnej nákazovej situácie a chovateľských podmienok nemožno zaobiť bez ochranného očkovania.

Ako sme uviedli v predchádzajúcom oznámení (Žuffa a Grunert 1973), stojí za uváženie, či je účelné usilovať o ozdravenie infikovaných chovov situovaných v enzooticky zamorenej oblasti, kde nebezpečie reinfekcie je veľmi vysoké. Ak sa k tomu predsa prikróči vzhľadom na vysokú plemennú hodnotu zvierat, má ozdravenie, so zreteľom na veľkosť chovu, jeho členenie a možnosť kooperácie predpoklady pre úspech, treba voliť metódu ekonomicky nenáročnú, aby v prípade neúspechu ozdravovacej akcie a eventuálnej reinfekcie po ozdravení nevznikli vážnejšie hospodárske škody. Ako možné a reálne alternatívy ozdravovacieho postupu sa javia: a) Imunizovať celý stav zvierat a non-narodené prasatá počas troch mesiacov s priebežnou dezinfekciou a deratizáciou. Po zastavení očkovania sérologicky prešetriť už neočkované odstavčatá a pri negatívnych nálezoch odsunúť ich do zdravých izolovaných objektov s vylúčením priameho aj nepriameho kontaktu s ošipánymi, a tým prenosu infekcie obidvoma smermi. b) Vybrať menší počet dospelých zvierat, prasníc a kancov o vysokej plemennej hodnote, opakovane ich imunizovať a potom odsunúť do izolovaných objektov so sérologickou kontrolou potomstva. c) Postupovať rovnako ako v chove ŠM B. N. D. s tým, že sa očkovanie obmedzí na obdobie troch mesiacov.

Literatúra

- AKKERMANS J. P. W. M., 1963, Ziekte van Aujeszky bij het varken in Nederland. Vet. Diss., Utrecht.
- DRZEMALLA H., RUST W., JENTZSCH K. D., 1970, Untersuchungen zur Ausscheidung des Aujeszky-Virus bei serologisch positiven Zuchtschweinen. Mh. VetMed. 25 : 784-788.
- GUSTAFSON D. P., KANITZ C. L., MITCHELL M. V., 1972, Immunologic approaches to the control of pseudorabies. J. Am. vet. med. Ass. 160 : 623-628.
- KRETZSCHMAR CH., 1970, Die Aujeszky'sche Krankheit. Diagnostik, Epizootologie und Bekämpfung. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- MASIČ M., 1964, Ökologische Besonderheiten der Aujeszky'schen Krankheit. Wien. tierärztl. Mschr. 51 : 227-232.
- McFERRAN J. B., DOW C., 1965, The distribution of the virus of Aujeszky's disease (Pseudorabies Virus) in experimentally infected swine. Am. J. vet. Res. 26 : 631-635.
- NIKITIN M. C., 1961, Die Rolle der Schweine, die eine natürliche Ansteckung mit Aujeszky'scher Krankheit überstanden haben, in der Epizootologie dieser Krankheit. Veterinarija 38 : 9-32.
- PASCHEFF G., 1963 Über den Verlauf und die Bekämpfung der Aujeszky'schen Krankheit. Mh. VetMed. 18 : 832.
- RAJČANI J., SABÓ A., BLÁŠKOVIČ D., 1969, Studies on the Pathogenesis of Aujeszky's disease. II. The distribution of virus after subcutaneous infection. Acta virol., Praha, 13 : 52-59.
- SABÓ A., RAJČANI J., BLÁŠKOVIČ D., 1968, Studies on the pathogenesis of Aujeszky's disease. I. Distribution of the virulent virus in piglets after peroral infection. Acta virol., Praha, 12 : 214-221.
- SABÓ A., 1969, Persistence of perorally administered virulent pseudorabies virus in the organism of nonimmune and immunized pigs. Acta virol., Praha, 13 : 269-277.
- SABÓ A., GRUNERT Z., 1971, Persistence of virulent pseudorabies virus in herds of vaccinated and nonvaccinated pigs. Acta virol., Praha, 15 : 87-94.
- ŠKODA R., ŽUFFA A., 1962, Die Diagnostik der Aujeszky'schen Krankheit auf Gewebekulturen. Arch. exp. VetMed. 16 : 491-500.
- ŠKODA R., GRUNERT Z., 1965, Epizootologie der Aujeszky'schen Krankheit in der ČSSR. 1. Mitteilung: Geschichte des Vorkommens und geographische Ver-

- breitung. Arch. exp. VetMed. 19 : 577-585.
- ULBRICH F., 1967, Mehrjährige serologische Untersuchungen auf Aujeszky'sche Krankheit in zwei Schweinemastbetrieben. Mh. VetMed. 22 : 495.
- WELLMANN G., LIEBKE H., ENGEL H., 1962, Antikörpergehalt der Sauenmilch und Antikörperresorption durch die Ferkel zu verschiedenen Zeiten nach der Geburt. Zentbl. Bakt. 185 : 215-229.
- WILKE I., DANNENBERG H. D., 1968, Ein Beitrag zum Vorkommen des Aujeszky-virus bei klinisch gesunden Schlachtschweinen aus chronisch verseuchten Schweinemastanstalten. Mh. VetMed. 23 : 494-498.
- ŽUFFA A., 1963, Immunisierung gegen die Aujeszky'sche Krankheit. I. Gewinnung des modifizierten Virus der Aujeszky'schen Krankheit. Arch. exp. VetMed. 17 : 1325-1344.
- ŽUFFA A., 1964, Immunisierung gegen die Aujeszky'sche Krankheit. IV. Einige immunologische Eigenschaften des modifizierten Virus der Aujeszky'schen Krankheit. Arch. exp. VetMed. 18 : 1099-1117.
- ŽUFFA A., SALAJ J., 1971, Imunizácia proti Aujeszkeho chorobe — imunogenita vysoko atenuovaného kmeňa Buk-TK-900/IV, a pre ošípané. Vet. Med. (Praha) 16, 221-233.
- ŽUFFA A., GRUNERT Z., 1973, Ozdravenie niekoľkých plemenných chovov ošípaných od Aujeszkeho choroby elimináciou sérologicky pozitívne reagujúcich zvierat. Vet. časopis. V tlači.

Došlo dne 14. 4. 1973

ЖУФФА А., МИХАЛОВИЧ М., ДУШЕК И., МРАЧЕК К. (Научно-исследовательский центр Биовета, Нитра; Районное ветеринарное управление, Комарно, Чехословакия). Попытка оздоровления свиноголовый, пораженных болезнью Ауески. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 177-187, 1974.

Возможности ликвидации болезни Ауески изучали в двух племенных разведениях свиней с эндемической зараженностью или же с острой вспышкой заражения. В первом случае зараженность можно было установить в течение года лишь благодаря высокой степени положительности сыворотки всех категорий возраста. После существенного сокращения свиноголовья за счет изъятия отъемышей и боенских свиней и в результате двукратной повторной прививки племенным свиньям и оставшимся подсвинкам живой вакцины СУИВАК I новые отъемыши были серологически отрицательными в течение 7 месяцев, после чего была отмечена острая вспышка заражения. Полученные данные не показывают, был ли источником инфекции вирус, сохранившийся в стаде, или же вовлеченный из внешней среды. Во втором стаде в период острого хода заражения всем животным двукратно привили живую вакцину СУИВАК II, изъязв из стада всех отъемышей и всех старых животных. Новорожденных вакцинировали в возрасте 1—2 недель при отъеме и тоже постепенно удаляли. Спустя 6 месяцев прививки прекратили, непривитые свиньи остались в стаде и в возрасте 4 месяцев были серологически отрицательны. После достижения зрелого возраста свинок случали и использовали для смены первоначально зараженного основного стада в два этапа. Таким образом была достигнута всеобщая отрицательность сыворотки и оздоровление стада. Обсуждается значение и эффективность прививки живой вакцины в рамках оздоровительного процесса в упомянутых стадах.

болезнь Ауески; эндемическая зараженность стад свиней; ветеринарно-гигиенические мероприятия; иммунопрофилактика живой вакциной; попытки оздоровления

ŽUFFA A., MICHALOVIČ M., DUŠEK I., MRÁČEK K. (Research Centre, Bioveta, Nitra, District Veterinary Establishment, Komárno, Czechoslovakia). An Attempt at a Recovery of Herds of Pigs Contaminated with Aujeszky's Disease. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 177-187, 1974.

Investigated was the possibility of a liquidation of Aujeszky's disease in two breeding herds of pigs with an endemic contamination or with an acute outbreak of the infection. In the endemically contaminated herds the lasting of the infection for the time of one year was proved only by a high degree of the seropositivity of pigs of all age group. After a substantial lowering of the number of pigs i. e. after the removal of weaned piglets and of mature slaughter pigs and after

a double inoculation of the breeding animals and of the remaining stores with the live SUIVAK I vaccine, the newly weaned pigs were serologically negative. The seronegativity of the herd was maintained for seven months, after which there occurred an acute outbreak of the infection. The data obtained do not make it possible to determine whether the source of infection had been the virus surviving in the herd or whether it had been introduced from the outside. In the second herd a double inoculation of all pigs was performed, in the period of the acute course of the infection, with the live SUIVAK II vaccine, after which all weaned piglets and all older pigs were removed from the herd. The newly-born piglets were inoculated at the age of 1—2 weeks and at the weaning, after which they were also currently removed from the herd. After six months inoculation was discontinued, the non-vaccinated pigs were retained in the herd, and at the age of 4 months they proved serologically negative. At a mature age the sows were covered and used for an exchange for the originally infected basic herd, which was carried out in two stages. In this way a general seronegativity and recovery of the herd was attained. There is a discussion on the significance and effect of inoculation with live vaccine within the scope of the restoration process in the mentioned herds.

Aujeszký's disease; endemic contamination of pig herds; veterinary-sanitary measures; immunoprophylaxis with a live vaccine; attempts at recovery

ŽUFFA A., MICHALOVIČ M., DUŠEK I., MRÁČEK K. (Forschungszentrum, Bioveta, Nitra; Kreisveterinäreinrichtung, Komárno, Tschechoslowakei). *Versuch der Gesundung von mit der Aujeszkyschen Krankheit verseuchten Schweinezuchten*. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 177-187, 1974.

Es wurden die Möglichkeiten der Liquidierung der Aujeszkyschen Krankheit in zwei Schweinestammzuchten mit endemischer Verseuchung bzw akutem Aufblammen der Seuche untersucht. In der endemisch verseuchten Zucht wurde das Andauern der Infektion während eines Jahres nur durch eine hohe Anzahl serumpositiver Ferkel aller Alterskategorien nachgewiesen. Nach wesentlicher Herabsetzung der Ferkelanzahl, und zwar durch Versetzung der Absatzferkel, und auch durch Lieferung von Schlachtschweinen und von zweimal geimpften Zuchtschweinen sowie der restlichen Läufer mit der Vakzine SUIVAK I waren die neu abgesetzten Schweine serologisch negativ. Die Serumnegativität der Aufzucht wurde während sieben Monaten nachgewiesen, wonach die Seuche akut aufflammte. Die gewonnenen Angaben erlauben keine Äußerung darüber, ob die Quelle der Infektion das in der Zucht überlebende oder von Außen eingeschleppte Virus war. In der zweiten Zucht wurde in der Periode des akuten Verlaufs der Seuche eine zweimalige Impfung des gesamten Bestandes mit der Lebendvakzine SUIVAK II durchgeführt, wonach aus der Zucht die Absatzferkel und alle älteren Ferkel entfernt wurden. Die neugeborenen Ferkel wurden im Alter von 1 bis 2 Wochen und beim Absetzen geimpft, wonach sie aus der Zucht ebenfalls laufend entfernt wurden. Nach sechs Monaten wurde die Impfung unterbrochen, die nichtvakzierten Ferkel verblieben in der Zucht und waren bei der Untersuchung im Alter von 4 Monaten serologisch negativ. Nach dem Erwachsen wurden die Sauen zugelassen und zum Austausch der ursprünglich infizierten Grundherde verwendet. Dieser Austausch erfolgte in zwei Etappen. Dadurch wurde eine allgemeine Serumnegativität und Gesundung der Herde erreicht. Es wird über die Bedeutung und Wirkung der Impfung mit der Lebendvakzine im Rahmen des Gesundungsprozesses in den angeführten Zuchten berichtet.

Aujeszkysche Krankheit; endemische Verseuchung von Schweinezuchten; veterinär-gesundheitliche Maßnahmen; Immunoprophylaxe mit Hilfe der Lebendvakzine; Gesundungsversuche

Adresa autorů:

Doc. MVDr. A. Žuffa, CSc., MVDr. I. Dušek, Výskumné stredisko Bioveta, 949 91 Nitra,
MVDr. M. Michalovič, MVDr. K. Mráček, OVZ, 945 01 Komárno

Nahtverfahren bei tierärztlichen Operationen

K. A m m a n n

Paul Parey, druhé vydání, 1973, brožované, 63 str., 65 obr.

Za 22 roky po prvním vydání vychází toto dílko, ojedinělé ve veterinárním písemnictví, podruhé. Autor se v něm pokusil shrnout vše, co o šití ve veterinární chirurgii je roztroušeno v různých knihách a časopisech. Tak vznikl celkem vyčerpávající přehled o šicím materiálu, nástrojích k šití, o chirurgických stezích a typech sutur jak ran, tak i šlach, cév, nervů a vnitřností. V kapitole „Speciální stehy“ je popsán steh v *linea alba* u psa, koně, skotu a kočky, steh při paramediální laparotomii u prasat, technika stehu při operaci kýl, steh bachoru, uteru a střeva. Dost stručný text doplňuje bohatý výběr obrázků, velmi názorných a dokonale provedených. Knížka je doplněna soupisem literatury, převážně německé.

V knížce, která má být souhrnným zpracováním otázky šití, postrádám zevrubnější zmínku o pevnosti jednotlivých druhů šicího materiálu, o reakci tkáně na jednotlivé druhy šicího materiálu a konečně i o „lepení“ tkání, i když snad tento způsob spojování tkání nemůže dnes ještě nahradit klasický steh.

Knížka může být zdrojem poučení pro každého, kdo chce tento základní chirurgický úkon odborně zvládnout.

Prof. MVDr. Emanuel K r á l

HEMATOLOGICKÉ PRÍZNAKY PŘI NUTRIČNÍ SVALOVÉ DYSTROFII MLADÉHO SKOTU

J. Kursa

Vysoká škola zemědělská, České Budějovice

KURSA J. *Hematologické příznaky při nutriční svalové dystrofii mladého skotu*. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 189-196, 1974.

Při výzkumu nutriční svalové dystrofie („white muscle disease“), která v letech 1962 až 1972 postihla v jižních Čechách na čtrnácti farmách 271 kus mladého skotu, byl u některých nemocných zvířat studován bílý krevní obraz, osmotická rezistence erytrocytů, hematokrit a hemoglobin. Ve srovnání se zvířaty klinicky zdravými vykazovali pacienti s nutriční svalovou dystrofií pokles leukocytů o 13,9 % výchozího počtu. Výraznější změny byly zjištěny v diferenciálním rozpočtu bílých krvinek. Postihovaly granulocyty, lymfocyty a monocyty. Kromě vzestupu neutrofilních segmentovaných granulocytů je za významný nálezný pokles lymfocytů a zejména prudká redukce eozinofilních granulocytů, která vedla v jedenácti případech k absolutní eozinopenii. Zaznamenaná dynamika se přibližuje obrazu stresové hematologické odezvy. Pokles osmotické rezistence červených krvinek u nemocných zvířat o 3,32 %, stejně jako odchylky v hematokritu, nebyly statisticky významné. Nemocná zvířata s nutriční svalovou dystrofií vykazovala pokles hemoglobinu o 1,15 %.

mladý skot; white muscle disease; bílý krevní obraz; eozinopenie; stress; osmotická rezistence erytrocytů; hematokrit; hemoglobin

Hematologické studie při nutriční svalové dystrofii skotu (NSD) nejsou bohaté. V kompilaci Seifriedově (1943) je konstatováno, že krevní obraz při NSD u skotu nevykazuje určité změny. Pozdější zprávy informují o vyšetřování krve v pokusech s experimentálním vyvoláním choroby. Ve skupině čtyř pokusných telat vyvolali Safford a kol. (1954) NSD zkrmováním syntetické mléčné diety proste aktivního alfa-tokoferolu. Červené krvinky a hemoglobin nevykázaly odchylky od běžně zjišťovaných hodnot ani rozdíly mezi jednotlivými skupinami. Rozdíly v diferenciálním rozpočtu a leukocytóza vznikaly v časové shodě s průběhem gastroenteritid a pneumonií, které se u některých jedinců náhodně objevily.

V pokusu ověřujícím u telat provokační vliv rybího tuku a profylaktický efekt alfa-tokoferolu a selénu sledovali Maplesden a Loosli (1960) hodnoty hemoglobinu a počty leukocytů. U zdravých jedinců i u zvířat s vyvolanou NSD se hodnoty sledovaných ukazatelů pohybovaly ve fyziologických hranicích. Také mezi pokusnými skupinami (dieta + rybí tuk, dieta + Se, dieta + Se + vitamín E) nebyly statisticky významné rozdíly.

Rovněž Töllersrud (1963) nezjistil u telat vykrmovaných mléčnou náhražkou vyvolávající v terénu vznik NSD změny v hodnotách hemoglobinu, jimiž by se odlišovala od telat, která přijímala plnotučné kravské mléko.

MATERIÁL A METODY

V průběhu výzkumu NSD u mladého skotu jsme za podmínek popsanych v předešlých sděleních (K u r s a 1973, 1974) vyšetřovali bílý krevní obraz, hematokrit, hemoglobin a osmotickou rezistenci erytrocytů.

Počet a rozpočet bílých krvinek byl určován podle ÚN MZ 1965 84326, osmotická rezistence erytrocytů podle hemolýzy v 0,588 NaCl (K r o u p o v á 1970), hematokritová hodnota podle ON MZ 1965 843204, hemoglobin jako hemoglobincyanid podle ÚN MZ 843202.

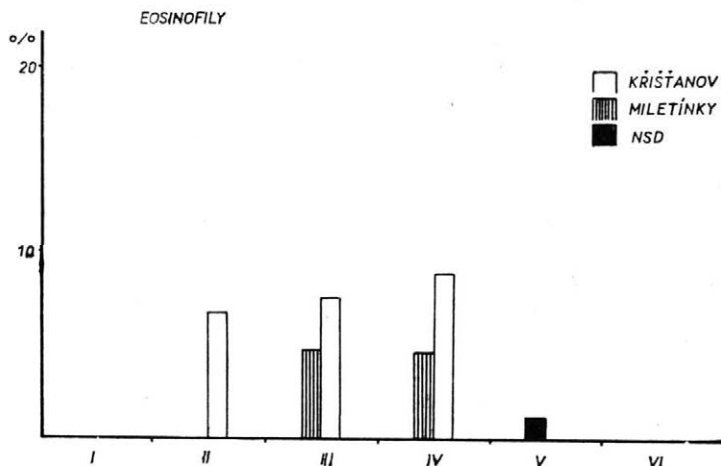
Hodnoty hematologických ukazatelů, zjištěné u nemocných kusů s NSD, jsme srovnávali s nálezy u klinicky zdravých zvířat. V průběhu zimních a jarních měsíců byly laboratorně sledovány 24 jalovice ve stáří 6 až 18 měsíců na farmě Křišťanov a stejně velká skupina na farmě Miletínky. Nálezy byly statisticky vyhodnoceny *t*-testem podle S t u d e n t a za použití hodnot: $\bar{x}$ (u skupiny s NSD), $\bar{y}$ (pro soubor zdravých kontrol), s_x , V a t . Statistické výpočty provedla výpočetní stanice Vysoké školy zemědělské v Českých Budějovicích.

Výsledky jsou zobrazeny v tabulkách a na grafech. Na sloupkových grafech jsou znázorněny skupinové průměry zdravých zvířat, která jsme sledovali v zimě a na jaře před vznikem, a nálezy nemocných zvířat v průběhu onemocnění, popřípadě i po léčbě. Druhý typ grafu vyjadřuje dynamiku hematologických změn, které jsme zjistili u čtyř jedinců individuálně průběžně kontrolovaných před onemocněním, v jeho průběhu a ve dvou případech po úspěšné terapii Selevitem inj.

VÝSLEDKY

U zvířat s NSD jsme se setkali s výrazným poklesem leukocytů — v průměru o 13,9 % — a ve srovnání s výchozími hodnotami u zdravých zvířat jsme u nich dále zaznamenali posun, který postihl granulocyty, lymfocyty a monocyty (tab. I).

V počtech neutrofilních segmentovaných granulocytů došlo k signifikantnímu vzestupu. Statisticky významný rozdíl mezi souborem zdravých kontrol a nemocnými kusy představuje vzestup o 76,8 %. Tento nález je možné uvést do souvislosti s charakterem patofyziologických procesů v kosterní svalovině a v myokardu.



1. Změny počtu eozinofilních granulocytů u souboru zvířat klinicky zdravých (I—IV) a u zvířat s nutriční svalovou dystrofií („white muscle disease“) — (V)

I. Statistické zhodnocení rozdílu počtu a diferenciálního rozpočtu krvinek u mladého skotu s nutriční svalovou dystrofií a u zvířat klinicky zdravých

	NSD				Klinicky zdravá zvířata				Statistické zhodnocení
	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>s_x</i>	<i>V</i>	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>s_x</i>	<i>V</i>	
Leukocyty (mm ³)	49	6767	1548	22,88	48	7866	1389	17,66	++
Monocyty (%)	27	5,44	2,54	46,78	48	7,66	2,82	36,82	++
Lymfocyty (%)	27	46,40	15,68	33,79	48	58,89	6,24	10,59	++
Bazofily (%)	27	0,62	0,83	133,23	48	0,27	0,64	237,70	+
Eozinofily (%)	27	1,14	1,43	124,82	48	6,68	4,83	72,28	++
Neutrofilny seg. (%)	27	45,88	17,11	37,29	48	25,89	5,54	21,40	++
Neutrofilní tyčky (%)	27	0,44	0,69	157,04	48	0,25	0,43	175,00	—

++ = statistický rozdíl mezi soubory vysoce průkazný ($P = 0,01$)

+ = statistický rozdíl mezi soubory průkazný ($P = 0,05$)

— = statistický rozdíl mezi soubory neprůkazný

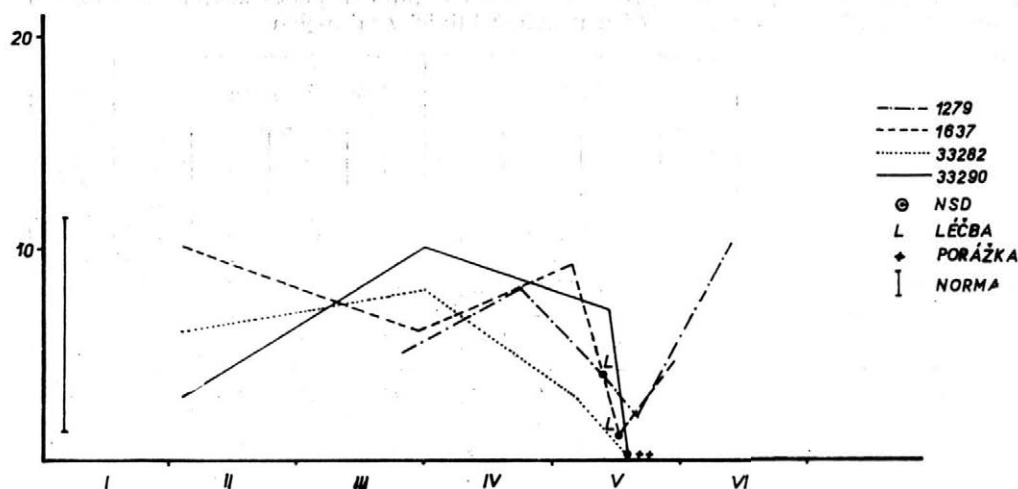
U pacientů s NSD jsme zjistili statisticky významný pokles lymfocytů a zejména eozinofilních granulocytů (obr. 1, 2). Mezi skupinou zdravých zvířat a skupinou jalovic s manifestní formou NSD představuje pokles lymfocytů 21,2 %. U eozinofilů znamená rozdíl mezi skupinami (–5,54 %, $t = 5,79$) pokles o 82,9 %, bereme-li za základ hodnoty u zdravých zvířat.

