

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

3

ROČNÍK 23 (LI)
PRAHA
BŘEZEN 1978
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Rídí redakční rada:

prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc. (předseda), prof. MVDr. Koloman Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., doc. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Emanuel Král, doc. MVDr. Ladislav Polák, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc.

Redaktorka ing. Jovanka Václavíková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1978

■
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Československá akademie zemědělská. — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—.

■
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издает Чехословацкая сельскохозяйственная академия — Институт научно-технической информации по сельскому хозяйству. 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. Published by the Czechoslovak Academy of Agriculture — Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

■
Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben von der Tschechoslowakischen landwirtschaftlichen Akademie — Institut für wissenschaftlich-technische Information der Landwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion 120 56 Prag 2, Slezská 7.

INHALAČNÍ VAKCINACE KUŘAT PROTI PSEUDOMORU SOVĚTSKÝM DISKOVÝM AEROSOLOVÝM GENERÁTOREM (DAG-2)

K. Černík

ČERNÍK, K. (Bioveta, Nitra): *Inhalační vakcinace kuřat proti pseudomoru sovětským diskovým aerosolovým generátorem (DAG-2)*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 129-140

Sovětským diskovým aerosolovým generátorem (DAG-2) bylo v laboratorních podmínkách očkováno 100 kuřat ve dvou skupinách vakcínami B₁ a AVIPEST a revakcinováno vakcínou AVIPEST. Klinické postvakcinační reakce a celková i místní protilátková odpověď kuřat byla sledována devět týdnů hemaglutinačně inhibičním, neutralizačním a precipitačním testem. Vakcinace třídních kuřat s vysokou hladinou parentálních protilátek vakcínou B₁ nevyvolala nepříznivé postvakcinační reakce. Mírné a přechodné respirační příznaky byly pozorovány u kuřat očkovaných ve věku 14 dní vakcínou AVIPEST. Po revakcinaci dosáhly protilátky v séru i ve výplachích z dýchacích cest vysoké úrovně a zachovaly se po celou dobu pozorování. 14 dní po inhalačním očkování jemným aerosolem vakcíny AVIPEST byly dokázány precipitační protilátky ve 100 % vyšetřených vzorků. Přístroj DAG-2, produkující aerosol o průměru kapek méně než 10 μ m, je vhodný k inhalační vakcinaci kuřat proti pseudomoru při správném výběru vakcinačního kmene a přiměřeném snížení vakcinační dávky.

aerosolová vakcinace; revakcinace; postvakcinační reakce; výplachy z dýchacích cest; hemaglutinačně inhibiční protilátky; neutralizační protilátky; precipitační protilátky

Technika produkce vhodného aerosolu je při inhalační imunizaci zvířat zatím jedním z hlavních nedořešených problémů, vedle některých dalších otevřených otázek, jako jsou fyziologické, imunologické a alergologické účinky aplikace vlhkého vakcinačního aerosolu na očkováná zvířata a ošetřující personál.

V předcházejících sděleních jsme referovali o základních principech produkce aerosolu a inhalační vakcinace (Černík, 1974a), o technickém zařízení, které je t. č. k dispozici pro produkci aerosolu k vakcinačním účelům (Černík, 1976) a o prvních výsledcích inhalační vakcinace drůbeže proti pseudomoru (Černík, 1974b, 1977) a infekční bronchitidě (Štumpf a Černík, 1971; Štumpf, 1975b) v laboratorních a terénních podmínkách. V těchto pokusech se používaly různé typy aerosolových přístrojů produkujících aerosol o velikosti kapiček o průměru kolem 20 μ m a více. Tento rozměr se všeobecně doporučuje jako vhodný k vakcinaci kuřat. V Sovětském svazu však již léta používají přístroj DAG-2, který produkuje většinu kapek o průměru menším než 10 μ m. V letech 1970 až 1971 tímto aparátem naočkovali úspěšně více než 30 miliónů kusů drůbeže (Suchin aj., 1973). Aerosolových generátorů tohoto typu je třeba umístit v hale dostatečný počet, aby pro-

dukovaný aerosol vyplnil celý prostor. Přístroje se připojí na zdroj elektrického proudu tak, aby mohly být ovládány z prostoru mimo halu. V Sovětském svazu se očkování řeší systémem očkovacích brigád pro určitou oblast, které jsou vybaveny potřebným strojním zařízením a odborným personálem a kromě vakcinace uskutečňují nespecifickou medikamentózní aerosolovou prevenci některých nemocí (Časovskij a Smirnov, 1975).

Předmětem této práce bylo zjistit neškodnost a účinnost aerosolu vytvořeného sovětským přístrojem DAG-2 při vakcinaci drůbeže v laboratorních podmínkách. Účinnost se stanovila důkazem sérových a sekretorických protilátek hemaglutinačně inhibičním a neutralizačním testem. Současně se v séru dokazovaly po vakcinaci precipitační protilátky.

MATERIÁL A METODA

POKUSNÁ KUŘATA

K pokusu bylo použito 150 kohoutků plemene Shaver, chovaných od jednoho dne věku v izolaci v laboratorních podmínkách. Kuřata byla rozdělena po 50 kusech do tří skupin: první skupina byla očkována ve věku tří dnů vakcínou B₁ a revakcinována ve věku 14 a 28 dní vakcínou AVIPEST, druhá skupina byla poprvé očkována ve věku 14 dní vakcínou AVIPEST a revakcinována ve věku 28 dní, třetí skupina zůstala v izolaci jako kontrola. Kuřata byla vakcinována v drátěných klecích v uzavřené místnosti o objemu 19 m³ a chována v jiném objektu než neočkovávané kontroly.

VAKCÍNY

K očkování byly použity komerční lyofilizované vakcíny: B₁, obsahující 500 minimálních imunizačních jednotek viru ve vakcinační dávce pro jeden kus, a AVIPEST (z kmene La Sota), obsahující 400 minimálních imunizačních jednotek viru v jedné vakcinační dávce. Vakcíny se ředily čistou pitnou vodou: B₁ v poměru jedna vakcinační dávka v 1 ml (celkem bylo rozprášeno 25 ml), AVIPEST při prvním podání jedna dávka v 1 ml a při druhém dvě dávky v 1 ml (rozprášeno bylo celkem po 50 ml). Kuřata byla vystavena aerosolu v prvním případě (B₁) 25 minut, ve druhém a třetím případě 30 minut. Po uplynutí expoziční doby byla místnost vyvětrána.

AEROSOLOVÝ PŘÍSTROJ

Sovětský diskový aerosolový generátor (DAG-2), který se v SSSR používá k vakcinaci drůbeže a prasat, se připojuje k elektrovodní síti přes reostat; plný výkon podává při napětí 220 V. Rychlost odstředivého rozprašovacího kotouče, poháněného univerzálním kolektorovým elektromotorem UL 062, je při tomto napětí nejméně osm tisíc obrátek za minutu. Nádržka generátoru má obsah 200 ml a za jednu minutu rozpráší 10 až 15 ml tekutiny. Výrobce udává disperzitu aerosolu produkovaného přístrojem DAG-2 v rozsahu od 1 do 12 μm, s převahou kapének 3 až 5 μm, přičemž kapky o velikosti 12 μm nedosahují 3 %. Mlžina vytvořená tímto přístrojem se rozptýlila do 30 až 45 minut.

SÉROLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

K sérologickému vyšetření byly odebírány vzorky krve z křídelní žíly nebo srdeční punkcí a výplachy z dýchacích cest ve věku jeden, tři a sedm dní a potom v týdenních intervalech do věku devíti týdnů vždy od pěti kusů z každé skupiny. Technika odběru a vyšetřování výplachů byla popsána v předcházejícím sdělení (Černík, 1977).

Vzorky krevních sér a výplachů byly inaktivovány 30 minut při teplotě 56 °C a vyšetřovány jednotlivě hemaglutinačně inhibičním testem (HIT) proti čtyřem hemaglutinačním jednotkám kmene Roakin a neutralizačním testem ve zkumavkových kulturách kuřecích embryonálních buněk proti 100 až 1000 TKID₅₀ kmene Roakin. Vzorky sér byly kromě toho vyšetřeny i precipitačním testem v agarovém gelu (AGP) dříve popsanou technikou (Černík, 1969).

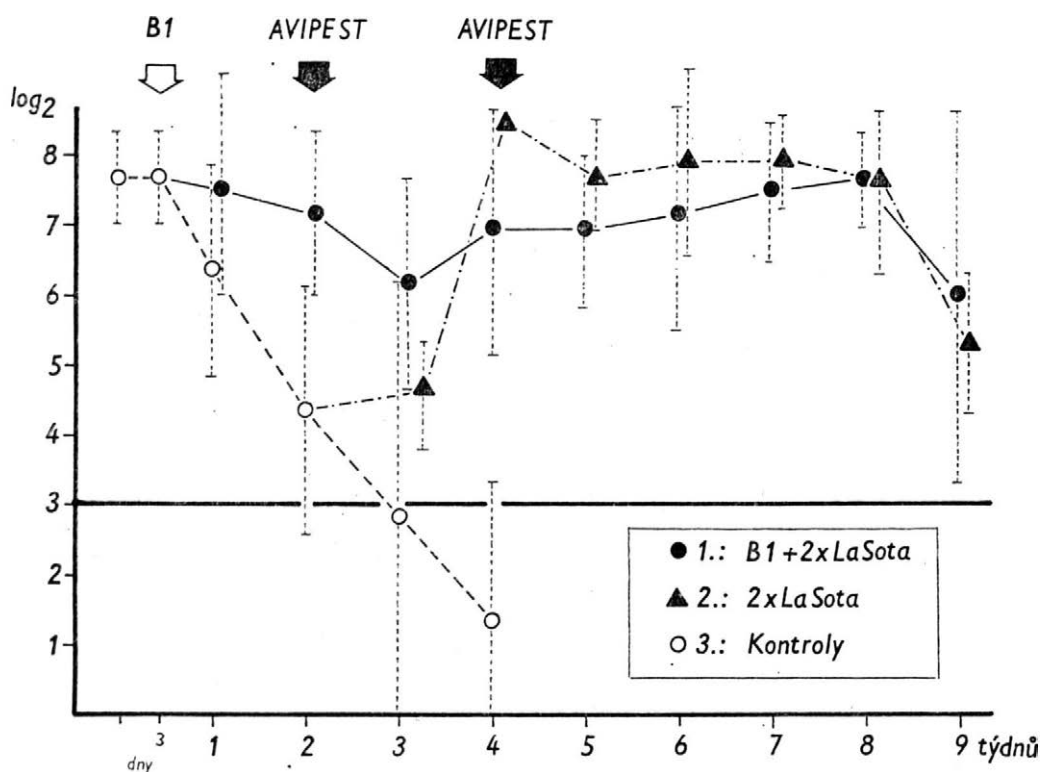
Ze stanovených titrů byly vypočítány střední hodnoty, které byly vynášeny do grafů. Průměrné hodnoty HI titrů byly doplněny intervalem spolehlivosti průměru při 95% pravděpodobnosti, průměry neutralizačních titrů, vyjádřených jako 50% neutralizační dávka (ND₅₀), byly doplněny skutečným rozptylem jednotlivých zjištěných hodnot. V textu se tyto titry uvádějí pro snadnou porovnatelnost s běžným sérologickým vyšetřením jako poměry ředění, v grafech jako hodnoty log₂. Výsledky testu AGP byly vyhodnoceny v procentech pozitivních vzorků.

VÝSLEDKY

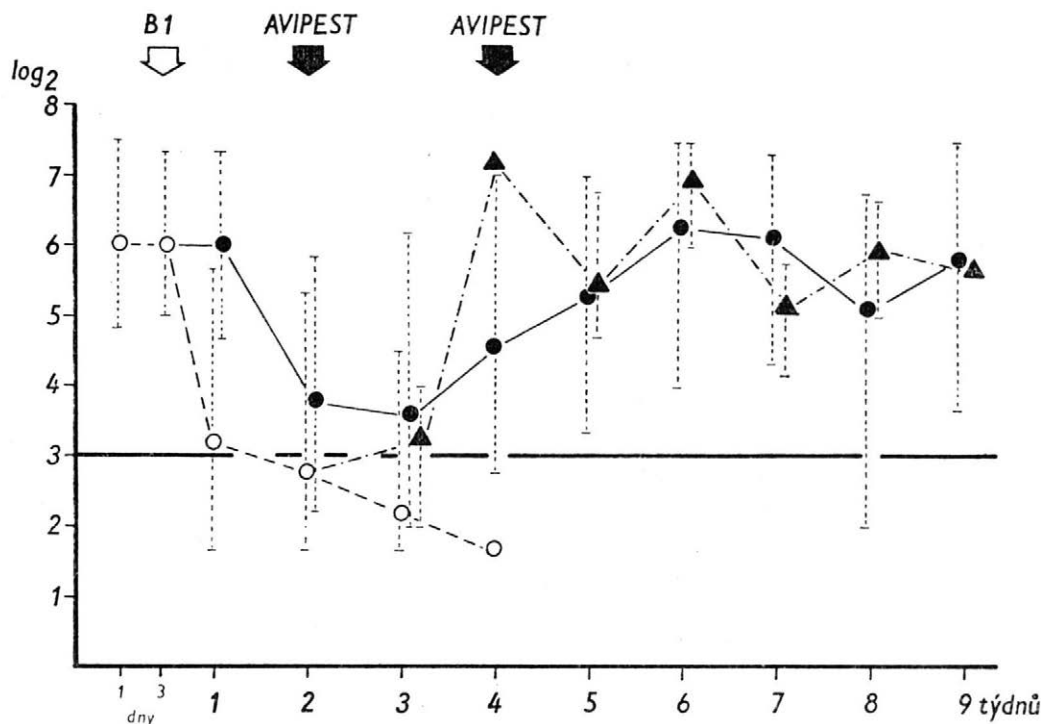
PRVNÍ VAKCINACE

První skupina

Po očkování třídních kuřat vakcínou B₁ nebyly zaznamenány příznaky poruchy dýchacího systému, ale deset dní po aplikaci vakcíny uhynuly dva kusy a jedenáctý den jeden kus bez specifických symptomů infekce. Celkový úhyn činil 6 % a střední čas úhynu (MDT) byl 10,3 dne.



1. Průměrné titry sérových hemaglutinačně inhibičních protilátek, doplněné intervalem spolehlivosti průměru při $P = 95\%$, kuřat očkovaných ve věku tří dní vakcínou B₁ a revakcinovaných vakcínou AVIPEST ve věku dvou a čtyř týdnů (první skupina) a kuřat očkovaných ve věku dvou týdnů a revakcinovaných po 14 dnech vakcínou AVIPEST (druhá skupina) — Average titres of the hemagglutination-inhibition antibodies in the serum, complemented with the confidence interval of the mean value at $P = 95\%$ in chickens inoculated at the age of three days with the B₁ vaccine and revaccinated with the AVIPEST vaccine at the age of two and four weeks (group I) and in chickens inoculated at the age of two weeks and revaccinated after 14 days with the AVIPEST vaccine (group II)

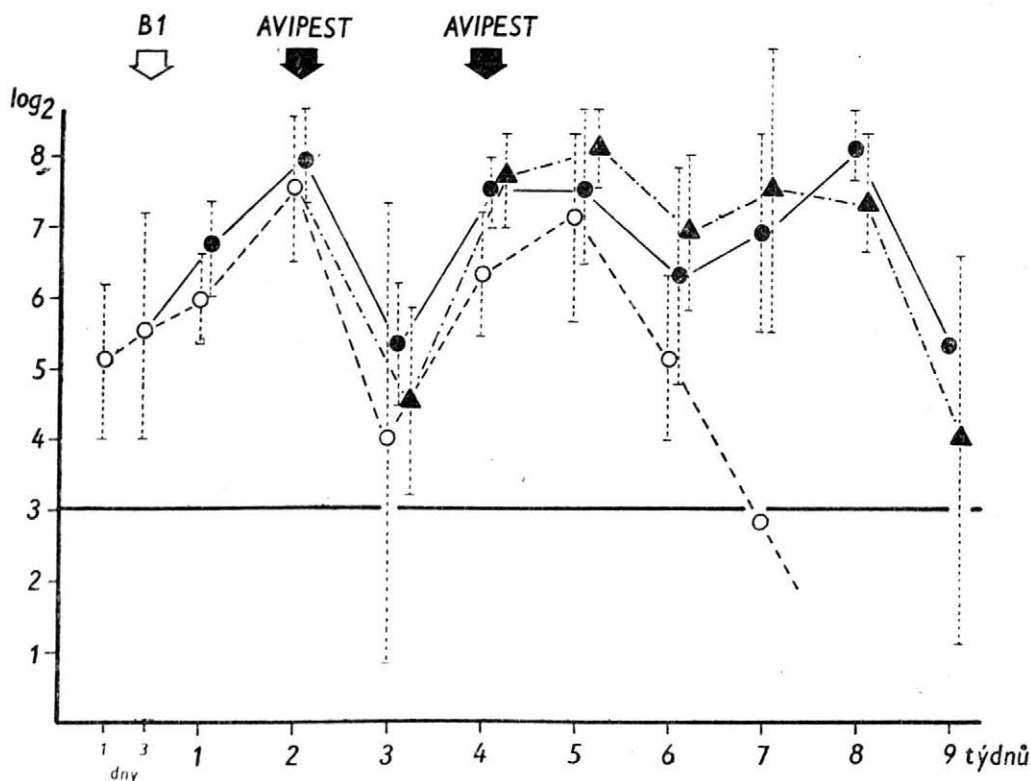


2. Průměrné titry sérových neutralizačních protilátek, doplněné skutečným rozptylem hodnot, kuřat ze dvou skupin očkováných vakcínami B₁ a AVIPEST a revakcinovaných vakcínou AVIPEST (vysvětlivky u obr. 1) — Average titres of the serum neutralizing antibodies, complemented with the actual dispersal of values, in two groups of chickens inoculated with the B₁ and AVIPEST vaccines and revaccinated with the AVIPEST vaccine (explanatory notes see below Fig. 1)

V období, kdy byla podána vakcína B₁, titry mateřských protilátek v séru i ve výplachích byly na vysoké úrovni: v séru HI 1 : 209 a neutralizační 1 : 64, ve výplachu HI 1 : 35 v průměru. Po vakcinaci byl zaznamenán mírný pokles hladin sérových HI protilátek (obr. 1) a výraznější neutralizačních (obr. 2), doprovázený zvětšením intervalu spolehlivosti průměru podobně jako u kontrol. Sekretorické HI protilátky stoupaly ihned po vakcinaci a ve věku 14 dní kuřat (11 dní *p.v.*) dosáhly průměrného titru 1 : 240 s poměrně úzkým rozptylem 1,3 $\log_2$ (obr. 3). Neutralizační sekretorické protilátky byly dokázány ve druhém týdnu v průměru na nízké úrovni (obr. 4). Vakcinace nevyvolala tvorbu prokazatelných precipitačních protilátek.

Druhá skupina

Sedm dní po prvním očkování čtrnáctidenních kuřat vakcínou AVIPEST byly zjištěny postvakcinační reakce projevující se ztíženým dechem, chrapotem a kašlem u šesti kusů (tj. u 12 %). Do čtyř dnů tyto příznaky zcela vymizely a zdravotní stav kuřat se upravit. Celkem uhynuly dva kusy, z toho jeden šest dní a jeden jedenáct dní *p. v.* (= 4 %, MDT 8,5 dne).



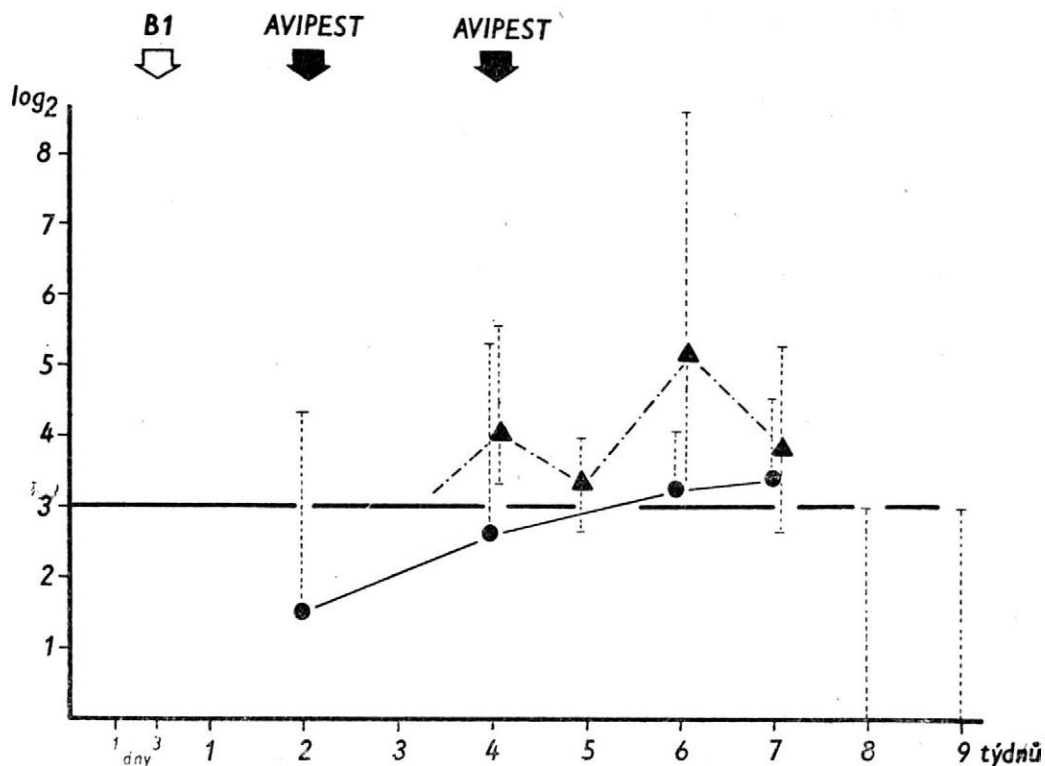
3. Průměrné titry sekretorických HI protilátek, doplněné intervalem spolehlivosti průměru při $P = 95\%$, kuřat ze dvou skupin očkovanych vakcínami B1 a AVIPEST a revakcinovaných vakcínou AVIPEST — Average titres of secretory HI antibodies, complemented with the confidence interval of the mean value at $P = 95\%$, in two groups of chickens inoculated with the B1 and AVIPEST vaccines and revaccinated with the AVIPEST vaccine

Týden po vakcinaci byl zaznamenán mírný vzestup sérových protilátek, které v dalším, čtvrtém týdnu věku dosáhly vrcholu (obr. 1 a 2): HI více než 1:320 a neutralizační více než 1:128. Sekretorické HI protilátky (obr. 3) vykazaly v prvním týdnu prudký pokles s následujícím rychlým vzestupem během dalšího týdne. Interval spolehlivosti průměrů u očkovanych kuřat je zřetelně užší než u kontrol. 14 dní po vakcinaci byly dokázány neutralizační protilátky ve vzorcích výplachů, a to ve významných titrech [v průměru 1:16,6 — obr. 4). Po prvním týdnu byly dokázány precipitační protilátky ve 20 % a po dvou týdnech ve 100 % vzorků krevního séra (obr. 5).

DRUHÁ VAKCINACE

První skupina

Po aplikaci vakcíny AVIPEST, podané 11 dní po první imunizaci kuřat vakcínou B1, mírně poklesly sérové a sekretorické protilátky v prvním týdnu (obr. 1, 2 a 3), po němž následoval ve druhém týdnu mírný



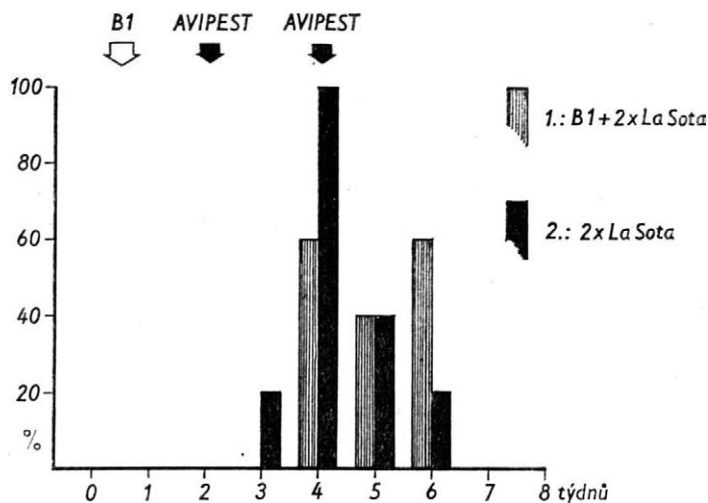
4. Průměrné titry sekretorických neutralizačních protilátek, doplněné skutečným rozptylem jednotlivých hodnot, kuřat ze dvou skupin očkovaných vakcínami B₁ a AVIPEST a revakcinovaných vakcínou AVIPEST — Average titres of secretory neutralizing antibodies, complemented with the actual dispersal of individual values, in two groups of chickens inoculated with the B₁ and AVIPEST vaccines and re-vaccinated with AVIPEST

vzestup. Takto revakcinovaná kuřata v žádném případě nedosáhla úrovně protilátek stejně staré skupiny, očkované jen jednou vakcínou AVIPEST. Také interval spolehlivosti a rozptyl hodnot titrů u sérových protilátek byl širší v první skupině — revakcinované — než ve skupině druhé. Neutralizační protilátky ve vzorcích výplachů zaznamenaly mírné zvýšení, průměrná hodnota však nepřekročila hranici významnou pro imunitu (obr. 4). Precipitační protilátky byly dokázány 14 dní po revakcinaci v 60 % vzorků krevních sér (obr. 5).