Z výsledků vyšetření osmotické rezistence erytrocytů vyplývá, že je ukazatelem velmi variabilním (tab. II, obr. 3). Lze tak soudit z nálezů a jejich statistického hodnocení u kontrolovaných skupin klinicky zdravých zvířat, u kterých vykazují základní hodnoty v jednotlivých odběrech v lednu až dubnu výrazné kolísání. Skupinové průměry se pohybovaly v rozsahu od 35,2 % do 67,1 %. Stejně rozdíly byly patrné i uvnitř jednotlivých skupin. Nejvyšší sku-

II. Statistické zhodnocení rozdílu osmotické rezistence červených krvinek, hematokritu a hemoglobinu u mladého skotu s nutriční svalovou dystrofií a u zvířat klinicky zdravých

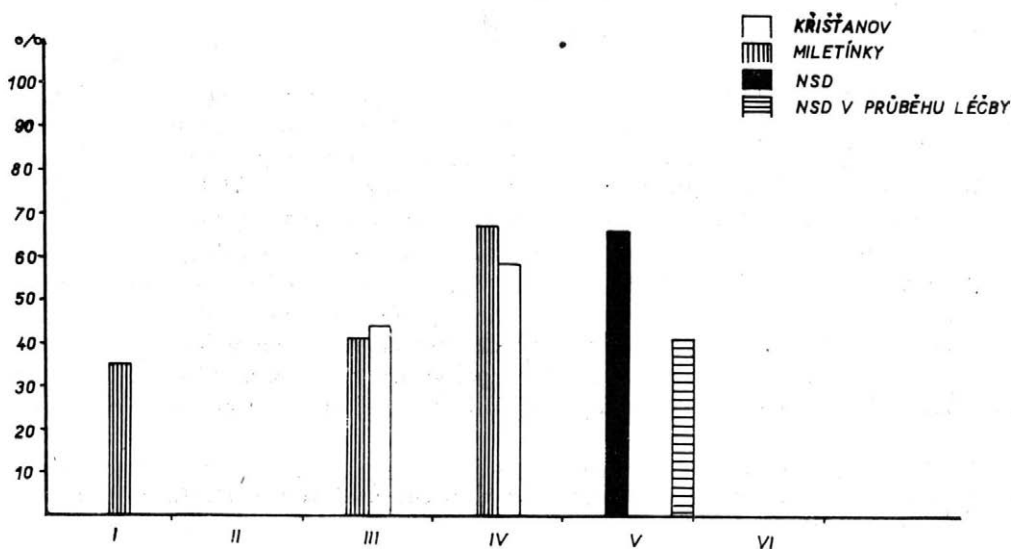
	NSD				Klinicky zdravá zvířata				Statistické zhodnocení
	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>s_x</i>	<i>V</i>	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>s_x</i>	<i>V</i>	
Osmotická rezistence erytrocytů (%)	35	66,28	18,98	28,63	48	62,96	46,97	42,83	—
Hematokrit(%)	39	42,12	4,90	11,64	48	41,58	3,29	7,91	—
Hemoglobin g%)	36	10,50	1,49	14,18	48	11,65	0,89	7,70	++

EOSINOFILY



2. Individuálně sledované změny eozinofilních granulocytů u zvířat před onemocněním nutriční svalovou dystrofií („white muscle disease“) (I–IV), v průběhu onemocnění (V) a léčby (VI)

OSMOTICKÁ RESISTENCE



3. Změny osmotické rezistence erytrocytů u souboru zvířat klinicky zdravých (I–IV), v průběhu onemocnění nutriční svalovou dystrofií (V) a po terapii (VI)

pinové průměry (58,1 % a 67,1 %) i individuální hodnoty (77,4 %–92,3 %) jsme zjistili v dubnu.

U 35 pacientů s klinickou formou NSD dosahovala průměrná osmotická rezistence, vyjádřená v procentech hemolýzy, 66,28 % ($\pm 18,98$ %). Vzestup procenta hemolýzy, představující pokles osmotické rezistence o 3,32 %, není – porovnáván s nálezem u zdravých kusů před zahájením výpasu – statisticky průkazný, t skutečné = 0,62 (tab. II).

Hodnoty hematokritu u klinicky zdravých zvířat kolísaly ve fyziologickém rozpětí. U klinických pacientů s NSD jsme zaznamenali variabilní odchylky bez statistické průkaznosti. Jsou zřejmé v tab. II, kde je vyjadřuje hodnota variačního rozpětí.

U 36 vyšetřovaných pacientů s NSD jsme zjistili průměrnou hodnotu 10,50 g% ($\pm 1,49$ g%) hemoglobinu. Ve srovnání s obsahem červeného krevního barviva, zjišťovaným u zdravých zvířat, vykazuje tento ukazatel u pacientů s myodystrofií statisticky průkazný pokles (t skutečné = 4,39).

DISKUSE

Hematologická vyšetření mladých jalovic s probíhající NSD byla součástí komplexního výzkumu choroby včetně rozšířeného klinicko-laboratorního testu. Cílem studia bylo zjistit charakter změn v periferní krvi, provázející vznik a průběh NSD, a určit význam nálezů pro klinickou diagnostiku.

Zatímco se počty bílých krvinek, které jsme zaznamenali u klinicky zdravých zvířat, shodují s údaji Arendarčika a Miklušičáka (1957) a dalších autorů, nenalezli jsme pro zjištěný relativní pokles leukocytů u pacientů s NSD v dostupné literatuře srovnatelné údaje. Pokud jsou ve zprávách o NSD u skotu zmínky o bílém krevním obrazu, převládají výsledky jednorázového vyšetření, konstatující, že nevykazuje průkazné změny. Opačné nálezy — leukocytózu a rozdíly v diferenciálním rozpočtu — při experimentálně vyvolané NSD spojovali Safford a kol. (1954) s průběhem druhotných onemocnění.

Jestliže relativní pokles leukocytů uvádíme do souvislosti s charakterem patologického procesu, opíráme se o údaje Konráda a Kroupové (1967), kteří u mladých, klinicky zdravých jalovic po přechodu na pastviny naopak zjistili výrazný vzestup leukocytů (až o 79,4 %). Jejich poznatky, stejně jako údaj Karáskův (1960) o provokačním vlivu fyzické zátěže na vznik leukocytózy, se totiž podstatně odlišují od našich pozorování.

Bližší pozornosti zasluhuje statisticky významný pokles lymfocytů a eozinofilních granulocytů, jejichž mimořádně nízký počet na vrcholu onemocnění získává charakter eozinopenie. Tento nálezy považujeme za projev vážného narušení zdravotního stavu, který je možno charakterizovat jako obraz stressové reakce.

K použitému výkladu nás přiblížila dvě příbuzná hlediska. Podle prvního lze přisoudit vznik lymfopenie a eozinopenie, vznikající v krizových situacích, přímému antiinflamatornímu účinku glykokortikoidů, které mají leukolytický účinek (Selye 1966). Mobilizace glykokortikoidů se vyvíjí pod vlivem hyperprodukce ACTH v hypofýze.

Výrazný pokles eozinofilů, který vyplývá ze sumárního hodnocení pacientů s NSD, je zřejmý i v individuálním obrazu (obr. 2). Ze souboru 27 hematologicky sledovaných pacientů došlo k úplnému vymizení eozinofilních buněk z periferní krve u 11 zvířat. Podle Selyeho (1966) lze tento fenomén považovat za nepřímý důkaz vzestupu glykokortikoidů, poznamenávající první (poplachovou reakci) a třetí fázi stressu (stadium vyčerpání). Není bez zajímavosti, že u jedinců s úplnou ztrátou eozinofilů v krvi byl další průběh myodystrofie velmi vážný. Z celkového počtu jedenácti zvířat s aneozinofilií bylo nutně odporazeno pět kusů (45,4 %), šest pacientů (54,6 %) se vyléčilo.

Také druhé hledisko vysvětluje eozinopenii při akutní NSD účastí kortikoidů, které podle Blakemora (1964) v časném stadiu stressu potencují migraci eozinofilních buněk z krevního řečiště do tkání. Trvající ztrátu eozinofilů v periferní krvi pokládá autor za indikátor existujících nároků na jejich činnost v atakovaných tkáních, jejich znovuobjevení se v krvi je možné naopak považovat za symptom poklesu supragenální aktivity. Je proto jistě škoda, že nebylo možné v našem případě častěji opakovat vyšetření, která mohla přesněji určit další vývoj hematologických změn.

Chápání eozinopenie jako stressového symptomu je podporováno výsledky experimentálního studia hematologické odezvy na zátěžový účinek odstavu a na exogenní adrenokortikální stimulaci selat kortikotropinem (ACTH) — (Dvořák 1972).

Vyšetřování osmotické odolnosti červených krvinek mělo postihnout, do jaké míry jsou v průběhu onemocnění ovlivněny vlastnosti membránového systému erytrocytů. Náš výklad sezónního poklesu osmotické rezistence erytrocytů na vrcholu zimního období u klinicky zdravých zvířat se jednak opírá o nálezy Kroupové (1967) a Melanové (1970), zjišťující u skotu v předjaří rovněž nižší hodnoty. Současně máme na mysli poznatky o antihemolytickém účinku tokoferolů, konkrétně údaje o inhibici rezistence erytrocytů proti oxidační hemolýze u různých druhů zvířat s karencí vitamínu E (Rose a György 1952, Dam a Sondergaard 1967). Při srovnání zdravých zvířat před onemocněním s moribundními kusy vykazovala osmotická odolnost erytrocytů jen nepatrné rozdíly. Domníváme se, že objasnění naznačených otázek vyžaduje další ověření.

Podstatně vyšší hodnoty hematokritu u některých pacientů lze uvést do souvislosti s příznaky smíšené dehydratace, provázející klinický syndrom jako důsledek nepravidelného příjmu vody. Na zvýšené hemokoncentraci se mohly dílčím způsobem podílet také endogenní faktory především disproporce ve vodním metabolismu, související s patologickými změnami ve tkáních, zejména s transsudací. V celkovém hodnocení obou souborů se popsany vývoj projevil mírným vzestupem hematokritu u zvířat s myodystrofií, který však ve srovnání se zvířaty klinicky zdravými nebyl statisticky průkazný.

Snížení hemoglobinu u pacientů s NSD neprogreduje pod hranici fyziologických hodnot, jak ji pro skot uvádí Slanina a kol. (1965), Lebeda a kol. (1958) a jiní. Pro zjištěný úbytek hemoglobinu u mladých jalovic s NSD nacházíme ověření v práci Titova (1961), který jej zjistil při studiu NSD u jehňat, a ve sdělení Nafstadtové (1965) o NSD prasat. U telat s NSD naopak ani Maplesden a Loosli (1960), ani Safford a kol. (1954) nenalezli signifikantní odchylky. Jak jsme již uvedli dříve (Kursa a Tesařík 1971), může být pokles hemoglobinu u nemocných kusů — mimo uplatnění jiných faktorů — uváděn do souvislosti s úlohou tokoferolů pro rezistenci erytrocytů. Tento názor vyžaduje ovšem i v našich podmínkách experimentální ověření.

Literatura

- ARENDARČIK J., MIKLUŠIČÁK R., 1957, Príspevok k otázke morfológického zloženia a spektra krvných bielkovín u mladého rožného skotu počas pastvy a ustajnenia v jednotlivých ročných obdobiach. *Folia vet.*, Košice, 2 : 61-72.
- BLAKEMORE J., 1964, *Clinical hematology for the practitioner*. Mod. vet. Pract. 45 : 34-38.

- BOYD J. W., 1968, Serum enzyme changes, muscular dystrophy and erythrocyte abnormalities in lambs fed on diets containing cod liver oil and maize oil and the therapeutic effect of vitamin E. *Br. J. Nutr.* 22:411-422.
- DAM H., SONDERGAARD E., 1967, Symptomatik des Vitamin E-Mangels. Wissenschaft. Veröf. Deutsch. Gesellschaft f. Ernährung. Ed. 16: Tocopherole. Dr. Dietrich Steinkopf Verlag, Darmstadt.
- DVOŘÁK M., 1972, Hematologické příznaky stressu při odstavu selat. *Vet. Med. (Praha)* 17, 2:81-90.
- GEROV K., ČUSKOV P., 1964, Die prophylaktische und therapeutische Wirkung von Selenioxyd bei der enzootischen Muskeldystrophie der Lämmer sowie Untersuchungen über die Toxizität dieser Selenverbindung. *Mh. VetMed.* 90:455-460.
- KARÁSEK J., 1960, cit. KONRÁD J., KROUPOVÁ V., 1967.
- KONRÁD J., KROUPOVÁ V., 1967, Srovnávací studie vlivu horského a nížinného prostředí na bílý krevní obsah mladého skotu. *Sborník PEF-VŠZ, České Budějovice*, 5:101-111.
- KROUPOVÁ V., 1970, Zjednodušené stanovení osmotické odolnosti červených krvinek skotu. *Sborník PEF-VŠZ, České Budějovice*, 1:142-155.
- KURSA J., TESÁŘÍK L., 1971, Výsledky některých klinicko-laboratorních vyšetření a názory na etiologii nutriční svalové degenerace u telat mléčného výkrmu. *Veterinářství* 21:122-125.
- KURSA J., 1974, Nutriční svalová dystrofie skotu. 6. Aktivita sérových enzymů alkalické fosfatázy, aldolázy, laktátdehydrogenázy a kreatinfosfokinázy v průběhu „choroby bílých svalů“ u mladého skotu. *Veterinaria Spofa* 14:(v tisku).
- KURSA J., 1974, Kalcemie, fosforemie, magnezemie, natremie a kalemie v průběhu nutriční svalové dystrofie u mladého skotu. *Vet. Med. (Praha)* 19, 2-3:81-89.
- LEBEDA M., MACH P., SURYNEK J., 1958, Praktikum z veterinární patologické fyziologie. SPN Praha.
- MAPLEDEN D. C., LOOSLI J. K., 1960, Nutritional muscular dystrophy in calves. I. Addition of selenium and tocopherol to a basal dystrophic diet containing cod-liver oil. *J. Dairy Sci* 43:645-653.
- MELANOVÁ M., 1970, Osmotická odolnost erytrocytů skotu. *Dipl. práce, PEF-VŠZ, České Budějovice*.
- NAFSTADT I., 1965, Studies of hematology and bone marrow morphology in Vitamin E-deficient Pigs. *Pathologia vet.* 2:277-287.
- ROSE C. S., GYÖRGY P., 1952, cit. BOYD J. W., 1968.
- SAFFORD J. W., SWINGLE K. F., MARSH H., 1954, Experimental tocopherol deficiency in young calves. *Am. J. vet. Res.* 15:373-384.
- SEIFRIED E., 1943, Vitamine und Vitaminmangelkrankheiten bei Haustieren. C/3: Wachsartige Muskeldegeneration (weißes Fleisch) und andere. F. Enke Verlag, Stuttgart.
- SELYE H., 1966, Život a stress. *Obzor*.
- SLANINA L. a kol., 1965, Klinická propedeutika a diagnostika vnútorných chorôb hospodárskych zvierat. SVPL Bratislava.
- TITOV B. J., 1961, cit. GEROV K., ČUSKOV P., 1964.
- TÖLLERSRUD A. S., 1963, Ernaeringsbetinget muskeldystrofi hos kalv. *Nord. VetMed.* 15:543-551.

Došlo dne 7. 8. 1973

КУРСА Й. (Сельскохозяйственный институт, Ческе Будеёвице, Чехословакия). Гематологические признаки при пищевой мышечной дистрофии молодняка крупного рогатого скота. *Vet. Med. (Praha)* 19 (4): 189-196, 1974.

При обследовании пищевой мышечной дистрофии («white muscle disease»), которая постигла в 1962—1972 гг. в южной Чехии на 14 фермах 271 голову молодняка крупного рогатого скота, у некоторых больных животных изучалась белая картина крови, осмотическая резистенция эритроцитов, гематокрит и гемоглобин. По сравнению с клинически здоровыми животными, пациенты с пищевой мышечной дистрофией показывали понижение лейкоцитов на 13,9 % от исходного числа. Более явные изменения были установлены в дифференциальном подсчете белых кровяных телец, а также у гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов. Помимо увеличения нейтрофильных сегментированных гранулоцитов, важным установлением считается понижение лимфоцитов и, в частности, резкая редукция эозинофильных гранулоцитов, которая в 11 случаях привела к абсолютной эозинопении. Отмеченная динамика приближается к картине стрессового гематологического отклика. Пониже-

ние осмотической резистенции красных телец у больных животных на 3,32 % так же, как и отклонения в гематокрите, не были статистически значимыми. Больные животные с пищевой мышечной дистрофией показывали понижение гемоглобина на 1,15 г⁰/₀.

молодняк крупного рогатого скота; white muscle disease; белая картина крови; эозинопения; стресс; осмотическая резистенция эритроцитов; гематокрит; гемоглобин

KURSA J. (University of Agriculture, České Budějovice, Czechoslovakia). *Hematological Signs of White Muscle Disease in Young Cattle*. Vet. Med. (Praha) 19 (4): 189-196, 1974.

In the decade from 1962 to 1972, white muscle disease affected 271 young cattle on fourteen farms in southern Bohemia. The white blood picture, osmotic resistance of erythrocytes, hematocrit and hemoglobin were studied in some diseased animals. In comparison with clinically healthy animals, the cattle showing white muscle disease had a leucocyte count decreased by 13.9 % of the initial state. Greater changes were found in the differential count of white blood corpuscles. The changes affected granulocytes, lymphocytes and monocytes. Besides the increase in neutrophile segmented granulocytes, importance is attached also to the decrease of lymphocytes and especially to the rapid reduction of eosinophile granulocytes which led to absolute eosinopenia in eleven cases. The recorded dynamics is close to the picture of stress hematological response. The decrease of the osmotic resistance of red blood corpuscles in diseased animals (by 3.32 %), and the deviations in hematocrit, were statistically insignificant. The animals affected by the white muscle disease showed a hemoglobin drop by 1.15 g⁰/₀.

young cattle; white muscle disease; white blood picture; eosinopenia; stress; osmotic resistance of erythrocytes; hematocrit; hemoglobin

KURSA J. (Hochschule für Landwirtschaft, České Budějovice, Tschechoslowakei). *Hämatologische Symptome bei der Nutritions-Muskeldystrophie von Jungrindern*. Vet. Med. (Praha) 19 (4): 189-196, 1974.

Bei den Untersuchungen über die Nutritions-Muskeldystrophie („White Muscle Disease“), die in den Jahren 1962 bis 1972 in Südböhmen auf vierzehn Farmen bei 271 Jungrindern auftrat, wurde bei einigen kranken Tieren das weiße Blutbild, die osmotische Resistenz der Erythrozyten, der Hämatokrit und das Hämoglobin bestimmt. Im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren wiesen die an Nutritions-Muskeldystrophie erkrankten Rinder eine Abnahme der Leukozyten um 13,9 % des Ausgangswertes auf. Ausgeprägtere Veränderungen wurden in den Differentialwerten der weißen Blutkörperchen festgestellt. Dieselben betrafen Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten. Außer der Zunahme der neutrophilen segmentierten Granulozyten wird als bedeutender Befund die Abnahme der Lymphozyten und insbesondere die starke Reduktion der eosinophilen Granulozyten angesehen, die in elf Fällen zu absoluter Eosinopenie führte. Die ermittelte Dynamik nähert sich dem Bilde einer hämatologischen Stress-Reaktion. Die Abnahme der osmotischen Resistenz der Erythrozyten bei kranken Tieren um 3,32 % wie auch die Abweichungen im Hämatokrit waren statistisch unsignifikant. Die an Nutritions-Muskeldystrophie erkrankten Tiere wiesen eine Abnahme des Hämoglobins um 1,15 g⁰/₀ auf.

Jungrinder; White Muscle Disease; weißes Blutbild; Eosinopenie; Stress; osmotische Erythrozytenresistenz; Hämatokrit; Hämoglobin

Adresa autora:

MVDr. J. Kursa, Referenční laboratoř pro myopatie u hospodářských zvířat, Vysoká škola zemědělská, 370 05 České Budějovice

VŠEOBECNÁ ADAPTACE SELAT NA ZMĚNU PRESTARTERŮ S ODLIŠNÝM OBSAHEM DUSÍKATÝCH LÁTEK PŘI ODSTAVU

M. Dvořák, I. Herzig, J. Raszyk

Výzkumný ústav veterinárního lékařství ČAZ, Brno

DVOŘÁK M., HERZIG I., RASZYK J. Všeobecná adaptace na změnu prestarterů s odlišným obsahem dusíkatých látek při odstavu. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 197-204, 1974.

Byly sledovány účinky tří krmných směsí s odlišným obsahem bílkovin, lyzinu a metioninu po dobu šesti dní po odstavu selat od prasnice. Selata byla odstavována ve stáří 31–36 dní. Kritérii vhodnosti použitých prestarterů byla váha selat, hladina krevního cukru a eosinofilních granulocytů v periferní krvi, hladina 17-hydroxykortikosteroidů v krevní plazmě a jejich tvorba *in vitro*. Nebyl prokázán účinek složení krmných směsí a jejich změn na adrenokortikální funkci selat šestý den po odstavu. V individuálních případech se zvýšená aktivita kůry nadledvin a snížená glykémie pojila s retardací růstu těla. Změna prestarteru při odstavu selat, a to i ve směru zvýšení obsahu živočišných bílkovin, působila snížení váhových přírůstků. Přídavek lyzinu a metioninu ke směsi obsahující pouze 12,3 % dusíkatých látek kladně ovlivnil váhové přírůstky odstavených selat.

krmná směs; lyzin; metionin; růst; stress; 17-hydroxykortikosteroidy

Ekonomika chovu prasat si vyžaduje využít všech možností, kterými lze zajistit žádoucí produkci levněji a bez ohrožení zdravotního stavu zvířat. Proto se také stále více zavádí časný odstav selat. Je podmíněn použitím kvalitních bílkovinných komponent v prestarteru a starteru. Obchodní kompletní směs pro časný odstav selat (ČOS 1) našla sice široké použití, nepředstavuje však z hlediska ceny a surovinové základny krmivářského průmyslu u nás optimální řešení. Proto jsou, a to nejen u nás, hledány cesty, jak bílkovinná krmiva živočišného původu nahradit. Jednou z nejslibnějších cest je obohacování rostlinných krmiv nedostatkovými aminokyselinami, zejména lyzinem, popřípadě také metioninem i dalšími (Whitehair a kol. 1947, Müller a Málek 1967, Kašpar a Prokop 1971, Miller 1971, Braude a kol. 1972).

Jedním z nejchoulostivějších období v životě prasat je odstav selat od prasnice. Změna krmiva, spolu s dalšími změnami podmínkami, může představovat větší či menší komplex stressorů, který vyvolává u selat po odstavu stress (Dvořák 1972a, b). Projevuje se všeobecným adaptačním syndromem, jehož hlavní symptomy jsou spojeny se zvýšenou funkcí kůry nadledvin (Selye 1946, 1966).

Mezi nutričními faktory a adrenokortikální funkcí mohou existovat podle údajů, jak je shrnul Raszyk (1971), četné vzájemné vztahy. Lze usuzovat, že podobně jako každý nový faktor, který na organismus začíná působit (Fried-

man a Adler 1967), tak i změna krmiva, na které zvířata nejsou navyklá, popřípadě je pro ně nevhodné, působí jako stressor. Organismus je nucen se novým podmínkám přizpůsobovat a dochází ke stressu, kterým začíná všeobecná adaptace (Leblanc 1966).

Tyto okolnosti vedou k úvaze o možnosti testovat vhodnost krmiva na základě větší či menší odezvy kůry nadledvin. V naší studii jsou sledovány účinky tří různých krmných směsí při odstavu selat od prasnice z hlediska uplatnění přídatku lyzinu a metioninu.

MATERIÁL A METODY

Při sledování účinků diet s lišícím se obsahem N-látek a jejich změn při odstavu od prasnice bylo použito celkem 75 selat bílého ušlechtilého plemene, pocházejících z 10 vrhů. Sledována byla pouze ta selata, která 12 dní před odstavem, prováděném ve stáří 31–36 dní, vážila minimálně 4,5 kg. Byly zkrmovány tři směsi (prestartery): 1. Obchodní kompletní směs pro časný odstav selat (ČOS 1) se stanoveným množstvím N-látek 26,7 %. 2. Směs chudá (CH) na N-látky (12,3 %), s větším obsahem cereálií, menším přídatkem biofaktorů a minerálních látek a stejným obsahem cukru a bramborových vloček jako u ČOS 1, s následujícím složením: ČOS 1 33 %, cukr 7 %, ovesný šrot přesátý 25 %, kukuřičný šrot 30 %, bramborové vločky 5 %. 3. Třetí směs byla tvořena předcházející s doplňkem 300 g L-lyzinu a 200 g metioninu na 100 kg krmiva (CH + LM). V propočtu podle tabulkových hodnot měla směs CH ve srovnání se směsí ČOS 1 lyzinu o 53 % a metioninu o 56 % méně a směs CH + LM lyzinu o 34 % a metioninu o 23 % méně.

Pokusy byly provedeny ve třech skupinách (tab. I):

- Selata byla příkrmována od prvního týdne stáří směsí ČOS 1, při odstavu od prasnice byla rozdělena a část (podskupina a) krmena směsí ČOS 1, druhá část (podskupina b) směsí CH.
- Selata byla příkrmována od prvního týdne stáří směsí ČOS 1, po odstavu od prasnice byla rozdělena a část (a) krmena směsí ČOS 1, druhá část (b) směsí CH + LM.
- Selata byla příkrmována od prvního týdne stáří směsí CH + LM, při odstavu od prasnice byla rozdělena a část (a) krmena toutéž směsí, druhá část (b) směsí ČOS 1.