Druhá skupina

Revakcinace vakcínou AVIPEST 14 dní po první dávce téže vakcíny byla následována mírným poklesem sérových protilátek v prvním týdnu s následujícím zvýšením, které však už nedosáhlo hodnoty zjištěné po první vakcinaci. V následujících týdnech se průměrné hodnoty titrů udržovaly s bezvýznamnými výkyvy až do konce pozorování (obr. 1 a 2), přičemž HI protilátky v devátém týdnu poklesly. Podobný obraz poskytly i sekretorické HI protilátky, u nichž postvakační pokles byl o týden opožděn (obr. 3). Neutralizační protilátky ve vzorcích vý-

5. Percentuální výskyt precipitačních protilátek ve vzorcích séra kuřat ze dvou skupin očkováných vakcínami B₁ a AVIPEST a revakcinovaných vakcínou AVIPEST — The percentual occurrence of precipitation antibodies in samples of the serum of chickens of two groups inoculated with the B₁ and AVIPEST vaccines and revaccinated with AVIPEST



plachů však dosáhly maxima v průměru 1:35,4 až 14 dní po revakcinaci, tedy ve věku šesti týdnů (obr. 4). Výskyt precipitačních protilátek se snížil v prvním týdnu po revakcinaci na 40 % a v dalším na 20 % (obr. 5). Šestý den po revakcinaci uhynul jeden kus.

TŘETÍ VAKCINACE

První skupina, primárně imunizována vakcínou B₁, zaznamenala po druhé revakcinaci vakcínou AVIPEST mírné zvýšení sérových HI protilátek a výrazný vzestup protilátek neutralizačních (obr. 1 a 2). Neutralizační protilátky ve vzorcích výplachů dále zvolna stoupaly během tří týdnů po druhé revakcinaci. V dalším průběhu kolísaly sérové i HI sekretorické protilátky kolem jisté úrovně obdobně jako v předcházejícím případě. Ačkoliv dvojnásobnou imunizací druhé skupiny se všeobecně dosáhly vyšší titry protilátek než v první skupině, imunizované třikrát, není rozdíl podle vyhodnocení Studentovým t -testem statisticky významný ($t < t_{0,1}$).

KONTROLA

Třetí skupina

Hladina sérových protilátek u kontrolních kuřat postupně klesala, takže HI dosáhly negativních hodnot kolem třetího týdne (obr. 1) a neutralizační už mezi prvním a druhým týdnem života (obr. 2). Přitom se rozšiřovaly hranice spolehlivosti průměru (zvláště HI ve třetím týdnu — až 6,2 log₂), takže ještě ve čtvrtém týdnu věku část celého souboru kontrolních kuřat disponovala významným titrem protilátek (1: > 8). Sekretorické HI protilátky u kontrol vykazovaly vzestup od druhého týdne věku s následným poklesem. Křivka dynamiky těchto protilátek sledovala až do šestého týdne věku kuřat stínovitě s odstupem kolem 1 log₂ průběh křivky protilátek očkovanců (obr. 3), jak to bylo popsáno a diskutováno v jiném sdělení (Černík, 1977).

Při údajích o výsledcích inhalační vakcinace kuřat proti pseudomoru se v literatuře jen velmi zřídka uvádí podrobnější charakteristika produkovaného aerosolu, jmenovitě velikost kapek, která je většinou dána typem použitého přístroje. Blaxland (1973) porovnával účinnost přístrojů produkujících částice o převážné velikosti 50 a 40 μm . Rozdíly se projevíly úrovní HI titrů 14 dní po vakcinaci: po aplikaci jemnějšího aerosolu byly titry vyšší o 1,4 $\log_2$, ale po třech týdnech se vyrovnaly. Všeobecně se doporučuje pro kuřata od 14 dní věku aplikovat středně hrubý spray o průměru kapek 20 až 40 μm , kuřatům mladším než dva týdny hrubý spray o průměru kapek 40 až 60 μm . Nespornou výhodou aplikace jemnějšího spraye je to, že vakcína se mnohem lépe zužitkuje. Uvážíme-li, že mezi objemem kapiček a jejich počtem je kubická závislost, že tedy z jedné kapky o průměru 100 μm lze připravit tisíc kapének a průměru 10 μm a že pravděpodobnost vdechnutí malé kapénky je až 10 000krát vyšší s ohledem na rychlost sedimentace větších kapek, je účinek jemného aerosolu stokrát větší než hrubého spraye (Štumpfl, 1975a). Vyšší účinnost jemného spraye přináší s sebou ovšem zvýšené nebezpečí nežádoucích postvakcinačních reakcí, které je třeba kompenzovat ředěním a dávkováním vakcíny, popřípadě i výběrem vakcinačního kmene.

Dorn (1974) dokázal, že ředění vakcíny velmi výrazně ovlivňuje imunitní odpověď. Při ředění vakcíny B₁ na čtyři vakcinační dávky v 1 ml dosáhl za 7 až 28 dní po vakcinaci průměrné HI titry 1:16, při ředění na jednu dávku v 10 ml jen 1:5. Postvakcinační příznaky respirační poruchy po podání vakcíny z kmene La Sota v ředění pět dávek v 1 ml v jemném aerosolu o průměru kapek 0,5 až 2,0 μm se podařilo Papparellovi aj. (1973) zcela eliminovat přípravkem antiflogistického preparátu benzydaminu v koncentraci 0,5 mg na 1 ml ředěné vakcíny. Přídavek benzydaminu neovlivnil hladinu a trvání HI protilátek v séru očkovaných. Přesné dávkování vakcíny aplikované aerosolem ovšem není možné. Kromě koncentrace účinné látky ve vakcinačním roztoku se dá do jisté míry ovlivnit i množstvím vakcíny rozprášené v prostoru určitého objemu a dobou expozice aerosolu. Skutečné množství aspirované vakcíny u jednotlivých kusů je však velmi variabilní a závisí na mnoha nekontrolovatelných faktorech, v nichž mikroklima hraje podstatnou úlohu.

Volba vhodného vakcinačního kmene je omezena na lentogenní typy viru: Blaxland (1973) zjistil, že brojleři očkovaní kmenem B₁ v aerosolu vykazovali ve čtvrtém týdnu průměrný HI titr 1:22 a v polovině sedmého týdne 1:32 (s rozptylem 7 $\log_2$). Po aerosolové vakcinaci kmene La Sota ve čtyřech týdnech věku se po 14 dnech dokazoval průměrný HI titr 1:708 (rovněž s rozptylem 7 $\log_2$). Gough a Allan (1974, 1976) ověřovali, zda je možné použít k aerosolové vakcinaci kuřat kmen Ulster 2C, který je označován za nejmírnější ze známých kmenů viru pseudomoru. Nástup imunity byl o něco pomalejší než po podání komerční vakcíny B₁, zvláště u kuřat s mateřskou imunitou, a po 14 dnech byl průměrný HI titr nižší o 0,7 $\log_2$ (Ulster AC 1:25,8 a B₁ 1:41,7). Ochrana proti vyvolávající infekci se vytvořila do tří týdnů. Po vakcinaci kmenem Ulster 2C respirační reakce nebyly pozoro-

vány. Kromě toho po revakcinaci kuřat vakcínou B₁ byla sekundární imunitní odpověď vyšší než u kuřat očkovanych primárně kmenem B₁ (21. den po revakcinaci v průměru o 0,6 log₂).

Velmi se diskutuje o hodnocení imunity po vakcinaci. Samozřejmě nejspolehlivější ukazatel je pokusná infekce virulentním kmenem. Tento způsob je ovšem nejen nákladnější, ale hlavně časově a prostorově náročnější než sérologické vyšetření. Nejrychlejší a nejméně náročný postup je stanovení HI protilátek v séru. Význam tohoto testu je však často uváděn v pochybnost. Fabricant (1973) považoval hodnocení imunity na základě HI titrů za chybné, protože hodnoty titrů velmi kolísají podle kvality použitého kmene, dávky vakcíny, způsobu vakcinace apod. Tento názor do jisté míry potvrzuje šířka rozptylu HI titrů v některých případech tvorby postvakcinační imunity, nebo naopak jejího poklesu v našich pokusech (obr. 1 a 3). Blaxland (1973) ve svých terénních pokusech zaznamenal rozdíl mezi stanovenými titry v téže očkovací skupině na 10 log₂ i více. Na druhé straně však právě toto kolísání může být při správné interpretaci ukazatelem šíření vakcinačního viru mezi očkovanci a měřítkem jejich imunologické pohotovosti. Na rozdíl od Fabricanta (1973) mnoho autorů považuje průměrný HI titr za významný a spolehlivý ukazatel imunity hejna: Balla aj. (1975) porovnávali HI titry s výsledky vyvolávající infekce dva až tři týdny po vakcinaci kuřat různého věku od deseti do třinácti týdnů a dokázali, že HI test poskytuje spolehlivé informace o stavu imunity vyšetřované skupiny. V 69,5 % byl rozdíl mezi počtem kuřat sérologicky pozitivních a imunních velmi malý nebo žádný. Uzavírá se, že převaha sérologicky pozitivních kusů v hejnu a velký počet reagentů s titrem 1:8 a vyšším je indikátorem dostatečné chráněnosti hejna. Podobné měřítko stanovili i Blaxland (1973) a Mc Martin (1973), který uvádí, že HI titr 1:8 se v Anglii uznává za titr indikující 50% odolnost hejna vůči členzi. Doplnění průměrného HI titru intervalem spolehlivosti umožňuje nejen stanovit jeho pravděpodobnou spolehlivost, ale do jisté míry odhadnout i podíl nedostatečně chráněných kusů ve skupině, který je dán na grafech délkou linie intervalu spolehlivosti pod hranicí 3 log₂.

Ani parenterální aplikací virulentního viru není možné stanovit účinnost místní ochrany, protože při zavádění čelenžního viru se obchází přirozená cesta vstupu infekce. Stanovení HI protilátek ve výplaších z dýchacích cest se ukazuje jako velmi citlivá metoda určení tohoto významného faktoru odolnosti. Je tedy možné uzavřít, že vyšetřením hladiny HI protilátek v séru a ve výplaších z dýchacích cest se získá spolehlivý obraz humorální imunity hejna, zahrnující nejen složku celkovou — sérovou, ale i místní — sekretorickou, která se zatím vymykala všem testům včetně čelenžní infekce a dala se jen přibližně odhadnout podle pokusné nebo příležitostně i přirozené kontaktní infekce.

Inhalační imunizace třídních kuřat v našem pokusu neměla za následek nepříznivé klinické reakce vzhledem ke snížené dávce vakcíny na čtvrtinu vakcinační dávky, k použití mírnějšího kmene B₁ a především s ohledem na vysokou hladinu mateřských protilátek v době zákroku. Ačkoliv výsledná hladina protilátek u kuřat první skupiny, primárně vakcinované B₁, byla po celém procesu imunizace — dvojnásobné revakcinaci kmenem La Sota — o něco nižší než ve druhé sku-

pině očkované jen dvakrát vakcínou AVIPEST, podařilo se podáním očkovací látky ve třech dnech věku překlenout silný pokles parentální imunity kolem druhého a třetího týdne věku. Hladina protilátek v první skupině kuřat (hlavně HI v séru) byla mnohem vyrovnanější po celou dobu pozorování než ve druhé skupině, kde docházelo ke značným výkyvům. Pro praxi z toho vyplývá závěr, že je možné v nutných případech očkovat aerosolovou vakcínou kuřata už krátce po vylíhnutí, pokud se typ vakcíny i její dávkování přizpůsobí věku kuřat, tj. příslušně se sníží.

Na druhé straně první vakcinace 14denních kuřat poloviční dávkou vakcíny AVIPEST v době, kdy hladina mateřských protilátek významně poklesla, vyvolala mírné postvakcinační reakce u části kuřat. Tato reakce měla přechodnou povahu a nezanechala trvalé následky, i když s ohledem na výskyt klinických projevů je třeba v tomto případě úhyn dvou kusů považovat za specifický. Protilátková odpověď byla velmi intenzivní mezi třetím a čtvrtým týdnem věku, tj. v druhém týdnu po vakcinaci, a byla mnohem výraznější než v první skupině, která byla současně revakcinována.

Všeobecný pokles hladiny protilátek v devátém týdnu byl pravděpodobně vyvolán nahodilou infekcí očkovaných skupin i kontrol virem pseudomoru. Dokazuje to náhlé a výrazné zvýšení titrů protilátek v desátém a jedenáctém týdnu, které nebylo zahrnuto do vyhodnocení. V té době protilátky dosáhly opět úrovně osmého týdne, neutralizační protilátky druhé skupiny dostoupily dokonce na maximum 1:160, ale významně se zvýšily i HI titry protilátek ve výplaších kontrol na 1:133 s rozptylem 4,6 log₂.

O intenzitě imunitní odpovědi na inhalační vakcinaci lentogenními kmeny svědčí vysoké procento pozitivně reagujících vzorků v precipitačním testu. Tento test je po vakcinaci lentogenními kmeny, podanými v pitné vodě, zpravidla negativní, nebo reaguje jen zanedbatelné procento očkovaných, na rozdíl od infekce mezogenním nebo velogenním kmenem, kdy maximální odpověď je mezi osmým a dvanáctým dnem (Woernle, 1966).

Literatura

- BALLA, L. — PAPÓCSI, L. — SZUROP, I. aj.: Kísérleti tapasztalatok a baromfipestis elleni immunizálási módszerek gyakorlati értékéről. I. Adatok a hemagglutináció-gátlási próba eredménye és a baromfipestis elleni immunitás összefüggéséhez. Magy. Állatorv. Lap., 30, 1975, č. 10, s. 725-729.
- BLAXLAND, J. D.: Notes on spray administration of ND-vaccine. 5th Internat. Congr. WVPA, 1973., Mnichov, Proc. sv. I., s. 322-339.
- ČASOVSKIJ, V. F. — SMIRNOV, V. I.: Veterinarno-sanitarnyje meroprijatija i profilaktika boleznej pticy. Veterinarija, 1975, č. 4, s. 26-28.
- ČERNÍK, K.: Diagnostika virových chorob drůbeže precipitačním testem v agarovém gelu. Imunoprofylaxia, 1969, č. 3, s. 26-32.
- ČERNÍK, K.: Inhalační vakcinace drůbeže. Imunoprofylaxia, 1974a, č. 1, s. 1-16.
- ČERNÍK, K.: Inhalační vakcinace proti pseudomoru drůbeže. Imunoprofylaxia, 1974b, č. 3, s. 33-38.
- ČERNÍK, K.: Přehled a vyhodnocení přístrojové techniky k aerosolové vakcinaci. Imunoprofylaxia, 1976, č. 3, s. 41-55.
- ČERNÍK, K.: Protilátková odpověď na inhalační vakcinaci drůbeže proti pseudomoru. Vet. Med., Praha, 22, 1977, č. 7, s. 385-396.
- DORN, P.: Anwendung und Probleme der Praxis der Newcatle-Impfung. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 87, 1974, č. 13, s. 254-257.

FABRICANT, J.: Diskuse k referátu R. G. Oakleye. 5th Internat. Congr. WVPA, 1973, Mnichov, Proc. sv. I., s. 389.

GOUGH, R. E. — ALLAN, W. H.: The potential as an aerosol vaccine of Ulster 2C strain, Newcastle disease virus. Vet. Rec., 95, 1974, č. 12, s. 263-265.

GOUGH, R. E. — ALLAN, W. H.: Aerosol vaccination against NDV using the Ulster 2C strain. Avian Pathol., 5, 1976, č. 2, s. 81-95.

MARTIN, D. A. Mc: Observations on the effectiveness of Newcastle disease vaccination in a country free from Newcastle disease. 5th Internat. Congr. WVPA, 1973, Mnichov, Proc. sv. I., s. 361-383.

PAPPARELLA, V. — MODUGNO, G. di — QUADRI, E.: Immunization by aerosol with La Sota strain of Newcastle disease virus. Avian Pathol., 2, 1973, č. 3, s. 231-233.

SUCHIN, D. J. — BAKULOV, I. A. — LAGUTKIN, N. A. — aj.: Strujnyj generator aerolej SAG-1. Veterinarija, 1973, č. 9, s. 59-61.

STUMPF, J. — ČERNÍK, K.: Inhalční imunizace kuřat proti infekční bronchitidě. I. prac. konf. o drůbeži, 1971, Blansko, Sborník ref. s. 110-122.

STUMPF, J.: Aerosoly v imunizaci zvířat. Veterinářství, 25, 1975, č. 7, s. 323-325.

STUMPF, J.: Aerosolová imunizace kuřat proti infekční bronchitidě. Veterinářství, 25, 1975, č. 10, s. 451-453.

WOERNLE, H.: The use of the agar-gel diffusion technique in the identification of certain avian virus diseases. Veterinarian, Oxford, 4, 1966, č. 1, s. 17-29.

Došlo dne 22. 11. 1976

ČERNÍK, K. (BIOVETA, Nitra): Ингаляционное вакцинирование цыплят против псевдо-чумы советским дисковым аэрозольным генератором (ДАГ-2). Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 129-140.

Советским дисковым аэрозольным генератором (ДАГ-2) в лабораторных условиях было вакцинировано 100 цыплят в двух группах вакцинами Б₁ и АВИПЕСТ и повторно вакцинировано вакциной АВИПЕСТ. Клиническая реакция после вакцинации, а также общая и местная реакция антител цыплят изучались на протяжении девяти недель геммаглютинационно тормозящим, нейтрализующим и преципитирующим тестом. Вакцинирование трехдневных цыплят с высоким уровнем родительских антител вакциной Б₁ не вызвало после вакцинации отрицательных реакций. Слабые и переходные респираторные признаки наблюдались у цыплят, привитых в возрасте 14 дней вакциной АВИПЕСТ. После повторной вакцинации антитела в сыворотке и в промывках из дыхательных путей достигли высокого уровня и сохранились на протяжении всего срока наблюдения. Спустя 14 дней после ингаляционной прививки тонким аэрозолем вакцины АВИПЕСТ было наличие преципитационных антител доказано в 100 % обследованных образцов. Прибор ДАГ-2, образующий аэрозоль с диаметром капелек менее 10 мкм, годен для ингаляционной вакцинации цыплят против псевдо чумы при правильном выборе вакцинационного штамма и при соответствующем понижении вакцинационной дозы.

аэрозольная вакцинация; повторная вакцинация; послевакцинационные реакции; промывки из дыхательных путей; геммаглютинационно ингибирующие антитела; нейтрализующие антитела; преципитационные антитела

ČERNÍK, K. (Bioveta, Nitra): Aerosol Vaccination of Chickens against the Newcastle Disease Using the Soviet Aerosol Disk Generator (DAG-2). Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 129-140.

The Soviet aerosol disk generator (DAG-2) was used under laboratory conditions for the inoculation of the B₁ and AVIPEST vaccines to 100 chickens divided into two groups and for revaccination with the AVIPEST vaccine. The clinical post-vaccination reactions as well as the general and local antibody reactions of the chickens were examined by the hemagglutination-inhibition, neutralization, and precipitation tests for nine weeks. The vaccination of three-day-old chickens having a high level of parental antibodies due to the B₁ vaccine did not produce unfavourable post-vaccination reactions. Mild and transient respiratory symptoms were observed in chickens inoculated with the AVIPEST vaccine at the age of 14 days. After revaccination the levels of antibodies in the serum and in the flushings

from the respiratory tract were high and retained their high values throughout the time for which they were examined. Fourteen days after inoculation by a spraying of fine AVIPEST vaccine aerosol precipitation antibodies were proved to be present in 100 % of the samples examined. The DAG-2 apparatus producing aerosol with droplets smaller than 10 μm in diameter is suitable for the spray vaccination of chickens against the Newcastle disease, if the vaccination strain is properly selected and vaccination dose adequately decreased.

aerosol vaccination; revaccination; post-vaccination reactions; respiratory flushings; hemagglutination-inhibition antibodies; neutralization antibodies; precipitation antibodies

ČERNÍK, K. (BIOVETA, Nitra): *Inhalationsvakzinierung der Kücken gegen Pseudo-geflügelppest mit Hilfe des sowjetischen Aerosol-Diskusgenerator (DAG-2)*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 129-140.

Mit Benutzung des sowjetischen Aerosol-Diskusgenerator DAG-2 wurden unter Laborbedingungen 100 Kücken in zwei Gruppen mit den Vakzinen B₁ und AVIPEST geimpft und mit der letzteren Vakzine revakziniert. Die klinische Postvakzinationsreaktion und die gesamte und lokale Antikörperreaktion der Kücken wurde neun Wochen mit Hilfe des Hämagglutinationshemmungs-, des Neutralisations- und des Präzipitationstestes untersucht. Die Vakzinierung dreitägiger Kücken mit hohem Niveau parentärer Antikörper mittels der Vakzine B₁ löste keine ungünstigen Postvakzinationsreaktionen aus. Mäßige und vorübergehende Respirationssymptome wurden bei den im Alter von 14 Tagen mit AVIPEST vakzinierten Kücken beobachtet. Nach der Revakzinierung erreichten die Antikörper im Serum und in den Ausspülungen der Atmungswege ein hohes Niveau und erhielten sich die ganze Beobachtungszeit hindurch. Vierzehn Tage nach der Inhalationsimpfung mit feinem Aerosol der AVIPEST-Vakzine wurden in 100 % der Proben Präzipitationsantikörper nachgewiesen. Der das Aerosol mit Tropfen von weniger als 10 μm im Durchschnitt produzierende DAG-2-Apparat eignet sich zur Inhalationsvakzinierung gegen Pseudo-geflügelppest bei richtiger Auswahl des Vakzinationsstammes und bei entsprechender Herabsetzung der Impfungsdosis.

Aerosolvakzinierung; Postvakzinationsreaktion; Atmungswegespülungen; Hämagglutinationshemmende Antikörper; neutralisierende Antikörper; Präzipitationsantikörper

Adresa autora:

MVDr. Karel Černík, CSc., BIOVETA, 949 91 Nitra

INDUKCE SLOŽEK PŘIROZENÉHO PRECIPITAČNÍHO SYSTÉMU (GANS) A DALŠÍ PROTILÁTKY PO ALOIMUNIZACI SÉREM NEBO VAJEČNÝM ŽLOUTKEM U KURA

J. Derka, G. Carbonell, E. Petrovský

DERKA, J. — CARBONELL, G. — PETROVSKÝ, E. (Vysoká škola veterinární, Brno: Combinado Avicola Nacional, Kuba; Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV, Liběchov): *Indukce složek přirozeného precipitačního systému (GANS) a další protilátky po aloimunizaci sérem nebo vaječným žloutkem u kura*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 141-145.

Podrobně jsme analyzovali 17 vybraných sér, získaných při aloimunizacích 64 příjemců, kohoutů i slepic, kříženců PB X RIR, typu O v systému GANS. K imunizacím bylo použito sérum nebo vaječný žloutek od slepic typu A nebo B v systému GANS, aplikované v pěti intramuskulárních injekcích, bez využití Freundova kompletního adjuvans, nebo s ním. Zjistili jsme, že v 16 sérech z celého počtu vyšetřovaných je přítomna substance A GANS, takže se u příjemců vlivem aplikace séra nebo žloutku změnil typ systému GANS z původního O v typ A, přičemž nezáleželo na typu dárce. Mimo to v sedmi sérech byla prokázána přítomnost další protilátky reagující v precipitační reakci na sérovou frakci, která je přítomna pouze u snášejících slepic a pravděpodobně nemá charakter alotypu.

kur; alotypy; aloimunizace; precipitační reakce; přirozený systém

Je známo, že i u kura vedou dlouhodobé aloimunizace sérovými proteiny k tvorbě protilátek umožňujících detekci jejich alotypů (Skalba, 1964; David aj., 1969; Derka, 1972; Janicka — Mazur aj., 1975).