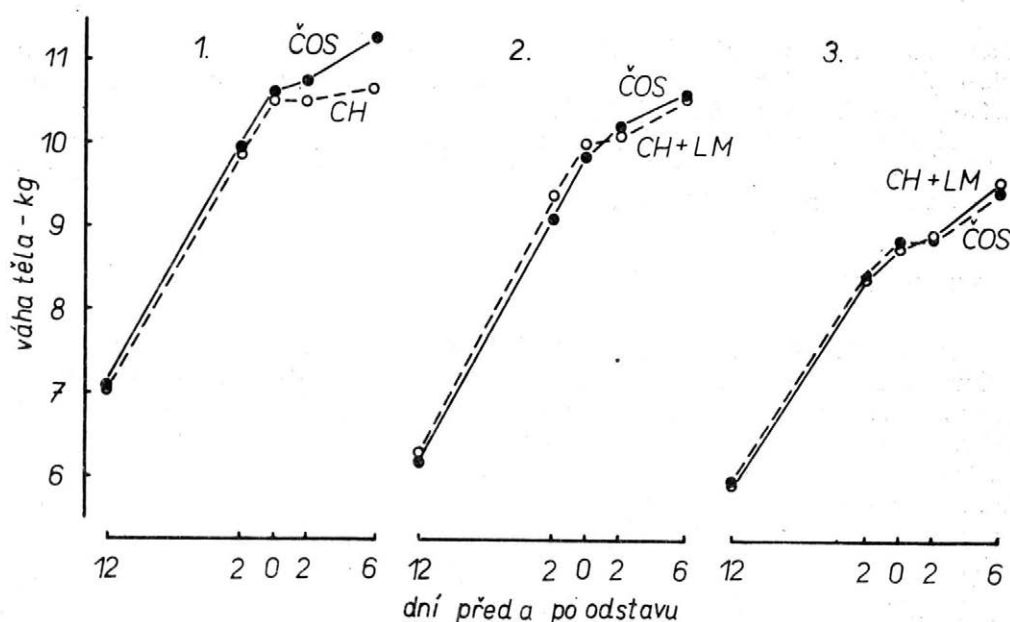
I. Váha těla, váhové přírůstky, váha jater a hladina glukózy v krvi selat za šest

Skupina	Zkrmovaná směs		Počet selat	Živá váha kg
	před	po odstavu		
1. a	ČOS 1	ČOS 1 _x)	13	11,26 ± 1,88
b	ČOS 1	CH	13	10,66 ± 1,09
2. a	ČOS 1	ČOS 1	11	10,59 ± 2,25
b	ČOS 1	CH + LM	12	10,56 ± 1,89
3. a	CH + LM	CH + LM	13	9,54 ± 1,31
b	CH + LM	ČOS 1	13	9,47 ± 1,36

x) ČOS 1 — kompletní směs pro časný odstav selat

CH — směs chudá na N-látky (12,3 %)

CH + LM — směs chudá na N-látky (12,3 %) s přídatkem lyzinu a metioninu



1. Růstové křivky tří skupin selat, která po odstavu od prasnice byla krmena buď stejným prestarterem (plná čára) nebo došlo ke změně krmiva (přerušovaná čára)

Krmivo bylo podáváno v suchém stavu *ad libitum*, k pití měla selata k dispozici vodu. Selata byla vážena v intervalech uvedených na obr. 1. V téže době, s výjimkou 12. dne před odstavou, byla od selat odebírána krev z *V. cava cranialis* pro stanovení počtu eosinofilních granulocytů (Eo) a hladiny glukózy v krvi. Šestý den po odstavu byla většina selat po zvážení vykřvena, zjištěna váha jater a nadledvin a stanovena adrenokortikální aktivita. Všechna vyšetření byla konána v ranních hodinách, bez předcházejícího omezení v příjmu potravy.

Počet Eo byl stanoven baničkovou metodou ve čtyřech Bürkerových komůrkách po přenesení krve do tekutiny podle Pirališviliho (1962). Koncentrace glukózy v plné krvi byla určována glukózooxidázovou metodou Fermognost podle návodu výrobce VEB Arzneimittelwerk Dresden. Ke stanovení koncentrace volných 17-hydroxykortikosteroidů (17-OHCS) v krevní plazmě byla použita Porter-Silberova reakce a metoda dříve popsaná (D o -

dní po odstavu při odlišném krmení

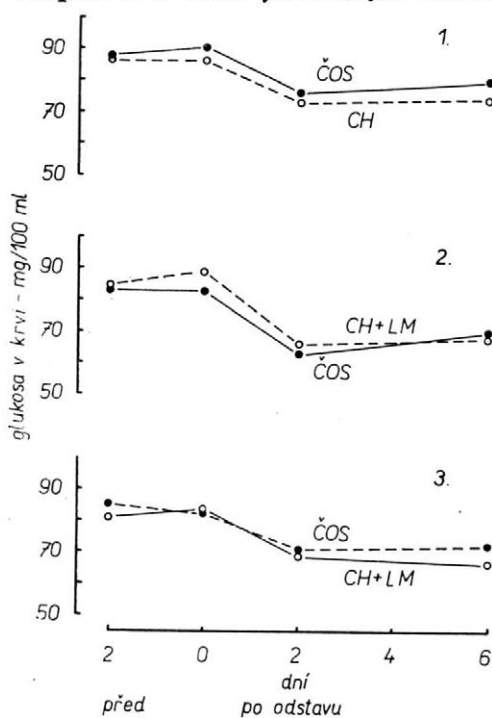
Přírůstek kg	Váha jater		Krevní glukóza mg 100 ml ⁻¹
	g	g kg ⁻¹	
0,72 ± 0,80	286 ± 51	25,0 ± 2,2	80 ± 15
0,13 ± 0,81	258 ± 31	24,2 ± 2,2	73 ± 9
0,72 ± 0,66	299 ± 91	26,9 ± 4,7	70 ± 10
0,53 ± 0,64	296 ± 79	27,9 ± 4,8	69 ± 9
0,84 ± 0,45	256 ± 46	26,5 ± 2,3	67 ± 11
0,76 ± 0,56	228 ± 82	24,3 ± 6,5	72 ± 12

řák 1967). K určení schopnosti kůry nadledvin produkovat 17-OHCS *in vitro* při stimulaci s přidáním ACTH byly nadledviny zpracovány způsobem dříve uvedeným (Dvořák 1972c).

Zjištěné hodnoty jsou udávány v aritmetických průměrech se směrodatnou odchylkou. Při statistickém hodnocení výsledků byla významnost rozdílů posuzována Studentovým *t*-testem.

VÝSLEDKY

Růst selat během posledních 12 dní před odstavem byl rovnoměrný, poněkud snížený ve 3. skupině, příkrmované směsí CH + LM. Po odstavu se růstové křivky ve všech případech snížily, zvláště v průběhu prvních dvou dní (obr. 1). Výrazněji byl růst zpomalován vždy u těch selat, u nichž došlo ke změně krmiva bez zřetele na obsah N-látek. Váhový přírůstek u nich (tab. I) byl nižší po přechodu na krmnou směs chudou na N-látky (skupina 1b) o 80 %, po přechodu na tutéž směs obohacenou lyzinem a metioninem (skupina 2b) o 26 %. Po změně směsi CH + LM (skupina 3b) na směs bohatší na N-látky (ČOS 1) byl váhový přírůstek po odstavu, ve srovnání se selaty dostávajícími stejné krmivo jako před odstavem, nižší o 22 % (tab. I). Váhový přírůstek po odstavu nebyl zaznamenán ve skupinách ani podskupinách u všech jednotlivých zvířat. Nejvíce takových bylo v 1b skupině po změně na směs CH (38,4 %) a potom ve 3b skupině po změně na ČOS 1 (30,7 %). Nejméně selat zaostávajících v přírůstku bylo ve skupině 2b po změně na směs CH + LM (16,6 %). Rozdíly mezi podskupinami ve váze ani v přírůstcích nebyly statisticky průkazné.



2. Změny hladiny glukózy v krvi tří skupin selat, která po odstavu byla krmena buď stejným prestarterem jakým byla příkrmována (plná čára), nebo došlo ke změně krmiva (přerušovaná čára)

Průměrné hladiny glukózy v krvi se dva dny před odstavem pohybovaly u podskupin v rozmezí 81 až 87 mg 100 ml⁻¹. Během dvou dní po odstavu se snížily o 13 až 24 mg 100 ml⁻¹, nejvíce ve skupině 2a, b. V průběhu následujících čtyř dní nastal s výjimkou skupiny 3a mírný vzestup (obr. 2). V jednotlivé dny vyšetření nebyly sice mezi poskupinami statisticky významné rozdíly ani při ukončení pokusu (tab. I), jeví se však určitý, ne však pravidelný vztah hladiny glukózy v krvi s váhovými přírůstky. U selat, která po odstavu nerostla nebo jevila dokonce váhový úbytek, byla koncentrace krevní glukózy zpravidla podprůměrná.

Podobně tomu bylo v individuálních případech v rámci skupin u relativní váhy jater. Nejnížší byla u selat skupiny 1b, s největším útlumem růstu

II. Váha nadledvin, koncentrace 17-hydroxykortikosteroidů v plazmě, jejich tvorba *in vitro* a počet eosinofilních granulocytů u selat za šest dní po odstavu při odlišném krmení

Skupina	Zkrmovaná směs		Váha nadledvin		Plazmatické 17 OHCS	Tvorba 17 OHCS	Eo
	před	po odstavu	mg	mg kg ⁻¹	μg 100 ml ⁻¹	μg 100 mg ⁻¹	v cmm
1. a	ČOS 1	ČOS 1	878 ± 126	76,7 ± 14,9	13,4 ± 6,4	15,2 ± 6,2	80 ± 57
b	ČOS 1	CH	855 ± 95	78,9 ± 14,6	12,5 ± 6,1	15,6 ± 5,8	78 ± 79
2. a	ČOS 1	ČOS 1	848 ± 194	78,1 ± 18,0	8,5 ± 2,2	13,0 ± 3,3	81 ± 43
b	ČOS 1	CH+LM	836 ± 142	79,6 ± 15,9	8,5 ± 2,7	12,6 ± 3,1	64 ± 28
3. a	CH+LM	CH+LM	734 ± 137	77,0 ± 14,7	10,3 ± 1,8	14,5 ± 2,5	104 ± 41
b	CH+LM	ČOS 1	707 ± 230	76,4 ± 22,2	10,1 ± 5,0	14,7 ± 2,7	96 ± 35

po odstavu. Rozdíly mezi podskupinami však byly malé a neprůkazné (tab. I).

V kritériích adrenokortikální aktivity, jak byla stanovena šest dní po odstavu (tab. II), nebyly prokázány v rámci skupin rozdíly mezi selaty s vyšším a nižším obsahem N-látek v krmné směsi, ani mezi podskupinami s odlišnou intenzitou růstu. V individuálních případech byla větší relativní váha nadledvin a vyšší tvorba 17-OHCS *in vitro* zjišťována u selat, která po odstavu nerostla, nebo měla váhové úbytky. Tento vztah funkce kůry nadledvin a růstu selat se jevil i u některých vrhů, které se mezi sebou lišily v rámci skupin a je patrný i mezi skupinami. V první skupině s nejvyšší hladinou 17-OHCS v krevní plazmě i tvorbou *in vitro* byla největší retardace růstu v důsledku odstavu.

Při sledování počtu Eo v cirkulující krvi selat v údobí dvou dnů před odstavem a šesti dnů po odstavu nebyly zjištěny mezi odlišně krmenými podskupinami průkazné rozdíly v průběhu, ani při ukončení sledování (tab. II). Odchyly mezi skupinami byly zaznamenány ve změnách počtu Eo v průběhu pokusu. Ve druhé skupině se hladina Eo při čtyřech vyšetřeních podstatně neměnila, v první skupině se po odstavu snížila a ve třetí skupině se průkazně zvýšila. Tyto změny jsou v souladu s přímými kritérii adrenokortikální aktivity spočívajícími ve stanovení 17-OHCS.

DISKUSE

Výsledky dosažené v této studii nejsou pro značnou variabilitu sledovaných ukazatelů růstu i funkce kůry nadledvin jednoznačné. Lze usoudit, že sledované údobí šesti dnů po odstavu selat od prasnice je z hlediska možného působení řady známých i nedefinovatelných faktorů velmi závažné a složité. Představuje pro živočišný organismus bezesporu velkou zátěž. To se projevilo nejvýrazněji značným snížením váhových přírůstků, zejména během prvních dvou dnů po odstavu. Příznivě byly ovlivněny prestarterem s vysokým obsahem N-látek, ale i prestarterem na živočišné bílkoviny relativně chudým, s přidavkem lyzinu a metioninu. Doplnění směsi aminokyselinami se kladně projevilo i při nižším obsahu přidávaných biofaktorů a minerálních látek, než bylo ve směsi ČOS 1. Nepříznivě byly přírůstky ovlivněny změnou krmiva v den odstavu, a to i ve směru zvýšení bílkovin. To potvrzuje známou skutečnost o nevhodnosti náhlé změny krmné dávky. Avšak ani kvalitní prestarter zkrmovaný během údobí sání a několik dnů po odstavu selat od prasnice zřejmě nezabrání změně v příjmu potraviny, způsobené přerušením sání mateřského mléka. V tomto smyslu i stupeň účinků, které vyvolala změna prestareru při odstavu, může být kvalifikován jako znak kvality či nevhodnosti testované krmné směsi. Se zřetelem na váhové pří-

růstky se po změně krmiva při odstavu jako nejvhodnější jevila směs ČOS 1, poté CH + LM a jako nevhodná směs CH.

Kritéria adrenokortikální aktivity, stanovená za šest dní po odstavu, nebylo možné do hodnocení použitých krmných směsí zahrnout. Mezi skupinami i mezi podskupinami nebyly statisticky významné rozdíly. Průměrné hodnoty relativní váhy nadledvin, plazmatických 17-OHCS i jejich produkce *in vitro* se podstatně nelišily od výsledků stanovených u selat za dva dny po odstavu (Dvořák 1972b). Většinou však byly mírně vyšší než u odstavených selat odpovídajícího věku, která nebyla před vyšetřením experimentálně ovlivňována (Dvořák 1972d). Lze tedy posoudit adrenokortikální funkci vyšetřených selat jako mírně zvýšenou. Je pravděpodobné, že podstatně k tomu přispěly také odběry krve. z *V. cava cranialis*, opakované ve dnech vyšetřování selat. Nutriční faktor, jako potencionální stressor zřejmě méně potentní, se výrazně neprojevil.

Více byl naznačen vzájemný vztah zvýšené aktivity kůry nadledvin a retardace růstu některých selat. Je možné počítat s tím, že v rámci skupin i jednotlivých vrhů existovala také značná variabilita v připravenosti selat konzumovat po odstavu dostatečné množství krmiva. Na všeobecně snížený příjem energie ukazují i snížené hladiny krevní glukózy, zejména v prvních dvou dnech po odloučení od mateřského mléka. Nelze rozhodnout, zda snížený příjem potravy, podobně jako u experimentálně vyvolaného hladu (Dvořák a kol. 1970), zvýšil adrenokortikální aktivitu, či zda primárně ve zvýšené míře uvolňované glukokortikoidy neovlivňovaly negativně váhové přírůstky. Z tohoto hlediska nelze ani podceňovat genetický podíl na zvýšené responsibilitě selat vůči stressu (JUDGE a kol. 1967). Snížená hladina Eo, shodně jako v dřívější studii (Dvořák 1968), jevila vztah ke zpomalenému růstu selat.

Otázkou zůstává, čemu lze připsat snížené a mnohdy inhibované váhové přírůstky po změně krmné směsi při odstavu. V kritériích funkce kůry nadledvin se příslušné podskupiny průkazně nelišily. Ani otázce obsahu N-látek nelze zřejmě připsat hlavní roli. Je pravděpodobné, že podstatnou úlohu zde může hrát enzymatická adaptace na náhlou změnu krmiva, jehož konzumu a využití nebyl organismus dosud navyklý.

Nelze nevidět také vzájemný vztah retardace růstu selat a snížené koncentrace glukózy v krvi, který se projevoval zvláště ve druhém dni po odstavu selat a šestý den byl často spojen se zvýšenou váhou nadledvin a se zvýšenou tvorbou 17-OHCS *in vitro*, což svědčí pro déletrvající adrenokortikální stimulaci. Je to sice v určitém rozporu s glukoneogenetickou a hladinu krevní glukózy zvyšující schopností glukokortikoidů, nelze však v této situaci nerespektovat další četné faktory ovlivňující glykémii i účinek hypoglykémie na zvýšení funkce kůry nadledvin (Dvořák 1971). Nižší hladiny krevní glukózy se často pojí se zpomaleným růstem selat (Dvořák a kol. 1970).

Výsledky této experimentální studie nepotvrdily předpoklady o možném zvýšení adrenokortikální aktivity v důsledku změny krmiva, jak to prokázal u kuřat Raszky (1972). Ani odlišná hladina N-látek v prestarterech ji v tomto složitém údobí adaptace po odstavu selat zřetelně neovlivnila. Zařazení změny krmiva v testování jeho vhodnosti se však ukázalo výhodné při sledování váhových přírůstků. Uspokojivé výsledky podal prestarter obsahující pouze 12,3 % N-látek a přídavky lyzinu a metioninu. Nelze jej považovat za optimální k praktickému použití při časném odstavu selat. Významné však je, že přídavky použitých aminokyselin mohou sehrát i u mladých selat významnou roli v ekonomice jejich výživy.

Literatura

- BRAUDE R., MITCHELL K. G., MYRES A. W., NEWPORT M. J., CUTHBERTSON A., 1972, The replacement of protein concentrates by synthetic lysine in the diet of growing pigs. *Br. J. Nutr.* 27 : 169-175.
- DVOŘÁK M., 1967, Hladiny volných 17-hydroxykortikosteroidů v krevní plasmě prasat: vztah ke stáří selat. *Vet. Med. (Praha)* 12, 1 : 43-48.
- DVOŘÁK M., 1968, Eosinophil levels in the blood of piglets with normal and retarded development. *Docum. vet. (Brno)* 7 : 199-206.
- DVOŘÁK M., 1971, Adrenocortical function in the hypoglycaemia of newborn pigs. *Acta vet. (Brno) Suppl.* 2 : 25-27.
- DVOŘÁK M., 1972a, Hematologické příznaky stressu při odstavu selat. *Vet. Med. (Praha)* 17, 2 : 81-90.
- DVOŘÁK M., 1972b, Aktivita kůry nadledvin při odstavu selat ve srovnání se stimulační exogenním ACTH. *Vet. Med. (Praha)* 17, 11 : 671-678.
- DVOŘÁK M., 1972c, Der Einfluß des Alters und der vorangehenden erhöhten Nebennierenrindenaktivität bei Kälbern auf die Produktion von 17-Hydroxykortikosteroiden *in vitro*. *Endokrinologie* 59 : 161-168.
- DVOŘÁK M., 1972d, Adrenocortical function in foetal, neonatal and young pigs. *J. Endocr.* 54 : 473-481.
- DVOŘÁK M. aj., 1970, Stressové reakce u sajících a odstavených selat. (Výzkumná zpráva.) Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno.
- FRIEDMAN S. B., ADLER R., 1967, Adrenocortical response to novelty and noxious stimulation. *Neuroendocrinology* 2 : 209-212.
- JUDGE M. D., CASSENS R. G., BRISKEY E. J., 1967, Muscle properties of physically restrained stressor-resistant porcine animals. *J. Fd. Sci.* 32 : 565-567.
- KASPAR F., PROKOP V., 1971, Zvýšení biologické hodnoty bílkovin v dietě pro časné odstavená selata přidávkou aminokyselin. (Výzkumná zpráva.) Výzkumný ústav pro chov prasat, Kostelec nad Orlicí.
- LEBLANC J., 1966, Adaptive mechanism in humans. *Ann N. Y. Acad. Sci.* 134 : 721-732.
- MILLER E. R., 1971, Rations for pigs weaned at 3 or 4 weeks of age. *Res. Report Mich. St. Univ. agric. Exp. Stn.* 148 : 25-30.
- MÜLLER Z., MÁLEK I., 1967, Monodieta na bázi pšenice u odstavených selat. *Biologizace Chem. Výž. Zvíř.* 3 : 535-542.
- PIRALISVILI I. S., 1962, K metodice podšeta eozinofilov v periferičeskoj krovi. *Lab. Delo* 8, č. 3 : 20-22.
- RASZYK J., 1971, Vzájemné vztahy nutričních faktorů a hormonální aktivity adrenálního kortexu při stressu. (Písemná práce ke kandidátskému minimu). Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno.
- RASZYK J., 1972, Vliv hladovění a dietních změn na adrenokortikální aktivitu kuřat. (Kandidátská disertační práce.) Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno.
- SELYE H., 1946, The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *J. clin. Endocr. Metab.* 6 : 117-230.
- SELYE H., 1966, Život a stres. 1. vyd. Martin.
- WHITEHAIR C. K., GRUMMER R. H., BOHSTEDT G., PHILLIPS P. H., 1947, Amino acid supplementation of corn for small pigs. *J. Anim. Sci.* 6 : 492.

Došlo dne 19. 9. 1973

ДВОРЖАК М., ГЕРЗИГ И., РАСЗИК Й. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, ЧХА, Брно, Чехословакия). Общее приспособление к изменению престаартеров с разным содержанием азотистых веществ при отъеме. *Vet. Med. (Praha)* 19 (4) : 197-204, 1974.

Изучались действия трех кормовых смесей с разным содержанием белков, лизина и метионина в течение шести дней после отъема поросят от свиноматок. Поросята были отняты в возрасте 31—36 дней. Критериями пригодности примененных престаартеров были: вес поросят, уровень сахара в крови и эозинофильных гранулоцитов в периферической крови, уровень 17-гидроксикортикостероидов в кровяной плазме и их образование *in vitro*. Не было доказано действия состава кормовых смесей и их изменений на аденокортикальную функцию поросят на шестой день после отъема. В индивидуальных случаях повышенная активность коры надпочечников и пониженная гликемия связаны с замедлением роста тела.

Изменение престаартера при отъеме поросят, а именно по отношению повышения содержания животных белков, вызывала понижение привесов. Добавка лизина и метионина в смесь, содержащую лишь 12,3 % азотистых веществ, положительно обусловила весовые приросты отнятых поросят.

кормовая смесь; лизин; метионин; рост; стресс; 17-гидроокортикостероиды

DVOŘÁK M., HERZIG I., RASZYK J. (Veterinary Research Institute, Czech Academy of Agriculture, Brno, Czechoslovakia). *General Adaptation to the Replacement of Prestarters with Different Content of Nitrogenous Substances at Weaning*. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 197-204, 1974.

The effects of three feed mixtures with different contents of protein, lysine and methionine were studied for six days after weaning. The piglets were weaned at the age from 31 to 36 days. The following criteria were used for the evaluation of the suitability of the prestarters used: the level of blood sugar and eosinophilic granulocytes in peripheral blood, the level of 17-hydroxycorticosteroids in blood plasma, and their production *in vitro*. The trials did not demonstrate the effect of the composition of feed mixtures and their changes on the adrenocortical function of piglets the sixth day after weaning. In individual cases the increased activity of the suprarenal cortex and decreased glycemia were connected with the retardation of body growth. A change in the prestarter at piglet weaning (even the increase of the content of animal protein) resulted in a reduction of weight gains. The addition of lysine and methionine to a mixture containing only 12.3 % of its volume as nitrogenous substances favourably influenced the weight gains of the weaned piglets.

feed mixture; lysine; methionine; growth; stress; 17-hydroxycorticosteroids

DVOŘÁK M., HERZIG I., RASZYK J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin der Tschechischen Akademie für Landwirtschaft, Brno, Tschechoslowakei). *Allgemeine Adaptation auf die Veränderung der Prästarter mit unterschiedlichem Gehalt an Stickstoffsubstanz beim Ferkelabsatz*. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 197-204, 1974.

Es wurde die Wirkung von drei Mischfuttermitteln mit unterschiedlichem Eiweiß-, Lysin und Methioningehalt sechs Tage nach dem Absetzen der Ferkel von der Muttersau verfolgt. Die Ferkel wurden im Alter von 31—36 Tagen abgesetzt. Als Kriterien der Eignung der benutzten Prästarter dienten das Ferkelgewicht, der Blutzuckerspiegel, das Niveau der eosinophilen Granulozyten im peripheren Blut, das Niveau der 17-Hydroxycortikosteroide im Blutplasma und deren Bildung *in vitro*. Es wurde keine Wirkung der unterschiedlichen Zusammensetzung der Mischfuttermittel auf die adrenokortikale Funktion der Ferkel am sechsten Tag nach dem Absetzen nachgewiesen. In individuellen Fällen war eine erhöhte Aktivität der Nebennierenrinde und herabgesetzte Glykämie mit einer Retardation des Körperwachstums verbunden. Die Veränderung des Prästarters beim Ferkelabsatz, und dies auch in Richtung der Erhöhung des Gehaltes an tierischem Eiweiß, verursachte eine Abnahme der Gewichtszunahmen. Die Zugabe von Lysin und Methionin zum Mischfutter, das nur 12,3 % Stickstoffsubstanz enthielt, hatte eine positive Wirkung auf die Gewichtszunahmen der abgesetzten Ferkel.