Vnitrodruhové rozdíly sérových proteinů byly však prokázány také na základě precipitačních reakcí normálních sér slepic (Petrovský aj., 1965; David aj., 1965). Takto odhalené precipitační systémy byly označeny jednak jako „Gallus allotypes in normal sera“ (GANS) v práci Mc Dermida aj. (1969), jednak jako „Hormone-influenced serum protein (Hip): anti protein system“ (David, 1971). Je však třeba konstatovat, že mohou existovat i další analogické precipitační systémy, jak ukazuje výskyt „přirozené“ protilátky proti lipoproteinové substantii séra a vaječného žloutku slepic (Derka, 1977).

Carbonell aj. (1975) se pokusili získat imunní protilátky proti substancím typu A a B systému GANS. Na základě analýz sér příjemců po imunizaci sérem nebo vaječným žloutkem popisují produkci dvou protilátek odkrývajících antigeny, jejichž dědičnost je vázána na pohlaví a které jsou velmi podobné, nikoliv však totožné se substancemi A a B v GANS. Jejich složitá hypotéza genetické kontroly tohoto nového systému v návaznosti na reakce přirozených substancí A a B nebyla autory dosud experimentálně ověřena.

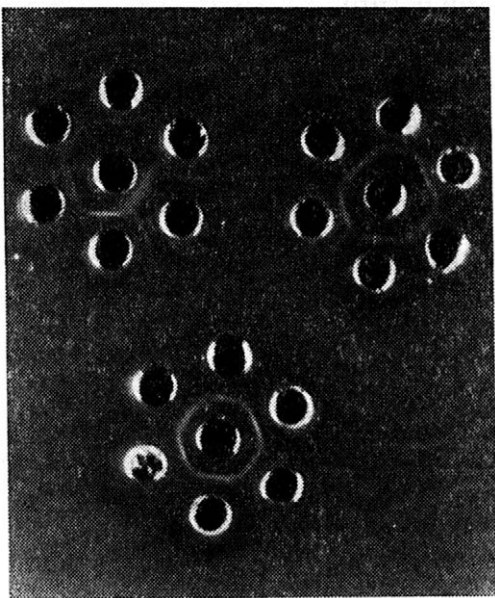
Cílem naší práce byla reanalýza 17 vybraných sér získaných Carbonellem aj. (1975), a to za využití typizačních sér pro systém GANS i antisér proti alotypům imunoglobulinů a sérových lipoproteinů (Derka, 1975).

Séra od kohoutů a slepic aloimunizovaných sérem nebo vaječným žloutkem jsme získali v Laboratoři aviární imunogenetiky Combinado Avicola Nacional, Kuba (Carbonell aj., 1975). Pro srovnávací testování jsme použili jednak šesti typových sér pro systém GANS, jednak 15 alotypových antisér (Derka, 1975). Dále byla použita séra nesoucích a nenesoucích slepic.

Analýzovali jsme dvojitou radiální imunodifúzí v 1% agaru (Noble-Difco) připraveném v 8% roztoku chloridu sodného s přidavkem merthiolátu v poměru 1:10 000. Reakce jsme hodnotili za 24 a 48 hodin po inkubaci ve vlhké komůrce při laboratorní teplotě. Fotografie byly pořízeny z nativních gelových ploten.

VÝSLEDKY

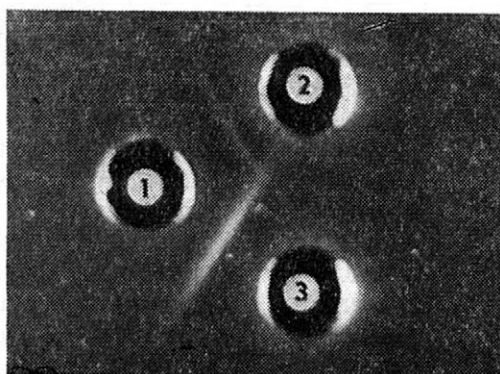
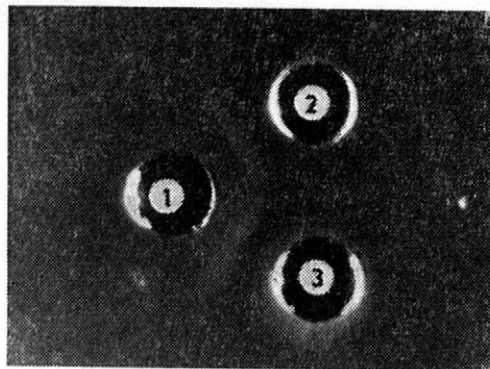
Při dvojité radiální imunodifúzi mezi 17 vybranými séry po aloimunizaci a séry typu B v GANS se v 16 případech vytvořily precipitační linie. Porovnáme-li je s liniemi vytvořenými vzájemnou reakcí kontrolních sér typu A a B v GANS, je evidentní, že jde o identický precipitační systém, což se projevilo ve všech případech reakcí identity (obr. 1 a 2). Z toho vyplývá, že v sérech příjemců se manifestovala „přirozená“ precipitační substance typu A.



1. Ukázka precipitačních reakcí analyzovaných kubánských sér se sérem typu B v systému GANS — An example of precipitation reactions of the analysed Cuban serums with serum of type B in the GANS system

Ve středních otvorech rozet bylo testovací sérum typu B; v okrajových otvorech bylo 17 analyzovaných sér a jedno sérum kontrolní typu A

Při hodnocení výsledků imunodifúze jsme dále pozorovali případy vzájemných reakcí mezi vedle sebe umístěnými séry příjemců (obr. 1). K těmto reakcím však docházelo pouze v případech, kdy jedno ze dvojice reagujících sér pocházelo od slepice, druhé pak od kohouta. Následující analýzy těchto reagujících sér vedly k zjištění, že v sedmi sérech získaných od aloimunizovaných kohoutů je přítomna protilátka, reagující s antigenní substancí nacházející se pouze v sérech snášejících slepic. V jednom séru byla tato protilátka přítomna bez substance typu A, ve zbývajících šesti sérech se vyskytovala společně s reagující látkou typu A systému GANS. Z příkladu paralelní imunodifúze složek tohoto reakčního systému s komponentami systému GANS (obr. 3)



2. Ukázka precipitace séra aloimunizovaného příjemce s jasnou identitou s reakcí substancí A a B systému GANS — An example of the precipitation of the serum of an alloimmunized receptor showing clear identity with the reaction of substances A and B in the GANS system

1 — sérum typu B, 2 — sérum aloimunizovaného příjemce, 3 — sérum typu A

3. Ukázka dvojité radiální imunodifúze séra aloimunizovaného příjemce (2) se sérem nesoucí slepice typu B (1) a sérem kohouta typu A (3). Reakce neidentity potvrzuje, že se jedná o dva odlišné precipitační systémy — An example of double radial immunodiffusion of the serum of an alloimmunized receptor (2) with the serum of a laying hen, type B (1) and serum of a cock, type A (3). The non-identity reaction proves that there are two different precipitation systems

je na základě reakcí neidentity zřejmé, že jde o dva odlišné precipitační systémy.

Srovnání reakcí analyzovaných 17 sér a reakcí antisér proti nám známým alotypům ukázalo, že mezi nimi není vztah a že nejsou analogické.

DISKUSE

Z popsaných výsledků je zřejmé, že poměrně krátkodobá aloimunizace příjemců sérem nebo vaječným žloutkem vedla k manifestaci dvou na sobě nezávislých substancí v jejich séru, které v něm před imunizací přítomny nebyly. Z nich jedna představuje substanci A systému GANS, druhá pak protilátku proti jedné, zatím blíže nedefinované, frakci séra snášejících slepic.

Přestože Carbonell aj. (1975) hovoří o dvou protilátkách — proti „imunogenům“ velmi blízkým, nikoliv však identickým se substancemi A a B systému GANS, naše opakované analýzy prokázaly jasnou totožnost jedné ze složek, přítomné v 16 vyšetřovaných sérech, se substancí A systému GANS podle reakce identity ve dvojité difúzi v agaru.

Vycházíme-li ze skutečnosti, že při imunizaci nezáleželo na typu dárce v GANS, předpokládáme, že projevem aloimunizace v tomto případě nebyla imunitní odpověď, ale pouze zvýšení hladiny přirozené substance A (např. stimulací její tvorby). Tento závěr podporují již dříve popsané změny frekvence substancí A a B v ontogenetickém vývoji (Petrovský a Slavíková, 1970). Zdá se, že v tropických podmínkách Kuby jsou tyto změny obzvláště výrazné (Petrovský

aj., 1974) a je proto možné, že imunizace vyvolala v organismu příjemce příznivé podmínky pro stimulaci tvorby substance A. Teprve další studium, při kterém použijeme i jiných nespecifických stimulantů a velkého počtu příjemců, umožní posoudit, zda se jedná o obecný jev, navíc platný i pro substanci B systému GANS.

Druhá detekovaná reagující složka, vyskytující se buď samostatně nebo spolu se substancí A, je pravděpodobně imunní protilátka proti sérovému proteinu vyskytujícímu se pouze u snášejících slepic. Je známe, že v souvislosti se snáškou se plazma slepic kvantitativně i kvalitativně mění, což se projevuje výraznými mezipohlavními diferencemi ve spektru sérových proteinů. Byli-li jako recipienti v popsaných aloimunizacích použiti kohouti, pak po aplikaci séra nebo vaječného žloutku mohla u nich nastat imunitní odpověď na specifické antigeny, o které je sérum nesoucích slepic bohatší.

Stimulace tvorby „přirozené“ substance A GANS i protilátek proti specifickým antigenům indukovaným hormonálně v době snášky představuje teoreticky závažný problém, který si zaslouží další studium.

Literatura

- CARBONELL, G. — REYES, M. — GARCIA, B. — GARCIA, A. J.: Precipitin reactions with immune chicken sera. Held at the Symposium on Genetics and Animal Improvement, V. Sem. Cientific C. E. N. I. C., Oct. 20—24, La Habana 1975.
- DAVID, C. S.: Hormone-influenced serum protein (Hip): antiprotein system in the chicken. *J. Immun.*, 106, 1971, s. 1104-1111.
- DAVID, C. S. — KAEERLE, M. L. — NORDSKOG, A. W.: Gamma globulin allotypes in chickens. *Immunogenetics Letters*, 4, 1965, s. 95.
- DAVID, C. S. — KAEERLE, M. L. — NORDSKOG, A. W.: Genetic control of immunoglobulin allotypes in the fowl. *Biochem. Genet.*, 3, 1969, s. 197-206.
- DERKA, J.: Genetic system of immunoglobulin allotypes in hens. *Acta vet.*, Brno, 41, 1972, s. 177-180.
- DERKA, J.: Alotypy imunoglobulinů kura a možnosti jejich využití v imunologii. [Závěrečná zpráva výzkum úkolu č. P 11-329-51-2/11.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975.
- DERKA, J.: Další precipitační systém v normálních sérech slepic. 1977, v tisku.
- DERMID, E. M. Mc — PETROVSKÝ, E. — YAMAZAKI, H.: Iso-antigens of serum proteins of the chicken. *Immunology*, 17, 1969, s. 413-419.
- JANICKÁ-MAZUR, W. — WĘGRZYN, J. — WEZYK, S.: Studies on blood serum protein antigens in chickens — K4, K5 and K6 antigens. *Genet. polon.*, 16, 1975, s. 323-330.
- PETROVSKÝ, E. — MÁCHA, J. — MÜLLEROVÁ, Ž. — BEZECNÁ, O.: Předběžné výsledky ze studia krevních a sérových skupin u slepic. *Acta Univ. Agric.*, Brno, 4, 1965, s. 207.
- PETROVSKÝ, E. — SLAVÍKOVÁ, O.: Precipitin reactions in normal chicken sera. *Folia biol.*, Praha, 16, 1970, s. 77-80.
- PETROVSKÝ, E. — REYES, M. — CARBONELL, G. — GARCIA, B.: Study on the variation of precipitin reactions in normal sera of chickens. *Anim. Blood Groups bioch. Genet.*, 5, 1974, s. 239-246.
- SKALBA, D.: Allotypes GA1, GA2, GA3 of proteins in hen sera. *Bull. Acad. polon. Sci., Ser. Sci. biol.*, 12, 1964, s. 101-103.

Došlo dne 15. 2. 1977

ДЕРКА, Й. — КАРЕОНЕЛЛ, Г. — ПЕТРОВСКИ, Э. (Ветеринарный институт, Брно; Combinado Avicola Nacional, Куба; Институт физиологии и генетики сельскохозяйственных животных, Либехов): Индукция компонентов естественной преципитационной системы

(GANS) и другие антигены после аллоиммунизации сывороткой или яичным желтком у кур. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3): 141-145.

Произведен подробный анализ 17 избранных сывороток, полученных при аллоиммунизации 64 реципиентов, петухов и кур, помесей ПБ $\times$ РИР, типа 0 в системе GANS. Для иммунизации использовали сыворотку или яичный желток от кур типа А или Б в системе GANS, введенную в пяти внутримышечных инъекциях, причем или с использованием комплексного адъюванта Фрейнда или без него. Установили, что в 16 сыворотках из общего числа исследовавшихся содержится субстанция А GANS, так что у реципиентов в результате введения сыворотки или желтка изменился тип системы GANS с первоначального 0 на тип А, причем независимо от типа донора. Кроме того у семи сывороток доказано наличие другого антигена, реагирующего в преципитационной реакции с сывороточной фракцией, которая имеется только у несущих кур и, очевидно, не носит характер аллотипа.

курица; аллотипы; аллоиммунизация; преципитационная реакция; естественная система

DERKA, J. — CARBONELL, G. — PETROVSKÝ, E. (University of Veterinary Medicine, Brno; Combinado Avicola Nacional, Cuba; Institute of Animal Physiology and Genetics, Liběchov): *Induction of Components of the Natural Precipitation System (GANS) and Another Antibody after Alloimmunization with Serum or Egg Yolk in Fowl*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3): 141-145.

Detailed analysis was performed in 17 selected serums obtained through alloimmunization of 64 receptors (cocks and hens, WP $\times$ RIR hybrids) of type 0 in the GANS system. The serum or egg yolk from hens of type A or B in the GANS system, used for immunization, was applied in five intramuscular injections with or without using Freund's complete adjuvant. It was found out that substance A GANS was present in 16 serums of the total number of those which were examined, so that in the receptors the application of serum or yolk changed the type of the GANS system from original 0 into type A, irrespective of the type of donor. Further, seven serums were found to contain another antibody, reacting in precipitation with the serum fraction which is only present in laying hens and probably has not the character of an allotype.

fowl; allotypes; alloimmunization; precipitation reaction; natural system

DERKA, J. — CARBONELL, G. — PETROVSKÝ, E. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno; Combinado Avicola Nacional, Kuba; Institut für Physiologie und Genetik der landwirtschaftlichen Nutztiere, Liběchov): *Die Induktion der Komponenten des natürlichen Präzipitationssystems (GANS) und weitere Antikörper nach der Alloimmunisierung mit Serum oder Eidotter beim Huhn*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3): 141-145.

Wir analysierten eingehend 17 ausgewählte, bei der Alloimmunisierung von 64 Rezipienten, Hähnen und Hennen, PB $\times$ RIR-Kreuzungen, des 0-Typs im System GANS gewonnene Seren. Zur Immunisierung wurde das Serum oder der Eidotter von Hennen des A- oder des B-Typs im System GANS benutzt, appliziert in fünf intramuskulären Injektionen, ohne oder mit Benutzung des Freund'schen komplexen Adjuvans. Wir stellten in 16 Seren von der Gesamtanzahl der untersuchten Seren die Anwesenheit der A-Substanz des Systems GANS fest, so daß sich bei den Rezipienten durch Applikation des Serums oder Dotters der Typ des GANS-Systems vom ursprünglichen 0-Typ zum A-Typ veränderte, wobei der Donortyp keinen Einfluß hatte. Außerdem wurde in sieben Seren die Anwesenheit eines weiteren Antikörpers nachgewiesen der beim Präzipitationstest mit der Serumfraktion reagierte, die nur bei eierlegenden Hennen auftritt und wahrscheinlich keinen Allotyp-Charakter aufweist.

Huhn; Allotypen; Alloimmunisierung; Präzipitationsreaktion; natürliches System

Adresa autorů:

MVDr. Josef Derka, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno.

MVDr. Guillermo Carbonell, Combinado Avicola Nacional, Kuba

Ing. Eduard Petrovský, CSc., Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV, 277 21 Liběchov

Výběr z přírůstků
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTIZ
z úseku veterinární medicína

Uvedené publikace je možné si vypůjčit osobně nebo písemně v ÚZLK, výpůjční oddělení, 120 56 Praha 2, Slezská 7. Výpůjční doba: pondělí až pátek od 9 do 18 hodin. U každé žádané publikace uveďte signaturu.

ARMSTRONG — KUENTZEL — SCHWARZ D 62.302/4/1
Proteinverdauung und -absorption bei Monogastriden und Wiederkäuern. Heisslufttrocknung von Grünfütter. Futterwert der Ackerbohne.

Hannover, Verlag M. & H. Schaper 1976. 92 s. tab. Übersichten zur Tierernährung Jg. 4., Hf. 1. (Látková přeměna — bílkoviny — hospodářská zvířata — výzkum — NSR / Zelená píce — sušení — metody — výzkum / Krmení hospodářských zvířat — bob obecný — krmná hodnota — výzkum — NSR)

C 23.747

Guide for accredited veterinarians.

Washington, U. S. Depart. of agric. 1975. 41 s. (Nemoci hospodářských zvířat — diagnóza — metody / Nemoci hospodářských zvířat — ochrana a léčení)

EMPEL, W.

D 67.217

Röntgenodiagnostika weterynaryjna.

Warszawa, PWRiL 1977. 250 s. obr. (Veterinární diagnostika — rentgenologie — použití — příručka)

SCHULZE, W.

D 65.446

Schweinekrankheiten. 4. überarb. und erweít. Aufl.

Hannover, M. & H. Schaper 1973. 80 s. 12 tab. (Prase — nemoci — diagnostika — příručka / Prase — nemoci — ochrana a léčení — příručka)

STRAITON, E. C.

D 66.762

Schweinekrankheiten erkennen, behandeln, vermeiden.

München, BLV 1976. 156 s. obr. (Prase — nemoci — diagnostika a léčení — příručka)

KOETSCHKE, W. — GOTTSCHALK, C.

E 38.666

Krankheiten der Kaninchen und Hasen. 2. überarb. Aufl. Jena, VEB G. Fischer 1977. 319 s. 65 fot. (Králík a zajíc — nemoci — diagnostika — příručka)

WANDREY, J. H.

E 38.066/110

Mössbauer-Spektroskopie zur Beurteilung der Wirksamkeit verschiedener medizinischer Eisenpräparate. Inaug.-Diss. d. Tierärztl. Hochschule Hannover.

Hannover, Tierärztl. Hochschule 1976. 76 s. obr. tab. (Veterinární léčiva — železitě preparáty — výzkum — metody — spektroskopie Mössbauero-rova — NSR — disertační práce)

IZOLÁCIA A DETEKCIA AVIÁRNYCH ADENOVÍRUSOV NA BUNEČNÝCH KULTÚRACH

E. Časnocha, J. Salaj

ČASNOCHA, E. — SALAJ, J. (Štátny veterinárny ústav, Zvolen; Výskumné stredisko Bioveta, Nitra): *Izolácia a detekcia aviárnych adenovírusov na bunečných kultúrach*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 147-156.

Z aspektu hygienického i epizootologického je dôležité poznanie prítomnosti rôznych mikrobiologických agens u vtákov. V príspevku podávame výsledky virologického sledovania hydiny, zameraného na vtáacie adenovírusy. Z rôznych vekových kategórií kurčiat sme izolovali 98 vírusových kmeňov, ktoré sme podľa formy cytopatických zmien na bunkových kultúrach slepačích obličiek, podľa potreby adaptačných pasáží, chloroformovej, tepelnej a pH rezistencie, podľa charakteru nukleovej kyseliny, tvorby vnútrojadrových inklúzií a podľa spoločného precipitačného antigénu s referenčným vírusom zaradili do skupiny aviárnych adenovírusov.

vtáacie vírusy; adenovírusy; kuracie bunečné kultúry; charakteristika vírusov

V posledných dvoch desaťročiach, odvtedy, čo bol izolovaný CELO vírus (Yates a Fry, 1957), začali sa z rôznych strán prezentovať správy o výskyte aviárnych adenovírusov. Pôvodne väčšina izolovaných vírusov bola zo zažívacieho traktu hydiny a boli počítané k enterovírusom (Taylor a Calnek, 1962; Khanna, 1964), až po presnejšej typizácii sa preradili do skupiny adenovírusov (Khanna, 1966; Khanna a Lund, 1967; Calnek a Cowen, 1975). Sérologickou depistážou boli v mnohých štátoch zistené protilátky proti aviárnym adenovírusom, čo hovorí o ich ubikvitárnosti (Kaleta, 1968; Cook, 1970 a iní).

Význam adenovírusovej infekcie nebol vždy zrejmý. U vtákov, podobne ako u cicavcov aj človeka, sa dlho tvrdilo, že nevyvolávajú špecifické ochorenie, ale vedú len k latentnej, klinicky inaparentnej infekcii, ktorá sa pri spolupôsobení iných faktorov môže klinicky prejavíť (Jacobeit, 1969). U kurčiat ich Dougall a Peters (1974) tiež považujú len za kontaminantov, s možnosťou určitého spolupôsobenia pri vzniku koliseptikémie.

Novšie poznatky svedčia o tom, že adenovírusy môžu u hydiny zapríčiniť rôzne klinicky manifestné patologické stavy ako dýchacie ochorenia, u nosníc pokles produkcie vajec, hepatitídy, hemoragickú aplastickú anémiu, gangrenóznou dermatitídu, nervové a pohybové poruchy apod. (Winterfield a i., 1973; Berry, 1969; Long, 1973; Rosenberger a i., 1974; Mustaffa-Babjee a Spradbrow 1975 a pod.).

Za vhodný kultivačný substrát sa považujú kuracie embryonované vajcia a bunečné kultúry z obličiek a pečene kurčiat (Monreal, 1968). Niektoré kmene rastú

na kačacích a kuracích embryonálnych fibroblastoch (Mustaffa-Babjee a Spradbrow, 1975). Aviárne adenovírusy rodu *Aviadenovirus* (Fenner, 1975/76) z aspektu diagnostického možno charakterizovať ako DNK vírusy vyvolávajúce okrúhlobunečný cytopatický efekt (CPE) na bunčných kultúrach slepačích obličiek, rezistentné na tukové rozpúšťadla a znížené pH, ktoré majú spoločný skupinový antigén, detektovateľný v agarovej precipitácii, resp. fluorescencii (Calnek a Cowen, 1975; Grimes a i., 1976).

Spojitosť adenovírusovej infekcie s klinickým ochorením nám kladie za povinnosť zamerať sa na ich kultiváciu a klasifikáciu. Z domácej literatúry nie sú nám známe údaje o aviadenovírusoch, hoci ochorenia poukazujúce na danú etiológiu sú stále častejšie (Čada a i., 1975; Časnoch a i., 1977). Vzhľadom na to sme sa rozhodli zistiť, či sa v našich chovoch hydiny vyskytujú adenovírusy, v akej frekvencii, u ktorých vekových kategórií, prípadne či nie sú sprievodnou infekciou pri iných ochoreniach hydiny.

MATERIÁL A METÓDY

1. Na virologickú kultiváciu sme brali z jedného kusa hydiny jednu excíziu. Orgán sa volil podľa klinickej indikácie, napr. mozog a miecha pri poruchách pohybu, pri dýchacích poruchách pľúca a trachea, pri celkovom ochorení pečene, sleziny, obličky. Z excízie sme pripravovali 10 až 20% suspenziu v roztoku PBS. Potom nasledovala centrifugácia pri 10 000 obr. min⁻¹, po dobu 20 minút. Do supernatantnej tekutiny sme pridávali antibiotiká v obvyklých dávkach. Suspenzie sme do doby spracovania uchovávali pri teplote -20 °C.

2. Bunkové kultúry kuracích obličiek (KOB): Násadové vajcia z chovu K sme liahli v laboratóriu. Po vyliahnutí, resp. v prvých dvoch až troch dňoch života kurčiat, sme po ich dekapitácii asepticky vyberali obličky. Technika ich spracovania bola opísaná v práci Časnoch a Salaja (1972). Aby bola vylúčená transovariálna adenovírusová infekcia vlastných KOB, robili sme kontrolné slepé pasáže pripravenej šarže bunkových kultúr.

Kultúry kuracích embryonálnych buniek-fibroblastov (KEB) sme pripravovali podľa Mayra a i., (1974), zvyčajne sme používali druhú a tretiu subkultiváciu buniek.

3. Izolačné pokusy zo suspenzií sme robil naočkováním piatich skúmavkových kultúr KOB (0,1 ml suspenzie na skúmavku), doba adsorpcie bola 60 minút pri teplote 37 °C. Po zliatí suspenzie a po opláchnutí bunkovej kultúry roztokom PBS sme pokryli monolayer buniek udržiavacím médiom. Infikované bunkové kultúry sme inkubovali sedem dní pri teplote 37 °C, potom sme ich trojnásobne zmrazili (pri -20 °C) a rozmrazili (+37 °C) a v slepých pasážach sme pokračovali až po desiatu pasáž. V prípade pozitívnych charakteristických cytopatických zmien (okrúhlobunečný CPE) sme v pasážovaní už nepokračovali. Izoláty sme uchovávali v mrazničke pri teplote -20 °C.

4. Ako referenčný kmeň z adenovírusov sme mali vírus CELO-Phelps. Tento, ako aj aviárny reovírus (Stuttgart), sme získali z Biovety Nitra. Z iných vírusov sme používali vírus pseudomoru č. 313, ktorý je našim izolátom.

5. Titráciu vírusov sme robili sériovým desaťnásobným riedením izolátu v Earlovom roztoku. Z každého riedenia sme inokulovali po 0,1 ml do štyroch skúmavkových kultúr KOB. Titer sme určili päť dní po infekcii ako TKID₅₀ podľa metódy Reed-Muencha (cit. Mayr a i., 1974).

6. Identifikácia izolátov ako aviadenovírusov: Prvým kritériom bol charakter CPE – okrúhlobunečný. Rezistenciu na chloroform a pH sme robili podľa bežných virologických metód (Mayr a i., 1974). Typ nukleovej kyseliny sme určovali rastom izolátov v prostredí s prídavkom 5-iodo-2-deoxyuridínu (JUDR), ktorý inhibuje replikáciu DNK vírusu. Dva rady po 12 skúmavkových kultúrach KOB sme infikovali vírusovým izolátom dávky cca 1000 TKID₅₀ na 0,1 ml, nechali sme adsorbovať jednu hodinu pri teplote 37 °C a potom sme ich trojnásobne opláchli roztokom PBS. Na prvý rad skúmavkových kultúr sme pridali udržiavacie médium s obsahom 0,02 mg JUDR v 1 ml média, z liekového prípravku Idoxuridine (Alcon of Canada LTD, Toronto, Ontario). Druhý rad skúmavkových kultúr sme prevrstvili udržiavacím médiom bez prídavku JUDR. Všetky kultúry sme inkubovali pri teplote 37 °C a v jednoduchých intervaloch sme infekčné médium troch skúmaviek zliali, centrifugovali a titráciou stanovili pomnoženie vírusu.

Teplnú stabilitu izolátov v prítomnosti mono- a bivalentných katiónov sme uskutočnili podľa popisu Burka a i. (1968). Pri tejto metóde sa izoláty riedia v pomere 1:5 v udržiavacom médiu, zmiešajú sa rovnakým dielom s 2 M NaCl, CaCl₂, MgCl₂. Po ich exponovaní teplotou 50 °C po dobu jednej, troch a piatich hodín sme urobili titráciu.

7. Na detekciu bunečných inklúzných teliesok v kultúrach KOB a KEB sme používali farbiacu metódu May-Grundwald-Giemsa po fixácii metanolom a farbenie hematoxilín-eozínom (HE) po fixácii infikovaných sklíčkových kultúr Bouinovým fixačným roztokom.

VÝSLEDKY

Prítomnosť cytopatogénneho agens na KOB sme z rôznych excíz orgánov hydiny (kury domácej) sledovali v rokoch 1971 až 1976. Predovšetkým sme chceli zistiť, či sú cytopatogénne vírusy u klinicky zdravých kurčiat a kuracích embryí, resp. či je ich výskyt podstatne vyšší pri rôznych hromadných ochoreniach kurčiat, ktoré nie sú v spojitosti s adenovírusovou etiológiou. Výsledky vyšetrení sú v tab. I a II, z ktorých vidieť, že cytopatogénne agens bývajú aj u klinicky zdravých kurčiat a ich frekvencia je u najmladších vekových kategórií častejšia ako u starších. Iné infekčné ochorenia hydiny (aviárna encefalomyelitída, koliseptikémia, kokcidióza a pod.) frekvenciu výskytu aviadenovírusov nezvyšujú. Pozitívny je aj nález z uhynutých kuracích embryí, čo je potvrdením možnosti transovariálneho prenosu infekcie (tab. I). Infikované embryá zvyčajne počas inkubácie hynú. Zo živých embryí sme vírusy neizolovali a ani preskúšanie jednotlivých šarží tkanivových kultúr KOB, pripravených z obličiek vyliahnutých kurčiat, nedalo pozitívny výsledok.

Tab. III udáva výsledky kultivácie z ôsmich chovov brojlerov, kde

I. Frekvencia výskytu aviadenovírusov u klinicky zdravých kurčiat — The occurrence of avian adenoviruses in clinically healthy chickens

Vek kurčiat (týždne)	Orgán na kultiváciu	Počet zvierat	Pozitívne CPE	% pozitivity	Nástup CPE v pasáži
0—1	CNS	20	4	20	6.—8.
1—4	CNS	20	3	15	7.—9.
1—4	pečeň	14	1	7	6.
1—4	slezina	2	1	50	6.
4—8	CNS	21	0	—	—
4—8	pečeň	5	0	—	—
4—8	slezina	4	1	25	4.
KE Ž +	CNS	5	0	—	—
KE U +	CNS	21	6	28	7.—9.
	TK-KOB	20	0	—	—
Spolu		132	16	12	

Legenda: KE Ž + = kuracie embryá živé, 18. deň inkubácie. KE U = uhynuté embryá medzi 16.—20. dňom inkubácie

II. Frekvencia výskytu aviadenovírusov u kurčiat v období hromadných ochorení, ktoré nie sú spojené s adenovírusovou etiológiou⁺⁺ — The occurrence of avian adenoviruses in the periods of mass-scale infections having no relation with adenovirus etiology

Vek kurčiat (týždne)	Orgán na kultiváciu	Počet zvierat	Pozitívne CPE	% pozitivity	Nástup CPE v pasáži
0—3	CNS	186	20	10	6,—8.
0—3	pankreas	2	0	—	—
0—3	slezina	10	2	20	7.
0—3	pečeň	15	0	—	—
4	CNS	22	0	—	—
6	pečeň	12	0	—	—
8	pečeň	10	1	10	6.
8	slezina	8	0	—	—
8	obličky	8	1	12	8.
11	pečeň	6	0	—	—
Spolu		279	24	8,6	

Poznámka: ⁺⁺ aviárna encefalomyelitída, koliseptikémia, kokcidióza, mykoplazmóza, ojedinele aj encefalomalácia a histomoniáza. Materiál na virol. vyšetrenie bol braný z 29 chovov kurčiat a spracované boli približne rovnaké množstvá orgánov z uhynutých ako zo živých, klinicky chorých kurčiat

III. Frekvencia výskytu aviadenovírusov pri hromadných ochoreniach brojlerov, pri ktorých sú etiologickým faktorom⁺ — The occurrence of avian adenoviruses in mass-scale broiler infections in which these adenoviruses are involved in the etiology

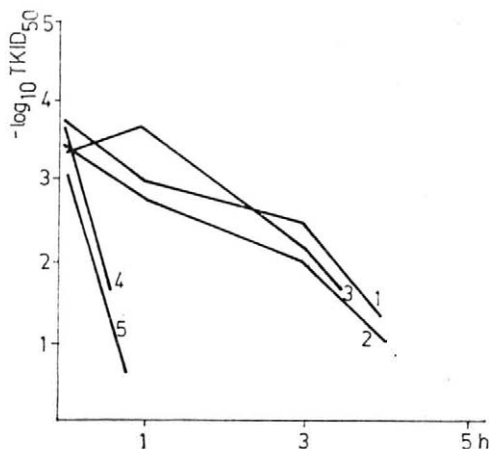
Vek kurčiat (týždne)	Orgán na kultiváciu	Počet zvierat	Pozitívne CPE	% pozitivity	Nástup CPE v pasáži
6—8	CNS	14	10	71	3.—5.
6—8	pečeň	46	28	61	1.—4.
6—8	slezina	14	12	86	2.—3.
6—8	obličky	14	8	57	3.
6—8	pľúca	4	0	—	—
Spolu		92	58	63	

Legenda: ⁺ hromadné ochorenia boli: inklúzna hepatitída, resp. hemoragická anémia a gangrenóza dermatitída brojlerov

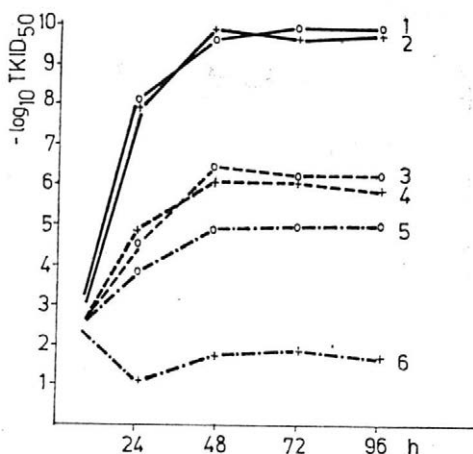
hromadné ochorenie bolo v spojitosti s adenovírusovou infekciou. Percento pozitívnych izolácií z orgánov dosahuje v priemere až 63 %. Ako najvhodnejší zdroj vírusu pre diagnostiku sa javí slezina uhynutých zvierat. Pozitívny a charakteristický CPE je u týchto prípadov už po prvej až štvrtej pasáži.

Celkove sme z 503 vyšetrených vzoriek izolovali 98 kmeňov a nebolo možné všetky izoláty podrobiť potrebným skúškam pre zatriedenie do skupiny aviadenovírusov. Preto sme vybrali päť predstaviteľov, a ďalej budeme uvádzať len ich priemerné hodnoty.

Izoláty tvoria CPE na KOB 18 až 24 hodín po infekcii, kedy je viditeľné zaguľtenie buniek a vzostup ich refraktibility. Väčšina buniek je zachvátená behom 48 hodín, bunky sa odtrhávajú od podložky a rozpadajú sa na drobnejšie granuly (obr. 3). Vo farbených infikovaných bunecných kultúrach sme pozorovali granuláciu jadra, aglomeráciu granúl, čím vznikali rozsiahle bazofilné intranukleárne inklúzie, vyplňujúce často celé jadro (obr. 4). Takto je ľahké rozoznať infikovanú bunku podľa intenzívne sa farbiaceho jadra. Rastová krivka izolátov na KOB a priemerné dosiahnuté titry sú na obr. 2 (krivka 5).



1. Kationická tepelná stabilita izolátov — Cationic thermal stability of isolates



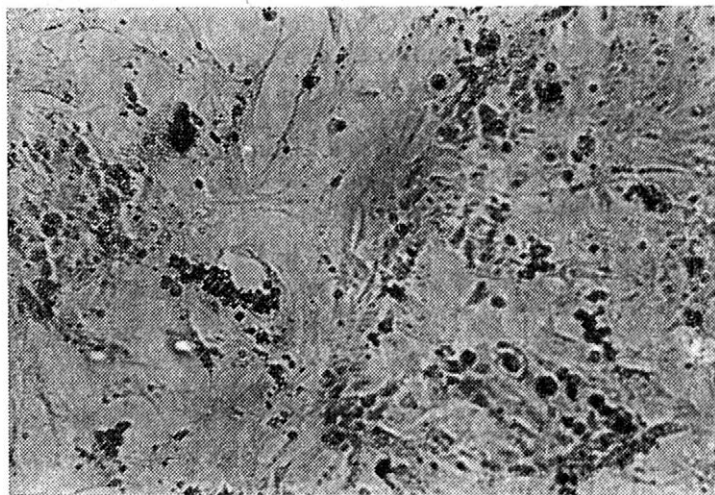
2. Určenie nukleových kyselín u izolovaných vírusov — Determination of nucleic acids in the isolated viruses

Na slepačích embryonálnych bunkách (fibroblastoch) izoláty rástli a v prvých 48 hodinách *p. i.* aj tvorili CPE, bunky sa odlupovali, ale pri ďalšej inkubácii sa kultúry reštaurovali. Pri pasážovaní na KEB titer vírusov sústavne klesal a po siedmej pasáži sa už rezolúcia nezdarila. Vírusy na KEB netvorili vnútrojadrové inklúzie v priebehu 10 dní *p. i.*

Pri infekcii embryonovaných kuracích vajec do žltkového vaku, resp. do alantoickej dutiny, infekčnou dávkou 0,1 ml cca 10^3 TKID₅₀ na jedno embryo hynulo 50 až 85 % embryí; histologicky sme zisťovali intranukleárne inklúzie v entoderme chorioalantoickej membrány (ChAM) a v hepatocytoch. Množstvo inklúzií v ChAM bolo najväčšie u vírusu CELO (už 48 až 72 h *p. i.*) a len sporadické boli inklúzie u skúšaných našich izolátov (až po 120 h *p. i.*). Titer vírusu v alantoickej tekutine 72 hodín *p. i.* u vírusu CELO bol 8,6 ($-\log_{10}$ TKID₅₀ na 0,1 ml), naproti tomu cca 4,2 u izolátov.

Spoločný skupinový aviadenovírusový antigén sme dokazovali agarovou precipitáciou v 1% agare s 8% NaCl (Časnocha a Salaj, 1973). Ako precipitačné antigény boli ChAM infikovaných embryí, ktoré sme rozdrtili a ozvučili (2 × 30 s 20 kHz). Precipitačné antiséra predstavovali vybrané séra hydiny z terénnych chovov a hyperimunné krá-

ličie antisérum CELO. Izoláty dávali nadväznú precipitačnú čiaru s referenčným vírusom CELO-Phelps. Aglutinácia červených krviniek kuracích, morčacích a ľudských (skup. 0) bola v každom prípade negatívna.



3. Okrúhlobunečný cytopatický efekt aviadenovírusu na bunkách kuracích obličiek (natívny preparát) — The round-cell cytopathic effect of avian adenoviruses on the cells of hen kidneys (native preparation)

4. Vnútrojadrové bazofilné inklúzne telieska v infikovaných bunkách kuracích obličiek (farbenie HE) — The intracellular basophilous inclusion bodies in the infected cells of hen kidneys (HE-stained preparation)



Fyzikálno-chemická charakteristika: Izolované vírusy boli rezistentné voči chloroformu, ich infekčnosť nebola redukovaná, čo svedčí o tom, že sú holé, bez prítomnosti esenciálnych lipidov v obaloch. Rovnako sme nepozorovali pokles titrov pri pH 3,0 oproti pH 7,3. Kationickú tepelnú stabilitu znázorňuje obr. 1, na ktorom je krivka zostrojená z priemerov titrov piatich izolátov. V prítomnosti bivalentných kationov (Ca^{++} a Mg^{++}) sú labilné voči teplote 50 °C, lebo v priebehu prvej hodiny ich titer prudko klesá (krivka 4, 5). V prostredí fyziologického roztoku (Na^+) v udržiavacom médiu a destilovanej vode (krivky 1, 2, 3) sú termostabilnejšie.

Určenie typu nukleovej kyseliny je graficky znázornené na obr. 4,

kde RNK vírus pseudomoru hydiny a Reovírus [Stuttgart] majú úplne paralelnú krivku množenia ako v prítomnosti JUDR (krivka 2 a 4), tak bez neho (krivka 1, 3). Naproti tomu naše aviárne izoláty (krivka 5 a 6) — do ich priemeru je zahrnutý aj vírus CELO — vykazujú pokles titrov o viac ako 3 log₁₀ TKID₅₀. Z toho dedukujeme, že sa jedná o DNK vírusy a 5-iodo-2-deoxyuridin ako analóg thymidínu zapríčinil inhibíciu replikácie vírusovej DNK.

DISKUSIA

Z analýzy vlastností našich izolátov usudzujeme, že sme pracovali s aviárnymi adenovírusmi. Ich vlastnosti zodpovedajú požiadavkám ako ich popisujú Burke ai. [1968] a Grimes ai. [1976].

Izoláty sú DNK vírusy, rezistentné voči chloroformu a stabilné pri kyslom pH. Tiež sú stabilné voči teplote 50 °C v prítomnosti monovalentných iónov, ale labilné v prostredí bivalentných iónov (Mg a Ca). Rozdielne sa chovali vírusy Greena a Clarka [1976], ktoré boli tepelne stabilné aj v Mg⁺⁺.

V epiteliálnych bunkách kuracích obličiek tvorili naše izoláty intranukleárne inklúzne telieska (bazofilné), podobne ako ich popisujú Maeda ai. [1967] a Burke ai. [1968]. Inklúzie sú aj v bunkách kuracích embryí, najmä v chorioalantoickej membráne a v pečeni. S referenčným kmeňom aviadenovírusov CELO-Phelps majú v agarovej precipitácii nadväznú precipitačnú líniu, čo svedčí o ich spoločnom skupinovom antigéne (Calnek a Cowen, 1975; McFerran ai., 1975).

Ako vhodný substrát pre izoláciu cytopatogénneho agens zo suspenzií orgánov hydiny sa nám osvedčili slepačie obličkové bunky, ktoré odporúčajú aj iní autori (Calnek a Cowen, 1975). Tiež McFerran a i. [1975] považujú KOB za veľmi vnímavé na aviadenovírusy, naproti tomu kuracie embryonálne bunky (KEB) sú podľa týchto autorov stokrát menej citlivé. Tým si vysvetľujeme pokles titra našich vybraných izolátov počas kultivácie a pasážovania na KEB. Podobný úkaz u svojich vírusových kmeňov zistili Mancini a Yates [1968], prípadne Lim ai. [1973]. Rozdielne od popisu Mustaffu — Babjee a Spradbrowa [1975] sme na KEB infikovaných našimi izolátmi nezistili tvorbu vnútrojadrových inklúzií, len hyperchromáziu a karyorexiu v prvých dňoch po infekcii kultúr, kedy bol aj CPE viditeľný. Po štvrtom až piatom dni inkubácie všetky znaky poškodenia buniek vymizli.

Výskyt vtáčich adenovírusov u nás je podľa predloženej práce analogický ako v susedných krajinách (Khanna, 1966). Tieto vírusy sú relatívne veľmi rozšírené a vyskytujú sa aj u klinicky zdravej hydiny, čo dokazuje tab. I. Táto skutočnosť udržiavala vo virologickej verejnosti pochybnosť o ich patogenite (Jacobeit, 1969; Dougall a Peters, 1974). Kultivácia z klinicky zdravej hydiny bola v našom prípade u 12 % vzoriek pozitívna a pri rôznych ochoreniach kurčiat sa frekvencia výskytu adenovírusov nezvýšila (bola 8,6 %). Izoláty z takejto hydiny potrebovali na adaptáciu na bunčné kultúry šesť až osem „slepých pasáží“, naproti tomu v prípadoch, kedy klinicky išlo o adenovírusové ochorenie (hemoragickú anémiu, resp. inklúznou hepatitídu

a gangrenóznou dermatitídu), bol výsledok kultivácie v 63 % prípadov pozitívny a izoláty sa adaptovali na bunkové kultúry už behom jednej až štyroch pasáží. Je pravdepodobné, že tieto vírusy sa budú líšiť nielen v patogenite, ale aj v sérotype, čo bude predmetom našej ďalšej práce. Bližšie štúdium sérotypovej príslušnosti a patogenity aviadenovírusov bude nutné aj preto, lebo niektoré sérotypy (napr. typ I = CELO vírus) môžu u cicavcov navodiť tvorbu nádorov (Sarma a i., 1965; Mancini, 1971).

V spontánne uhynutých kuracích embryách sme detekovali prítomnosť aviadenovírusov. Analogický výskyt častej latentnej infekcie násovdových vajec vírusom CELO zistili Yates a Fry (1957). To môže byť vážnym problémom nielen epizootologickým, čo do prenosu vírusu, ale aj problémom pri výrobe vakcín a bunkových kultúr z kuracích embryí.

Technicky spolupracovali: M. Koppalová a M. Nemkyová

Literatúra

- BERRY, D. B.: Egg production and disease: adenovirus. Vet. Rec., 84, 1969, s. 397-398.
- BURKE, C. N. — LUGINBUHL, R. E. — WILLIAMS, L. F.: Avian adeno-like viruses-characterization and comparison of seven isolates. Avian Dis., 12, 1968, č. 3, s. 483-505.
- CALNEK, B. W. — COWEN, B. S.: Adenoviruses of chickens: serologic groups. Avian Dis., 19, 1975, č. 1, s. 91-103.
- COOK JANE, K. A.: Incidence of chick embryo lethal orphan virus antibody in the fowl (*Gallus domesticus*) in Britain. Res. vet. Sci., 11, 1970, s. 343-348.
- ČADA, F. — STARÝ, Z. — KRUPÍČKA, V.: Výskyt inkluzní hepatitidy brojlerů ve čtyřech lokalitách Západočeského kraje. Veterinářství, 25, 1975, č. 11, s. 511-513.
- ČASNOCHA, E. — SALAJ, J.: Štúdium vlastností cytopatogénneho agens izolovaného na tkaninových kultúrach z hydiny s príznakmi Markovej choroby. Vet. Med., Praha, 17, č. 7, s. 429-436.
- ČASNOCHA, E. — SALAJ, J.: Detekcia precipitačného antigénu v koži a perí hydiny so zreteľom na diagnostiku Markovej choroby. Vet. Med., Praha, 18, 1973, č. 6, s. 491-498.
- ČASNOCHA, E. — RUMANOVSKÝ, K. — BAHELKA, L. — BUČKA, J.: Výskyt hemoragickej anémie, resp. inklúznej hepatitidy u kurčiat na Slovensku. Zborník Štát. vet. správy, Bratislava 1977, č. 2 (v tlači).
- DOUGALL, J. S. Mc. — PETERS, R. W.: Avian adenoviruses: A study of 8 field isolates. Res. vet. Sci., 16, 1974, s. 12-18.
- FENNER, F.: The classification and nomenclature of viruses. Intervirology, 6, 1975-76, s. 1-12.
- FERRAN Mc. J. B. — ADAIR, B. — CONNOR, T. J.: Adenoviral antigens (CELO, QBV, GAL). Am. J. vet. Res., 36, 1975, č. 4, s. 527-529.
- GREEN, A. F. — CLARKE, J. K.: Detection of four serotypes of avian adenovirus in New Zealand. Avian Dis., 20, 1976, č. 2, s. 236-241.
- GRIMES, T. M. — KING, D. J. — KLEVEN, S. H.: Application of a microtiter cell-culture method to characterization of avian adenoviruses. Avian Dis., 20, 1976, č. 2, s. 299-310.
- JACOBET, J.: Vorkommen und Bedeutung der Adenovirusinfektionen. Mh. Vet. Med., 24, 1969, č. 8, s. 305-310.
- KALETA, E. F.: Beziehungen zwischen der CELO-virus-infection und anderen Erkrankungen des Huhnes. Dte tierärztl. Wschr., 75, 1968, s. 553-558.
- KHANNA, P. N.: Studies on cytopathogenic avian enterovirus. I. Their isolation and serological clasification. Avian Dis., 8, 1964, č. 3, s. 632-637.
- KHANNA, P. N.: Occurrence of avian adenovirus in Hungary. Acta vet. hung., 16, s. 351.
- KHANNA, P. N. — LUND, E.: Classification of an avian virus by electron microscopy. Arch. ges. Virusforsch., 20, 1967, s. 387-391.