Mischfutter; Lysin; Methionin; Wachstum; Stress; 17-Hydroxycortikosteroide

Adresa autorů:

MVDr. M. Dvořák, CSc., MVDr. I. Herzig, CSc., MVDr. J. Raszyk, Výzkumný ústav veterinárního lékařství ČAZ, Hudcova 70, 621 32 Brno

KONTROLA NOVÉHO ANTIMYKOTIKA V TERÉNNÍ PRAXI

I. Sýkora, J. Burdych

Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii, pobočka Rosice n. Labem

Okresní veterinární zařízení, Pardubice

SÝKORA I., BURDYCH J. *Kontrola nového antimykotika v terénní praxi.* Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 205-210, 1974.

Ze srovnání léčebného efektu referenčního vzorku Mycoceton 5% spray a látky VÚFB 9332 (2-aminotridekan-2,4,5-trichlorfenolát) 1% spray na plísňové onemocnění jalovic vyplývá, že obě látky mají dobrý léčebný účinek, projevující se epitelizací ložisek, jejich ochlupováním a deskvamací nemocného epitelu s postupným vymizením ložisek. Za osm týdnů po zahájení léčby obě zkoušené látky vykázaly shodný účinek na vymizení mykotických ložisek. Látka VÚFB 9332 má však proti Mycocetonu dřívější nástup léčebného účinku, epitelizace a začínající zarůstání ložisek je patrné již za dva týdny po zahájení léčby, kdežto u Mycocetonu ve většině případů se shodný efekt objevuje až za čtyři týdny po první aplikaci. Také vymizení mykotických ložisek je po látce VÚFB 9332 rychlejší než po Mycocetonu. Ložiska, která přetrvávala do osmého týdne pozorování po první aplikaci látkou VÚFB 9332, byla při zahájení léčby velmi rozsáhlá, zastaralá, zasahovala hluboko do podkoží a byla kryta silnou krustou. Recidivy ani po jedné zkoušené látce nebyly zjištěny. Kontrolní skupinu, která by byla neléčena, jsme nemohli vzhledem k nákazové situaci ponechat. Lokální dráždění na kůži nebylo prokázáno ani po jedné látce, Mycoceton proti nově zkoušené látce má však výrazně dráždivý účinek na sliznice a vyvolává krátkodobé konjunktivitidy při aplikaci do blízkosti očí. Látka VÚFB 9332 tento nepříznivý účinek nemá. Při aplikaci je sprayová forma pro rychlou a rutinní práci ve stáji nejvýhodnější.

trichlorfenolát-2aminotridekan; Mycoreton; jalovice; antimykotický efekt; dráždivost; sprayová forma

Problém plísňových onemocnění ve veterinární praxi nabývá zvláště v poslední době v souvislosti s velkochovy dobytka stále většího významu. Dosavadní léčebné prostředky vzhledem ke vzniku rezistencí je nutné neustále doplňovat novými preparáty.

Ve Výzkumném ústavu pro farmacii a biochemii v Praze byl ve skupině 2-aminoalkanů a jejich derivátů zjištěn výrazný stupeň fungicidní aktivity (Šimek a kol. 1969) a dalším zpracováním této skupiny se ukázalo, že stupeň účinnosti je přímo závislý na počtu uhlíků v molekulární struktuře substance. Několik látek této skupiny bylo již klinicky ověřováno a látka VÚFB 8115 (2-aminotridekan-2-chlor-4-nitrofenolát) pod názvem Myco-decidin byla již zařazena do výroby (Vostoupal a kol. 1972). Jako další látka byla syntetizována látka VÚFB 9332 2-aminotridekan-2,4,5-trichlorfenolát (Čapek a kol. 1973). Antimykotický účinek *in vitro* na růst *Candida albicans* byl u této látky nejvýraznější.

V orientační terapeutické studii jsme tento vývojový preparát srovnávali se standardně vyráběným Mycoceton spray SPOFA (kys. undecylenová 15 %, hexachlorfen 5 %).

MATERIÁL A METODA

Látka VÚFB 9332 byla připravena ve Výzkumném ústavu pro farmacii a biochemii v Praze; jedná se o trichlorfenolát 2-aminotridekan, je dobře rozpustná v etanolu, téměř nerozpustná ve vodě, bezbarvá a téměř bez zápachu.

Pro terapeutickou studii byly použity přibližně dvouleté jalovice červeno-strakatého plemene v objektu Lány na Důlku, okres Pardubice. Způsob ustájení — vazná stáj. Mikroklima stáje bylo dobré, jednalo se sice o starší objekt, ale dobře větritelný, světlý, stěny i strop po výskytu plísňového onemocnění byly vyběleny vápnem. V relativní vlhkosti nebyly větší objektivní výkyvy.

Průměrná váha použitých jalovic byla asi 300 kg. Všechny byly ve velmi dobrém výživném stavu. Před zahájením tohoto klinického pokusu nebyla zvířata léčena.

Pokus probíhal ve dvou částech. V první části bylo izolováno osm jalovic s kožními nálezy do samostatné menší stáje, v druhé části bylo vyhrazeno jedno stání ve velké stáji, kam bylo umístěno 17 jalovic. Časový rozdíl zahájení léčby mezi první a druhou skupinou byl 14 dní. Hodnoceny byly obě skupiny současně; každá skupina byla rozdělena na část léčenou Mycocetonem a část léčenou zkoušeným přípravkem.

Z kožních ložisek od sedmi jalovic byly odebrány vzorky na mykologické vyšetření. Byly izolovány plísně *Trichophyton verrucosum* a ve dvou případech navíc byl vykultivován i *Trichophyton mentagrophytes*. Je možné předpokládat, že se jednalo hlavně o zamoření plísní *T. verrucosum*, která byla doprovázena výskytem *T. mentagrophytes* (dr. J. Holda, VÚFB, Rosice n. Labem).

Plísňová ložiska na kůži zvířat byla před zahájením léčby spočítána a rozdělena do tří skupin podle velikosti:

+ — průměr do 3 cm; ++ — průměr od 3 do 8 cm; +++ — průměr nad 8 cm.

Klinický nález byl potom pravidelně u každé jalovice kontrolován ve 14denních intervalech a zaznamenáván do chorobopisu. Jako ložiska i po léčbě byla počítána taková, u kterých nebylo dokončeno ochlupení, ačkoliv byla dokončena epitelizace. Individuálně v poznámkách v každém chorobopisu bylo zaznamenáno, od kdy se již jednalo o ložisko téměř vyléčené, i když bylo patrné, tzn. s počínajícím růstem ochlupení a ukončenou epitelizací.

Zkoušená látka i referenční vzorek byly použity ve formě spraye, stříkány byly na ložiska ze vzdálenosti asi 10 až 15 cm.

Látka VÚFB 9332 i Mycoceton byly aplikovány celkem třikrát ve čtyřdenních intervalech.

Po dobu terapeutické studie se u léčených jalovic nevyskytlo žádné jiné onemocnění. Výsledky byly shrnuty do tab. I a II.

VÝSLEDKY

Mycoceton spray

Jak vyplývá z tab. I, celkový počet mykotických ložisek před zahájením léčby celkem u devíti jalovic byl 116. Za čtyři týdny po zahájení léčby se snížil

I. Výsledky léčení

Použitá látka	Počet zvířat	Počet ložisek									
		před léčbou		po aplikaci léku							
				dva týdny		čtyři týdny		šest týdnů		osm týdnů	
		celkem	%	celkem	%	celkem	%	celkem	%	celkem	%
VÚFB 9332	16	523	100,0	308	58,9	176	33,6	66	12,6	27	5,1
Mycoceton	9	116	100,0	80	68,9	53	45,7	33	28,4	6	5,1

II. Začínající epitelizace a růst srsti

Použitá látka	Počet zvířat	Po aplikaci léku					
		dva týdny		čtyři týdny		šest týdnů	
		počet zvířat	%	počet zvířat	%	počet zvířat	%
VÚFB 9332	16	14	87,5	2	12,5	—	—
Mycoceton	9	2	22,2	6	66,7	1	11,1

počet viditelných ložisek o 54 %, do osmého týdne přetrvávalo 5 % viditelných ložisek.

Epitelizace, deskvamace nemocného epitelu a současně narůstání nové srsti (tab. II) bylo nejpatrnější za čtyři týdny po zahájení léčby. V tomto období se léčebný efekt projevil u 67 % léčených jalovic. Již za dva týdny, hlavně u jalovic s drobnějšími ložisky, začala být léčba patrná; u jedné jalovice, která měla mykotická ložiska staršího data a poměrně hluboko prorostlá do podkoží, se léčebný efekt začal projevovat až za šest týdnů po zahájení léčby.

Lokální dráždění Mycocetonem na kůži nebylo pozorováno, při aplikaci v blízkosti očí docházelo u zvířat ke slabým konjunktivitidám, které bez ošetření do jednoho až tří dnů mizely. Dráždění nosní a oční sliznice při postříku bylo výrazné, projevovalo se silným neklidem zvířat. Stejně tak byl Mycoceton výrazně dráždivý pro ošetřující personál.

Látka VÚFB 9332

Před zahájením léčby byla napočítána na 16 jalovicích 523 mykotická ložiska (tab. I). Za čtyři týdny po zahájení léčby poklesl počet viditelných ložisek o 67 %, v osmém týdnu bylo patrné již pouze 5 % ložisek. Přetrvávání viditelných ložisek po celých osm týdnů bylo zaznamenáno pouze u dvou jalovic, u kterých bylo plísňové onemocnění velmi rozsáhlé, s velkým počtem ložisek, která většinou hluboko zasahovala do podkoží, s velkými krustami.

Odlupování nemocného epitelu a začínající růst srsti (tab. II) byl patrný většinou již za dva týdny po zahájení léčby. Opět u jmenovaných jalovic, u ložisek pokrytých silnými krustami, byl patrný léčebný efekt až za čtyři týdny po první aplikaci, menší ložiska se však začala ochlupovat také do dvou týdnů.

První příznaky odlupování napadené pokožky bylo možno pozorovat u drobnějších ložisek (zvláště na krku a na hlavě) již za čtyři dny po první aplikaci, za další čtyři dny se již začínala objevovat nová srst na ložiscích s odloupenou pokožkou.

Lokální dráždění látky aplikované na povrch kůže nebylo pozorováno, nevyskytly se ani kontunktivitydy při aplikaci do blízkosti očí. Dráždění sliznic se téměř nevyskytlo, což umožňovalo snadnější práci při postřicích. Ani ošetřující personál nebyl vdechováním rozprašeného spraye drážděn.

DISKUSE

Účinnost Mycocetonu v 5 % koncentraci ve srovnání našich výsledků a výsledků Ševčíka a kol. (1970) za šest týdnů po léčbě je téměř shodná. V našich podmínkách jsme zaznamenali 71,6 % vyléčených ložisek, v citované práci je udáváno vyléčení 69,5 % ložisek. Také symptomy dráždění očí různého stupně jsme potvrdili, včetně reverzibilního charakteru tohoto účinku.

Látka VÚFB 9332 v 1 % koncentraci vykazovala za šest týdnů po léčbě vyohejení u 87,4 % ložisek. Ve stejné koncentraci udává Vostoupal a kol. (1972) u 2-chlor-4-nitrofenol derivátu poněkud nižší účinnost — 82,9 % vyléčených ložisek. Potvrzuje to výsledky *in vitro*, při kterých Čapek a kol. (1973) zjistili také vyšší účinnost 2,4,5-trichlorfenolátu proti 2-chlor-4-nitrofenolátu. Nitrofenolát mimo to ojediněle vykazoval některé symptomy místního dráždění a v několika případech i konjunktivitidy s edemem víček. Příznaky místního dráždění po nitrofenolátu jsme pozorovali i u králíků při dermální toxikologické studii (Sýkora a kol. 1972). Příznaky dráždění po trichlorfenolátu jsme nepozorovali, bude však nutné dráždivost ověřit na větším počtu zvířat. Stejně tak by bylo výhodné uvažovat o zabarvení spraye některým neškodným barvivem, aby se postup terapie mohl snáze kontrolovat.

Literatura

- ČAPEK A., ŠIMEK A., LEINER J., WEICHET J., 1973, Antimicrobial Agents, XVII Antimycotic Activity of 2-Aminotridecane Addition Salts. *Folia microbiol.*, Praha, 18 : 142-145.
- SÝKORA I., KLETEČKA P., HORŇÁČEK J., ŘEHULOVÁ E., 1972, Dermální toxikologická studie látky VÚFB 7477 a 8115. Výzkumná zpráva, VÚFB, Praha.
- SÝKORA I., BURDYCH J., HOLDA J., 1973, Klinická studie — látka VÚFB 9332. Výzkumná zpráva, VÚFB, Praha.
- VOSTOUPAL B., ŠEVČÍK B., REICHEL F., ŠVÁB I., 1972, Klinické hodnocení nového antimykotického přípravku VÚFB 8115. *Veterinaria SPOFA XIV*, 3 : 159-173.
- ŠEVČÍK B., REICHEL F., KRÁL J., PLÍŠEK K., ŠEVČÍKOVÁ E., KNAP J., TOMÁŠKOVÁ M., VOSTOUPAL B., 1970, Mycoceton spray — antimykotikum v tlakovém balení. *Veterinaria SPOFA XII*, 1-2 : 37-57.
- ŠIMEK A., ČAPEK A., TURINOVÁ J., WEICHET J., LEINER J., 1969, Antimicrobial agents. III. 2-aminoalkanes and their derivatives. *Folia Microbiol.* 14 : 508.

Došlo dne 3. 10. 1973

СЫКОРА И., БУРДЫХ Й. (Научно-исследовательский институт фармации и биохимии, филиал Росице над Лабем; Районное ветеринарное управление, Пардубице, Чехословакия). Контроль нового антимикотина на местах. *Vet. Med. (Praha)* 19 (4) : 205-210, 1974.

Сравнение лечебного действия референционного образца Микоцетон 5 % распылителя и вещества VÚFB 9332 (2-аминотридекан 2,4,5-трихлорфенолят) 1 % распылителя на пневмомикоз показывает, что оба вещества оказывают хорошее лечебное действие, проявляю-

шея эпителизацией узлов, их покрытием волосистой порослью, десквамацией большого эпителия и постепенным исчезновением. Спустя 8 недель после начала лечения оба вещества содействовали в равной мере исчезновению микотических узлов. Но VÚFB 9332 начинает действовать быстрее, обрастание узлов наблюдается уже спустя 2 недели после начала лечения, тогда как при лечении Микоцетоном — спустя 4 недели. Также микотические узлы исчезают после VÚFB 9332 быстрее, чем после Микоцетона. Узлы, сохраняющиеся до 8-й недели после I применения VÚFB 9332 в начале лечения, были весьма объемисты, стары, врезывались глубоко под кожу и были покрыты толстой коркой. Ни у одного из веществ не обнаружено рецидивов. Ввиду инфекционной ситуации не было возможности составить контрольную группу. Локального кожного раздражения не установлено ни в одном из случаев, но Микоцетон заметно раздражает слизистую оболочку и вызывает кратковременные конъюнктивиты при его нанесении вблизи глаз. Вещество VÚFB 9332 не обладает этим неблагоприятным действием. Распылительная форма внесения лекарств представляется наиболее подходящей для скорой и рутинной работы в животноводческих помещениях.

трихлорфенолят-2-аминотридекан; Микоцетон; телка; антимикотический эффект; раздражимость; атомизаторная форма

SÝKORA I., BURDYCH J. (Research Institute for Pharmacy and Biochemistry, Rosice n. L. branch, District Veterinary Establishment, Pardubice, Czechoslovakia). *Checking of a New Antimycotic in the Field Practice*. Vet. Med. (Praha) 19 (4): 205-210, 1974.

Comparison of the therapeutic effect of a referential sample of Mycoceton 5%₀ spray and of the substance VÚFB 9332 (2-aminotridecane 2,4,5-trichlorophenolate) 1%₀ spray on fungous diseases of heifers has shown that both substances produce a good therapeutic effect, resulting in an epithelization of localities, in their covering with hairs, and in a desquamation of the sick epithelium and gradual disappearance. In eight weeks after the commencement of the treatment both substances produced an identical effect on the disappearance of mycotic deposits. However, compared with Mycoceton, the VÚFB 9332 substance shows an earlier beginning of the therapeutic effect, epithelization and the beginning healing of localities can be observed already in two weeks after the beginning of the treatment, whereas in the case of Mycoceton an identical effect appears, in a majority of cases, not until in four weeks after the first application. Also the disappearance of mycotic deposits is also more rapid after an application of the VÚFB 9332 substance than after application of Mycoceton. Deposits that lasted up to the eighth week of observation after the 1st application of the VÚFB 9332 substance were, at the beginning of the treatment, very extensive, old, and reached deep into the subcutaneous layer and were covered with thick scab. Recidivity was not found after any of the tested substances. With regard to the situation of the infection we could not maintain the control group that had not been treated. Local irritation of the skin was not found after either of the substances. However, compared with the newly tested substance, Mycoceton produces a marked irritative effect on mucous membranes and causes a short-term conjunctivitis if applied near the eyes. The VÚFB 9332 substance does not produce this undesirable effect. Because of the speedy routine of work application in the form of spray is most suitable in cow-houses.

trichlorophenolate-2 aminotridecane; Mycoceton; heifer; antimycotic; effect; irritability; form of spray

SÝKORA I., BURDYCH J. (Forschungsanstalt für Pharmazie und Biochemie, Zweigstelle Rosice n. L.; Kreisveterinäreinrichtung, Pardubice, Tschechoslowakei). *Kontrolle eines neuen Antimykotikums in der veterinären Praxis*. Vet. Med. (Praha) 19 (4): 205-210, 1974.

Aus dem Vergleich des therapeutischen Effekts der Referenzprobe von Mycoceton 5%₀-Spray und des Stoffes VÚFB 9332 (2-Aminotridekan- 2,4,5-Trichlorphenolat) 1%₀-Spray auf die Schimmelpilzkrankheit bei Färsen geht hervor, daß beide Stoffe eine gute therapeutische Wirkung aufweisen, die sich durch Epithelisierung der Herde, deren Behaarung und Desquamierung des kranken Epithels und allmähliches Verschwinden desselben äußert. In acht Wochen nach Beginn der Therapie

wiesen beide untersuchten Stoffe eine gleiche Wirkung auf das Verschwinden der Mykosenherde auf. Der Stoff VÚFB 9332 zeigt aber im Vergleich zum Mycoceton eine zeitigere Heilwirkung. Die Epithelisierung und beginnende Verwachsung der Herde ist bereits nach zwei Wochen der Therapie sichtbar, während sich beim Mycoceton in der Mehrzahl der Fälle ein gleicher Effekt erst in vier Wochen nach der ersten Applikation zeigt. Auch das Verschwinden der Mykosenherde ist bei Applikation des Stoffes VÚFB 9332 schneller als nach Mycoceton. Die Herde, die nach der ersten Applikation von VÚFB 9332 bis zur achten Woche überdauerten, waren bei Beginn der Therapie ausgedehnt, veraltet, reichten tief in die Unterhaut und waren mit einer starken Kruste bedeckt. Nach Applikation keiner der beiden geprüften Stoffe konnten Rezidiven festgestellt werden. Die Kontrollgruppe, die nicht behandelt wurde, konnten wir in Hinsicht auf die Seuchensituation nicht belassen. Eine lokale Hautreizung wurde bei Applikation keiner der geprüften Stoffe beobachtet. Im Vergleich zu dem geprüften Stoff VÚFB 9332 wies aber Mycoceton eine ausgeprägte Reizwirkung auf die Schleimhaut auf und löste kurzfristige Augenbindehaut-Entzündungen bei Applikation in Augennähe aus. Der Stoff VÚFB hat diese ungünstige Wirkung nicht. Zur Applikation eignet sich die Spray-Form wegen schneller und Routinearbeit im Stall am besten.

Trichlorfenolat-2 Aminotridekan; Mycoceton; Färse; antimykotischer Effekt; Reizwirkung; Spray-Form

Adresa autorů:

RNDr. I. Sýkora, CSc., Výzkumný ústav pro farmácii a biochemii, 533 51 Rosice nad Labem, MVDr. J. Burdych, Okresní veterinární zařízení, 530 00 Pardubice

VYŠETŘENÍ ŽLOUTKOVÝCH EXTRAKTŮ JAKO SOUČÁST SÉROLOGICKÉHO PRŮZKUMU ZAMOŘENOSTI CHOVŮ DRŮBEŽE

K. Černík, J. Salaj

Bioveta, Nitra

ČERNÍK K., SALAJ J. *Vyšetření žloutkových extraktů jako součást sérologického průzkumu zamořenosti chovů drůbeže*. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 211-220, 1974.

V šesti velkochovech drůbeže na západním Slovensku bylo souběžně vyšetřeno 168 žloutkových extraktů v porovnání s 220 vzorky krevního séra nosnic precipitačním testem v agaru proti viru pseudomoru, infekční bronchitidy, CELO, Markovy choroby a částečně proti viru parainfluenzy 2 a aviární encefalomyelitidy a rychlým aglutinačním testem s antigenem *Mycoplasma gallisepticum* — Gallitest. Proti viru pseudomoru a infekční bronchitidy byly směsné vzorky vyšetřeny i neutralizačním, popřípadě hemaglutinačně inhibičním testem. Precipitační protilátky proti pseudomoru a infekční bronchitidě byly dokázány shodně v séru v 36,4 % a ve žloutku v 10,0 % případů. Proti viru CELO a Markovy choroby byly nalezeny v séru ve všech případech; ve žloutcích v 60 % případů proti CELO a v 71,4 % proti viru Markovy choroby. Proti viru aviární encefalomyelitidy byly precipitační protilátky dokázány jen v séru a proti viru parainfluenzy 2 nebyly zaznamenány vůbec. Percentuální výskyt protilátek byl obvykle nižší ve žloutku než v séru. Naopak aglutinační protilátky proti *Mycoplasma gallisepticum*, které byly nalezeny ve všech případech, se vyskytovaly ve větším podílu vzorků žloutkových extraktů (v průměru 89,3 %) než sér (72,2 %). Výskyt neutralizačních resp. hemaglutinačně inhibičních protilátek proti viru infekční bronchitidy a pseudomoru v séru i žloutku byl ve všech případech stoprocentní až na jednu skupinu proti pseudomoru. Byla sledována i dynamika neutralizačních protilátek proti pseudomoru a infekční bronchitidě během inkubace vajec v líhni při 37 °C do 14. dne. Diskutuje se o významu hladiny protilátek ve vaječném žloutku vzhledem k hladině protilátek v séru a s ohledem na použití násadových vajec ve virologické laboratorní praxi.

precipitační test v agarovém gelu; rychlý aglutinační test na skličku; hemaglutinačně inhibiční test; neutralizační test; inkubace násadových vajec; pseudomor drůbeže; infekční bronchitida kuřat; aviární adenoviry; parainfluenza 2; aviární encefalomyelitida; *Mycoplasma gallisepticum*; Markova choroba

Pasivní imunita se přenáší z matky na potomstvo i u ptáků. Protilátky se ukládají do vaječného žloutku ve vaječniku před ovulací a uchovávají se do pozdějších stadií embryonálního vývoje, kdy jsou absorbovány embryonálními blánami a přenášejí se do krevního oběhu plodu. Extrakce žloutku fyziologickým roztokem má za následek oddělení livitinové frakce, rozpustné ve vodě, od nerozpustné vitelinové frakce. Rozpustné bílkoviny livitinu je možno elektroforeticky rozdělit na frakce podobné sérovým bílkovinám, s nimiž jsou pravděpodobně identické. Protilátky jsou vázány na frakci označovanou gama-livitin,

odpovídající sérovému gama-globulinu třídy IgG bez zjištěné složky IgM. V livitinu nejsou zachovány relativní poměry proteinů jako v séru a koncentrace gama-globulinu ve žloutku mnohokrát převyšuje koncentraci albuminu.

Sérové bílkoviny jsou dokazatelné v časném stadiu vývoje v embryu a plodových blanách a to je důkazem toho, že jsou mateřského původu, i když možnost foetální syntézy nebyla formálně vyloučena. Pokusně bylo dokázáno, že do oběhu kuřat se přenášejí mateřské opsoniny, přirozené i imunní, neaglutinující protilátky se přenášejí lépe do žloutku než aglutininy, hemoliziny se nepřenášejí vůbec.

Protilátky obsažené ve žloutku násadových vajec mají inhibiční účinek na přenos viru vejci i na jeho množení v embryu. Na tomto principu je založena metodika testu vnímavosti embryí (žloutkového testu) pro diagnostiku aviární encefalomyelitidy (Taylor a Schelling 1960). Kromě toho je možné protilátky, extrahované ze žloutku, použít k sérologickým testům, odpovídajícím danému infekčnímu činiteli. Tato možnost byla v předložené práci ověřována v terénních podmínkách a vyšetřením žloutkových extraktů byly doplněny výsledky sérologického průzkumu velkochovu drůbeže na západním Slovensku. Přehled literatury o tomto problému byl uveřejněn dříve (Černík 1972b).