- LIM, A. CH. — MUSTAFFA-BABJEE, A. — BAINS, B. S. — SPRADBROW, P. B.: An avian adenovirus associated with respiratory disease. *Avian Dis.*, 17, 1973, č. 4, s. 690-696.
- LONG, R. V.: Necrotic dermatitis. *Poultry Digest*, 32, 1973, s. 20-22.
- MAEDA, M. — OKANIVA, A. — KAWAMURA, H.: Morphological studies on intranuclear inclusion bodies in chicken kidney cell cultures infected with avian adenovirus. *Natn. Inst. Anim. Hlth Q. Tokyo*, 7, 1967, s. 164-177.
- MANCINI, L. O. — YATES, V. J.: Growth of chicken-embryo-lethalorphan (CELO) virus in chicken embryo neuroglial and chicken embryo fibroblastic cell cultures. *Avian Dis.*, 12, 1968, č. 2, s. 348-353.
- MANCINI, L. O. — YATES, V. J. — ANDERSON, J. — JASTY, V. — MILLER, L. T.: Tumour formation in hamsters inoculated with chick embryo lethal orphan virus. *J. gen. Virol.*, 13, 1971, s. 121-126.
- MAYR, A. — BACHMANN, P. A. — BIBRACK, B. — WITTMANN, G.: *Virologische Arbeitsmethoden*. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1974, s. 350.
- MONREAL, G.: Untersuchungen über ein aviäres Adenovirus. *Zentbl. VetMed.*, B, 15, 1968, s. 685-757.
- MUSTAFFA-BABJEE, A. — SPRADBROW, P. B.: Characteristics of three strains of avian adenoviruses isolated in Queensland. I. Biological properties. *Avian Dis.*, 19, 1975, č. 1, s. 150-174.
- ROSENBERGER, J. K. — ECKROADE, R. J. — KLOPP, S. — KRAUSS, W. C.: Characterization of several viruses isolated from chickens with inclusion hepatitis and aplastic anemia. *Avian Dis.*, 18, 1974, č. 3, s. 399-409.
- SARMA, P. S. — HUEBNER, R. J. — LANE, W. T.: Induction of tumours in hamsters with an avian adenovirus (CELO). *Science*, 149, 1965, s. 1108.
- TAYLOR, P. J. — CALNEK, B. W.: Isolation and classification of avian enteric cytopathogenic agent. *Avian Dis.*, 6, 1962, č. 1, s. 51-58.
- WINTERFIELD, R. W. — FADLY, A. M. — GALLINA, A. M.: Adenovirus infection and disease. I. Some characteristics of an isolate from chickens in Indiana. *Avian Dis.*, 17, 1973, č. 2, s. 334-342.
- YATES, V. J. — FRY, D. E.: Observations on a chicken-embryo-lethal-orphan (CELO) virus. *Am. J. vet. Res.*, 18, 1957, s. 657-660.

Došlo dňa 7. 4. 1977

ЧАСНОХА, Э. — САЛАЙ, Й. (Государственный институт ветеринарии, Зволени; Научно-исследовательский центр Биовета, Нитра): Изоляция и детекция птичьих аденовирусов на клеточных культурах. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978 (3): 147-156.

С гигиенического и эпизоотологического аспектов важно установление наличия разных микробиологических агентов у птиц. В работе приводятся результаты вирусологического исследования домашней птицы, ориентируемого на птичьи аденовирусы. Из цыплят разных возрастных категорий было изолировано 98 вирусных штаммов, которые по форме цитопатических изменений на клеточных культурах куриных почек, согласно потребности адаптационных пассажей, хлороформовой, температурной и pH устойчивости, по характеру нуклеиновой кислоты, образованию внутриядерных инклюзий и по общему преципитационному антигену с основным вирусом были отнесены к группе птичьих аденовирусов.

птичьи вирусы; аденовирусы; птичьи клеточные культуры; характеристика вирусов

ČASNOCHA, E. — SALAJ, J. (State Veterinary Institute, Zvolen; Bioveta Research Centre, Nitra): *The Isolation and Detection of Avian Adenoviruses on Cell Cultures*. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978 (3): 147-156.

It is important, from the hygienic and epizootological view-point, to detect the presence of various microbiological agents in birds. The authors present the results of the virological examination of poultry, avian adenoviruses being the main object of investigation. Ninety-eight virus strains were isolated from chickens of different age categories and were included in the group of avian adenoviruses according to the form of cytopathic changes on the cell cultures of hen kidneys, according to the need for adaptation passages, chloroform, thermal, and pH resistance, character of nucleic acid, formation of intranuclear inclusions, and joint precipitation antigen, shared with the reference virus.

avian viruses; adenoviruses; chick cell cultures; characteristics of viruses

ČASNOCHA, E. — SALAJ, J. (Staatliche Veterinäranstalt Zvolen; Forschungszentrum Bioveta, Nitra): *Isolierung und Detektion aviären Adenoviren auf Zellkulturen*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 147-156.

Die Erkenntnis des Auftretens verschiedener mikrobiologischen Agenzien bei Vögeln ist vom hygienischen und epizootologischen Gesichtspunkt bedeutsam. Im vorliegenden Beitrag wird über die Ergebnisse von auf die aviären Adenoviren ausgerichteten virologischen Untersuchungen beim Geflügel berichtet. Bei verschiedenen alten Küken wurden insgesamt 98 Virusstämme isoliert, die je nach der Art der zytopathischen Veränderungen auf Zellkulturen von Huhnnieren, je nach dem Bedarf an Adaptationspassagen, je nach der Chloroform-, Wärme- und pH-Resistenz, je nach dem Charakter der Nukleinsäure, je nach der Bildung von Innenkern-Inklusionen und je nach dem gemeinsamen Präzipitationsantigen mit Referenzvirus in die aviäre Adenovirusgruppe eingereiht wurden.

aviäre Viren; Adenoviren; Kükenzellkulturen; Charakteristik der Viren

Adresa autorů:

MVDr. Eugen Časnocha, CSc., Štátny veterinárny ústav, 960 86 Zvolen;
MVDr. Juraj Salaj, Výskumné stredisko Bioveta, 949 91 Nitra

INDUKCIA MIKROZOMÁLNYCH ENZÝMOV PEČENE KURČIAT ÚČINKOM NIEKTORÝCH PERZISTENTNÝCH CUDZORODÝCH LÁTKO

E. Bobáková, O. Adamec, J. Košutzký, B. Šárniková

BOBÁKOVÁ, E. — ADAMEC, O. — KOŠUTZKÝ, J. — ŠÁRNIKOVÁ, B. (Výskumný ústav chovu a šľachtenia hydiny, Ivanka pri Dunaji): *Indukcia mikrozomálnych enzýmov pečene kurčiat účinkom niektorých perzistentných cudzorodých látok*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 157-163.

V pokuse sme sledovali zmeny v hladinách mikrozomálnych proteínov, v aktivite mikrozomálnej anilín hydroxylázy a v účinnosti Thiopentalu za podmienok expozície kurčiat u nás vyrábanému typu polychlórovaných difenylov — Deloru 103. Zvýšená aktivita anilín hydroxylázy, ako aj skrátenie spánku po podaní Thiopentalu u kurčiat exponovaných Deloru 103 poukazujú na schopnosť tohoto preparátu indukovať mikrozomálny pečenevý enzymatický systém už v relatívne nízkych dávkach 5 mg kg⁻¹ krmiva. Enzymová indukcia heparu sa ukazuje ako dôležitý faktor, ktorý môže bezprostredne ovplyvňovať biotransformáciu rôznych biologicky významných látok v organizme kurčiat. polychlórované difenyly; mikrozomálne enzýmy pečene; kurčatá; Thiopental

Mimoriadne vysoká chemická i tepelná odolnosť polychlórovaných difenylov (PCB) viedla k ich širokému použitiu v mnohých priemyslových odvetviach. Paralelne s narastajúcim technologickým uplatňovaním zaraďujú sa tieto zlúčeniny medzi najzávažnejšie kontaminanty životného prostredia [Jensen, 1966; Risebrough a i., 1968; Clausen a i., 1974]. PCB sa ako výrazne lipofilné preparáty kumulujú v tukových tkanivách, pričom vaječný žltok predstavuje jeden z najčastejších spomínaných zdrojov prívodu týchto cudzorodých látok do organizmu. Podrobnejší prehľad negatívneho biologického pôsobenia u hydiny sumarizujú naše predchádzajúce práce [Adamec a i., 1976; Košutzký a i., 1976] a v ostatnej dobe prehľadný článok autorov Combs a Scott [1977].

PCB sú považované za účinné induktory hepatálnych mikrozomálnych enzýmov [Litterst a i., 1972; Litterst a Loon, 1974 a iní] a touto cestou môžu ovplyvňovať metabolické procesy. U rôznych stavovcov sa zaznamenala zmenená rýchlosť metabolickej degradácie celého radu substrátov (steroidy, lipofilné vitamíny, liečivá, pesticídy a iné cudzorodé látky) — [Cecil a i., 1973; Sanders a Kirkpatrick, 1975; Combs a i., 1975 a iní]. Priamym ukazovateľom aktivity mikrozomálnych enzýmov pečene je stanovenie anilín hydroxylázy. Týmto metodickým prístupom sme sledovali zmeny enzymatickej aktivity za podmienok expozície kurčiat komerčnému typu PCB — Deloru 103. Ako nepriamy dôkaz o možných metabolických následkoch enzýmov indukcie pečene pri biotransformácii liečiv uvádzame zmeny v účinnosti Thiopentalu u exponovaných kurčiat.

V pokuse sme použili kohútiky ľahkého hybridu Shaver-Starcross 288 v počte 54 kusov. V troch experimentálnych variantoch sa sledoval vplyv podania polychlórovaného difenylu Delor 103 (výrobok n. p. Chemko Strážske, obsahujúci 42 % chlóru) na mikrozomálny systém pečene.

V prvej skupine sa odoberali vzorky v 12. dni veku po sedemdňovom pôsobení Deloru. V druhej skupine sa preparát podával po dobu 14 dní, vzorky pečeni sa odoberali v 19. dni veku. V tretej skupine po 14-dňovom aplikačnom intervale nasledoval týždeň bez expozície a zvieratá sa zabíjali vo veku 26 dní. Od piateho dňa veku sme pokusné zvieratá krmili diétou, do ktorej sme primiešali skúmaný preparát tak, že sme v každom z uvedených aplikačných intervalov podávali 5 mg, resp. 50 mg kg⁻¹. Kontrolné skupiny dostávali rovnakú krmnú zmes (zmes K pre odchov kurčiat) bez prídavku Deloru. V uvedených časových obdobiach sme odoberali vzorky od 18 kohútikov (šesť zvierat Delor 103 — 5 mg kg⁻¹; šesť zvierat Delor 103 — 50 mg kg⁻¹ a 6 kohútikov — kontrolná skupina).

Zvieratá sme zabíjali dekapitáciou a sledovali sme u nich: hmotnosť pečene, obsah proteínov v mikrozomálnej frakcii pečene a aktivitu pečeňovej mikrozomálnej anilín hydroxylázy. Štatistickú významnosť rozdielov medzi pokusnými a kontrolnými skupinami sme hodnotili pomocou Studentovho *t* testu.

PRÍPRAVA MIKROZOMÁLNEJ PELETY

Po dekapitácii zvieraťa sme ihneď izolovali pečeň, rozotreli ju a 1 mg sme dôkladne zhomogenizovali teflónovým homogenizátorom v 0,25 M roztoku sacharózy za stáleho chladenia. Homogenát sme centrifugovali 15 minút pri 10 000 g. Supernatant sme ďalej odstreďovali 1 hodinu pri 105 000 g. Zo sedimentovanej pelety sa pomocou 1 ml 0,05 M Tris-HCl pufru o pH = 7,4 vytvorila suspenzia. Peletu sme uschovali cez noc pri teplote -25 °C.

STANOVENIE MIKROZOMÁLNYCH PROTEÍNOV A ANILÍN HYDROXYLÁZY

Suspenzia mikrozomálnej pelety sa použila pre stanovenie proteínov a anilín hydroxylázy.

Mikrozomálne proteíny sme stanovili podľa Lowryho a anilín hydroxylázu podľa modifikovanej metódy Bunyana a i. (1972). Inkubačná zmes pre stanovenie anilín hydroxylázy obsahovala v celkovom objeme 2,8 ml 350 μmólov Tris-HCl pufru o pH = 7,4 (1,8 ml 0,2 M Tris-HCl), 20 μmólov MgSO₄ (10 μl), 20 μmólov nikotínamid (10 μl), 32 μmólov anilínu (1 ml), 20 μmólov Glu-6-P (10 μl) a 3 μl Glu-6-P-dehydrogenázy (2 j). K inkubačnej zmesi sme pridali 1,8 μmólov NADPH v množstve 0,2 ml. Zmes sme preinkubovali 5 minút pri teplote 37 °C, potom sme k nej pridali 1 ml mikrozomálnej suspenzie v 0,05 M Tris-HCl pufru o pH = 7,4. Vlastnú inkubáciu sme vykonali počas 30 minút pri teplote 37 °C. Enzymatická reakcia sa zastavila prídavkom 2 ml 20 % trichlóroctovej kyseliny a schladením v ľadovom kúpeli. Po vyzrážaní proteínov sme vzorky centrifugovali 10 minút pri 2000 ot. Pre stanovenie sme použili 5 ml supernatantu. Farebná reakcia sa vyvolala prídáním 1,5 ml 10 % Na₂CO₃ a 2 ml 5 % fenolu v 1 M NaOH a vzorky sme inkubovali 1 hodinu pri teplote 30 °C. Koncentráciu vzniknutého p-aminofenolu sme merali pri absorbancii 620 nm.

Ako nepriamu metódu na sledovanie enzymovej indukcie sme použili meranie dĺžky spánku vyvolaného barbiturátmi u rovnakého typu kurčiat. Na pokus sme použili 60 kurčiat vo veku 28 dní. Dvomi pokusným skupinám sme počas ôsmich dní podávali v krmive Delor 103 v dávkach 5 a 50 mg kg⁻¹. Kontrolnú skupinu sme ponechali na štandardnej krmnej zmesi. Po štvrtom a ôsmom dni aplikácie sme kurčiatam podali intraperitoneálne Thiopental SPOFA v dávke 100 mg na kg hmotnosti tela, pričom sme sledovali dĺžku spánku. Táto sa určovala ako časový interval medzi podaním injekcie barbituranu a obnovením vzpriamovacieho reflexu hlavy, ktorý je v literatúre bežne označovaný ako tzv. righting reflex.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky testovania aktivity mikrozomálnej anilín hydroxylázy a množstva mikrozomálnych proteínov uvádza tab. I. Testovali sme

I. Hladiny mikrozomálnych pečenných proteínov a anilín hydroxylázy u kurčiat po aplikácii Deloru 103 — The levels of microsomal hepatic proteins and aniline hydroxylase in chickens after the administration of Delor 103

Skupiny	Počet zvierat (n)	Vek kurčiat dni	Dávka Deloru 103 mg kg ⁻¹	Dĺžka aplikácie dni	Hmotnosť pečene g	Mikrozo-málne proteíny mg na g pečene $\bar{x}$ s_x	Aktivita* anilín hydroxylázy $\bar{x}$ s_x	Relatívna aktivita %
Kontrola	6	12	—	—	3,0	18,5 ± 2,9	10,6 ± 3,5	100
Delor 103	6	12	5	7	3,0	17,6 ± 1,2	13,2 ± 4,2	125
Delor 103	6	12	50	7	3,3	17,7 ± 1,1	a) 20,0 ± 2,4	189
Kontrola	6	19	—	—	4,5	20,1 ± 3,4	9,3 ± 1,4	100
Delor 103	6	19	5	14	4,7	18,4 ± 3,1	b) 12,2 ± 2,6	132
Delor 103	6	19	50	14	4,9	18,0 ± 1,9	a) 14,3 ± 1,2	156
Kontrola	6	26	—	—	6,4	23,9 ± 7,8	8,2 ± 2,7	100
Delor 103	6	26	5	-7**	5,0	23,0 ± 2,7	c) 7,6 ± 0,5	92
Delor 103	6	26	50	-7**	7,4	23,8 ± 5,2	12,0 ± 3,6	146

* vyjadrená ako nmóly p-aminofenolu za 30 min na 1 mg mikrozomálnych proteínov

** sedem dní po skončení aplikácie

a) $P < 0,01$, b) $P < 0,05$, c) $P < 0,1$

v troch časových intervaloch v závislosti od podávania, resp. vysadenia PCB z krmiva, a to vo veku 12, 19 a 26 dní. Enzymatickú aktivitu pečene každej vekovej kategórie sme porovnali s nálezmi u kurčiat po expozícii polychlórovanému diferenyly — Deloru 103, a to v dávke 5 a 50 mg kg⁻¹ krmiva.

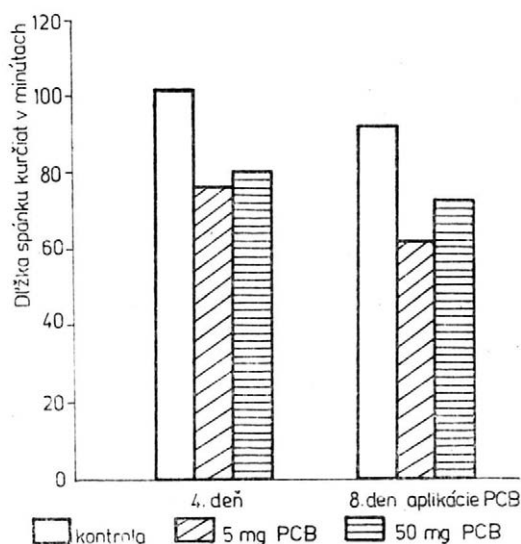
Z uvedených hodnôt mikrozomálnych proteínov u kontrolných zvierat je zrejmé, že ich hladiny vekom stúpajú, pričom samotná aplikácia polychlórovaných difenylov spôsobila len ich miernu nesignifikantnú depresiu, ktorá sedem dní po skončení podávania Deloru 103 úplne vymizla.

Aktivita mikrozomálnej anilín hydroxylázy u kontrolnej skupiny kurčiat s vekom postupne klesá. Výsledky ukazujú, že už dávka 5 mg kg⁻¹ v krmive, aplikovaná po dobu siedmich dní, resp. 14 dní, vyvoláva zvýšenie enzymatickej aktivity mikrozomálnej anilín hydroxylázy voči kontrolným jedincom o 25, resp. 32 %. Indukcia mala však pomerne krátke trvanie, pretože v siedmom dni po vysadení PCB z krmiva bola už porovnateľná, resp. o niečo nižšia ako hodnota u kontrolnej skupiny kurčiat.

Podstatne výraznejšia a dlhšie trvajúca indukcia sa namerala po dávke 50 mg kg⁻¹ krmiva, aplikovanej sedem, resp. 14 dní. U tejto skupiny sa aktivita anilín hydroxylázy zvýšila počas obdobia záťaže až o 89, resp. 56 % a po následnom vysadení PCB z krmiva sme ešte po siedmich dňoch pozorovali zvýšenie o 46 % v porovnaní s kontrolnou skupinou kurčiat rovnakého veku.

Indukcia mikrozomálneho systému hepatálnych buniek po expozícii zvierat rôznym typom PCB je rozsiahle dokumentovaná (Alvares a i., 1973, Litterst a i., 1972; Iverson a i., 1975). V literatúre zatiaľ chýbajú údaje, ktoré by sledovali vzťahy medzi aktivitou anilín hydroxylázy a pôsobením PCB u kurčiat. Turner a Green (1976) dokumentujú vzostup anilín hydroxylázy a niektorých ďalších mikrozomálnych enzýmov po expozícii nesúcich sliepok inému typu PCB (Arocloru 1254). Péliissier a i. (1975) uvádzajú zvýšenie enzymatickej aktivity anilín hydroxylázy u potkanov po expozícii lindanu a Bunyan a i. (1972) po DDT a DDE u potkanov a japonských prepelíc. Niektoré ďalšie práce (Sell a i., 1972; Davison a Sell, 1972) hovoria o tom, že vzostup aktivity anilín hydroxylázy po podaní niektorých lipofilných xenobiôtík môže byť druhovo špecifický.

Hepatálny mikrozomálny enzymatický systém je viazaný na endoplazmatické retikulum a vykonáva úlohu multikomponentného elektrónového transportného systému. Zodpovedá za metabolizmus rozličných endogénnych ako aj exogénnych substrátov (mastné kyseliny, steroidy, vitamíny, liečivá, insekticídy a iné cudzorodé látky) tým, že určuje rýchlosť, akou sú tieto zlúčeniny metabolizované. Enzymová indukcia závisí od početných vplyvov, ako je druh, línia, nutričné podmienky, a v rozhodujúcej miere sa mení následkom pôsobenia činiteľov vonkajšieho prostredia. Indukcia faktormi vonkajšieho prostredia môže hrať významnú úlohu aj pri regulácii rýchlosti biotransformácie liečiv.



1. Účinok Deloru 103 na dĺžku spánku u kurčiat po aplikácii štandardnej dávky Thiopentalu — The effect of Delor 103 on the length of sleep in chickens after the administration of a standard dose of Thiopental

Ako nepriamy dôkaz indukcie mikrozomálnych enzýmov uvádzame výsledky testovania dĺžky spánku u kurčiat po podaní štandardnej dávky Thiopentalu (obr. 1). Aplikácia tohto preparátu vyvolala po troch až piatich minútach hlboký spánok, ktorý u kontrolných kurčiat trval v rozmedzí 93 až 103 minút. Už štvordňová expozícia kurčiat Deloru 103 vyvolala skrátenie spánku v porovnaní s kontrolou o 20 až 24 %. Obdobný účinok sme pozorovali po osemďnovej aplikácii Deloru 103. Oproti

hodnotám enzymatických aktivít anilín hydroxylázy nepoukazujú výsledky tohoto nepriameho merania indukcie enzýmov na závislosť veľkosti použitej dávky PCB, nakoľko nižšia dávka (5 mg kg^{-1}) bola o niečo účinnejšia. Skrátene spánku kurčiat po aplikácii štandardnej dávky Thiopentalu účinkom PCB možno hodnotiť aj na základe viacerých literárnych dôkazov ako dôsledok indukcie mikrozomálneho enzymatického systému heparu. Tak napr. Street (1969) a Villeneuve ai. (1972) zistili u potkanov podobné skrátene spánku po podaní rozličných typov PCB. Podobnú redukciu dĺžky spánku u myšiek zistili aj Sanders a Kirkpatrick (1975). Cecil ai. (1975) registroval u japonských prepelíc po 48hodinovej expozícii polychlórovaným difenylom skrátene spánku, ktoré bolo závislé od stupňa chlórovania použitých preparátov.

Zvýšená aktivita anilín hydroxylázy, ako aj skrátene spánku po podaní Thiopentalu u kurčiat exponovaných polychlórovanému difenylu — Deloru 103 — poukazujú na schopnosť tohoto preparátu indukovať mikrozomálny pečenný enzymatický systém už v dávkach 5 mg kg^{-1} . Vzhľadom na to, že dĺžka a intenzita pôsobenia liekov, kŕmnych prídavkov a vo všeobecnosti všetkých exogénnych zlúčenín je určovaná rýchlosťou, akou sú tieto látky metabolizované, má štúdium týchto vzťahov mimoriadny praktický dosah.

Literatúra

- ADAMEC, O. — FELLEGIOVÁ, M. — DANKOVÁ, A.: Biologické účinky PCB. In: Cudzorodé látky v požívatinách. Vyd. Dom techniky, Košice, 1976, s. 57-71.
- ALVARES, A. P. — BICKERS, D. R. — KAPPAS, A.: Polychlorinated biphenyls: A new type of inducer of cytochrome P-448 in the liver. *Proc. Natn. Acad. Sci. U. S. A.*, 70, 1973, s. 1321-1325.
- BUNYAN, P. J. — TOWNSEND, M. G. — TAYLOR, A.: Pesticide-induced changes in hepatic microsomal enzyme systems. Some effects of 1,1-di (p-chlorophenyl) 1-2,2,2-trichloroethane (DDT) and 1,1-di (p-chlorophenyl)-2,2-dichloroethylene (DDE) in the rat and Japanese quail. *Chem.-Biol. Interactions*, 1972, č. 5, s. 13-26.
- CECIL, H. C. — HARRIS, S. J. — BITMAN, J. — FRIES, G. F.: Polychlorinated biphenyl-induced decrease in liver vitamin A in Japanese quail and rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1973, č. 9, s. 179-184.
- CECIL, H. C. — HARRIS, S. J. — BITMAN, J.: Effects of polychlorinated and polybrominated biphenyls on pentobarbital sleeping times of Japanese quail. *Arch. envir. Contam. Toxicol.*, 1975, č. 3, s. 183-192.
- CLAUSEN, J. — BRAESTRUP, L. — BERG, O.: The content of polychlorinated hydrocarbons in arctic mammals. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 1974, č. 12, s. 529-534.
- COMBS, G. F. — CANTOR, A. H. — SCOTT, M. L.: Effects of dietary polychlorinated biphenyls on vitamin E and selenium nutrition in the chick. *Poult. Sci.*, 54, 1975, s. 1143-1148.
- COMBS, G. F. — SCOTT, M. L.: The effects of polychlorinated biphenyls on birds. *Wild's Poult. Sci. J.*, 33, 1977, s. 31-46.
- DAVISON, K. L. — SELL, J. L.: Dieldrin and p,p'-DDT effects on some microsomal enzymes of livers of chickens and mallard ducks. *J. agric. Fd Chem.*, 20, 1972, s. 1198-1205.
- IVERSON, F. — VILLENEUVE, D. C. — GRANT, D. L. — HATINA, G. V.: Effect of Aroclor 1016 and 1242 on selected enzyme systems in the rat. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 1974, č. 11, s. 456-463.
- JENSEN, S.: Report of a new chemical hazard. *New Scientist*, 32, 1966, s. 612-613.
- KOŠUTZKÝ, J. — ADAMEC, O. — BOBÁKOVÁ, E.: Účinky PCB na reprodukciu hydiny. In: Cudzorodé látky v požívatinách. Vyd. Dom techniky Košice, 1976, s. 71-81.
- LITTERST, C. L. — FARBER, T. M. — BAKER, A. M. — LOON, E. J. van: Effect of polychlorinated biphenyls on hepatic microsomal enzymes in the rat. *Toxic. appl. Pharmac.*, 23, 1972, s. 112-122.