MATERIÁL A METODY

V šesti velkochovech drůbeže, vyšetřovaných sérologicky v rámci komplexního sérologického průzkumu zamořenosti chovů v Západoslovenském kraji (Černík, Salaj 1973), byly vedle vzorků krevního séra vyšetřeny i žloutkové extrakty z vajec odebraných současně se vzorky krve. Celkem bylo vyšetřeno 168 žloutkových extraktů z deseti skupin nosnic v porovnání s 220 vzorky séra z týchž skupin. Tři z vyšetřovaných chovů byly zaměřeny na produkci konzumních vajec a tři byly rozmnožovací chovy, produkující násadová vejce.

Krev byla odebírána z křidelní žíly (*v. ulnaris subcutanea*) nebo srdeční punkcí v množství 2 ml od jednoho kusu. Žloutkové extrakty byly připraveny metodikou popsanou Kottaridisem a kol. (1967, Černík 1972b). Směs stejných množství (1,5 ml) vaječného žloutku a destilované a demineralizované vody byla protřepána ve zkumavce a pak znovu po přidání stejného objemu (3,0 ml) chloroformu. Zkumavky byly ponechány 4 až 6 hodin při laboratorní teplotě a každou hodinu protřepávány elektrickou třepačkou na jednotlivé zkumavky (Vývojové dílny ČSAV typ T 5001/II, 30 W, 50 c s⁻¹). Po této době byla směs odstřeďována 15 minut při 480 g. Během centrifugace se směs rozdělila na tři vrstvy. K vyšetření byla odebrána horní vrstva, obsahující ve vodě rozpustnou frakci bez tuků. Z každého vajíčka byly připraveny dva vzorky, které byly po extrakci spojeny.

Jednotlivé vzorky sér a extraktů byly vyšetřovány precipitačním testem proti viru pseudomoru, infekční bronchitidy, CELO a Markovy choroby, ve dvou chovech (6 skupin) i proti viru parainfluenzy 2 a v jednom (3 skupiny) proti viru aviární encefalomyelitidy a rychlým aglutinačním testem na sklíčku s barevným antigenem *Mycoplasma gallisepticum* — GALLITEST (vyr. Bioveta v Nitře). Po inaktivaci 30 minut při 56 °C byly směsné vzorky sér a extraktů vždy od pěti nosnic, resp. z pěti vajec, vyšetřeny hemaglutinačně inhibičním testem proti pseudomoru drůbeže a neutralizačním testem v zkumavkových buněčných kulturách proti pseudomoru a v kuřecích zárodcích proti infekční bronchitidě.

Metodika sérologických testů byla popsána v předcházejících sděleních (Černík 1969, 1971, 1972a, Černík a kol. 1968, Černík a Salaj 1973, Salaj a kol. 1973). Jako precipitační antigeny byly použity kmen Roakin viru pseudomoru drůbeže, kmen Beaudette viru infekční bronchitidy, kmen Phelps viru CELO, kmen Stuttgart I (Haidle) viru parainfluenzy 2, kmen VR-D₁-E₅ (Calnek) viru aviární encefalomyelitidy a kmen THV-BIO-1 (Turkey Herpes Virus) pro průkaz protilátek proti Markově chorobě. Příprava precipitačních antigenů virů pseudomoru, infekční bronchitidy, CELO a parainfluenzy 2 byla podrobně popsána (Černík 1969). Antigen viru aviární encefalomyelitidy byl připravován popsanou metodikou (Černík 1972a) s tím rozdílem, že k pomnožení viru nebyla použita slepičí, ale kachní vejce. Tento test byl uveden do praktického použití později, a proto jím byla vyšetřena jen část vzorků. Protilátky proti Markově chorobě byly dokazovány mikroprecipitačním testem na podložních sklíčkách. Antigen se připravoval infekcí kultury kachních embryonálních buněk. Infikované buňky se uvolnily roztokem versen-trypsinu a zahustily centrifugací. Získaná suspenze se šestkrát zmrazila a rozmrazila. Po odstředění buněčného derivátu supernatant sloužil jako precipitační antigen. Test se posuzoval po 24 hodinách inkubace při 37 °C. Jako kontrolní antigeny byly použity chorioalantoické blány neinkulovaných kuřecích, resp. kachních zárodků a neinfikované kachní embryonální buňky, zpracované stejným způsobem jako diagnostické antigeny. Výsledky byly vyhodnocovány jako procentuální podíl pozitivních vzorků z celkového počtu vyšetřených a vynášeny do přehledné tabulky. Za pozitivní se považoval v séru hemaglutinačně inhibiční titr a padesátiprocentní neutralizační dávka (ND₅₀) proti viru pseudomoru nejméně 1:8, ve žloutku 1:2 a vyšší, proti viru infekční bronchitidy v séru i ve žloutku neutralizační index od 2,0.

Dynamika neutralizačních protilátek proti viru pseudomoru a infekční bronchitidy v závislosti na době inkubace byla zjišťována ve žloutku vajec bílých leghornek, u nichž byly předem dokázány v séru významné hladiny protilátek proti viru pseudomoru resp. infekční bronchitidy. Vajíčka byla inkubována v líhních při 37 °C a vzorky žloutku byly odebírány vždy ze čtyř vajec v intervalu dvou až tří dní od nultého do 14. dne inkubace. Odběry bylo nutno ukončit čtrnáctým dnem inkubace, protože v té době je již žloutkový vak značně ochablý a obsahuje jen nepatrné množství tekutého žloutku. Vejce k vyšetření proti viru infekční bronchitidy byla odebírána ze dvou dodávek z téhož chovu v časovém odstupu osmi týdnů, k vyšetření proti pseudomoru ze dvou chovů. Jednotlivé hodnoty neutralizačního titru, resp. neutralizačního indexu (NI) byly vynášeny do grafů a z průměrných hodnot byla sestrojena křivka dynamiky neutralizačních protilátek.

VÝSLEDKY

Percentuální výskyt protilátek v sérech a žloutkových extraktech je shrnut v tab. I. Ve výsledcích hemaglutinačně inhibičního a neutralizačního testu proti virům pseudomoru a infekční bronchitidy se séry a extrakty byla zjištěna naprostá shoda ve všech případech až na jeden (sérum č. 363, extrakt č. 008), kdy ve žloutku nebyl nalezen významný titr hemaglutinačně inhibičních protilátek a v nižším procentu vzorků titr neutralizačních protilátek proti pseudomoru. Výskyt neutralizačních protilátek proti viru infekční bronchitidy byl ve všech při-

I. Percentuální výskyt protilátek proti sedmi infekčním původcům ve vzorcích krevního séra a žloutkových extraktů v šesti vyšetřených chovech (výsledky vyšetření žloutkových extraktů jsou vysázeny kurzivou)

Chov	Počet	Číslo	NDV			I B		CELO	PI ₂	AE	Marek	M. g.
			PA	HIT	SNT	PA	SNT	PA	PA	PA	PA	RA
I. H N	52	331/335	3,8	100	100	25,0	100	21,0	—	—	71,0	94,0
	28	005	0	100	100	0	100	14,3	—	—	57,0	82,0
II. S II. DK K	29	341/343	6,9	100	100	0	100	31,0	—	—	69,0	41,5
	30	344/346	0	100	100	13,4	100	13,4	—	—	56,5	70,0
	30	007	0	100	100	0	100	13,4	—	—	—	90,0
III. K	15	338	0	—	—	6,7	—	13,4	—	—	—	100,0
	10	006/1	0	—	100	0	—	10,0	—	—	—	100,0
IV. K	9	340	44,5	—	—	33,0	—	33,0	—	—	—	—
	20	006/2	5,0	—	50	25,0	—	20,0	—	—	—	—
V. S N	15	363	0	100	100	0	100	20,0	0	—	60,0	13,3
	15	008	0	0	50	0	100	0	0	—	0	87,0
	12	365	0	100	100	0	100	40,0	0	—	67,0	50,0
	15	011	0	100	100	0	100	0	0	—	26,7	73,0
	13	364	0	0	0	0	100	0	0	—	7,7	66,7
	20	009	0	0	0	0	100	0	0	—	0	100,0
VI. S N	15	380	6,7	100	100	0	100	40,0	0	60,0	33,0	93,5
	10	012	0	100	100	0	100	20,0	0	0	60,0	100,0
	15	381	0	100	100	0	100	26,6	0	60,0	33,0	66,7
	10	013	0	100	100	0	100	10,0	0	0	10,0	100,0
	15	382	0	100	100	0	100	26,6	0	46,7	93,5	26,6
	10	014	0	100	100	0	100	0	0	0	10,0	90,0

S = Shaver
 DK = DeKalb
 H = Hubbard
 N = násadová vejce
 K = konzumní vejce
 NDV = pseudomor drůbeže
 IB = infekční bronchitida
 CELO = chick embryo lethal orphan virus

PA = precipitační test v agarovém gelu
 HIT = hemaglutinačně inhibiční test
 SNT = sérumneutralizační test
 PI₂ = parainfluenza 2
 AE = aviární encefalomyelitida
 M. g. = *Mycoplasma gallisepticum*

padech stoprocentní a neutralizační indexy v sérech byly vyšší než 4,5, v extraktech kolísaly od 3,2 do > 5,0. Důkaz neutralizačních a hemaglutinačně inhibičních protilátek proti viru pseudomoru byl negativní jen v jednom případě (sérum č. 364, extrakt č. 009), kdy šlo o skupinu kuřic na počátku snášky. Výška zjištěných titrů neutralizačních a hemaglutinačně inhibičních protilátek proti pseudomoru je uvedena v tab. II, z níž vyplývá, že existuje určitá korelace mezi hladinou protilátek v séru a ve žloutku. Titry protilátek v žloutkových extraktech jsou však pravidelně nižší než v séru a jen výjimečně dosahují hladiny, dokázané v séru. Titry neutralizačních protilátek jsou většinou nižší než protilátek hemaglutinačně inhibičních, nebyla však pozorována vzájemná korelace co do jejich výšky.

Precipitační protilátky proti viru pseudomoru a infekční bronchitidy byly zjištěny v séru ve čtyřech případech (36,4 % vyšetřených skupin), ale v extrak-

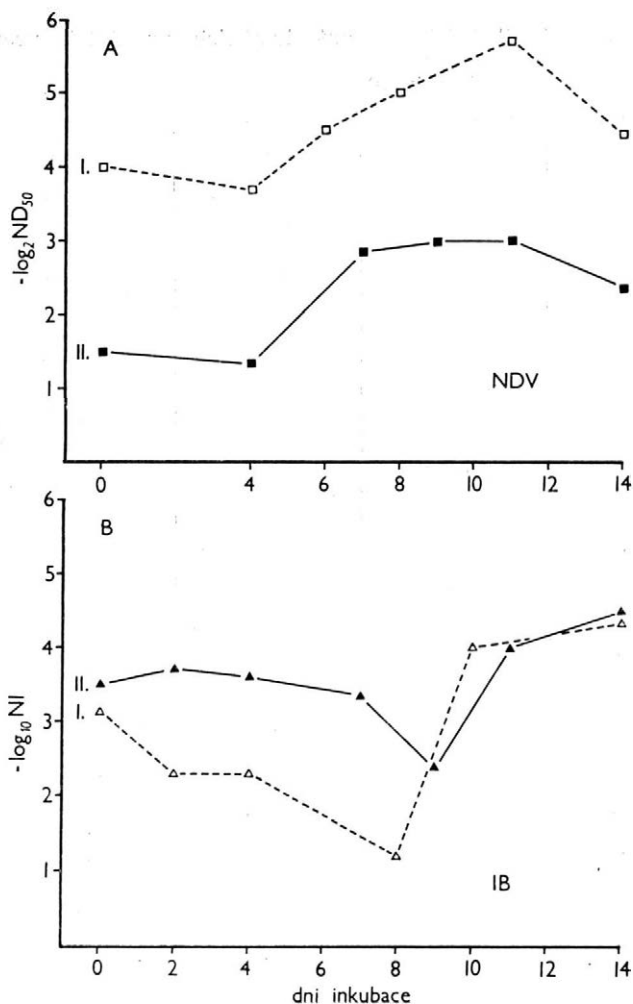
II. Srovnání titrů hemaglutinačně inhibičních a neutralizačních protilátek proti viru pseudomoru, zjištěných v séru a ve žloutku
(Titry protilátek ve žloutku jsou vysázeny kurzivou)

Chov	Číslo	HIT	SNT	$\bar{N} D_{50}$
I.	331–335	>128	16–200	45,0
	005	16–64	2–5	3,2
II.	341–346	>128	>128	>128,0
	007	16–64	2,5–11	5,25
V.	363	128	8–12,5	10,0
	008	<2	<2–4,0	2,0
	365	128	16–22	18,6
	011	8–64	4–56	14,8
	364	<2	<2	<2
	009	<2	<2	<2
VI.	380	128	40–64	55,0
	012	16–32	2–25	7,1
	381	32–64	64–128	97,0
	013	32–64	32–80	50,0
	382	64	50–80	64,0
	014	8–16	2–5	3,2

tu jen v jednom případě (10,0 % skupin), kdy procentuální výskyt ve vzorcích séra byl velmi vysoký (44,5 resp. 33 % vzorků). Precipitační protilátky proti viru CELO byly zjištěny v séru ve všech skupinách s procentuálním výskytem od 10 do 40 %, v extraktech v pěti ze šesti chovů, v 60 % vyšetřených souborů vajec a výskyt kolisal mezi 10 a 20 % jednotlivých vzorků. Precipitační protilátky proti viru parainfluenzy-2 nebyly dokázány ani v séru ani ve žloutku, zatímco proti viru aviární encefalomyelitidy byly zjištěny jen v sérech, ale nikoliv ve žloutkových extraktech. Proti Markově chorobě byly zaznamenány protilátky v séru ve všech vyšetřených skupinách v 7,7 až 93,5 % jednotlivých vzorků a ve žloutkových extraktech v pěti ze sedmi skupin (71,4 %) s procentuálním výskytem od 10 do 60 % jednotlivých vzorků.

Aglutinační protilátky proti *Mycoplasma gallisepticum* byly zjištěny ve všech chovech v séru i ve žloutku, přičemž jednotlivé skupiny se lišily jen procentem výskytu. V séru se výskyt pohyboval od 13,3 do 100 %, v průměru 72,2 %, a ve žloutkových extraktech od 73,0 do 100 %, v průměru 89,3 %.

Při sledování dynamiky neutralizačních protilátek proti viru pseudomoru a infekční bronchitidy během inkubace vajec v líhni byl zaznamenán značný rozptyl hodnot u jednotlivých vajec z téhož časového vzorku v rozsahu více než 5 log₂ u pseudomoru a více než 4 log₁₀ u infekční bronchitidy, a to zvláště během prvního týdne inkubace. U pseudomoru byl zjištěn mírný pokles průměrné hladiny protilátek z výchozí hodnoty 1:3, resp. 1:16, do čtvrtého dne inkubace a pak vzestup, dosahující vrcholu v průměru 1:8 a 1:64 mezi sedmým a jedenáctým dnem (obr. 1 A). Do 14 dní hladina opět mírně klesla. U infekční bronchitidy (obr. 1 B) průměrné hodnoty titrů protilátek postupně klesaly z původních průměrných hodnot NI 3,0 až 3,5 a dosáhly spodní úrovně 1,0 až 2,0 po osmi, resp. devíti dnech inkubace. V následujícím období však prudce stouply a už desátý, resp. jedenáctý den dosáhly hodnot vyšších než 4,0. Další vzestup do čtrnácti dní byl už povolný.



1. Křivky kolísání neutralizačních protilátek proti viru pseudomoru (A), vyjádřené v $-\log_2$ padesátiprocentní neutralizační dávky (ND₅₀), a proti viru infekční bronchitidy (B) v $-\log_{10}$ neutralizačního indexu (NI), v žloutkových extraktech vajec ze dvou chovů (A), resp. ze dvou odběrů z téhož chovu v intervalu osmi týdnů (B); zaznamenané hodnoty jsou průměrem výsledků vyšetření čtyř vajec

Obr. I.

DISKUSE

Shoda výskytu neutralizačních protilátek proti pseudomoru a infekční bronchitidě v krevním séru nosnic a ve vaječných žloutcích nasvědčuje tomu, že neutralizační protilátky proti těmto dvěma infekcím se přenášejí z krevního oběhu nosnic do embryonálních tekutin ve vysokých titrech. Hladina protilátek ve žloutku umožnila Boxovi a kol. (1969) pasivně imunizovat třítydenní kuřata injekční aplikací vaječného žloutku od imunních nosnic, nebo z něho izolovaného imunoglobulinu, čímž byla dosažena odolnost trvající až 28 dní. Titry hemaglutinačně inhibičních a neutralizačních protilátek proti pseudomoru byly pravidelně nižší ve žloutkových extraktech než v séru o necelý jeden stupeň ($\log_{10}$) u neutralizačních protilátek (v průměru 6,6krát). U hemaglutinačně inhibičních protilátek dosahoval rozdíl 1–4 stupně ředění ($\log_2$). V soulase s těmito nálezy Kottaridis a kol. (1967) zjistili přímý vztah mezi obsahem protilátek stanovených metabolickým inhibičním testem proti viru Rousova sarkómu v séru nosnic a ve žloutkovém extraktu. Hladina protilátek ve žloutku

byla obyčejně nižší. Podobně R u b i n a kol. (1962) zaznamenali desetinásobný schodek mezi hladinou protilátek v séru nosnice a ve žloutku u viru ptačí leukózy.

Při stanovení dynamiky protilátek ve žloutku během inkubace vajec byly zaznamenány silné výkyvy ve výsledcích hemaglutinačně inhibičního testu a jeho odečítání bylo tak nespolehlivé, že takto získané hodnoty nemohly být zahrnuty do celkového vyhodnocení. Tyto odchylky je možné přičíst na vrub vlivu opracování žloutkových extraktů na ostatní složky testu. S z e m b e r (1973) pozoroval, že hemaglutinačně inhibiční protilátky proti viru pseudomoru ve žloutku dosahují maxima tři měsíce po vakcinaci nosnic živými vakcinami. Kromě toho dokázal vyšší titry hemaglutinačně inhibičních protilátek ve žloutcích vajec skladovaných devět dní při $+12^{\circ}\text{C}$, než v čerstvých vejcích.

Percentuální výskyt precipitačních protilátek proti jednotlivým virům byl téměř ve všech případech nižší v extraktech než ve vzorcích séra. Nestejný vzájemný poměr protilátek v séru a ve žloutku vyplývá zřejmě z té okolnosti, že vyšetřovaná vejce nepocházela od týchž nosnic, kterým byla odebírána krev k vyšetření a počet vzorků sér a žloutkových extraktů z jednotlivých skupin nebyl dostatečně velký, aby se při hromadném vyhodnocení vykryly individuální odchylky. Kromě toho se dá předpokládat, že precipitační protilátky ve žloutkovém extraktu nejsou přesným obrazem obsahu protilátek v séru, a to jednak v důsledku jistého filtračního účinku folikulárního epitelu, jednak snad i následkem zpracovávání žloutku před vlastním sérologickým vyšetřením. Nasvědčuje tomu i skutečnost, že se nepodařilo dokázat precipitační protilátky proti viru aviární encefalomyelitidy ve žloutkových extraktech z vajec nosnic, v jejichž sérech se tyto protilátky zjišťovaly ve vysokém procentu výskytu. Ve shodě s těmito výsledky Č a s n o c h a (1973) nenašel precipitační protilátky proti aviární encefalomyelitidě ve žloutku násadových vajec, ačkoliv byly současně dokazatelné u nosnic a po čtyřech týdnech i u kuřat od těchto nosnic.

Ačkoliv bylo pozorováno (O r l a n s 1967), že aglutinační protilátky se přenášejí do žloutku ze séra nosnice v menší míře než neaglutinující protilátky, což vyplývá pravděpodobně z jejich vazby na globuliny třídy IgM, dokazovali jsme aglutininy proti antigenu *Mycoplasma gallisepticum* ve žloutkových extraktech ve vyšším procentu vzorků než v séru. Percentuální výskyt protilátek ve žloutku se velmi blížil 100 % a v testu nereagovaly jen ojedinělé vzorky.

Kolísání titru neutralizačních protilátek ve žloutku během inkubace vajec je možno vysvětlit dvojím způsobem za předpokladu, že množství protilátek ve vaječném obsahu je předem dáno v okamžiku vytvoření vaječných obalů a nemůže se zvyšovat ani se neztrácí:

1. přenosem protilátek ze žloutku do embryonálních tkání a tekutin a později do krevního oběhu plodu,
2. změnami objemu a obsahu žloutkového vaku, který nabývá maximální velikosti a náplně osmý a devátý den inkubace (K ü n z e l a kol. 1962) a od 10. dne nápadně ochabuje, tvoří záhyby a jeho obsah se rychle zahušťuje. Inaktivace protilátek během inkubace pravděpodobně nepřichází v úvahu, protože protilátky ve žloutku jsou navzdory přítomnosti proteolytických enzymů pozoruhodně stálé a trvalé. B r a n d l y a kol. (1946) dokázali, že titr protilátek proti pseudomoru se uchoval ve vejcích, skladovaných šest měsíců při $6-8^{\circ}\text{C}$.

Porovnáme-li však křivky dynamiky neutralizačních protilátek proti pseudomoru a infekční bronchitidě, které mají průběh téměř zrcadlový a shodují se jen ve vysoké hladině protilátek kolem 10. a 11. dne, musíme vliv zvětšování a zmenšování objemu žloutkového vaku považovat prakticky za irrelevantní,

zvláště vzhledem k vzestupu protilátek proti infekční bronchitidě do 10. a 11. dne, kdy se dosahuje deseti- až stonásobku neutralizačního indexu ($1-2 \log_{10}$).

Určení hladiny protilátek ve vejci v různých obdobích inkubace má praktický význam při použití kuřecích zárodků k pomnožení daných druhů virů. Podle pozorování Fontainea a kol. (1963) i podle vlastní zkušenosti je možné použít vejce od nosnic imunních proti infekční bronchitidě k neutralizačnímu testu a s jistými ztrátami ve výtěžku i k pomnožení viru infekční bronchitidy, adaptovaného na kuřecí zárodky, jestliže se virus inokuluje intraalantoicky osmý den inkubace. Při očkování těchto vajec desátý den inkubace je pokles titru viru tak výrazný, že výsledky testu jsou nespolehlivé a popřípadě vykultivovaný virus je nepoužitelný k sérologickým testům anebo k přípravě vakcíny. Otázka přesunu protilátek do různých tkání a tekutin kuřecího embrya je předmětem dalšího sledování.

Literatura

- BRANDLY C. A., MOSES H. E., JUNGHERR E. L., 1946, Transmission of antiviral activity via the egg and the rôle of congenital passive immunity to Newcastle disease in chickens. *Am. J. vet. Res.* 7 : 333-342.
- BOX P. G., STEDMAN R. A., SINGLETON L., 1969, Newcastle disease. I. The use of egg yolk derived antibody for passive immunisation of chickens. *J. comp. Path.* 79, 4 : 495.
- ČASNOCHA E., 1973, Osobní sdělení.
- ČERNÍK K., 1969, Diagnostika virových chorob drůbeže precipitačním testem v agarovém gelu. *Imunoprofylaxia* 3 : 26-32.
- ČERNÍK K., 1971, Diagnostika mykoplasmozy drůbeže rychlým aglutinačním testem. *Imunoprofylaxia* 3 : 14-18.
- ČERNÍK K., 1972a, Diagnostika aviární encefalomyelitidy precipitačním testem. *Imunoprofylaxia* 3 : 24-26.
- ČERNÍK K., 1972b, Dynamika protilátek ve žloutku kuřecího embrya. *Imunoprofylaxia* 4 : 9-18.
- ČERNÍK K., RAJTAR V., ČERNÍKOVÁ E., 1968, Rozšíření infekční bronchitidy kuřat na Slovensku. *Vet. Med. (Praha)* 13, 6 : 329-336.
- ČERNÍK K., SALAJ J., 1973, Komplexní průzkum zamorenosti chovů drůbeže v Západoslovenském kraji. *Vet. Čas.* 15, 6 : 167-174.
- FONTAINE M. P., CHABAS D., FONTAINE M., BRION A., 1963, Modification à la technique classique de détection de la bronchite infectieuse des galliformes par séro-neutralisation. *Rec. Méd. vétér.* 139, 2 : 131-137.
- KOTTARIDIS S. D., CHOMIAK T. W., LUGINBUHL R. E., 1967, Compared antibodies for Rous sarcoma virus in chicken serum and egg yolk with the metabolism inhibition test. *Avian Dis.* 11, 1 : 65-68.
- KÜNZEL E., FABIAN G., BURCHARD G., 1962, Die Entwicklung des Hühnchens im Ei. *Zentbl. VetMed.* 9 : 371-396.
- ORLANS E., 1967, Fowl antibody. VIII. A comparison of natural, primary and secondary antibodies to erythrocytes in hen sera, their transmission to yolk and chick. *Immunology* 12 : 27-37.
- RUBIN H., FANSHIER L., CORNELIUS A., HUGHES W. F., 1962, Tolerance and immunity in chickens after congenital and contact infection with an avian leukosis virus. *Virology* 17 : 143-156.
- SALAJ J., ČASNOCHA E., ČERNÍK K., 1973, Detekcia protilátok proti vírusu Markovej choroby v sérach hydiny precipitačným testom v agarovom geli. (V tisku.)
- SZEMBER M., 1973, Wpływ czasu i temperatury przechowywania jaj legowych na poziom w nich przeciwciał p-ko chorobie Newcastle. *Medycyna wet.* 29, 2 : 83-84.
- TAYLOR J. R. E., SCHELLING E. P., 1960, The distribution of avian encephalomyelitis in North America as indicated by an immunity test. *Avian Dis.* 4, 1 : 122-133.