- LITTERST, C. L. — LOON, E. J. van: Time-course of induction of microsomal enzymes following treatment with polychlorinated biphenyls. Bull. envir. Contam. Toxicol., 1974, č. 11, s. 206-211.
- PÉLISSIER, M. A. — MANCHON, Ph. — ATTEBA, S. — ALBRECHT, R.: Quelques effets a moyen terme du lindane sur les enzymes microsomaux du foie chez le rat. Fd. Cosmet. Toxicol., 13, 1975, s. 437-440.
- RISEBROUGH, R. W. — RIECHE, P. — HERMAN, S. D. — PEAKALL, D. B. — KIRWEN, M. N.: Polychlorinated biphenyls in the global ecosystem. Nature, 220, 1968, s. 1098-1102.
- SANDERS, O. T. — KIRKPATRICK, R. L.: Effect of a polychlorinated biphenyls (PCB) on sleeping times, plasma corticosteroids and testicular activity of White footed mice. Envir. Physiol. Biochem., 1975, č. 5, s. 308-313.
- SELL, J. L. — DAVISON, K. L. — POONACHA, K. B.: Decrease aniline hydroxylase activity in Japanese quail to dietary DDT, Agric. Food Chem., 20, 1972, s. 553-557.
- STREET, J. C.: Organochlorine insecticides and the stimulation of liver microsome enzymes. Ann. N. Y. Acad. Sci., 160, 1969, s. 274-290.
- TURNER, J. C. — GREEN, R. S.: Effect of polychlorinated biphenyls on poultry. II. Induction of liver microsomal enzymes. N. Z. J. agric. Res., 19, 1976, s. 231-232.
- VILLENEUVE, D. C. — GRANT, D. L. — PHILLIPS, W. E. Y.: Modification of pentobarbital sleeping times in rats following chronic PCB's ingestion. Bull. envir. Contam. Toxicol., 1972, č. 7, s. 264-272.

Došlo dňa 12. 7. 1977

БОБАКОВА, Е. — АДАМЕЦ, О. — КОШУТЗКИ, Й. — ШАРНИКОВА, Б. (Научно-исследовательский институт птицеводства и селекции, Иванка-при-Дунае): **Индукция микросомных ферментов печени цыплят под действием некоторых стойких инородных веществ.** Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3): 157-163.

В опыте изучали изменения уровней микросомных протеинов, активности микросомной анилин-гидроксилазы и действия тиопентала в условиях подвержения действию производимого у нас типа полихлорированных дифенилов — Делора 103. Повышенная активность анилин-гидроксилазы и сокращение сна после дачи Тиопентала цыплятам, обработанным Делором 103, свидетельствуют о способности этого препарата к индукции микросомной печеночной ферментной системы уже в относительно низких дозах 5 мг кг⁻¹ корма. Ферментная индукция гепара оказывается важным фактором, который может непосредственно влиять на биотрансформацию разных биологически важных веществ в организме цыплят. полихлорированные дифенилы; микросомные ферменты печени; цыплята; Тиопентал

BOBÁKOVÁ, E. — ADAMEC, O. — KOŠUTZKÝ, J. — ŠÁRNIKOVÁ, B. (Poultry Research Institute, Ivanka pri Dunaji): *Induction of Hepatic Microsomal Enzymes in Chickens by the Action of Some Persistent Foreign Compounds.* Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3): 157-163.

Changes in the levels of microsomal proteins, in the activity of microsomal aniline hydroxylase, and in the effectivity of Thiopental were studied in chickens given the Czechoslovak-produced type of polychlorinated biphenyls — Delor 103. The increased activity of aniline hydroxylase and the decrease of Thiopental sleeping time in chickens exposed to the action of Delor 103 indicate that this preparation is able to induce liver microsomal enzymes in doses as low as 5 mg per kg of feed. The induction of liver microsomal enzymes appears to be an important factor, able to exercise a direct influence on the biotransformation of various biologically important substances in the organism of chickens.

polychlorinated biphenyls; hepatic micosomal enzymes; chickens; Thiopental

BOBÁKOVÁ, R. — ADAMEC, O. — KOŠUTZKÝ, J. — ŠÁRNIKOVÁ, B. (Institut für Geflügelforschung, Ivanka pri Dunaji): *Induktion mikrosomaler Sszyme der Kückenleber ausgelöst durch einige persistente Fremdstoffe.* Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3): 157-163.

Im vorliegenden Versuch wurden die Veränderungen der Niveaus der mikrosoma-

len Proteine, die Aktivität der mikrosomalen Anilin-Hydroxylase und die Wirksamkeit des Thiopentals unter den Bedingungen der Exposition von Kücken gegenüber dem bei uns erzeugtem Polychlordiphenyltyp Delor 103 untersucht. Die erhöhte Anilin-Hydroxylasenaktivität als auch die Verkürzung des Schlafs nach Verabreichung des Thiopentals bei den exponierten Kücken weist auf die Fähigkeit dieses Präparats hin, das mikrosomale enzymatische Lebersystem bereits bei relativ niedrigen Dosen von 5 mg kg^{-1} Futter zu induzieren. Die enzymatische Induktion erweist sich als bedeutsamer Faktor, die der Biotransformation verschiedener biologisch bedeutsamer Stoffe im Organismus der Kücken unmittelbar beeinflussen kann.

polychlorierte Biphenyle; mikrosomale Leberenzyme; Kücken; Thiopental

Adresa autorů:

Ing. Eugénia Bobáková, CSc., ing. Otto Adamec, CSc., MVDr. Jozef Košutský, CSc., ing. Božena Šárniková, Výskumný ústav chovu a šľachtenia hydiny, 900 28 Ivanka pri Dunaji

Výběr z přírůstků
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTIZ
z úseku veterinární medicína

Uvedené publikace je možné si vypůjčit osobně nebo písemně v ÚZLK, výpůjční oddělení, 120 56 Praha 2, Slezská 7. Výpůjční doba: pondělí až pátek od 9 do 18 hodin. U každé žádané publikace uveďte signaturu.

D 55.950/27

Patogeneze, diagnostika i profilaktika otrávení selskochozajstvennych životných.

Moskva, VASCHNIL 1976. 73 s. tab. (Otravy hospodářských zvířat — sborník / Otravy — hospodářská zvířata — ochrana a léčení — sborník / Hospodářská zvířata — otravy — patogenese — sborník — SSSR)

KROMANN, R. P. — WEIKEL, J. M. — FALEN, L. F. C 2.492/821
Nitrate toxicity in dairy and beef cattle.

Pullman (Washington), Coll. of agric. research center 1976. 4 s. 3 tab. Bulletin 821. (Skot — otravy — dusičnany)

SCHATEN, B.

E 38.066/95

Die Bestimmung des Bleigehaltes in Haar-, Knochen- und Grass-Proben als Beweis für eine Bleibelastung bei Rindern im Raum einer Blei- und Zinkhütte. Inaug.-Diss. d. Tierärztl. Hochschule Hannover.

Hannover, Tierhyg. Inst. 1975. 69 s. 1 obr. 6 tab. (Skot — srst — olovo — obsah — NSR — průmyslové oblasti — vliv — výzkum / Skot — kosti — olovo — obsah — NSR — průmyslové oblasti — výzkum / Pícniny — olovo — obsah — NSR — průmyslové oblasti — vliv — výzkum — disertační práce)

D 57.021/26

Ragwort.

Aberdeen, North of Scotland Coll. of agric. 1975. 6 s. College leaflet No 26. (Hospodářská zvířata — otravy — starček přímětník / Starček přímětník — pastviny — jedovatost — hubení)

TAURIGNAN, Ch.

D 38.168/1976/69

Les myopathies nutritionnelles des jeunes ruminants: etiologie, prophylaxie, traitement. Thèse devant l'Univ. Paul Sabatier de Toulouse.

Toulouse, n. vl. 1976. 111 s. 7 obr. příl. École nat. vétér. 1976/69. (Veterinární patologie — mladá zvířata — nemoci fyziologické — myopathie — výzkum — Francie — disertační práce)

REYNOLDS, G. E. — OLDFIELD, J. E.

D 38.943/157

White muscle and other selenium-responsive diseases of livestock.

Washington, U. S. Depart. of agric. 1976. 7 s. 2 obr. PWN 157. (Skot — nemoci z nedostatku výživy — selen)

NELSON, A. O. — BUSHNELL, R.

C 23.327/2924

Maintaining ram fertility.

Berkeley (California), Div. of agric. sciences 1976. 11 s. 7 obr. Leaflet 2924. (Berani — nemoci — plodnost — vztahy — výzkum / Berani — výživa — plodnost — vztahy — výzkum — USA)

VPLYV BIELKOVÍN Z KOŽIARSKEHO ODPADU NA TELOVÉ BIELKOVINY VTÁKOV

Š. Paulov, M. Gažo, D. Illéšová

PAULOV, Š. — GAŽO, M. — ILLÉŠOVÁ, D. (Prírodovedecká fakulta univerzity J. A. Komenského, Bratislava; Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Ivanka pri Dunaji): *Vplyv bielkovín z kožiarskeho odpadu na telové bielkoviny vtákov*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 165-168.

V laboratórnych podmienkach sme sledovali vplyv 7,0% a 3,5% podielu lúhových bielkovín, vyrobených podľa ČSP 133.077, v diéte na rastovú intenzitu japonských prepelíc (*Coturnix coturnix japonica*), ako aj na hladinu ich sérových bielkovín a keratínov v perí. U druhej generácie prepelíc vyživovaných takto upravenou diétou sme pozorovali zlepšenie rastu v poslednej fáze a výrazné vnútorné presuny v proteínovom spektre krvného séra. Elektroforézou na papieri a na polyakrylamidovom géli v krvnom sére pokusných prepelíc sme zistili relatívny pokles albumínov a gama globulínov a vzostup alfa a beta globulínov. Keratíny v perí sa pritom nemenili.

japonská prepelica; lúhová bielkovina; bielkoviny krvného séra; keratíny peria

Prehľbujúci sa nedostatok vysokohodnotných bielkovín pre výživu človeka i hospodárskych zvierat spôsobuje, že sa pozornosť obracia aj na dosiaľ nevyužitý zdroj bielkovín. U mnohých z nich chýbajú údaje o ich nutritívnej hodnote, ako aj o ich prípadnom nežiadúcom účinku na organizmus. V našich pokusoch s netradičnými zdrojmi kŕmnych bielkovín sme zistili v určitých fázach rastu nezmenený rastový účinok náhrady živočíšnych bielkovín lúhovými bielkovinami do 7 % v diéte na japonskej prepelici (*Coturnix coturnix japonica*). Pokladali sme za potrebné hlbšie skúmať prípadný účinok tohto preparátu na hladinu telových bielkovín. Vzhľadom na to, že bielkoviny krvi sú ovplyvnené rôznymi faktormi (Paulov, 1975), rozhodli sme sa ich sledovať, a to u prepelíc, ktoré boli už aj v rodičovskej generácii kŕmené pokusnými diétami.

MATERIÁL A METÓDY

Na pokusy sme použili 190 japonských prepelíc (*Coturnix coturnix japonica*) oboch pohlaví, ktoré boli kŕmené izoproteínovými diétami (*ad libitum* od 5. týždňa) v rodičovskej a čiastočne aj prarodičovskej generácii, líšiace sa len podielom skúmaných lúhových bielkovín. Kontrolná skupina „A“ dostávala plnohodnotnú kŕmnu zmes zostavenú z priemyselnej kŕmnej zmesi KR 1, doplnenú 7 % zmesi kazeínu a albumínu na 28 % N-látok (Woodard a i., 1973). Tieto bielkoviny boli v skupine

„B“ nahradené úplne, tj. 7 0/0 bielkovín pripravených podľa ČSP 133 077 (Blažej a i., 1975); v skupine „C“ boli nahradené na polovicu, tj. 3,5 0/0 (prepočítane na celú kŕmnu zmes). Vo veku 18 týždňov sa zvieratá vážili a z každej skupiny sa 12 zvierat usmrtilo dekapitáciou.

V krvnom sére sme zisťovali celkovú koncentráciu bielkovín, a to terčikovou metódou (Paulov, 1975) spočívajúcou vo vyfarbení bielkovín na papieri, v eluovaní farbiva a v kolorimetrovaní. Elektroforézou na papieri sme zisťovali v krvnom sére základné bielkovinné frakcie (Paulov, 1975), elektroforézou na polyakrylamidovom géli (Davis, 1964) sme robili detailnejšiu analýzu viacerých frakcií. Pri elektroforéze na papieri sme použili farbenie brómfenolovou modrou, eluovanie farbiva a jeho kolorimetrovanie. Pri elektroforéze na polyakrylamidovom géli sme frakcie farbili amidočernou 10 B, jednotlivé frakcie sme hodnotili eluovaním do 0,1 N NaOH a kolorimetrovaním eluátov, prípadne sme z elektroforetogramov vyhotovovali schémy (množstvo frakcie sa zvyrazňuje hustotou bodkovania).

Keratiný z peria sme izolovali do 8 M močoviny podľa Daya (1972), solubilné bielkoviny sme hodnotili elektroforézou na polyakrylamidovom géli.

VÝSLEDKY

Analýza variancie pre váženie v piatom až ôsmom týždni poukázala na vplyv diéty ($F = 16,21$) na hranici významnosti $P < 0,01$. Najvyššiu živú hmotnosť vo veku ôsmich týždňov dosiahla skupina „B“ s najvyššou náhradou živočišných bielkovín lúhovými bielkovinami (118 g), potom nasledovala skupina „C“ s nižším podielom lúhových bielkovín (111,25 g) a nakoniec kontrolná skupina „A“ (109,0 g).

I. Pomerné zastúpenie bielkovinových frakcií v krvnom sére troch skupín, určené elektroforézou na papieri — The relative proportions of protein fractions in the blood serum of three groups, as determined by paper electrophoresis

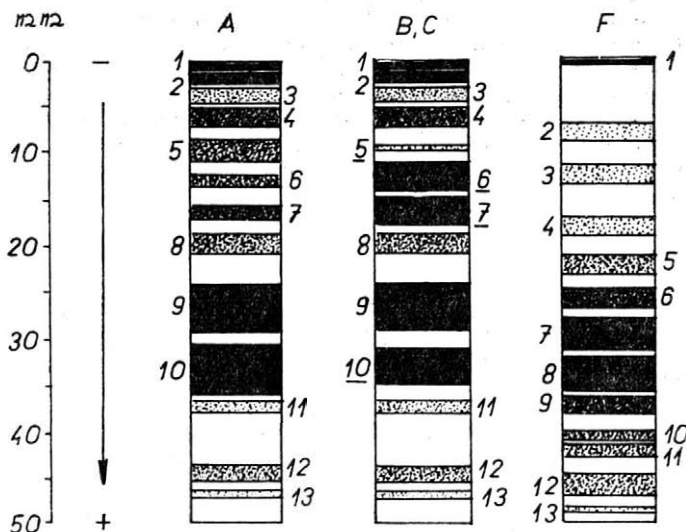
Výživa	Frakcia	Pomerné zastúpenie	Významnosť rozdielu (P)
A	Albumíny	44,3 ± 0,86	—
	alfa —	33,5 ± 0,67	—
	beta — glob.	15,4 ± 0,42	—
	gama —	6,8 ± 0,33	—
B	Albumíny	35,3 ± 0,57	<0,001
	alfa —	42,6 ± 0,78	<0,001
	beta — glob.	17,0 ± 0,33	<0,01
	gama —	5,1 ± 0,30	<0,002
C	Albumíny	40,3 ± 0,79	<0,002
	alfa —	35,9 ± 0,61	<0,02
	beta — glob.	19,0 ± 0,49	<0,001
	gama —	4,8 ± 0,30	<0,001

Relatívne hodnoty proteínových frakcií krvného séra uvádzame v tab. I. Z tabuľky vidieť, že u pokusných skupín prepelíc klesajú albumíny a gama globulíny, relatívne sa znižujú hladiny alfa a beta globulínov. Poznamenávame, že celková proteínémia bola rovnaká v krvnom sére u všetkých troch skupín (vzájomné porovnávanie extinkcií farebných roztokov).

Hodnoty proteínového séra, získané pomocou elektroforézy na polyakrylamidom géli, dokumentujeme graficky na obr. 1. U pokusných

skupín prepelíc sa výrazne znižuje komponent 5 a 10, frakcie 6 a 7 sa zvyšujú. Na tomto obrázku dokumentujeme aj elektroforetogram keratínov v perí, ktorý je zhodný pre všetky tri skupiny prepelíc.

1. Schéma elektroforetogramov krvného séra kontrolných (A) a pokusných prepelíc (B, C), ako aj elektroforetogramu keratínov peria (F) všetkých troch skupín vtákov (podľa elektroforetogramov získaných na polyakrylamidovom géli) — Blood serum electrophoreograms of the control (A) and experimental quail (B, C) and electrophoreograms of feather keratins (F) of all the three groups of birds (according to polyacrylamide gel electrophoreograms)



DISKUSIA

Výsledky rastového testu poukazujú, že nahradenie vysokohodnotných bielkovín (ako je zmes kazeínu a albumínu) úplne alebo čiastočne lúhovými bielkovinami pripravenými podľa ČSP 133.077 (hoci ovplyvnilo čiastočne negatívne rast do veku štyroch týždňov u starších zvierat) zlepšilo preukazne prírastky na hmotnosti v priamej závislosti od podielu lúhových bielkovín.

Zmeny v proteínovom spektre v krvnom sére prepelíc sú veľmi preukazné. So stúpajúcim podielom lúhovej bielkoviny v diéte podiel albumínov v sérových bielkovinách klesal a podiel alfabulínov stúpал. Podobný trend sme pozorovali v pokusoch s nízkobielkovinovými diétami, ktoré vyvolali u experimentálnych zvierat práve pokles albumínov a vzostup globulínových frakcií [Paulov, 1975].

Literatúra

- BLAŽEJ, A. — GALANTÍK, A. — MINAŘÍK, L.: Čs. patent č. 133.077. 1975.
 DAVIS, B. J.: Disc electrophoresis, II. Ann. N. Y. Acad. Sci., 121, 1964, s. 404.
 DAY, T. H.: Interspecific variation in the hair proteins. Comp. Biochem. Physiol., 43, 1972, s. 361.
 PAULOV, Š.: Homeostáza a adaptácia bielkovín krvného séra. Vydav. Univ. Komenského, Bratislava, 1975, s. 148.
 PAULOV, Š.: Spectra of feather keratins in poultry. Acta F. R. N. Univ. Comen., XX, 1976, s. 129.
 WOODARD, A. E. — ABLANALP, H. — WILSON, O. W. — VOHRA, P.: Japanese Quail, Husbandry in the Laboratory. Department of Avian Sciences, University of California, Davis, CA, 1973.

Došlo dňa 15. 2. 1977

ПАУЛОВ, Ш. — ГАЖО, М. — ИЛЛЕШОВА, Д. (Факультет природоведения университета им. Я. А. Коменского, Братислава; Институт физиологии сельскохозяйственных животных САН, Иванка-при-Дунае): Влияние белков из кожевенных отходов на телесные белки птиц. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 165-168.

В лабораторных условиях изучали влияние 7,0 % и 3,5 % доли выщелоченных белков, произведенных согласно ЧСП 133.077, в диете на интенсивность роста японских перепелок (*Coturnix coturnix japonica*), также как и на уровень их сывороточных белков и кератинов в перьях. У второго поколения перепелок, получавших такую диету, наблюдали улучшение роста в последней фазе и отчетливые внутренние сдвиги в протеиновом спектре сыворотки крови. Путем применения электрофореза на пуху и на полиакриламидном геле в сыворотке крови подопытных перепелок установили относительное снижение альбуминов и гамма-глобулинов и подъем альфа- и бета-глобулинов. Кератины в пере, однако, не менялись.

японская перепелка; выщелоченный белок; белки сыворотки крови; кератины перьев

PAULOV, Š. — GAŽO, M. — ILLEŠOVÁ, D. (Faculty of Science of the Comenius University, Bratislava; Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji): The Effect of Tannery Waste Proteins on the Body Proteins of Birds. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 165-168.

The effect of 7.0 % and 3.5 % proportion of lime protein, produced according to the patent CSP 133.077, in the diet was studied under laboratory conditions, as exerted on the growth rate of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) and on the level of serum proteins and keratins in the feathers of these birds. The second generation of quail fed this diet showed an improvement of growth at the final stage and significant internal changes in the protein spectrum of the blood serum. Electrophoresis on paper and on polyacrylamide gel revealed a relative drop of albumins and gamma globulins, and a rise of alpha and beta globulins in the blood serum. Keratins showed no changes in feathers.

Japanese quail; lime protein; blood serum protein; feather keratins

PAULOV, Š. — GAŽO, M. — ILLEŠOVÁ, D. (Naturwissenschaftliche Fakultät der J. A. Komenský-Universität, Bratislava; Institut für Physiologie der Haustiere der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Ivanka pri Dunaji): Einfluß der Proteine aus Abfällen der Lederindustrie auf die Körperproteine von Vögeln. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 165-168.

Unter Laborbedingungen wurde der Einfluß eines 7 und 3,5 prozentigen Anteils von nach der ČSP-Norm 133.077 erzeugten Laugeproteinen in der Diät auf die Wachstumsintensität japanischer Wachteln (*Coturnix coturnix japonica*) sowie auch das Niveau deren Serumproteine und Keratine in den Federn untersucht. Bei der zweiten Generation dieser Wachteln, die mit der aufgeführten Diät ernährt wurden, wurden eine Verbesserung des Wachstums in der letzten Phase und ausgeprägte innere Verschiebungen im Proteinspektrum des Blutserums festgestellt. Bei der Papierelektrophorese und der Elektrophorese auf Polyakrylamidgel wurde im Blutserum der Versuchswachteln eine relative Abnahme der Albumine und Gammaglobuline und Zunahme der Alpha- und Betaglobuline festgestellt. Die Keratine in den Federn veränderten sich dabei nicht.

japanische Wachtel; Laugenprotein; Blutserumproteine; Federkeratine

Adresa autorů:

Doc. RNDr. Štefan Paulov, CSc., Prírodovedecká fakulta univerzity Komenského, Moskovská 2, 800 00 Bratislava

Doc. RNDr. ing. Miroslav Gažo, DrSc., ing. Dana Illéšová, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, 900 28 Ivanka pri Dunaji

BIOCHEMICKÉ A HEMATOLOGICKÉ ZMĚNY V KRVÍ KONÍ PO DOSTIHU „VELKÁ PARDUBICKÁ“

J. Komárek, V. Matoušek, L. Jadrný

KOMÁREK, J. — MATOUŠEK, V. — JADRŇÝ, L. (Státní veterinární ústav, Pardubice; Plemenářský podnik, Kladruby nad Labem; Ústřední biochemická laboratoř, OÚNZ, Pardubice): *Biochemické a hematologické změny v krvi koní po dostihu „Velká pardubická“*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 169-174.

Byly sledovány hodnoty krve u dvou skupin koní v rámci dostihů „Velká pardubická“ v letech 1974, 1975 a 1976. Mnohonásobně se zvýšily po dostihu hladiny laktátu, zvýšila se hodnota glukózy, sodíku, draslíku, hemoglobinu, počtu červených krvinek; výrazně se snížily hodnoty acidobazické rovnováhy — pH, base excess, bikarbonáty. Bylo prokázáno, že hodnoty stejných ukazatelů u koní v tréninku jsou neporovnatelně nižší. Bylo by nutné věnovat více pozornosti vyšetření koní v tréninku a výsledky tréninku využít k hodnocení stavu koně před těžkými dostihy.

dostih Velká pardubická; zátěž; zvýšení laktátu; změny acidobazické rovnováhy; stupeň trénovanosti

Zátěž, zejména při vrcholných sportovních soutěžích, způsobuje výrazné změny oběhové a změny vnitřního prostředí organismu. Změny po zátěžích tohoto typu jsou využívány k hodnocení dosažených výkonů a k plánovité přípravě sportovců. V posledních letech se stále častěji objevují práce, které se snaží využít podobných výsledků u sportovních a dostihových koní. Práce hodnotí nejen změny oběhové (např. ekg), ale i změny biochemické. Sledovali jsme některé biochemické a hematologické změny nejen u koní v tréninku, ale také v rámci dostihu „Velká pardubická“.

Literární citace v tomto oboru se většinou shodují v tom, že největší změny po dostihu jsou v hodnotách laktátu, acidobazické rovnováhy a v hematologických ukazatelích. Desetinásobnou hodnotu hladiny laktátu po různé velké zátěži sportovních koní uvádějí Krzywanek aj. (1972). Koně běželi rychlostí 300 m min⁻¹, 450 m min⁻¹, 600 m min⁻¹, hladiny laktátu se s postupně se zvyšující rychlostí zvýšily až na desetinásobek. U glukózy naopak uvádějí, že došlo k mírnému poklesu. Koně ve cvalu s finišem měli hladiny laktátu 40× až 50× vyšší než byly výchozí hodnoty (Krzywanek a Wittke, 1970). U koní v tréninku zjišťovali Aleksejev a Polozkov (1976) pětinašobné zvýšení laktátu, pyruvát se zvýšil 1,5× a poměr laktát : pyruvát se také zvýšil. Podobné výsledky u laktátu, pyruvátu i v poměru laktát : pyruvát popsali Aitken aj. (1974). Milne aj. (1976) zjistili, že se u koní v dlouhodobém tréninku hodnoty laktátu postupně snižují. Zatímco v krvi zjišťovala většina autorů, že se hodnoty laktátu zvyšují, Lindholm a Piehl (1974) našli ve svazech sportovních koní po zátěži hodnoty laktátu snížené. Podob-

né výsledky u krys popsala Vacíková (1975). Výrazné rozdíly byly zjišťovány v hodnotě acidobazické rovnováhy krve. Hluboký pokles hodnoty pH v šes-
t minutě po zátěži uvádějí Krzywaneck aj. (1976), za šedesát minut
od zátěže zjistili postupné vyrovnání pH do původní hodnoty. Podobně jako u lak-
tátu, i u hodnoty pH měl pravidelný trénink kladný vliv. (Milne aj., 1976). V po-
čáteční fázi tréninku bylo pH 7,0, pCO₂ bylo sníženo, 41. den po tréninku byla hod-
nota pH 7,1, hodnota pCO₂ se zvyšovala. Podobné nálezy učinili i Doll a Keul
(1968), kteří sledovali osoby trénované a netrénované. Zatímco u trénovaných se
hodnota pH po tréninku snížila na 7,317, u osob netrénovaných poklesla až na 7,164.
Ještě výrazněji se u osob netrénovaných zvýšila hodnota pCO₂ a base excess. Ga-
briš aj. (1976), kteří sledovali některé biochemické změny u sportovních koní, po-
psali výrazné snížení glukózy. Engelhardt aj. (1970) zjistili, že se po zátěži
u sportovních koní zvýšily hladiny hemoglobinu z výchozích 11,9 g na 100 ml na
14,4 g na 100 ml, po cvalu pak na 19,5 g na 100 ml. Verner aj. (1966) udávají nej-
větší hodnotu hemoglobinu po pětiminutovém cvalu, poněkud nižší po pětiminutovém
klusu (17,5 g na 100 ml, resp. 14,6 g na 100 ml). Podobné zvýšení hemoglobinu a he-
matokritu po dobu remontního výcviku uvádějí Klein a Kroupová (1976).

METODA

Při „Velké pardubické“ jsme sledovali některé koně startující v rámcových
dostizích a ve vlastním steeple-chase Velká pardubická. Rozdělili jsme je do dvou
skupin: první byli koně startující v rámcových dostizích, ve druhé koně startující
v dostihu Velká pardubická. Dostih Velká pardubická je nejtěžší překážkový dostih
kontinentu, je dlouhý 6900 m má 32 překážky (lehké, těžké — Taxisův příkop,
íráská lavice). Rámcové dostihy jsou převážně steeple-chase na vzdálenost 3200 m
až 5600 m se středně těžkými překážkami.

U koní jsme sledovali hladiny laktátu a glukózy, hodnoty acidobazické rovno-
váhy krve, sodíku, draslíku, hemoglobinu, hematokritu a počtu červených a bílých
krvinek. Krev jsme odebírali před dostihem v klidu a těsně po dostihu. Průměrná
doba odběru krve po dostihu byla kolem 2,5 min.

V r. 1974 jsme sledovali csm koní v první skupině, dva koně ve druhé skupině,
v r. 1975 devět koní v první a tři koně ve druhé skupině, v r. 1976 pět koní v prv-
ní a dva koně ve druhé skupině. Krev byla odebírána z *v. jugularis*. Hodnoty acido-
bazické rovnováhy byly změřeny v den dostihu (tj. asi za hodinu po doběhu po-
sledního dostihu), ostatní hodnoty byly stanoveny další den; v den odběru bylo od-
středěno krevní sérum. Laktát byl stanoven testem fy. Boehringer, glukóza ortho-
toluidinem, sodík a draslík na plamenném fotometru, hodnoty acidobazické rovno-
váhy na přístrojích Astrup a Radelkis, hematologické hodnoty běžnou metodikou.

Podobně jsme sledovali dva koně v tréninku.

Dosažené výsledky jsme zpracovali do tabulek a grafů.

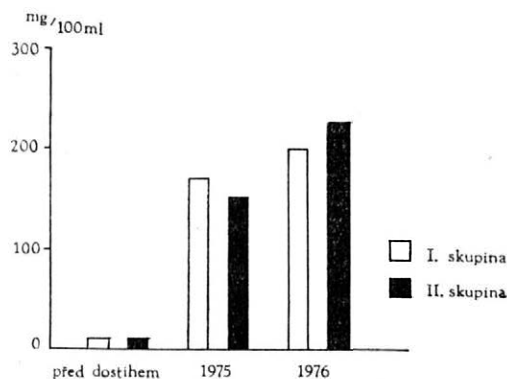
I. Koně v tréninku — Horses during training

	Kůň	Před tréninkem	Po tréninku
Laktát (mg na 100 ml)	I. D.	8,1 10,7	11,7 12,0
Gluk/za (mg na 100 ml)	I. D.	88,0 96,0	112,0 100,0
Hemoglobin (g na 100 ml)	I. D.	14,9 15,7	19,7 18,5
Hematokrit	I. D.	45 46	56 55

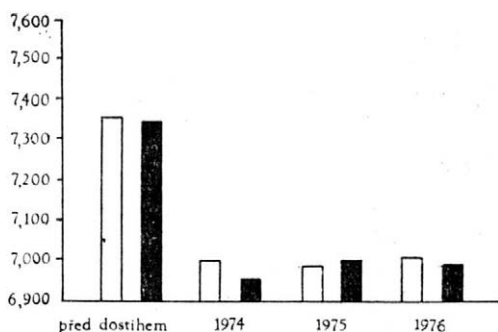
Při jednorázovém sledování dvou koní v přípravě nebyly zjištěny podstatné odchylky od hodnot považovaných za „normálové“. Mírně se sice zvýšil laktát, glukóza, hemoglobin a výrazněji hematokrit, v porovnání s hodnotami po dostizích jsou však tyto hodnoty nesrovnatelně nižší (tab. I).

V obou skupinách koní sledovaných v rámci dostihů byly zjištěny výrazné odchylky od výchozích hodnot. Došlo k vysokému zvýšení laktátu, zvýšily se hodnoty glukózy, hemoglobinu a hematokritu, výrazně se zvýšil také počet červených krvinek. Byl zaznamenán výrazný pokles pH, base excess, standardního i aktuálního bikarbonátu, zvýšil se $p\text{CO}_2$ (parciální tlak CO_2). Stejně se zvýšily i hladiny natria a kalia. Na obr. 1 je znázorněno zvýšení hladin laktátu, které bylo více než dvacetinásobné v porovnání s výchozí hodnotou, což svědčí o anaerobním metabolismu a hromadění kyseliny mléčné ve svaích. Zvýšení laktátu bylo zjištěno u obou sledovaných skupin (1975, 1976).

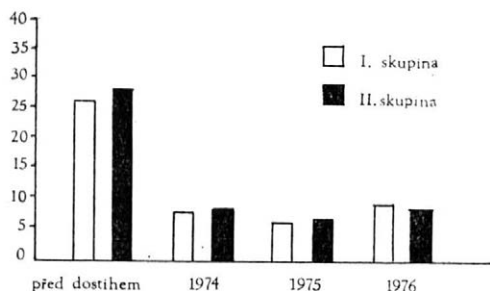
Hodnoty acidobazické rovnováhy krve koní po dostizích byly změněny tak výrazně, jako dosud v žádném námi sledovaném případě. V porovnání s humánní medicínou lze hovořit o tom, že jsou to hodnoty kritické.



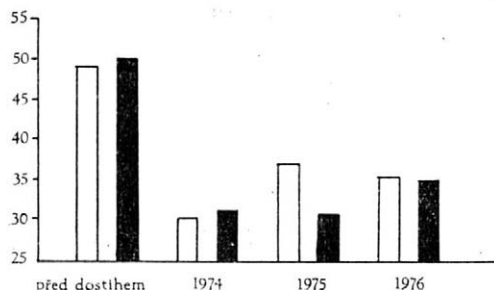
1. Změny v hladinách laktátu — Changes in lactate levels



2. Změny v hodnotách pH — Changes in pH values



3. Změny v hladinách standardního bikarbonátu — Changes in the levels of standard bicarbonate



4. Změny v hodnotách $p\text{CO}_2$ — Changes in $p\text{CO}_2$ levels

Změny v hodnotách pH, bikarbonátů a $p\text{CO}_2$ jsou zakresleny na obr. 2, 3 a 4.

Změny v hladinách base excess, glukózy, sodíku a draslíku, hemoglobinu, hematokritu, červených a bílých krvinek jsme shrnuli do tab. II.

II. Změny v hladinách base excess, glukózy, sodíku, draslíku, hemoglobinu, hematokritu, červených a bílých krvinek (průměrné hodnoty) — Changes in the levels of base excess, glucose, sodium, potassium, haemoglobin, haematocrit, erythrocytes and leucocytes (average values)

	Před		1974		1975		1976	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.
Base excess	+1	+1,5	mimo	mimo	mimo	mimo	-18,4	-19,2
Glukóza (mg na 100 ml)	77,0	79,0	—	—	172,0	178,0	155,0	270,0
Natrium (mekv l^{-1})	136	136	143	148	158	150	140	143
Kalium (mekv l^{-1})	4,0	4,0	5,8	5,7	5,7	5,7	4,8	4,7
Hemoglobin (g na 100 ml)	—	—	—	—	22,3	20,2	24,8	22,4
Hematokrit	—	—	—	—	62	54	60	64
Červené krvinky (v mil./mml)	—	—	—	—	9,730	10,800	14,00	12,9
Bílé krvinky (v tis./mml)	—	—	—	—	7,15	4,6	9,3	7,7

Vysvětlivka: mimo — nelze odečíst z nomogramu

DISKUSE

Porovnáme-li literární citace sledující zátěž u sportovců, sportovních koní, prasat, psů a krys, můžeme konstatovat, že se naše výsledky z dostihu „Velká pardubická“ podstatně neliší. I když stupně zátěže byly rozdílné, potvrdili jsme, stejně jako Krzywanek aj. (1972), Krzywanek, Wittke (1970) a Milne aj. (1974) výrazný, více než dvacetinásobný vzestup laktátu. Ačkoliv dostih Velká pardubická je podstatně náročnější než rámcové dostihy (skupina I.), nebyly hodnoty laktátu ani jiných ukazatelů podstatně nižší. Je možné uvažovat o tom, že při zvýšené námaze se organismus adaptuje na vyšší námahu (např. u sportovců tzv. „druhý dech“) a nedochází k výraznému ovlivnění hodnot, i když (jak ukazuje vzestup laktátu) se jedná o výrazný anaerobní metabolismus.

Jednoznačně byly potvrzeny změny týkající se hodnot acidobazické rovnováhy (Doll, Keul, 1968; Krzywanek aj., 1972; Bartko aj., 1975). Ukazuje se tu přímá souvislost laktát — acidóza. Nejméně změněné hodnoty acidobazické rovnováhy u vítěze Velké pardubické v r. 1975 signalizují pravděpodobně vhodný trénink koně před závody, jak zjišťovali ve své práci Doll a Keul (1968). Vzestup hodnot hemoglobinu, hematokritu a počtu červených krvinek signalizuje stoupající viskozitu krve a je v souladu s pracemi Engelhardta aj. (1970), Verner a aj. (1966), Kleina a Kroupové (1976).

I když v našich výsledcích byla většina získaných hodnot výrazně ovlivněna, je ještě třeba objasnit další získané výsledky, zejména pak je porovnávat s výsledky dosahovanými v tréninku. Cílem by mělo být, aby v porovnání s hodnotami v tréninku bylo možné alespoň přibližně charakterizovat stupeň trénovanosti sportovního koně. Vzhledem k náročnosti dostihů, zvláště Velké pardubické, nelze však očekávat, že výsledky lze použít v plném rozsahu, poněvadž tu velkou roli hraje i otázka štěstí (překonání překážek), stejně jako psychická pohoda jezdce.

Literatura

- AITKEN, M. M. — ANDERSON, M. G. — MC KENZIE, G. — SANFORD, J.: Correlations between physiological and biochemical parameters used to assess fitness in the horse. *Jl. S. Afr. vet. med. Ass.*, 45, 1974, č. 4, s. 361-370.
- ALEKSEJEV, M. J. — POLOZKOV, A. J.: Kliniko-biochemické ukazatele v vosstanovitelný period. *Veterinarija*, 6, 1976, s. 98-99.
- BARTKO, P. — MICHNA, A. — CHYLA, M. — VRZGULA, L.: Vplyv fyzického zaťaženia na hodnoty indexov acidobazickej homeostázy krvi ošipovaných. *Vet. Med.*, Praha, 20, 1975, č. 6, s. 339-346.
- DOLL, E. — KEUL, J.: Zum Stoffwechsel des Skelettmuskels. II. Sauerstoffdruck, Kohlensäurendruck, pH, Standardbicarbonat und base excess im venöses Blut der Arbeitender Muskulatur, *Pflügers Arch.*, *Eur. J. Physiol.*, 1968, č. 3, s. 214-229.
- ENGELHARDT, W. — EHRLEIN, H. J. — HÖRNICKE, H.: Hemoglobinkonzentration, Sauerstoffgehalt des Blutes bei Zucht- und Sportpferden im unterschiedlichen Trainingszustand. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, 83, 1970, č. 12, s. 229-234.
- GABRIŠ, J. — ĐURAN, A. — BUČKO, S.: Hladina glukózy v krvi koní po zátěži. *Bulletin Výzkumné stanice pro chov koní, Slatiňany*, 26, 1976, s. 75-78.
- KLEIN, Z. — KROUPOVÁ, V.: Odraz fyzické zátěže na některých krevních ukazatelích u koní. *Bulletin Výzkumné stanice pro chov koní, Slatiňany*, 26, 1976, s. 61-68.
- KRZYWANIEK, H. — WITTKE, G.: Parameter des Energiestoffwechsels und das Sauerstofftransport bei Vollblutrennpferden, *Int. Z. angew. Physiol.*, 28, 1970, č. 3, s. 228-238.
- KRZYWANIEK, H. — SCHULTZE, A. — WITTKE, G.: Das Verhalten einiger Blutparameter bei Trabrennpferden nach definierter Belastung. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, 83, 1972, č. 17, s. 325-329.
- KRZYWANIEK, O. — MILNE, D. W. — GABEL, A. A. — SMITH, L. G.: Acid-base values of standardbred horses recovering from strenuous exercise, *Am. J. vet. Res.*, 37, 1976, č. 3, s. 291-294.
- LINDHOLM, A. — PIEHL, K.: Fibre composition, enzyme activity and concentrations of metabolites and electrolytes in muscles of standardbred horses. *Acta vet. scand.*, 15, 1974, č. 1, s. 287-309.
- MILNE, D. W. — SKARDA, R. T. — GABEL, A. A. — SMITH, L. G. — AULT, K.: Effects of training on biochemical values in standardbred horses. *Am. J. vet. Res.*, 37, 1976, č. 3, s. 285-290.
- VACÍKOVÁ, H.: Rozloženia kalia a metabolismus glykogénu pri svalovej záťaži u krýs. II. Zmeny svalového a pečeneového laktátu. *Bratisl. Lek. listy*, 63, 1975, č. 1, s. 72-78.
- VERNER, W. — MIX, H. — MÜLLER, J.: Die Veränderungen der Zellwerte und einiger biochemischer Daten des Blutes bei Sportpferden im Schritt, Trab und Galopp. *Arch. exp. VetMed.*, 20, 1966, č. 2, s. 417-426.

Došlo dne 17. 3. 1977

КОМАРЕК, Й. — МАТОУШЕК, В. — ЯДРНЫ, Л. (Государственный институт ветеринарии, Пардубице; Государственный племенной рассадник, Кладрубы-на-Лабее; Центральная биохимическая лаборатория, Районная поликлиника, Пардубице): Некоторые биохимические и гематологические изменения в крови лошадей после скачек «Большой пардубицкий стипль-чез». *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978 (3): 169-174.

Изучали значения крови у двух групп лошадей в рамках скачек «Большой пардубицкий

стипель-чез» в 1974, 1975 и 1976 годах. После скачек многократно повысился уровень лактата, возросли значения глюкозы, натрия, калия, гемоглобина, гематокрита, числа красных кровяных телец; заметно понизились уровни кислотно-щелочного равновесия — pH, эксцессного основания, бикарбонатов. Доказано, что значения тех же показателей у лошадей на тренинге несравненно ниже. Следовало бы уделять больше внимания обследованию лошадей на тренинге и результаты тренинга использовать для оценки состояния лошади перед трудными скачками.

скачки «Большой пардубицкий стипль-чез»; нагрузка; повышение лактата; изменения кислотно-щелочного равновесия; степень тренированности

KOMÁREK, J. — MATOUŠEK, V. — JADRŇÝ, L. (State Veterinary Institute, Pardubice; Breeding Enterprise, Kladruby nad Labem; Central Biochemical Laboratory of the District Health Centre, Pardubice): *Some Biochemical and Haematological Changes in the Blood of Horses after the "Velká Pardubická" Steeple-Chase*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 169-174.

Blood parameters were studied in two groups of horses in the "Velká Pardubická" steeple-chase in 1974, 1975 and 1976. After the race, the levels of lactate showed a manifold increase; an increase was also ascertained in the levels of glucose, sodium, potassium, haemoglobin, in the haematocrit value and in the number of erythrocytes. The following parameters significantly dropped: the levels of acid-base balance — pH, base excess, bicarbonate levels. It was proved that the values of the same parameters in horses during training were incomparably lower. It is advisable to examine horses thoroughly during training and to use the results of training for the evaluation of their condition before difficult races.

Velká Pardubická steeple-chase; stress; increase of lactate level; changes in acid-base balance; degree of training undergone

KOMÁREK, J. — MATOUŠEK, V. — JADRŇÝ, L. (Staatliche Veterinäranstalt Pardubice; Zuchtbetrieb Kladruby nad Labem; Biochemische Zentrallaboratorium, OÜNZ, Pardubice): *Einige biochemische und hämatologische Veränderungen im Blut der Pferde nach dem „Großen Pardubitzer“ Rennen*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 169-174.

Es wurden die Blutwerte bei zwei Pferdegruppen im Rahmen der Großen Pardubitzer Rennen in den Jahren 1974, 1975 und 1976 verfolgt. Nach dem Rennen erhöhten sich mehrfach die Laktatniveaus sowie die Werte der Glukose, des Natriums, des Kaliums, des Hämoglobins, des Hämatokrits und der Erythrozytenanzahl, während sich die Niveaus des azidobasischen pH-Gleichgewichtes, ferner die Base-excess- und die Bikarbonatwerte verringerten. Es wurden unvergleichlich niedrigere Werte derselben Kennziffern bei Pferden im Training nachgewiesen. Eine größere Aufmerksamkeit sollte den Untersuchungen der Pferde während des Trainings gewidmet werden und die Ergebnisse des Trainings sollten zur Bewertung des Zustandes der Pferde vor schweren Rennen ausgenutzt werden.

Das Große Pardubitzer Rennen; Belastung; Laktaterhöhung; Veränderungen des azidobasischen Gleichgewichts; Grad des Trainierens

Adresa autorů:

MVDr. Jan Komárek, MVDr. Vladimír Matoušek, MUDr. Lubomír Jadrný, CSc., Státní veterinární ústav, Štrossova 57, 530 03 Pardubice

K. Štros, K. Křivanec, J. Komárek, B. Malinský

ŠTROS, K. — KŘIVANEC, K. — KOMÁREK, J. — MALINSKÝ, B. (Okresní veterinární zařízení, Pardubice; Parazitologický ústav ČSAV, Praha; Státní veterinární ústav, Pardubice): *Hromadný výskyt dermatofytózy koní vyvolaný houbou Trichophyton equinum*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 175-184.

Je popsána enzoocie dermatofytózy v chovu koní, vyvolaná mikroskopickou houbou *Trichophyton equinum*. Onemocnění postihlo 32 koně téhož chovu (74,4 %) — převážně mladá zvířata. Nemocní koně byli s úspěchem léčeni preparátem Fenoform forte v povrchové aplikaci při 0,5% koncentraci účinné látky. Autoři se pokusili stanovit kritéria pro klinickou diferenciaci plně rozvinuté trichofýcie a mikrospórie koní. Trichofýcií (*T. equinum*) charakterizují jako typická četná malá a kruhovitá ložiska, pokrytá drobnými, otrubovitými, asbestovitě zbarvenými šupinkami. Mikrospórií (*M. equinum*) v adekvátní formě charakterizují nepravidelně ohraničená ložiska, mnohdy splývající (15 × 20 cm), výrazná deskvamace a nakupení velkých, vápnově bílých šupin pevně adherujících ke spodině. Pro přesné ověření etiologie nákazy se doporučuje mikroskopická a kulturní examinační.

povrchové mykózy; *Trichophyton equinum*; *Microsporum equinum*; Fenoform forte

Trichofýcie patří mezi dermatofytické zoonózy, které se u koní v současné době nevyskytují často. Jejich hromadné výskyty v armádních chovech koní již patří minulosti. Sporadicky se dermatofytózy objevují v různých typech chovů a postihují většinou jednotlivá zvířata nebo malé skupiny koní. V našich podmínkách vyvolávají dermatofytózy u těchto hospodářských zvířat především druhy *Trichophyton equinum* a *Microsporum equinum*, zatímco ostatní druhy, jako *T. verrucosum* a *T. mentagrophytes*, se uplatňují jen ve zcela ojedinělých případech.

V Československu byly popsány dermatofytózy koní již v mnoha případech (Otčenášek aj., 1962; Buchvald, 1964; Buchvald a Sedláček, 1969; Otčenášek aj., 1975; Štros aj. 1976). Hromadný průběh dermatofytózy v chovu koní přináší chovateli značné přímé i nepřímé ztráty, vyplývající z nákladů na celý komplex protinákazových opatření, z omezení přesunů postižených zvířat apod. Moderní způsoby léčby a protiepidiotická opatření však představují účinné prostředky eradikace a likvidace dermatofytóz v postižených chovech koní.

V předloženém sdělení jsme se pokusili shrnout své zkušenosti klinické, laboratorně-diagnostické i terapeutické, které jsme získali v zamořeném chovu koní od doby, kdy bylo zjištěno onemocnění až po úplnou likvidaci enzoocie.

V letních měsících r. 1975 jsme byli upozorněni na hromadné kožní onemocnění dospělých koní a hříbat v chovu S. (Východočeský kraj). V této souvislosti jsme byli rovněž požádáni o odborné dermatologické vyšetření postižených zvířat, jakož i o jejich ošetření a léčbu.

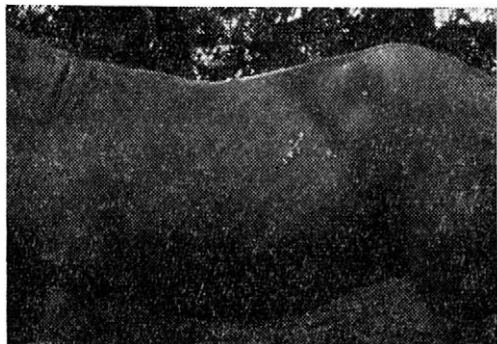
V postiženém hospodářství byly v té době ustájeny celkem 43 koně (2 plemenní hřebci, 6 plemenných klisen, 21 hříbě a 14 dvouletých až tříletých koní). U všech zvířat jsme udělali důkladnou dermatologickou kontrolu — klinické vyšetření, fotodokumentaci ložisek a odběr materiálu k mykologickému vyšetření. Zvířata byla ustájena vazně (klisny a hřebci) a volně ve třech oddělených boxech s hlubokou podestýlkou (hříbata). Stavebním materiálem v boxech bylo dřevo, méně kovový materiál. Pastvina, na kterou byla hříbata dvakrát denně vypouštěna, byla rovněž hrazena dřevem.