Došlo dne 20. 4. 1973

ЧЕРНИК К., САЛАЙ Й. (Биовета, Нитра, Чехословакия). Обследование желточных экстрактов как составная часть серологического исследования зараженности разведений птицы. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 211-220, 1974.

В шести крупных разведениях птицы в западной Словакии параллельно было обследовано 168 желточных экстрактов по сравнению с 220 пробами сыворотки крови кур-несушек преципитационным тестом в агаре от вируса псевдочумы, инфекционного бронхита, CELO, болезни Марека и частично от вируса параинflюэнцы 2 и птичьего энцефаломиелита и быстрым агглютинационным тестом с антигеном *Mycoplasma gallisepticum* — Gallitest. От вируса псевдочумы и инфекционного бронхита смешенные пробы обследовались также нейтрализационным или гемагглютинационно ингибирующим тестом. Преципитационные антитела от псевдочумы и инфекционного бронхита были соответственно доказаны в сыворотке в 36,4 % и в желтке в 10,0 % случаев. От вируса CELO и болезни Марека в сыворотке были обнаружены во всех случаях и в желтке в 60 % случаев от вирусов CELO и 71,4 % от вирусов болезни Марека. От вируса птичьего энцефаломиелита были преципитационные антитела доказаны лишь в сыворотке и от вируса параинflюэнцы 2 не были обнаружены вообще. Процентное появление антител было вообще ниже в желтке, чем в сыворотке. Наоборот, агглютинационные антитела от *Mycoplasma gallisepticum*, которые были обнаружены во всех случаях, встречались в большинстве проб желточных экстрактов (в среднем 89,3 %), чем сыворотки (72,2 %). Появление нейтрализационных или гемагглютинационно ингибирующих антител от вируса инфекционного бронхита и псевдочумы в сыворотке и желтке было во всех случаях 100 %, за исключением одной группы от вируса псевдочумы. Также изучалась динамика нейтрализационных антител от псевдочумы и инфекционного бронхита во время инкубации яиц в инкубаторе при 37° в течение 14 дней. Дискуссия ведется о значении уровня антител в яичном желтке по отношению к уровню антител в сыворотке и с учетом использования яиц в вирусологической лабораторной практике.

преципитационный тест в агаровом геле; быстрый агглютинационный тест на стеклышке; гемагглютинационно ингибирующий тест; нейтрализационный тест; инкубация яиц; псевдочума птицы; инфекционный бронхит цыплят; птичий аденовирус; параинflюэнца 2; птичий энцефаломиелит; *Mycoplasma gallisepticum*; болезнь Марека

ČERNÍK K., SALAJ J. (Bioveta, Nitra, Czechoslovakia). The Examination of Yolk Extracts as a Part of the Serological Survey of the Infestation Rate of Poultry Flocks. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 211-220, 1974.

The following tests were performed simultaneously in 168 yolk extracts and, for comparison, in 220 samples of laying hen serum on six large farms in western Slovakia: precipitation test in agar against the viruses of Newcastle disease, infectious bronchitis, CELO, Marek's disease, and partially against the viruses of parainfluenza 2 and avian encephalomyelitis, and a quick agglutination test with a *Mycoplasma gallisepticum* antigen—Gallitest. Neutralization and, as the case may be, hemagglutination inhibition tests were also employed in the examination of the samples for Newcastle disease and infectious bronchitis. The precipitation antibodies against Newcastle disease and infectious bronchitis were demonstrated both in serum (in 36.4 % of cases) and in yolk (10.0 % of cases). The antibodies against the Marek's disease and CELO viruses were found in all cases in serum; as to yolks, the antibodies against the virus of Marek's disease were found in 71.4 % of cases and those against the CELO virus in 60 % of cases. The precipitation antibodies against the avian encephalomyelitis virus were found only in serum, and no such antibodies against the virus of parainfluenza 2 were found at all. The percentual proportion of antibodies was mostly lower in yolks than in serum. On the other hand, the agglutination antibodies against *Mycoplasma gallisepticum*, found in all cases, occurred mainly in yolk extracts (89.3 %, on an average), as compared to serum (72.2 %). The presence of neutralizing or hemagglutination-inhibiting antibodies against the viruses of infectious bronchitis and Newcastle disease reached hundred per cent in all cases, with the exception of one group against Newcastle disease. The dynamics of neutralizing antibodies against Newcastle disease and infectious bronchitis was also studied during the incubation of eggs in the incubator at 37°C until the 14th day. The discussion deals with the importance of the level of antibodies in egg yolk in view of the level of antibodies in the serum, with respect to the use of hatching eggs in virological laboratory practice.

precipitation test in agar gel; quick agglutination test on slide; hemagglutination-inhibition test; neutralization test; incubation of hatching eggs; Newcastle disease; infectious bronchitis of chickens; avian adenoviruses; parainfluenza 2; avian encephalomyelitis; *Mycoplasma gallisepticum*; Marek's disease

ČERNÍK K., SALAJ J. (Bioveta, Nitra, Tschechoslowakei). *Untersuchung der Eidotter-extrakte als Bestandteil der serologischen Feststellung der Verseuchungsgrades von Geflügelbeständen*. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 211-220, 1974.

In sechs Geflügelbeständen in der Westslowakei wurden gleichzeitig 168 Eidotter-extrakte im Vergleich zu 220 Proben des Blutserums der Legehennen mit Hilfe des Präzipitationstestes im Agar auf Pseudogeflügelpest, infektiöse Bronchitis, CELO, Mareksche Krankheit und teilweise auf das Virus der Parainfluenza 2 und die aviäre Enzephalomyelitis und mittels des Agglutinationstestes mit dem *Mycoplasma-gallisepticum*-Antigen — Gallitest untersucht. Auf Pseudopestvirus und das Virus der infektiösen Bronchitis wurden Mischproben auch mit Hilfe des Neutralisationstestes bzw. des Hämagglutinations-Inhibitionstestes untersucht. Präzipitations-Antikörper gegen Pseudogeflügelpest und infektiöse Bronchitis wurden übereinstimmend im Serum in 36,4 % und im Eidotter in 10,0 % der Fälle nachgewiesen. Im Blutserum wurden Antikörper gegen das CELO-Virus und das Virus der Marekschen Krankheit in allen Fällen und im Dotter in 60 % der Fälle gegen CELO und in 71,4 % der Fälle gegen das Virus der Marekschen Krankheit festgestellt. Präzipitations-Antikörper gegen die aviäre Enzephalomyelitis wurden nur im Serum und Antikörper gegen das Parainfluenza-Virus 2 wurden überhaupt nicht vorgefunden. Das perzentuelle Vorkommen der Antikörper war in der Regel geringer im Dotter als im Serum. Agglutinations-Antikörper gegen *Mycoplasma gallisepticum* dagegen, die in allen Fällen ermittelt wurden, kamen in größeren Mengen in den Dotterextraktproben (durchschnittlich 89,3 %) als in den Seren (72,2 %) vor. Das Vorkommen der Neutralisations- bzw. Hämagglutinations-Inhibitions-Antikörper gegen das Virus der infektiösen Bronchitis und die Pseudopest im Serum und im Dotter war in allen Fällen hundertprozentig, bis auf eine Gruppe gegen Pseudopest. Es wurde auch die Dynamik der Neutralisations-Antikörper gegen Pseudopest und infektiöse Bronchitis während der Inkubation der Eier im Brutkammer bei 37 °C bis zum 14. Tag verfolgt. Die Diskussion befaßt sich mit der Bedeutung des Antikörpurniveaus im Eidotter in Hinsicht auf das Antikörpurniveau im Serum und vom Gesichtspunkt der Benutzung der Bruteier in der virologischen Laborpraxis.

Präzipitationstest im Agargel; schneller Agglutinationstest; Hämagglutinations-Inhibitionstest; Neutralisationstest; Bruteierinkubation; Pseudogeflügelpest; infektiöse Bronchitis der Küken; aviäre Adenoviren; Parainfluenza 2; aviäre Enzephalomyelitis; *Mycoplasma gallisepticum*; Mareksche Krankheit

Adresa autorů:

MVDr. K. Černík, MVDr. J. Salaj, Bioveta, 949 91 Nitra

ZBYTKOVÁ VLHKOST LYOFILIZOVANÝCH BIOPREPARÁTŮ A JEJÍ VLIV NA ÚČINNOST

Z. Čupera, R. Poláček

*Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv v Brně,
odbor biopreparátů, Ivanovice na Hané*

ČUPERA Z., POLÁČEK R. Zbytková vlhkost lyofilizovaných biopreparátů a její vliv na účinnost. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 221-231, 1974.

Metodou termického vysoušení (při 100 °C za normálního tlaku) jsme stanovili procento zbytkové vlhkosti některých virových lyofilizovaných biopreparátů vyráběných Biovetou, Ivanovice na Hané. Zbytková vlhkost preparátů po výrobě byla zjištěna: Vakcína proti vzteklině avianizovaná (VVA) – 2,28 %, vakcína proti vzteklině (VV) – 2,32 %, vakcína proti myxomatóze králíků (VMK) – 2,32 %, vakcína proti difterii drůbeže avianizovaná (VDDA) – 2,40 %, vakcína proti infekčnímu zánětu jater kachen – 2,56 %. Skladováním preparátů v průběhu expirační doby se zbytková vlhkost zvyšovala a za 18 měsíců po výrobě byla zjištěna: VDDA – 3,38 %, VVA – 4,73 %, VMK – 5,18 %, VV – 6,21 %. Vlhkost u lékovek, které neobsahovaly dostatečné vakuum, se zvyšovala mnohem výrazněji a dosáhla za 18 měsíců hodnot: VVA – 7,36 %, VMK – 10,72 %. Zjištěné hodnoty zbytkové vlhkosti po výrobě i po skladování, i když jsou vysoké, neovlivnily negativně účinnost zkoušených vakcín a jednotlivé lékovky i s vlhkostí VDDA – 4,45 %, VVA – 4,85 %, VMK – 5,76 %, VV – 6,70 % vyhověly zkouškám účinnosti podle platných technických podmínek. Zbytková vlhkost vyšší než uvedené hodnoty však již měla negativní vliv na účinnost přezkušovaných vakcín. Při vlhkosti u VVA 6,64 % a vyšší, stejně jako u VMK při vlhkosti 8,43 % a vyšší, i když zkoušené lékovky byly dosud v době použitelnosti, ve zkouškách účinnosti již nevykazovaly dostatečnou účinnost.

virové lyofilizované vakcíny; metoda termického vysoušení; procento zbytkové vlhkosti; účinnost; doba použitelnosti

Nejvhodnější způsob, který v současné době umožňuje dlouhodobé uchování biologické aktivity a účinnosti biopreparátů, zejména těch, které obsahují živé mikroorganismy, je proces lyofilizace. Lyofilizace umožňuje nejen krátkodobé skladování a dopravu biopreparátů bez ohledu na vnější teplotu (mráz, horko), ale také podstatně prodlužuje dobu jejich použitelnosti. Na úspěšném výsledku lyofilizačního procesu se podílí řada faktorů, které všechny musí vést k tomu, aby lyofilizací nebyla narušena či snížena kvalita biopreparátu, aby byl zachován co největší počet přežitých, neporušených zárodků, které by si zachovaly v maximální míře své původní vlastnosti.

Vedle volby vhodného ochranného media, způsobu zmrazení materiálu, doby sušení a použité teploty sušení, na jejichž vrub připadá většina ztrát na počtu

a aktivitě živých mikroorganismů (Ž á k, D u b a j 1967), je jedním z rozhodujících faktorů úspěšné lyofilizace množství zbytkové vody v lyofilizátu a zajištění dostatečného vakua nebo uzavření materiálu za přítomnosti inertního plynu.

Množství zbytkové vlhkosti v lyofilizovaných biopreparátech má značný význam pro kontrolu těchto přípravků, neboť procento vlhkosti je jedním z ukazatelů kvality preparátů a stanovení doby použitelnosti (Robson a Rove 1960, Fabián a Šindelář 1962). Mnozí autoři pokládají stanovení procenta vlhkosti za jeden z hlavních faktorů, určující stabilitu biopreparátu (Podolskij a Karlova 1965). Také Flosdorf (1949), Hillemann a Buescher (1951) uvádějí, že stabilita lyofilizovaných vakcín může být nejlépe hodnocena na základě stanovení procenta zbytkové vlhkosti, které má přímý vliv na přežívání virových částic.

Metody používané ke stanovení zbytkové vlhkosti je možné v podstatě rozdělit na metody fyzikální a chemické. Jednou z nejstarších fyzikálních metod, dosud používaných, je metoda sušením. Sušit lze při různých teplotách ve vzdušných nebo vakuových sušárnách. Výsledky jsou ovlivňovány různými činiteli, jako je teplota a doba sušení, velikost navážky, druh sušeného materiálu aj. (Malá 1955). Sušení pomocí infračerveného záření je vhodné zejména pro termolabilní látky (Smečka 1952). Chemické metody jsou většinou nepřímé, založené na principu schopnosti vody reagovat s různými sloučeninami za vzniku reakčních produktů, které se kvantitativně stanoví. Poměrně rozšířená je metoda Karl-Fischerova. Lze jí stanovit dost malá množství vody (Eberius 1954). Podle Szakmáry a Vali (1963) však není vhodná pro stanovení vlhkosti preparátů v ampulích pro malá množství materiálu.

Pokud jde o stanovení optimální výše zbytkové vlhkosti v lyofilizovaných biopreparátech, údaje autorů se různí. Szakmáry a Vali (1963) pokládají za optimální výši u virových preparátů do 1 %, u bakteriálních vakcín 1–2 % při použití metody Beckettovy. Podolskij a Karlova (1965) při použití vakuové sušárny Labor 126 uvádějí u lyofilizovaných biopreparátů optimální hranici kolem 1 %. Nazarov (1961) uvádí procento zbytkové vlhkosti u vakcín proti vzteklině do 3 %. Československý lékopis procenta vlhkosti u lyofilizovaných biopreparátů neuvádí.

MATERIÁL A METODY

Obsah práce byl zaměřen na:

a) Stanovení procenta zbytkové vlhkosti virových lyofilizovaných biopreparátů, vyráběných v Biovetě Ivanovicích na Hané:

vakcína proti vzteklině,

vakcína proti vzteklině aviazovaná (Flury LEP),

vakcína proti myxomatóze králíků,

vakcína proti difterii drůbeže avianizovaná,

vakcína proti infekčnímu zánětu jater kachen.

b) Určení vhodné metody ke stanovení zbytkové vlhkosti, vhodné pro sériovou kontrolu jednotlivých operačních čísel.

c) Zjištění vlivu výše obsahu zbytkové vlhkosti na kvalitu biopreparátů, tj. na jejich účinnost a exspirační dobu.

METODA STANOVENÍ ZBYTKOVÉ VLHKOSTI

Ke stanovení bylo použito metody termického vysoušení: Do předem vysušené a do konstantní váhy zvážené váženky se odváží na analytických váhách zkoumaná látka. Vážili jsme na váhách polské výroby, typ WA-34, s deklarovanou přesností $\pm 0,01$ mg. Navážky lyofilizátu před sušením byly závislé na množství lyofilizátu v lékovce. U vakcíny proti difterii drůbeže a proti myxomatóze králíků byly přezkušovány vzorky o navážce asi 300 mg, u ostatních vakcín o váze asi 900 mg. Po zvážení se váženka s navážkou přenesla do exikátoru a přemístila se do předem vyhřáté elektrické sušárny. Před uzavřením sušárny se sejme víčko váženky a vzorek se suší při teplotě 100°C za normálního tlaku do konstantní váhy. Po vysušení (empiricky bylo zjištěno, že doba potřebná k úplnému vysušení činí jednu hodinu) se stanoví úbytek váhy zkoumaného vzorku a z rozdílu vah před vysušením a po něm se vypočte procento zbytkové vlhkosti podle vzorce:

$$\% \text{ vlhkosti} = \frac{(a - b)}{a} \cdot 100$$

kde: a = váha navážky před vysušením

b = váha navážky po vysušení

ZKOUŠKY ÚČINNOSTI

Zkoušky účinnosti jsme dělali podle platných „Technických podmínek“, schválených SVS MZVŽ ČSSR:

Vakcína proti vzteklině — TP 146: skupiny bílých myší (15–18 g) jsou imunizovány různými ředěními (1 : 5, 1 : 10, 1 : 40) vakcíny. Za 10 dnů jsou infikovány, včetně kontrolní nevakcinované skupiny, virem vztekliny v dávce 100 LD₅₀. Vyhovující vakcína musí mít index imunogenicity 0,66 a vyšší, kontrolní myši musí uhynout.

Vakcína proti vzteklině avianizovaná — TP 147: princip zkoušky shodný jako v TP 146, ředění vakcíny: 1 : 8, 1 : 16, 1 : 64.

I. Zbytková vlhkost „Vakcíny proti vzteklině“ v různých časových intervalech od její výroby

Vakcína číslo	1 měsíc	6 měsíců	12 měsíců	18 měsíců
1	2,30	4,29	5,34	6,39
2	1,86	4,15	5,86	6,52
3	2,02	4,30	5,35	6,08
4	3,09	4,47	4,90	6,18
5	1,68	3,54	5,45	5,91
6	2,36	4,26	6,07	
7	2,98	4,70		
Průměr	2,32	4,24	5,49	6,21

Zjištěné hodnoty jsou aritmetickým průměrem tří až šesti vyšetřovaných lékovek, z každé lékovky byly měřeny dvě až tři navážky. Hodnoty v tabulce jsou vyjádřeny v procentech.

Vakcína proti myxomatóze králíků — TP 135: prokazuje se odolnost vakcinovaných králíků proti umělé infekci (1000 ID₅₀) viru myxomatózy. Z vakcinovaných musí nejméně 75 % odolat infekci, kontroly musí onemocnět 100%.

Vakcína proti difterii drůbeže avianizovaná — TP 134: zjišťuje se schopnost vakcíny vyvolat u očkovaných zvířat imunitu proti umělé infekci viru difterie drůbeže.

Vakcína proti infekčnímu zánětu jater kachen — TP 139: stanoví se protilátková odpověď na aplikaci vakcíny u drůbeže pomocí SNT na kuřecích embryích.

POSTUP PRÁCE

Vlhkost jsme stanovili u jednotlivých druhů biopreparátů tak, že z každého biopreparátu bylo sledováno několik operačních čísel. Z každého vyšetřovaného čísla bylo vyšetřeno několik lékových, z každé lékovky byla stanovena vlhkost ze dvou až čtyř vzorků (navážek). Jejich průměrná hodnota dávala procento vlhkosti vyšetřované lékovky, průměrná hodnota všech vyšetřovaných lékových jednoho operačního čísla určila procento vlhkosti vyšetřovaného čísla biopreparátu.

Každá lékovka byla před vlastním stanovením vlhkosti překontrolována vysokofrekvenčním zkoušečem vakua, zda obsahuje dostatečné vakuum.

Vlhkost byla stanovena:
po výrobě preparátu (do 1 měsíce),
6, 12, 18 (event. 3 a 24) měsíců po výrobě.

Vakcíny byly skladovány při chladničkové teplotě.
Účinnost byla přezkušována u všech operačních čísel po výrobě v případech, kdy byly zjištěny rozdílné a vysoké hodnoty zbytkové vlhkosti.

II. Vliv rozdílných hodnot vlhkosti na účinnost „Vakcíny proti vzteklině“

Číslo vakcíny	Počet měsíců po výrobě vakcíny	Procento vlhkosti vyšetřované lékovky	Zkouška účinnosti — počet uhynulých myší v jednotlivých skupinách				Vyhovující výsledek zkoušky
			I.	II.	III.	K	
1	1	2,38	1	3	1	5	ano
	12	5,34	1	3	3	5	ano
	18	6,70	1	2	4	5	ano
4	1	2,72	0	0	1	5	ano
	6	4,55	1	3	5	5	ano
	18	6,34	0	2	3	5	ano
5	1	1,74	0	1	3	5	ano
	6	3,55	0	0	3	5	ano
	12	5,50	0	0	3	5	ano
6	1	2,62	1	0	3	5	ano
	6	4,59	2	2	5	5	ano
	12	6,09	0	3	5	5	ano
7	1	2,90	0	3	3	5	ano
	6	4,75	0	3	4	5	ano

Zkoušky účinnosti prováděny podle čl. 17, TP č. 146.

III. Zbytková vlhkost „Vakcíny proti vzteklině avianizované“ v různých časových intervalech od její výroby

Vakcína číslo	Do 1 měsíce po výrobě	3 měsíce lékovky		6 měsíců lékovky		12 měsíců lékovky		18 měsíců lékovky	
		s va- kuem	bez va- kua	s va- kuem	bez va- kua	s va- kuem	bez va- kua	s va- kuem	bez va- kua
1	1,54					3,77	5,75	4,53	7,32
3	1,95					3,72	6,30	4,01	7,20
4	2,02					4,56	6,40	5,31	7,22
5	1,71					3,83	6,58	4,81	7,70
6	1,95					4,03	6,20	4,73	
7	2,50			2,78		4,25		5,02	
8	2,45			2,68	5,31	4,40		5,10	
9	2,31			2,53	5,03	3,63		4,56	
10	1,88	2,34	3,60	2,45		3,95		4,53	
17	3,02	2,96		3,26		3,88			
24	2,16	2,20		2,32		3,65			
27	2,02	2,12		2,60					
28	2,65	2,77		3,14					
29	2,39	2,71							
30	1,96	2,16							
31	2,25	2,66							
32	2,44	2,63							
Průměr	2,18	2,50	3,60	2,72	5,17	3,97	6,44	4,73	7,36

Zjištěné hodnoty jsou aritmetickým průměrem dvou až čtyř vyšetřovaných lékovek, z každé lékovky byly měřeny dvě až tři navážky. Hodnoty v tabulce jsou vyjádřeny v procentech.

VÝSLEDKY

VAKČINA PROTI VZTEKLINĚ

Bylo ověřeno sedm operačních čísel vakcíny; procento zbytkové vlhkosti vakcíny do jednoho měsíce po výrobě bylo zjištěno 2,32 % (nejnižší hodnota 1,68 %, nejvyšší 3,09 %). Skladováním vakcíny se vlhkost zvyšovala: za 6 měsíců po výrobě — 4,24 % (3,54 %—4,70 %); za 12 měsíců po výrobě — 5,49 % (4,90 %—6,07 %); za 18 měsíců po výrobě — 6,21 % (5,91 % až 6,52 %). Vlhkost se během doby použitelnosti (18 měsíců) zvýšila téměř na trojnásobek (tab. I).

Z hlediska účinnosti bylo zjištěno, že všechna kontrolovaná čísla vakcíny v různých časových intervalech vyhověla kontrolním kritériím zkoušky účinnosti. I lékovky, u kterých byla zjištěna vysoká vlhkost (5,50 %, 6,09 %, 6,34 %, 6,70 %), vyhověly požadavkům TP na zkoušky účinnosti (tab. II).

VAKČINA PROTI VZTEKLINĚ AVIANIZOVANÁ

Procento zbytkové vlhkosti bylo zjišťováno u vakcíny do jednoho měsíce po výrobě, 3, 6, 12 a 18 měsíců po výrobě. Průměrná vlhkost vakcíny do jednoho měsíce po výrobě byla stanovena vyšetřením 58 operačních čísel vakcíny a činila 2,28 % (1,44 %—3,56 %). V další sérii 31 operačního čísla byla zjištěna vlhkost 2,32 % (1,55 %—3,76 %). Vlhkost v různých intervalech po výrobě byla sledována u 17 operačních čísel vakcíny. Lékovky, u kterých bylo

IV. Vliv rozdílných hodnot vlhkosti na účinnost „Vakcíny proti vzteklině avianizované“

Číslo vakcíny	Počet měsíců po výrobě vakcíny	Procento vlhkosti vyšetřovaných lékovek	Lékovka s vakuem	Zkouška účinnosti: počet uhynulých myší v jednotlivých skupinách				Vyhovující výsledek zkoušky účinnosti
			bez vakua	I.	II.	III.	K	
1	1	1,59	+	1	1	3	5	ano
	18	4,13	+	1	3	5	5	ano
	18	7,88	—	4	5	4	5	ne
3	1	1,92	+	2	3	4	5	ano
	12	3,22	+	1	3	5	5	ano
	12	6,64	—	2	5	4	5	ne
	18	4,53	+	2	3	4	5	ano
	18	7,20	—	3	5	5	5	ne
4	1	2,00	+	1	2	5	5	ano
	12	7,12	—	4	4	5	5	ne
	18	4,85	+	2	3	4	5	ano
6	1	2,02	+	0	3	5	5	ano
	18	8,05	—	5	5	5	5	ne
7	1	2,50	+	0	2	5	5	ano
	6	2,79	+	2	2	0	5	ano
	12	4,26	+	0	2	5	5	ano
8	1	2,42	+	1	2	5	5	ano
	12	3,27	+	1	3	4	5	ano
	12	6,67	—	2	3	5	5	ne

Zkoušky účinnosti prováděny podle čl. 17, TP č. 147.

V. Zbytková vlhkost „Vakcíny proti myxomatóze králíků“ v různých časových intervalech od její výroby

Vakcína číslo	Do 1 měsíce po výrobě	6 měsíců lékovky		12 měsíců lékovky		18 měsíců lékovky		24 měsíců lékovky s vakuem
		s vakuem	bez vakua	s vakuem	bez vakua	s vakuem	bez vakua	
1	2,37							
2	2,05	4,48	7,20					
3	1,99	3,92		4,95		5,40		7,38
4	2,94	4,58	6,42	5,15	9,77	6,62		7,96
5	2,45	4,02		4,39		5,19		5,42
6	2,63	4,96	6,61	5,42		5,38	10,02	7,12
7	2,32	3,95	5,78	4,64		5,03	11,43	6,45
8	1,80	3,77		4,46		4,51		
Průměr	2,32	4,24	6,50	4,83	9,77	5,18	10,72	6,90

Zjištěné hodnoty jsou aritmetickým průměrem čtyř až osmi vyšetřovaných lékovek, z každé lékovky byly měřeny dvě až čtyři navážky. Hodnoty v tabulce jsou vyjádřeny v procentech.

VI. Vliv rozdílných hodnot vlhkosti na účinnost „Vakcíny proti myxomatóze králíků“

Číslo vakcíny	Počet měsíců po výrobě vakcíny	Procento vlhkosti vyšetřovaných lékových	Lékovka s vakuem	Účinnost vakcíny v procentech	Vyhovující výsledek zkoušky účinnosti
			bez vakua		
2	1	2,00	+	100	ano
	6	4,49	+	100	ano
4	1	3,12	+	87	ano
	12	8,43	—	63	ne
	24	8,03	+	42	ne
5	1	2,40	+	100	ano
	12	4,41	+	100	ano
6	1	2,60	+	100	ano
	18	5,33	+	100	ano
	18	10,75	—	0	ne
7	1	2,36	+	100	ano
	12	3,98	+	83	ano
	12	8,43	—	63	ne
	18	13,53	—	23	ne
	24	5,76	+	100	ano
8	1	1,80	+	100	ano
	6	3,62	+	100	ano
	18	4,50	+	100	ano

Zkoušky účinnosti prováděny podle čl. 15, TP č. 135.

před vyšetřením zjištěno nedostatečné vakuum, byly hodnoceny zvlášť. Naměřené hodnoty u těchto lékových byly značně vyšší než u lékových s vakuem (tab. III). Vlhkost vakcíny v prvních měsících po výrobě se zvýšila jen mírně, později však došlo k zvýšení výraznějším a za 18 měsíců po výrobě byla vlhkost více než dvojnásobná. U lékových bez vakua rostla vlhkost rychleji a za šest měsíců po výrobě dosáhla vyšších hodnot než u lékových za 18 měsíců po výrobě, ale s dostatečným vakuem.

Z hlediska účinnosti vakcíny bylo zjištěno, že lékovky, u kterých bylo procento vlhkosti 6,64 % a vyšší (6,67 %, 7,12 %, 7,88 %, 8,05 %), již nevyhověly požadavkům zkoušky účinnosti, i když dosud byly v době použitelnosti. Naproti tomu lékovky 18 měsíců po výrobě, tedy na konci expirační doby, jejichž zbytková vlhkost nebyla vyšší než 4,85 %, byly účinné (tab. IV).

VAKČÍNA PROTI MYXOMATÓZE KRÁLÍKŮ

Bylo vyšetřeno osm operačních čísel vakcíny do jednoho měsíce po výrobě, 6, 12, 18 a 24 měsíce po výrobě. Zbytková vlhkost se během skladovací doby výrazněji zvýšila během prvních šesti měsíců. Za tuto dobu se zvýšila téměř o 100 %, ze 2,32 % po výrobě na 4,24 %. Později se vlhkost zvyšovala pomaleji, za 18 měsíců po výrobě (doba použitelnosti) činila 5,18 %, za 24 měsíce 6,90 %. U lékových s nedostatečným vakuem se procento vlhkosti zvy-

VII. Zbytková vlhkost „Vakcíny proti difterii drůbeže avianizované“ v různých časových intervalech od její výroby

Vakcína číslo	1 měsíc	6 měsíců	12 měsíců	18 měsíců
1	2,55	2,66	3,73	3,88
2	2,57	2,40	2,97	
3	2,39	2,60	3,37	
4	2,21	2,22		
5	2,78	2,65		
6	1,90			

Zjištěné hodnoty jsou aritmetickým průměrem dvou až čtyř vyšetřovaných lékovek. Hodnoty v tabulce jsou vyjádřeny v procentech.

šovalo mnohem rychleji a šest měsíců po výrobě dosahovala téměř stejných hodnot jako vakcína 24 měsíce po výrobě, ale v lékovkách s dostatečným vakuem. Vlhkost lékovek s nedostatečným vakuem dosáhla za 18 měsíců po výrobě hodnoty 10,72 %, to je o 350 % vyšší, než byla po výrobě (tab. V).

Při sledování účinnosti bylo zjištěno, že lékovky, u kterých procento vlhkosti bylo 8,03 % a vyšší (8,43 %, 10,75 %, 13,53 %), nebyly účinné. Naopak, lékovky s vlhkostí pod 5,75 % byly účinné ještě 24 měsíce po výrobě (6 měsíců po expirační době). Lékovky s vlhkostí vyšší než 8,43 % byly neúčinné již 12 měsíců po výrobě vakcíny (tab. VI).

VAKCÍNA PROTI DIFTERII DRŮBEŽE AVIANIZOVANÁ

Vlhkost byla stanovena u šesti operačních čísel vakcíny v intervalech: do jednoho měsíce po výrobě, 6, 12 a 18 měsíců po výrobě. Vlhkost vakcíny se zvyšovala jen pozvolna — za 18 měsíců se zvýšila pouze o 50 % (2,40 % až 3,88 %). Všechny vakcíny vyhověly požadavkům zkoušky účinnosti (tab. VII).

VAKCÍNA PROTI INFEKČNÍMU ZÁNĚTU JATER KACHEN

Vakcína v lyofilizovaném stavu se zatím vyrábí v ověřovacích sériích a k ověření bylo k dispozici jen pět operačních čísel vakcíny. Vlhkost vakcíny po výrobě byla zjištěna 2,56 % (2,14 %, 2,24 %, 2,55 %, 2,71 %, 3,16 %). Zkoušené vakcíny vyhověly zkouškám účinnosti.

DISKUSE

Metodou termického vysoušení bylo stanoveno procento zbytkové vlhkosti lyofilizovaných virových biopreparátů, vyráběných Biovetou, Ivanovice na Hané:

vakcína proti vzteklině	2,32 %
vakcína proti vzteklině avianizovaná	2,28 %
vakcína proti myxomatóze králíků	2,32 %
vakcína proti difterii drůbeže avianizovaná	2,40 %
vakcína proti infekčnímu zánětu jater kachen	2,56 %

Námi zjištěné hodnoty procenta zbytkové vlhkosti jsou poněkud vyšší než uvádějí někteří autoři jako optimální výši pro virové preparáty (Podolskij a Karlova — 1965 — 1–2 %, Szakmáry a Vali — 1963 — do 1 %, Staroščík — 1969 — 0,65–1,36 % u vakcíny proti vzteklině). Při hodnocení zbytkové vlhkosti je nutné brát totiž v úvahu nejen absolutní hodnotu zjištěné vlhkosti, ale také použitou metodu stanovení zbytkové vlhkosti a druh vyšetřovaného materiálu. Výsledky u stejné vakcíny se při různé metodě mohou různit. Srovnáváním různých metod se zabývali Szakmáry a Vali (1963) u vakcíny proti moru prasat, moru drůbeže a brucelóze a zjistili, že Beckettova metoda (Beckett 1954) dává o 50 % nižší hodnoty zbytkové vlhkosti než metoda Flosdorfova (Flosdorf 1949) a Karl-Fischerova (Fischer 1935).

Dále jsme zjistili, že skladováním vakcín dochází ke zvyšování zbytkové vlhkosti — za 18 měsíců na dvojnásobek původních hodnot. Procento vlhkosti stoupá nejméně u vakcíny proti difterii drůbeže (3,88 %), více u vakcíny proti vzteklině avianizované (4,73 %) a u vakcíny proti myxomatóze králíků (5,18 %), nejvíce u vakcíny proti vzteklině (6,21 %).

U lékovek, u kterých bylo zjištěno nedostatečné vakuum, se vlhkost v průběhu skladování zvyšovala mnohem rychleji a za tři až šest měsíců již dosahovala dvojnásobných hodnot, tedy hodnot jako u lékovek s vakuem za 18 měsíců. U těchto lékovek se vlhkost za 18 měsíců zvýšila proti výchozím hodnotám o 250 až 350 %.

Podstatné je zjištění, že vyšší procento zbytkové vlhkosti ovlivňuje kvalitu vakcíny z hlediska její účinnosti. Bylo zjištěno, že při vlhkosti 6,34 % a vyšší (vakcína proti vzteklině avianizovaná), nebo 8,43 % a vyšší (vakcína proti myxomatóze králíků) byla již vakcína neúčinná, i když byla dosud v platné době použitelnosti. Naopak vakcína s vlhkostí 5,74 % a nižší (vakcína proti myxomatóze králíků) byla účinná ještě šest měsíců po době její použitelnosti. Toto zjištění je průkazné u rozdílných hodnot téhož operačního čísla ve stejném intervalu po výrobě (vakcína proti myxomatóze č. 6), kdy účinnost lékovky s vlhkostí 5,33 % byla 100 %, zatímco lékovka s vlhkostí 10,75 % byla neúčinná. Podobně u vakcíny č. 7 lékovka s vlhkostí 3,98 % byla účinná, ale lékovka s vlhkostí 8,43 % byla neúčinná.

Procento zbytkové vlhkosti je tedy důležitým faktorem, majícím podstatný vliv jak na délku expirační doby, tak na účinnost lyofilizovaných biopreparátů.

Literatura

- BECKETT T. G., 1954, Biol. Appl. of Freezing and Drying. New York.
 ČUPERA Z., DVORÁK J., 1970, Stanovení zbytkové vody v lyofilizovaných biopreparátech. Imunoprofylaxia 3 : 24-29.
 EBERIUS E., 1954, Wasserbestimmung mit Karl Fischer Lösung. Verlag Chemie, Weinheim.
 FABIÁN J., SINDELÁŘ L., 1962, Determination of residual water in freeze-dried bacterial cultures by Fischers method. Folia microbiol. VII, 4 : 247.
 FAJBICH M. M., 1968, Stabilizacija vakcionnych preparatov v processe vysušivanja i chranenija. Žurnal Microb. Epid. i Imunob. 45, 2 : 59.
 FISCHER K., 1935, Neues Verfahren zur massenanalytischen Bestimmung des Wassergehaltes von Flüssigkeiten und festen körnern. Angew. Chem. 48 : 394.
 FLOSDORF E. W., 1949, Freeze-Drying. New York.
 HILLEMANN M. R., BUESCHER E. L., 1951, U. S. Publ. Health Rep. 66 : 1195.
 MALÁ D. a kol., 1955, Stanovení vody ve farmaceutických přípravcích. Farmácia XXIV, 1 : 2.
 NAZAROV V. P., 1961, Bešenstvo životnych. Moskva.

- PODOLSKIJ M. V., KARLOVA N. G., 1965, Opredeľenie ostatočnej vlažnosti liofilizovaných preparátov v vakuum-sušilnom škafu. Labor. delo 6: 625.
- ROBSON E. M., ROVE T. W. G., 1960, The physical of secondary drying. Rec. res. in freezing and drying Blackwell Scientific Public, Oxford: 146.
- SMEČKA V., 1952, Infračervené záření a jeho použití ve farmaceutické praxi. Čs. farm. I: 599.
- STAROŠTÍK L., 1969, Lyofilizace očkovacích látek. Výzk. úkol. R-III-10/6.
- SZAKMÁRY G., VALI A., 1963, Studies on the residual moisture content of freeze dried live vaccines. Acta vet. hung. 15, 4: 411.
- ŽÁK O., DUBAJ J., 1967, Lyofilizace mikroorganismů. Imunoprof. III: 2.
- , 1970, Československý lékopis 3. Praha, 73: 101.

Došlo dne 28. 12. 1972

ЧУПЕРА З., ПОЛАЧЕК Р. (Институт государственного контроля ветеринарных биопрепаратов и лекарств в г. Брно, отделение биопрепаратов, Ивановице-на-Гане, Чехословакия). Остаточная влажность лиофилизированных биопрепаратов и ее влияние на их действенность. Vet. Med. (Praha) 19 (4): 221-231, 1974.

Методом термического просушивания (при 100 °C в условиях нормального давления) определялся процент остаточной влажности некоторых вирусных лиофилизированных биопрепаратов, производимых нац. предприятием Биовета в Ивановице-на-Гане. Остаточная влажность препаратов после производства была следующей: вакцина против бешенства авианизированная (VVA) — 2,28 %, вакцина против бешенства (VV) — 2,32 %, вакцина против миксоматоза кроликов (VMK) — 2,32 %, вакцина против дифтерита птицы авианизированная (VDDA) — 2,40 %, вакцина против инфекционного воспаления печени уток — 2,56 %. При хранении препаратов в течение экспирационного времени остаточная влажность возрастала и спустя 18 месяцев после изготовления биопрепаратов была следующей: VDDA — 3,38 %, VVA — 4,73 %, VMK — 5,18 %, VV — 6,21 %. Влажность у пузырьков с недостаточным внутренним вакуумом повышалась гораздо сильнее и через 18 месяцев достигла величин: VVA — 7,36 %, VMK — 10,72 %. Установленные величины остаточной влажности после выпуска из производства и после хранения, хотя и высокие, не оказали отрицательного влияния на действенность испытываемых вакцины и отдельные пузырьки, даже при влажности VDDA — 4,45 %, VVA — 4,85 %, VMK — 5,76 %, VV — 6,70 %, удовлетворили испытаниям действенности в соответствии с действительными техническими требованиями. Однако остаточная влажность, превосходившая указанные величины, оказывала уже отрицательное влияние на действенность испытывавшихся вакцин. При влажности у VVA 6,64 % и более, так же как и у VMK при влажности 8,43 % и более, хотя испытывавшиеся пузырьки и были еще в применении сроке, в испытаниях действенности уже не проявили достаточную эффективность.

вирусные лиофилизированные вакцины; метод термической сушки; процент остаточной влажности; действенность; срок применимости

ČUPERA Z., POLÁČEK R. (Institute for State Control of Veterinary Bio-Preparations and Drugs, Brno, Department of Bio-Preparations, Ivanovice na Hané, Czechoslovakia). The Residual Moisture of Lyophilized Bio-Preparations and its Influence on Effectivity. Vet. Med. (Praha) 19 (4): 221-231, 1974.

The method of thermic drying (at 100 °C, under normal pressure) was employed to determine the percentage of residual moisture in some virus lyophilized bio-preparations produced by Biovet, Ivanovice na Hané. The following levels of residual moisture were found in the preparations after production: avianized rabies vaccine (ARV) — 2.28 %, rabies vaccine (RV) — 2.32 %, rabbit myxomatosis vaccine (RMV) — 2.32 %, avianized fowl pox vaccine (AFPV) — 2.40 %, vaccine against infectious hepatitis of ducks — 2.56 %. The storage of the preparations in the course of the expiration time increased residual moisture, and the following levels were found after 18 months: AFPV — 3.38 %, ARV — 4.73 %, RMV — 5.18 %, RV — 6.21 %. In vials without vacuum, moisture increased to a much higher level and reached the following values after 18 months: ARV — 7.36 %, RMV — 10.72 %. Although high, the values of residual moisture after production and storing did not reduce the effectivity of the vaccine tested. Individual vials reaching even 4.45 % (AFPV),

4.85 % (ARV), 5.76 % (RMV), 6.70 % (RV) passed the effectivity tests according to the required technical conditions. However, residual moisture higher than the above-mentioned values affected the vaccines under test and reduced their effectivity. Although the vials under study were still in the usability time they did not show sufficient effectivity in the effectivity tests when the moisture content was 6.64 % and higher in ARV and 8.43 % and higher in RMV.

lyophilized virus vaccines; method of thermic drying; residual moisture percentage; effectivity; usability time

ČUPERA Z., POLÁČEK R. (Anstalt für staatliche Kontrolle der veterinären Biopräparate und Medikamente Brno, Sektion für Biopräparate, Ivanovice na Hané, Tschechoslowakei). *Residuelle Feuchtigkeit lyophilisierter Biopräparate und ihr Einfluß auf die Wirksamkeit derselben*. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 221-231, 1974.

Mit Hilfe der Methode des thermischen Trocknens (bei 100 °C unter normalem Druck) bestimmten wir die prozentuelle Residuumsfeuchtigkeit einiger vom Betrieb Bioveta in Ivanovice na Hané erzeugten lyophilisierten Biopräparate. Die residuelle Feuchtigkeit der untersuchten Präparate nach der Erzeugung betrug: bei der avianisierten Antirabies-Vakzine (VVA) — 2,28 %, bei der Antirabies-Vakzine (VV) — 2,32 %, bei der Vakzine gegen Kaninchenmyxomatose (VMK) — 2,32 %, bei der avianisierten Vakzine gegen Geflügeldiphtherie (VDDA) — 2,40 % und bei der Vakzine gegen infektiöse Leberentzündung bei Enten — 2,56 %. Durch Lagerung der Präparate im Verlaufe der Exspirationszeit erhöhte sie die residuelle Feuchtigkeit und nach 18 Monaten wurden folgende Werte festgestellt: VDDA — 3,38 %, VVA — 4,73 %, VMK — 5,18 %, VV — 6,21 %. Bei Präparaten in unausreichendem Vakuummilieu erhöhte sich die Residuumsfeuchtigkeit bedeutend ausgeprägter, sodaß nach 18 Monaten Lagerung folgende Werte erreicht wurden: VVA — 7,36 %, VMK — 10,7 %. Die nach der Erzeugung und nach Lagerung ermittelten Werte der residuellen Feuchtigkeit, obwohl sie hoch sind, beeinflussten keineswegs negativ die Wirksamkeit der untersuchten Vakzinen. Die einzelnen Medizinflaschen mit einer Feuchtigkeit von 4,45 % bei VDDA, 4,85 % bei VVA, 5,76 % bei VMK und 6,70 % bei VV entsprachen in den durchgeführten Wirksamkeitstesten den gültigen technischen Bedingungen. Höhere Feuchtigkeitsgehalte als die angeführten Werte wiesen aber einen bereits negativen Einfluß auch die Wirksamkeit der untersuchenden Vakzinen auf. In den Wirksamkeitstesten wiesen die Medizinflaschen mit VVA bei 6,64 % residuellem und höherem Feuchtigkeitsgehalt, sowie die Medizinflasche mit VMK bei 8,43 % und höherem Feuchtigkeitsgehalt eine bereits unausreichende Wirkung auf.

lyophilisierte Virusvakzinen; Methode des thermischen Trocknens; Prozentgehalt an residueller Feuchtigkeit; Wirksamkeit; Benutzungszeitfrist.

Adresa autorů:

MVDr. Z. Čupera, ing. R. Poláček, Ústav pro kontrolu biopreparátů 683 23 Ivanovice na Hané

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 5 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

budou uveřejněny následující články:

Minář J., Breev K. A., Bařinka R., Bakoš J., First V., Krížo A., Váleček V., Wilner L.: Účinnost různých koncentrací trichlorfonu při použití přípravků Hypocid, Neohypodermin a Gipodermin-chlorofos proti střečkovitosti skotu

Kadlec V., Kubelka J.: Demodikóza ovcí

Dobšinský O.: Dynamika polyparazitácie enterohelminťov u hovädzieho dobyťka v trópoťch

Hovorka J., Pačenovský J., Mitterpák J.: Druhové zastúpenie trematóďov podradu Paramphistomata na Kube

Borošková Z., Benková M.: Hodnotenie antigénov z rôznych vývinových štádií *Ascaris suum*

Otčenášek M., Štros K., Křivanec K., Komárek J.: Epizootie dermatofytózy ve velkochovu morčat

Vítovec J., Vladík P., Červinka S.: Nekrotizující nefróza s granulomy a četnými cystopapilárními adenomy při hromadném onemocnění sivena amerického a pstruha duhového

Vladík P., Vítovec J., Červinka S., Pokorný J.: Furunkulóza sivenů

Vladík P., Vítovec J.: *Plesiomonas shigelloides* v septikemii pstruha duhového

TAXONOMIE GRAMPOZITIVNÍCH NEPOHYBLIVÝCH DIPLOBACILŮ IZOLOVANÝCH Z NEKROTIZUJÍCÍCH NEFRÓZ SIVENA AMERICKÉHO A PSTRUHA DUHOVÉHO

P. Vladík, J. Vítovec, S. Červinka

Státní veterinární ústav, České Budějovice

VLADÍK P., VÍTOVEC J., ČERVINKA S. *Taxonomie grampozitivních nepohyblivých diplobacilů izolovaných z nekrotizujících nefróz sivena amerického a pstruha duhového*. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 233-238, 1974.

V práci jsme se pokusili o základní morfologickou a biochemickou charakteristiku 23 bakteriálních kultur získaných téměř výhradně z orgánů sivenu amerického a pstruhů duhových, kteří uhynuli za příznaků nekrotizující nefrózy s četnými cystopapilárními adenomy. Námi izolované bakterie tvořily homogenní skupinu grampozitivních nepohyblivých a nesporogenních aerobních tyčiek katalázo- a oxidázonegativních, neredukujících nitráty na nitrity a využívajících glukózu fermentativně, ale bez tvorby plynu. S přihlédnutím k této charakteristice a k některým růstovým požadavkům jsme izolované zárodky rámcově zařadili jako *Corynebacterium* spp. Výsledky našich pozorování se do jisté míry shodují s výsledky Ajmala a kol. (1967), kteří izolovali podobné bakterie z případu tzv. ledvinové choroby lososovitých ryb ve Velké Británii.

grampozitivní nepohyblivé diplobacily; nekrotizující nefróza; cytopapilární adenomy; siven americký; pstruh duhový

O onemocnění ledvin jako příčině hromadného hynutí pstruhů a lososů bylo dosud referováno ve Spojených státech, Velké Británii, Kanadě (Sniezko, Axelrod 1971) a v Německu (Schäperclaus 1954). Většina autorů, kteří se touto chorobou — označovanou jako „kidney disease“ — zabývali, soudí, že je bakteriální podstaty a za původce označují blíže neurčený druh rodu *Corynebacterium*.

O izolaci grampozitivních nesporogenních diplobacilů z orgánů potočních pstruhů uhynulých za příznaků onemocnění velmi podobného, tzv. „kidney disease“, poprvé referují Belding a kol. (1935 — cit. Wood, Yasutake 1956), kteří považovali izolované bakterie za původce této choroby přesto, že se jim experimentální důkaz nezdařil.

Ordal a Earp (1956) doporučili k primoizolaci kauzálního agens ledvinové choroby modifikovaný 20 % krevní agar obohacený 0,1 % cystein hydrochloridem. Na této půdě lze podle jejich údajů izolovat grampozitivní nesporogenní diplobacily i v takových případech, kdy ještě nedošlo k výraznému rozvoji patologických změn. Těmito organismy se podařilo u některých druhů lososovitých ryb onemocnění experimentálně reprodukovat. Ordal a Earp (1956) zároveň uvedli základní morfologickou a biochemickou charakteristiku svých izolátů, které prozatím zařadili jako blíže neurčenou species rodu *Corynebacterium*.

V poslední době popsali ve Velké Británii onemocnění lososů a pstruhů velmi podobné tzv. ledvinové chorobě Ajmal a Hobbs (1967). Také v těchto případech byly z orgánů uhynulých ryb kulturačně prokázány grampozitivní diplobacily podobné těm, které prokázali Ordal a Earp (1956).

Sami jsme měli možnost pozorovat případ hromadného onemocnění sivena amerického a pstruha duhového s nálezem nekrotizující nefrózy s mnohotnými cystopapilárními adenomy. Z orgánů uhynulých ryb jsme izolovali celkem 23 kmeny grampozitivních, aerobních, nesporogenních a nepohyblivých diplobacilů, které jsme se pokusili bakteriologicky vymezit.

MATERIÁL A METODY

Předmětem našeho sdělení je popis základních morfologických, kulturálních a biochemických vlastností 23 námi izolovaných grampozitivních nesporogenních a nepohyblivých diplobacilů z orgánů, svaloviny a střev duhových pstruhů a sivenů amerických, uhynulých za příznaků onemocnění, o němž budeme referovat v dalším sdělení.

17 izolátů jsme získali z duhových pstruhů. Z nich bylo osm z ledvin, dva z jater, dva ze sleziny, jeden ze svaloviny a čtyři ze střev. Šest kmenů jsme vykultivovali z orgánů sivenů amerických, z toho čtyři z ledvin a dva z jater.

Ke srovnání základních morfologických a biochemických charakteristik izolátů z ryb jsme použili po třech našich sbírkových kmenech *Listeria monocytogenes* a *Corynebacterium pyogenes*.

Při sestavování základních půd jsme vycházeli ze základních bází fy. Oxoid, Blood Agar Base No 2, Nutrient Agar a Nutrient Broth No 2.

Morfologii mikrobiálních buněk jsme studovali na kulturách 48 a 72 hodiny starých, vyrostlých při 20 °C na 10 % krevním agaru s 0,1 % cystein hydrochloridem v preparátech barvených metodou podle Gramma a Ziehl-Neelsena. Pohyblivost jsme zjišťovali u kultur 24 hodiny starých v sérovém bujónu, mikroskopicky v temném poli. Přítomnost bakteriálních bičíků jsme zjišťovali barvením podle Leifsona (1951 — cit. Cowan, Steel 1965).

K průkazu oxidázy jsme použili 1 % vodný roztok N,N-dimethyl-p-fenylendiamindihydrochloridu, kterým jsme převrstvili kolonie 48hodinových kultur na sérovém agaru.

Tvorbu katalázy jsme zjišťovali sklíčkovým testem s 8 % H₂O₂.

K průkazu hydrolýzy želatiny, močoviny a redukce nitrátů jsme použili půd doporučených Cobbe (1963). Zkapalňování séra jsme zjišťovali na Loefflerově koagulovaném séru podle Cowana a Steela (1965).

Způsob využívání uhlohydrátů jsme zjišťovali na modifikovaném Hugh-Leifsonově O-F mediu (Cowan, Steel 1965). Základní bázi jsme obohatili 1 % nativního koňského séra a k průkazu tvorby kyseliny jsme použili Andradeho indikátor.

Utilizaci glukózy, laktózy, sacharózy, manitolu, maltózy, raffinózy, melcitózy, trehalózy, galaktózy, mannózy, arabinózy, xylózy, salicinu, adonitolu, sorbitolu, aeskulinu, glycerolu, dulcitolu a škrobu jsme studovali na Nutrient Broth No 2 s 1 % příslušného uhlohydrátu (aeskulin pouze 0,5 %) obohaceného 1 % koňského séra. K průkazu tvorby kyselin jsme použili Andradeho indikátor.

Tvorbu H₂S jsme zjišťovali v sérovém bujónu s 0,01 % cystinu. K detekci H₂S jsme připravili proužky filtračního papíru, napuštěné nasyceným roztokem octanu olovnatého.

Anaerobní konverzi argininu na ornitin, NH₄ a CO₂ (ADH test) jsme studovali na mediu podle Falkowa (1958).

K biochemickým testům jsme použili jedné kolonie 48 hodin staré kultury na KA, naočkované do sérového bujónu. Po 24 hodinách inkubace při 20 °C

jsme přenesli po jedné kapce bujónové kultury pipetou do každé z testovaných zkumavek. Všechny testy s výjimkou biochemických testů u sbírkových kmenů *L. monocytogenes* a *C. pyogenes* jsme dělali při teplotě 20 °C a hodnotili obvyklým způsobem.

VÝSLEDKY

Na KA jsme po 48 až 72 hodinách inkubace při 20 °C pozorovali nárůst drobných, hladkých, lesklých, kouřově šedých, polokulovitě se vyklenujících kolonií, které dosahovaly v průměru 0,2 až 0,5 mm. Pod základnou kolonií byla úzká zóna částečné hemolýzy.

Morfologie bakteriálních buněk na KA byla téměř uniformní. Šlo o gram-pozitivní, nesporulující tyčky se zaoblenými konci, často ve dvojicích, dosahující v průměru 0,5 X 1 až 1,5 μ . Barvením podle Ziehl-Neelsena jsme neprokázali acidostabilitu. Sérový bujón byl po 24 hodinách inkubace difúzně zkalený, bez povrchové blanky a bez sedimentu. Kultury nevykazovaly v temném poli pohyb, barvením podle Leifsona jsme neprokázali bičíky.

Všechny naše izoláty vyžadovaly k růstu obohacení základních medií sérem. V žádném případě jsme nepozorovali růst v bujónech, které jsme inkubovali při 4 °C a při 37 °C.

Všechny kmeny využívaly glukózu na O-F mediu fermentativně, bez současné tvorby plynu. Utilizovaly do 24 hodin inkubace sacharózu, manitol, maltózu, trehalózu, galaktózu, mannózu, salicin, aeskulin, a to vždy bez plynu. Laktóza, melecitóza a glycerol byly fermentovány mezi druhým až sedmým dnem inkubace. Raffinózu využívalo 18 kmenů do 48 hodin inkubace, pět kmenů zůstalo negativních i po 28. dnu inkubace. Škrob využívalo 17 kmenů, arabinózu čtyři kmeny a xylózu pouze dva kmeny.

V žádném případě jsme nepozorovali fermentaci adonitolu, sorbitolu a dulcitolu.

ADH test byl pozitivní vždy do čtvrtého dne inkubace, u kmenů sbírkových byl vždy negativní. Žádný z testovaných kmenů netvořil H₂S.

Všechny námi izolované kmeny z ryb byly katalázo- a oxidázonegativní, neredukovaly nitráty na nitrity, nehydrolyzovaly močovinu a želatinu ani po šesti týdnech inkubace, na Loefflerově koagulovaném séru rostly, ale na rozdíl od kontrolních kmenů *C. bovis* sérum nikdy nezkapalňovaly.

Výsledky shrnuje tab. I.

DISKUSE

Rod *Corynebacterium* byl původně ustaven Lehmannem a Neumannem v roce 1919 (cit. Jensen 1952) pro několik druhů lidských a zvířecích patogenů, které se vyznačovaly vyhraněnými morfologickými, fyziologickými a biochemickými vlastnostmi. V průběhu dalších let byla k rodu postupně přiřazena velká skupina saprofytických a půdních koryneformních bakterií včetně některých rostlinných patogenů. Tím byl rod rozšířen o kokoidní a myceliální formy, pohyblivé kmeny a zárodky, jejichž energetický metabolismus zahrnuje od čistě oxidačních reakcí až po reakce fermentační, včetně druhů schopných rozkládat celulózu.

V současné době je ve stadiu diskuse správná taxonomická charakteristika rodu *Corynebacterium* a poměrně jednotně se požaduje reklasifikace některých species. Někteří autoři soudí, že zatímco lidští a zvířecí patogeni téměř odpo-

I. Výsledky pozorování

Test	<i>Corynebacterium</i> sp. 23 kmeny	AJMAL M., HOBBS B. C. 1967	<i>C. pyogenes</i> tři kmeny SVÚ	<i>L. monocytogenes</i> tři kmeny SVÚ
Hemolýza	±	—	+	+
Pohyblivost	—	—	—	+20°
Kataláza	—	+	+	+
Oxidáza	—	—	—	—
Redukce nitrátů	—	—	—	—
H ₂ S	—	—	—	—
Hydrolyza želatiny	—	—	+	—
Ureáza	—	.	—	—
Loefflerovo koagulované sérum	—	.	+	—
O—F	F	.	F	F
Glukóza	A	A	A	A
Laktóza	A ₂₋₅	A	—	—
Sacharóza	A	A	—	—
Manitol	A	A	—	—
Maltóza	A	A	A	A
Raffinóza	18+ 5—	.	—	—
Melecitóza	+2—7	.	2+	—
Trehalóza	+	.	—	+
Galaktóza	+	.	+2	—
Mannóza	+	.	—	+
Arabinóza	19— 4+	.	—	—
Xylóza	2+ 21—	.	+	—
Salicin	+	A	—	+
Adonitol	—	.	—	—
Sorbitol	—	A	—	—
Aeskulin	+	.	+	+
Glycerol	+7	.	—	—
Dulcitol	—	.	—	—
Škrob	17+ 6—	.	+	+
ADH	+4	.	—	—

Legenda: + pozitivní výsledek — negativní výsledek . netestováno
F fermentace A kyselina ± částečná hemolýza

vidají charakteristice rodu, jiná *Corynebacterium* spp. se s ní rozcházejí do té míry, že by bylo vhodnější uvažovat o jejich jiném zařazení (Jensen 1952, Da Silva, Holt 1965, Bousfield 1972). Příkladem může být nově vytvořený rod *Arthrobacter*, do něhož se v současné době zařazují některé půdní koryneformní bakterie jako *C. helvolum*, *C. tumescens* (Conn, Dimmick 1947).

Správné taxonomické zařazení grampozitivních, nesporogenních diplobacilů izolovaných z případů ledvinové choroby lososovitých ryb podle našeho názoru dosud chybí. Rámcové zařazení tohoto zárodku jako species rodu *Corynebacterium* (Ordal, Earp 1956, Ajmal, Hobbs 1967, Snieszko, Axelrod 1971) je nejisté a zdá se, že je spíše výsledkem současné příliš obecné charakteristiky rodu.

Popisy izolovaných bakterií, jak je podali Belding a kol. (1935 — cit. Wood, Yasutake 1956), Ordal a Earp (1956) a Ajmal a Hobbs (1967), jsou shodné jen v tom, že jde o grampozitivní nesporogenní

tyčky, vyskytující se často v párech, které jsou růstově náročné, aerobní a katalázo-pozitivní. V dalších vlastnostech nejsou názory jednotné. Kmeny, které izolovali Belding a kol. (1935 — cit. Wood, Yasutake 1956) byly pohyblivé a mohly růst i při 37 °C. Ordal a Earp (1956) referují o výrazných proteolytických vlastnostech svých izolátů. Výsledky našich pozorování jsou do jisté míry shodné s výsledky, které uvádí Ajmal a Hobbs (1967).

Jsmo toho názoru, že námi izolované bakterie lze vzhledem k jejich obecné charakteristice (tj. grampozitivní, nepohyblivé, nesporogenní aerobní tyčky, vyžadující k růstu obohacené půdy, využívající určité spektrum uhlohydrátů bez tvorby plynu, katalázo- a oxidázonegativní, neredukující nitráty na nitrity, bez výraznějších proteolytických vlastností) stejně tak dobře v současnosti zařadit jako blíže neurčenou species rodu *Corynebacterium*, jako nelze opomenout jistou podobnost s některými druhy rodu *Lactobacillus*, zejména subgenus *Streptobacterium*.

ZÁVĚR

Byly studovány základní morfologické, fyziologické a biochemické vlastnosti 23 kmenů izolovaných z orgánů sivenů amerických a pstruhů duhových, kteří uhynuli za příznaků nekrotizující nefrózy s četnými cystopapilárními adenomy. Naše izoláty připomínají ty zárodky, o kterých se soudí, že jsou původci tzv. ledvinové choroby lososovitých ryb a které se zpravidla zařazují do rodu *Corynebacterium*.

Na základě výsledků svých pozorování se domníváme, že námi izolované kmeny neodpovídají žádné z formálně ustavených species rodu *Corynebacterium* a navíc vykazují jistou podobnost s některými druhy rodu *Lactobacillus*.

Vztah námi popsáných zárodků k morfologicky vyhraněnému, jinde popsanému onemocnění ledvin, se nám objasnit nepodařilo. Lze však konstatovat, že jsme obdobné zárodky v souvislosti s jiným onemocněním nikdy neizolovali.

Literatura

- AJMAL M., HOBBS B. C., 1967, Species of *Corynebacterium* and *Pasteurella* isolated from Diseased Salmon, Trout and Rudd. *Nature* 215: 142-143.
- BOUSFIELD I. J., 1972, A Taxonomic Study of Some Coryneform Bacteria. *J. gen. Microbiol.* 71: 441-455.
- COBB R. W., 1963, Cultural Characteristics of Some *Corynebacteria* of Animal Origin with Special Reference to *C. bovis* and *C. pyogenes*. *J. med. Lab. Technol.* 20: 199-204.
- CONN H. J., DIMMICK I., 1947, Soil Bacteria Similar in Morphology to *Mycobacterium* and *Corynebacterium*. *J. Bacteriol.* 54: 291-303.
- COWAN S. T., STEEL K. J., 1965, Manual for the Identification of Medical bacteria. Cambridge, University Press: 217 s.
- Da SILVA G. A. N., HOLT J. G., 1965, Numerical Taxonomy of Certain Coryneform Bacteria. *J. Bacteriol.* 90: 921-927.
- FALKOW S., 1958, Activity of lysine decarboxylase as an aid in the Identification of *Salmonellae* and *Shigellae*. *Am. J. clin. Path.* 29: 598-600.
- JENSEN H. L., 1952, The Coryneform Bacteria. *A. Rev. Microbiol.* 6: 77-90.
- ORDAL E. J., EARP B. J., 1956, Cultivation and Transmission of Etiological Agent of Kidney Disease in Salmonid Fishes. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 92: 85-88.
- SCHÄPERCLAUS W., 1954, Fischkrankheiten. 3 Auflage, Akademie Verlag, Berlin.
- SNIESZKO S. F., AXELROD H. R., 1971, Diseases of Fishes. T. F. H. Publications.
- WOOD E. M., YASUTAKE W. T., 1956, Histopathology of Kidney Disease in fish. *Am. J. Path.* 32: 845-858.

Došlo dne 14. 4. 1973

ВЛАДИК П., ВИТОВЕЦ Й., ЧЕРВИНКА С. (Государственный ветеринарный институт, Ческе Будейовице, Чехословакия). Таксономия грамположительных неподвижных диплобацилл, изолированных из некротизирующих нефрозов гольца американского и радужной форели. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 233-238, 1974.

В статье мы попытались дать основную морфологическую и биохимическую характеристику 23 бактериальным культурам, полученным почти исключительно из органов гольца американского и радужной форели, которые погибли с признаками некротизирующего нефроза с многочисленными цитопиллярными аденомами. Нами изолированные бактерии представляли собой гомогенную группу грамположительных неподвижных и неспорогенных аэробных палочек каталазо- и оксидазоотрицательных, нередуцирующих нитраты в нитриты и использующих глюкозу ферментативно, но без образования газа. Принимая во внимание эту характеристику и некоторые ростовые требования, изолированные зародыши мы в общем отнесли к *Corynebacterium* spp. Результаты наших наблюдений в определенной степени совпадают с результатами Аймала и колл. (1967), которые изолировали аналогичные бактерии из так наз. почечной болезни лососевых рыб в Великобритании.

грамположительные неподвижные диплобациллы; некротизирующий нефроз; цитопиллярные аденомы; голец американский; радужная форель

VLADÍK P., VÍTOVEC J., ČERVINKA S. (State Veterinary Institute, České Budějovice, Czechoslovakia). The Taxonomy of Gram Positive Immobile Diplobacilli Isolated from Necrotizing Nephroses in American Char and Rainbow Trout. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 233-238, 1974.

The study was an attempt at giving the basic morphological and biochemical characteristics of 23 bacterial cultures obtained, almost exclusively, from the organs of American chars and rainbow trouts which died, showing signs of necrotizing nephrosis with multiple cystopapillary adenomas. The bacteria from our isolations formed a homogeneous group of gram-positive immobile non-sporogeneous aerobic rods of catalase- and oxidase-negative, character, not reducing nitrates to nitrites, and utilizing glucose in a fermentative way, yet without generating a gas. With respect to the mentioned characteristics and to some growth requirements, the germs isolated were generally classified as *Corynebacterium* spp. The results of our study correspond, to some degree, with the results obtained by Ajmal et al. (1972) who isolated similar bacteria from a case of so-called kidney disease of salmonids in Great Britain.

gram-positive immobile diplobacilli; necrotizing nephrosis; cystopapillary adenomas; American char; rainbow trout

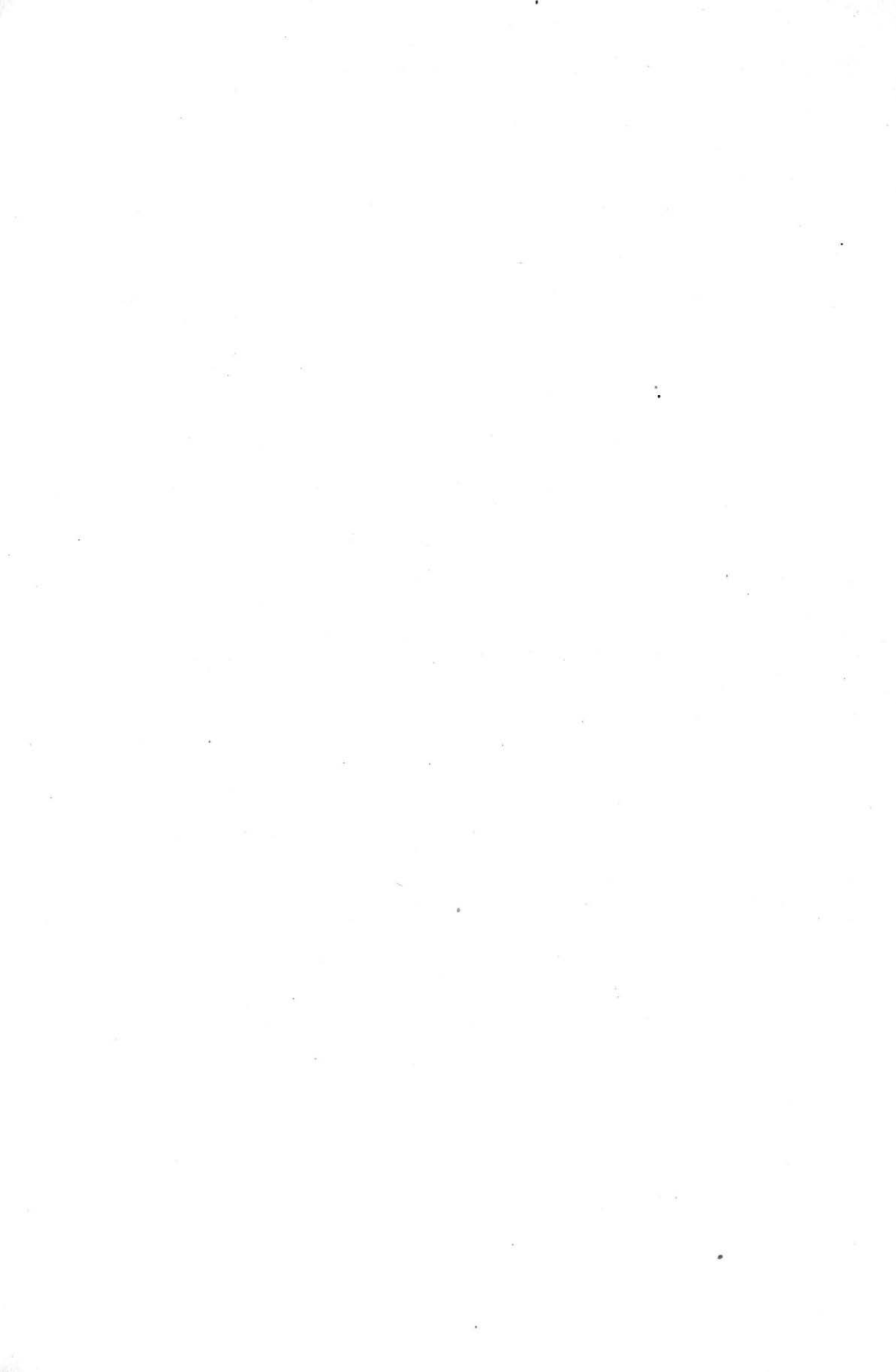
VLADÍK P., VÍTOVEC J., ČERVINKA S. (Staatliche Veterinäranstalt, České Budějovice, Tschechoslowakei). Taxonomie der aus nekrotisierenden Nephrosen des Bachsaiblings und der Regenbogenforelle isolierten grampositiven unbeweglichen Diplobazillen. Vet. Med. (Praha) 19 (4) : 233-238, 1974.

In der vorliegenden Arbeit bemühten wir uns um eine grundlegende morphologische und biochemische Charakteristik von 23 Bakterienkulturen, die fast ausschließlich aus Organen von Bachsaiblingen und Regenbogenforellen gewonnen wurden, die unter Anzeichen einer nekrotisierenden Nephrose mit zahlreichen zystopapillären Adenomen verendeten. Die von uns isolierten Bakterien bildeten eine homogene Gruppe grampositiver, unbeweglicher, nichtsporogener, katalase- und oxydase-negativer aerober Stäbchen, die Nitrate zu Nitriten nicht reduzierten und Glukose fermentativ, aber ohne Gasbildung, verwerteten. In Hinsicht auf diese Charakteristik und auf einige Wachstumsanforderungen reihten wir die isolierten Erreger im Gesamtrahmen als *Corynebacterium* spp. ein. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen stehen bis zu einem gewissen Grad im Einklang mit den Ergebnissen von Ajmala u. Koll. (1967), die ähnliche Bakterien bei einem Fall der sog. Nierenkrankheit von lachsartigen Fischen in Großbritannien isolierten.

grampositive unbewegliche Diplobazillen; nekrotisierende Nephrose; zystopapilläre Adenome; Bachsaibling; Regenbogenforelle

Adresa autorů:

MVDr. J. Vítovec, MVDr. P. Vladík, MVDr. S. Červinka, Státní veterinární ústav, 370 00 České Budějovice



Žuffa A., Michalovič M., Dušek I., Mráček K.: Pokus o ozdravení chovů ošipáných zamorených Aujeszského chorobou	177
Kursa J.: Hematologické příznaky při nutriční svalové dystrofii mladého skotu	189
Dvořák M., Herzig I., Raszyk J.: Všeobecná adaptace na změnu prestartérů s odlišným obsahem dusíkatých látek při odstavu	197
Sýkora I., Burdych J.: Kontrola nového antimykotika v terénní praxi	205
Černík K., Salaj J.: Vyšetření žloutkových extraktů jako součást sérologického průzkumu zamořenosti chovů drůbeže	211
Čupera Z., Poláček R.: Zbytková vlhkost lyofilizovaných biopreparátů a její vliv na účinnost	221
Vladík P., Vítovec J., Červinka S.: Taxonomie gram pozitivních nepohyblivých diplobacilů izolovaných z nekrotizujících nefróz sivena amerického a pstruha duhového	233

СОДЕРЖАНИЕ

Жуффа А., Михалович М., Душек И., Мрачек К.: Попытка оздоровления свинопоголовий, пораженных болезнью Ауески	186
Курса Й.: Гематологические признаки при пищевой мышечной дистрофии молодняка крупного рогатого скота	195
Дворжак М., Герзиг И., Расзык Й.: Общее приспособление к изменению престартеров с разным содержанием азотистых веществ при отъеме	203
Сыкора И., Бурдых Й.: Контроль нового антимикотина на местах	208
Черник К., Салай Й.: Обследование желточных экстрактов как составная часть серологического исследования зараженности разведений птицы	219
Чупера З., Полачек Р.: Остаточная влажность лиофилизированных биопрепаратов и ее влияние на их действенность	230
Владик П., Витовец Й., Червинка С.: Таксономия грамположительных неподвижных диплобацилл, изолированных из некротизирующих нефрозов гольца американского и радужной форели	238

CONTENTS

Žuffa A., Michalovič M., Dušek I., Mráček K.: An Attempt at a Recovery of Herds of Pigs Contaminated with Aujeszky's Disease	186
Kursa J.: Hematological Signs of White Muscle Disease in Young Cattle	196
Dvořák M., Herzig I., Raszyk J.: General Adaption to the Replacement of Prestarters with Different Content of Nitrogenous Substances at Weaning	204
Sýkora I., Burdych J.: Checking of a new Antimycotic in the Field Practice	209
Černík K., Salaj J.: The Examination of Yolk Extracts as a Part of the Serological Survey of the Infestation Rate of Poultry Flocks	219
Čupera Z., Poláček R.: The Residual Moisture of Lyophilized Bio-Preparations and its Influence on Effectivity	230
Vladík P., Vítovec J., Červinka S.: The Taxonomy of Gram Positive Immobile Diplobacilli Isolated from Necrotizing Nephroses in American Char and Rainbow Trout	238

INHALT

Žuffa A., Michalovič M., Dušek I., Mráček K.: Versuch der Gesundung von mit der Aujeszky'schen Krankheit verseuchten Schweinezüchten	187
Kursa J.: Hämatologische Symptome bei der Nutritions-Muskeldystrophie von Junggrindern	196
Dvořák M., Herzig I., Raszyk J.: Allgemeine Adaptation auf die Veränderung der Prästarter mit unterschiedlichem Gehalt an Stickstoffsubstanz beim Ferkelabsatz	204
Sýkora I., Burdych J.: Kontrolle eines neuen Antimykotikums in der veterinären Praxis	209
Černík K., Salaj J.: Untersuchung der Eidotterextrakte als Bestandteil der serologischen Feststellung des Versuchsgrades von Geflügelbeständen	220
Čupera Z., Poláček R.: Residuelle Feuchtigkeit lyophilisierter Biopräparate und ihr Einfluß auf die Wirksamkeit derselben	231
Vladík P., Vítovec J., Červinka S.: Taxonomie der aus nekrotisierenden Nephrosen des Bachsaiblings und der Regenbogenforelle isolierten grampositiven unbeweglichen Diplobazillen	238

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS – ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Vytiskl MİR, novinářské závody, n. p., závod 6, Legerova ulice 22, 120 00 Praha 2.