K mykologickému vyšetření byly z lézí nemocných koní odebrány kožní šupiny a epilovaná srst. Odebraný materiál byl jednak mikroskopován po projasnění v 20% KOH a zároveň i kultivován na Mycobiotic agaru (Difco) = Sabouraudův dextrózový agar s chloramfenikolem a cykloheximidem. Získané izoláty původce onemocnění byly po přeočkování na samotný Sabouraudův dextrózový agar (SDA) bez antibiotik dále studovány a determinovány.

Postižená zvířata byla léčena dostupnými tuzemskými preparáty. K likvidaci onemocnění byl použit Mycoceton spray (Spofa) obsahující hexachlorofen (5%) a kyselinu undecylénovou (15%). Dále byl použit Myco-Decidin spray (Spofa), obsahující v 3% koncentraci 2-amino-tridekan-2-chlor-4-nitrofenolát, a konečně i Fenoform forte (Spolana), obsahující 10% gama izoméru hexachlórscylohexanu v organických rozpustidlech a medicínální vazelinový olej s přídavkem emulgátoru a kresolu. K dezinfekci stájí byl použit i Lastanox Q1 (Lachema) s 15% koncentrací TBTO.

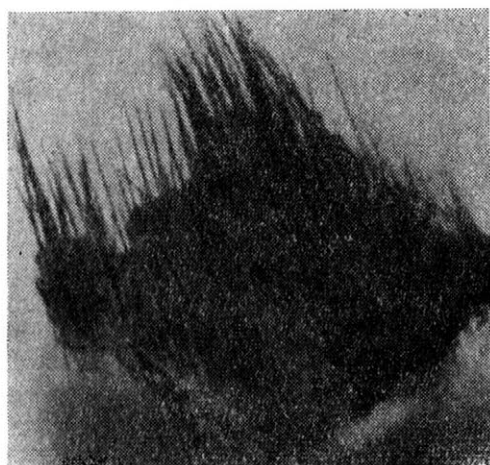
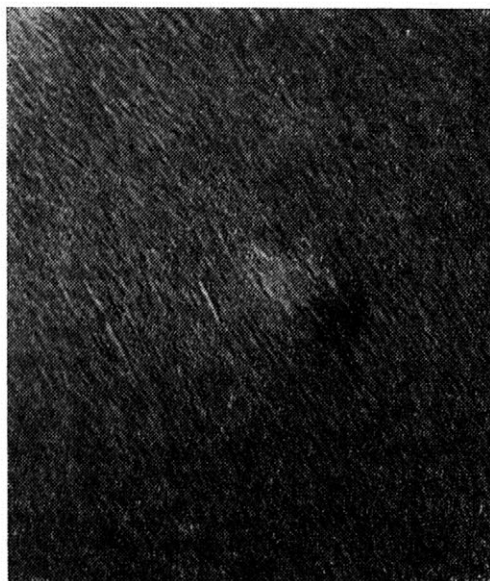
VÝSLEDKY

V polovině června se náhle objevilo u několika pravidelně sedlaných koní uvedeného hospodářství kožní onemocnění. Projevovalo se kopřivkovitou vyrážkou s výraznou ztrátou srsti v dolní třetině hrudníku až do krajiny kosti hrudní a dále ohraničeně pod podbřišníkem a v jeho okolí. Chorobným změnám však nebyla věnována náležitá pozornost, léze byly přičítány traumatizaci způsobené popruhy, bodavým hmyzem, potem apod. Teprve po zjištění kopřivkovité vyrážky a alopetických ložisek na jiných místech těla koní a při současném zjištění choroby i u hříbat byli všichni ustájení koně odborně dermatologicky vyšetřeni. Ze 43 vyšetřených koní bylo zjištěno zjevné onemocnění u 32 koní (74,4%), přičemž po enzootickém vzplanutí dermatofytózy onemocněla všechna zvířata do dvou let věku.



1. — 2. Charakteristické dermatofytické léze u koní — Characteristic dermatophytic lesions in horses

Na postižených koních byla nalezena četná kruhovitá nebo mírně oválná ložiska, která dosahovala v průměru 5 až 25 mm, zcela výjimečně byla větší (obr. 1 a 2). U sedlaných koní byla nejčastěji v krajině podbřišníku a v jeho okolí, především v dolní polovině hrudníku. Ojediněle se léze vyskytovaly i na lopatce, laterální straně krku a na bedrech. Po určitém čase byla zjišťována ložiska i na ušních boltcích,



popisy k obrázkům na další straně



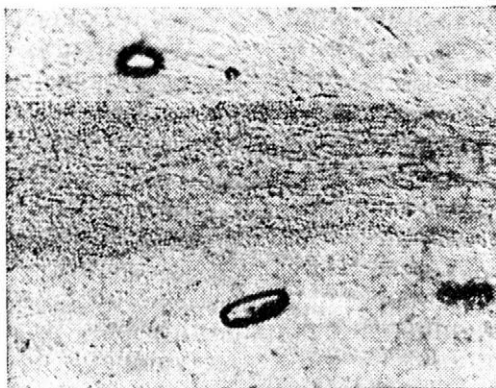
3. — 7. Dynamika vývoje dermatofytických ložisek (*T. equinum*) — Dynamics of the development of dermatophytic lesions (*T. equinum*)

hřbetu nosu, lícni krajině, mediální ploše předloktí, prsou, hrudníku, bocích, bedrech, zádi a v mezinoží.

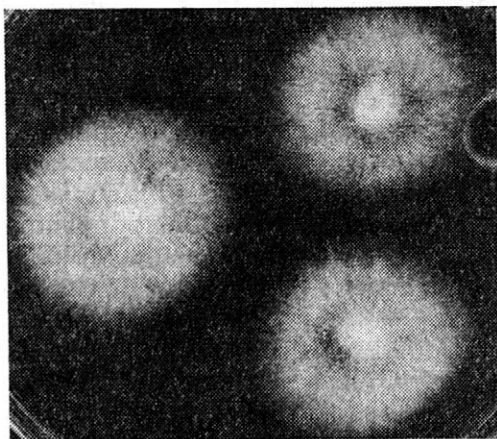
Klinická charakteristika kožních lézí měla pravidelnou dynamiku vývoje. Téměř na každém jedinci bylo možné zjistit různá stadia chorobných změn. Na napadených místech se nejprve mírně nadzvedla srst a vytvořila se papula (obr. 3). Srst ze zasažených míst se nesnadno odlučovala. Dále se uvolňovaly povrchové části kůže (obr. 4) s celými nebo již ulámanými chlupy (obr. 5). Až do této fáze nebyla zjišťována deskvamace pokožky ani zánětlivý výpotek. Po odloučení části kůže se srstí se ložisko pokrylo slabou vrstvou otrubovitých drobných šupinek (obr. 6 a 7). V místech, kde se uplatnila zvýšená traumatizace nemocné kůže, především v okolí podbřišníku u sedlaných koní a na hlavě koní a hříbat, se objevila největší produkce asbestovitě zbarvené, otrubovité deskvamace, kombinované zasychajícím exsudátem.

U dospělých koní se onemocnění projevovalo bez nápadné tendence generalizovat či výrazněji alterovat celkový zdravotní stav koní. U hříbat, zvláště pak u ryzáků, byla zjištěna celková zřetelná tendence ke generalizaci patologického procesu na kůži u 81 % nemocných.

V mikroskopických preparátech epilované srsti byly po projasnění pozorovány na folikulárních částech chlupů mozaikovitě uspořádané pochvy větších spór, měřících 3,0 až 5,5 μm (obr. 8). Při kultivačním pokusu byl získán izolát původce onemocnění (obr. 9). Kolonie dermatofyta dosahovaly po desetidenní kultivaci při teplotě 26 °C na SDA v průměru 40 až 45 mm. Byly ploché, moučnatě poprášené, v centru slabě okrově zbarvené. Okrajová část byla šedobílá, krátce chmýřitá. Centrum kolonií bylo nepravidelně rozděleno krátkými radiálními rýhami. Okraj kolonií tvořil paprskovitě vybíhající lem submerzního myčelia. Hnědočervené zbarvení centra spodiny, které slabě prostupovalo i ve zbarvení povrchu, přecházelo na okrajích v pomerančově žlutou zónu.



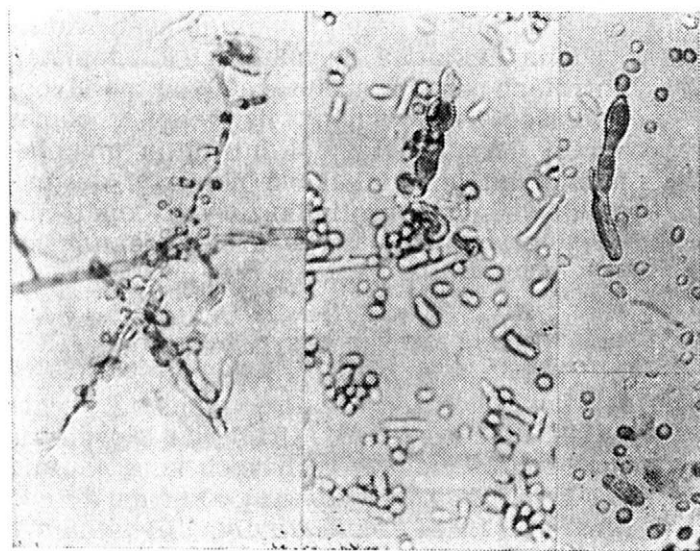
8. Chlup koně parazitovaný dermatofytem *T. equinum* (zvětš. 250 $\times$) — A horse hair harbouring the parasitic dermatophyte *T. equinum* (enlarged 250 times)



9. Desetidenní kolonie mikroskopické houby *T. equinum*, SDA, 26 °C — A ten-day-old colony of the microscopic fungus *T. equinum*, SDA, 26 °C

V mikroskopickém obraze (obr. 10) byly nalezeny oválné mikrokonidie (měřící 4—5 $\times$ 3—4,5 μ m), čtyři až šest buněčných makrokonidií (dlouhých 30—50 μ m a širokých 7—10 μ m) a terminální chlamydospóry. Na základě makromorfologických a mikromorfologických znaků bylo agens determinováno jako *Trichophyton equinum* (Matruchot et Dassonville) Geddoelst 1902.

Pro úspěšnou likvidaci nákazy byl sestaven plán tlumení s nezbytnými protiepidiotickými opatřeními. Tato opatření obsahují zejména: poučení o nákaze; rozbor situace v zemědělském závodě; hodnocení stupně zamoření; vymezení ohniska nákazy; určení možných zdrojů nákazy a jejího původce; organizaci chovu a jeho technologii v době onemocnění a jeho likvidace; uzavření chovu a jeho označení tabulkou



10. Mikroskopický obraz kolonie houby *T. equinum* (zvětš. 750 až 1000 krát) — Microscopic picture of a colony of the fungus *T. equinum* (enlarged 750-1000 times)

s nápisem „Trichofýcie — vstup zakázán“; způsob celkové a lokální léčby; způsob asanace prostředí chovů a výběhů; pokyny pro organizaci případných přesunů; zákaz pastvy a vypouštění koní do výběhů; způsob ošetření podestýlky (kompostování hnojiv); nařízení o používání ochranných pomůcek; hygienické minimum pro ošetrovatelský personál; organizace dezinfekce a deratizace; úpravy mikroklimatu stájí; přesné pokyny pro péči o srst a kůži nemocných zvířat; stanovení pozorovací doby; určení míry osobní odpovědnosti pro jednotlivé pracovníky a materiální a finanční zajištění celé akce.

K léčbě zvířat byly použity nejprve běžně dostupné preparáty tuzemské výroby Mycoceton spray a Myco-Decidin spray k lokálnímu ošetření. Přes dobré výsledky s lokální léčbou několika dospělých plemenných koní bylo upuštěno od jejich plošného použití u hříbat, protože se nesnadno aplikovaly; vedlejší zvukové efekty vyvolávaly nezvládnutelný neklid koní.

Po zhodnocení všech dostupných možností byla zvolena celková povrchová léčba preparátem Fenofarm forte. Povrch těla všech koní postiženého chovu byl omýván zmíněným preparátem v koncentraci 0,5 % (1 litr koncentráту na 200 l vody). Ošetření se opakovalo po sedmi až deseti dnech. Trichofytická ložiska do 14 dnů zasychala, ztratila zřetelně svůj floridní charakter a dále se nerozšiřovala. Po 21 dnu začala narůstat nová srst, která již po 28 dnech pokrývala souvisle postižené okrsky kůže.

Koňský hnůj i hluboká podestýlka byly kompostovány. Stáje byly třikrát dezinfikovány 1% roztokem Lastanoxu Q₁ ve 14denních intervalech. Jezdecké potřeby a čistící pomůcky byly jednorázově omyty horkou vodou a ošetřovány pravidelně 1% Fenofarmem forte. Neasanovaly se rozsáhlé výběhy a pastviny. Každý týden se dělala pravidelná veterinární kontrola protiepidemických opatření stanovených plánem.

Zdroj nákazy se v našem případě nepodařilo spolehlivě objasnit. Enzootické vzplanutí nákazy však nepochybně souvisí i s nedostatky v zoohygieně chovu koní, v péči o srst a kůži koní, o postroje apod. Na zdravá zvířata se nákaza rychle přenášela čistícími pomůckami, postroji a také přímým stykem zvířat na pastvě.

Exaktně se nepodařilo prokázat stejné onemocnění u ošetrovatelského personálu, ač byla provedena důkladná dermatologická depistáž u všech zaměstnanců. Při kontrolách chovu, uskutečněných po dvou, pěti a dvanácti měsících po ohlášení onemocnění, již nebyl v chovu zjištěn ani jeden případ aparentní dermatofytózy. Kontrolním mykologickým vyšetřením nebylo zjištěno ani bezpříznakové nosičství dermatofytického agens. Výsledkem důsledných protinákazových opatření, včetně úspěšné léčby postižených zvířat, byla úplná eradikace nákazy v zamořeném chovu.

DISKUSE

První případ dermatofytózy koní, doložený izolací agens (*T. equinum*), na území Čech uvádějí Otčenášek aj. [1962], na Slovensku pak Buchvald [1964]. Dermatofytické nákazy v chovech koní popsali dále Buchvald a Sedláček [1969] (*M. equinum*), Otčenášek aj. [1975] (*M. equinum*), Štros aj. [1976] (*M. equinum*, *T. equinum*).

Na jejich šíření se podílel především přímý kontakt zvířat na pastvě a při jejich volném ustájení ve větším počtu v boxech a nepřímý přenos postroji, pomůckami apod. Přenos ektoparazity (zákožky), které jsme také ojediněle zjišťovali, má spíše vedlejší význam.

Klinický obraz a průběh nákazy námi zjištěného případu hromadného onemocnění koní souhlasil s popisem a údaji Otčenáška aj. (1962), Petzolda aj. (1965), Böhma aj. (1968) i s naším dřívějším pozorováním (Štros aj., 1976). Je značně obtížné spolehlivě posoudit etiologii nákazy při relativně konstantním klinickém obrazu dermatofytózy u koní. Exaktním kritériem pro odlišení trichofýcie a mikrospórie je mikroskopická examinace chlupů a mykologická kultivace. Mikroskopicky lze suspektní dermatofytická ložiska vyšetřovat bez speciálního laboratorního vybavení i v terénních podmínkách. Spóry paratrofního stadia mikroskopických hub z rodu *Trichophyton* mají větší rozměry ($3-5,5\ \mu$) než malé a obtížněji zjistitelné elementy rodu *Microsporum* ($1,5-3\ \mu$).



11. — 12. Diferenciace klinického obrazu trichofýcie (vlevo) a mikrospórie koní (vpravo) — Differentiation of the clinical picture of trichophytosis (left) and microsporiasis (right) of horses

Iniciální stadia obou onemocnění nelze patrně klinicky vůbec odlišit. Podobně se domnívají někteří autoři (Otčenášek aj., 1975), že nelze klinicky rozlišit obě tyto choroby ani ve stadiu plně rozvinuté dermatofytózy. Podle našeho názoru však, na základě výsledků této dermatologické depistáže a našich dřívějších pozorování (Štros aj., 1976), lze v tomto období, zvláště u generalizovaných forem, obě onemocnění klinicky poměrně spolehlivě odlišit.

Zatímco pro trichofýcii jsou typická četná malá a kruhová ložiska pokrytá drobnými otrubovitými, asbestovitě zbarvenými šupinkami (obr. 11), vyznačuje se mikrosporie v adekvátním stadiu a formě onemocnění

u koní přítomností nepravidelně ohraničených, mnohdy splývajících ložisek (až 15 X 20 cm), s výraznou deskvamací a nakupením velkých, vápnovitě bílých šupin, které pevně lnou ke spodině (obr. 12). V případech ojedinělých a málo výrazných ložisek však i nadále zůstávají determinacním kritériem pro přesné stanovení etiologie onemocnění mikroskopické a kultivační zkoušky.

Fenoform forte v 1% koncentraci ve vodě opakovaně používali s úspěchem při likvidaci dermatofytózy koní již Otčenášek aj. (1962). Nezmínili se však o jakékoliv alteraci zdravotního stavu koní. Výrobce doporučuje 0,25% koncentraci přípravku ve vodě při ošetření zvířat napadených ektoparazity. U prasat se obecně pro praxi doporučují 1% koncentrace pro ošetření celého kožního pokryvu (Černohous, 1960). Na základě našich dřívějších pozorování (Štros, 1964) však nelze u koní doporučit zásadně vyšší koncentraci než 0,5% k omývání celého povrchu těla postižených zvířat, protože by se mohla poškodit játra koní gama-izomérem HCH. 0,5% koncentrace se jeví jako dostatečně účinná a přitom bezpečná. K dezinfekci prostředí je možné použít vyšších koncentrací, podle našeho názoru však bez dalšího zvýšení efektu.

Z řady účinných antimykotik typu externa přicházejí v úvahu látky ze skupiny „lastanoxů“. Lastanox P použili v neudaném zředění k tlumení dermatofytózy koní Otčenášek aj. (1975). Při pokusném ošetření 0,5% koncentrací Lastanoxu Q₁ v lokální aplikaci jsme pozorovali u nemocných koní iritaci kůže s projevy zánětu. Pro lokální omytí se podle našich zkušeností jeví jako vhodné volit ředění do koncentrace 0,1% (Štros aj., 1976), pro ošetření větších ploch kůže koní je vhodné koncentraci ještě snížit. Lastanoxu se obzvlášť osvědčují při asanaci a dezinfekci prostředí při dermatofytických zoonózách různé etiologie.

Literatura

- BÖHM, K. H. — BISPING, W. — PETZOLD, K. — FUNK, K.: Mykologische Befunde bei Pferden mit Hautveränderungen im Nordwestdeutschland — zugleich ein Beitrag zur Frage der Entstehung equiner Dermatomykosen. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 81, 1968, s. 397-400.
- BUCHVALD, J.: Prvá epizootia trichofýcie u koní na Slovensku, vyvolaná *Trichophyton equinum*. Čs. Epidem. Mikrobiol. Imunol., 13, 1964, s. 286-292.
- BUCHVALD, J. — SEDLÁČEK, V.: Ochorenie na mikrospóriu vyvolané *Microsporum canis* Bodin (1902) u koní a človeka v Československu. Čs. Derm., 44, 1969, s. 218-222.
- ČERNOHOUS, J.: Příspěvek k diagnostice a léčbě svrabu prasat ve velkochovech. Veterinářství, 10, 1960, s. 248-250.
- OTČENÁŠEK, M. — DVOŘÁK, J. — SOVA, Z.: Das gehäufte Auftreten einer Dermatophytose bei der Großzucht von Pferden. Mykosen, 1962, č. 5, s. 131-135.
- OTČENÁŠEK, M. — KŘIVANEC, K. — DVOŘÁK, J. — KOMÁREK, J. — ČERNÁ, J.: *Microsporum equinum* als Erreger einer Dermatophytose des Pferdes. Zentbl. Vet-Med., B, 22, 1975, s. 833-841.
- PETZOLD, K. — RIETH, H. — MERKT, H.: Enzootien durch *Trichophyton equinum* bei Pferden. Dte tierärztl. Wschr., 72, 1965, s. 302-305.
- ŠTROS, K.: Použití Fenoformu forte (Spolana Neratovice) proti ektoparazitům u skotu. [Diplomová práce.] Brno 1964. — Vysoká škola veterinární.
- ŠTROS, K. — KŘIVANEC, K. — OTČENÁŠEK, M. — GRILL, S.: Dermatofyty ve velkochovech koní a současné možnosti jejich léčení. In: Mykózy hospodářských zvířat, ÚVO Pardubice, B, 8, 1976, s. 55-62.

Došlo dne 25. 2. 1977

ШТРОС, К. — КРШИВАНЕЦ, К. — КОМАРЕК, Й. — МАЛИНСКИ, Б. (Районная ветеринарная больница, Пардубице; Институт паразитологии ЧСАН, Прага; Государственный институт ветеринарии, Пардубице): Массовое появление дерматофитоза лошадей, вызванного грибом *Trichophyton equinum*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 175-184.

Описана энзоотия дерматофитоза лошадей, вызванная микроскопическим грибом *Trichophyton equinum*. Этой болезнью были поражены 32 лошади того же разведения (74,4%), преимущественно молодые животные. Больных лошадей с успехом лечили препаратом Феноформ форте с поверхностной аппликацией при 0,5% концентрации действующего вещества. Авторы попытались определить критерии для клинической дифференциации полностью развитой трихофитии и микроспории лошадей. Трихофитию (*T. equinum*) характеризуют типичные многочисленные мелкие и кольцеобразные очаги, покрытые мелкими, отрубеподобными чешуйками асбестного цвета. Микроспорию (*M. equinum*) в соответственной форме характеризуют неправильно ограниченные очаги, нередко сливающиеся между собой (15 X 20 см), отчетливое шелушение и скопление крупных и как известь белых чешуй, плотно приросших к подкожному слою. Для точной проверки этиологии этой энзоотии рекомендуются микроскопические и культивационные обследования.

поверхностные микозы; *Trichophyton equinum*; *Microsporum equinum*; Феноформ форте

STROS, K. — KŘIVANEC, K. — KOMÁREK, J. — MALINSKÝ, B. (District Veterinary Institute, Pardubice; Parasitological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha; State Veterinary Institute, Pardubice): Mass-scale Occurrence of Dermatophytosis of Horses Caused by the Fungus *Trichophyton equinum*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 175-184.

There is a description of equine dermatophytosis enzootic, caused by the microscopic fungus *Trichophyton equinum*. The disease affected 32 horses, mostly young, all in the same herd (74.4%). The diseased horses were successfully treated with the preparation Fenoform forte, applied superficially at the concentration of 0.5% of the active substance. The authors made an attempt to determine the criteria for clinical differentiation of fully developed trichophytosis and microsporiasis of horses. Trichophytosis (*T. equinum*) is characterized as typical numerous small and round patches, covered by small, bran-like, asbestos-coloured scales. Microsporiasis (*M. equinum*) is adequately characterized by irregularly limited patches, often overlapping (15 X 20 cm), by pronounced desquamation, and accumulation of large, lime-white scales, firmly adhering to the base. It is recommended for an exact testing of the etiology of the infection to examine the lesions microscopically and by cultivation.

surface mycoses; *Trichophyton equinum*; *Microsporum equinum*; Fenoform forte

STROS, K. — KŘIVANEC, K. — KOMÁREK, J. — MALINSKÝ, B. (Kreisveterinäreinrichtung Pardubice; Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha; Staatliche Veterinäranstalt Pardubice): Massenweises Auftreten der Dermatophytose von Pferden, hervorgerufen vom Pilz *Trichophyton equinum*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 175-184.

Es wird die vom mikroskopischen Pilz *Trichophyton equinum* verursachte Enzootie der Dermatophytose in der Pferdezucht beschrieben. Die Krankheit betraf 32 Pferde der gleichen Zucht (74,4%). Vorwiegend handelte es sich um junge Tiere. Die erkrankten Pferde wurden mit Erfolg mit dem Präparat Fenoform forte in 0,5 prozentiger Konzentration des Wirkstoffes bei oberflächlicher Applikation behandelt. Die Verfasser versuchten die Kriterien zur klinischen Differenzierung der voll entwickelten Trichophytie sowie der Mikrosporie bei Pferden zu bestimmen. Die Trichophytie (*T. equinum*) charakterisieren sie als typische, zahlreiche, kleine kreisförmige Herde, bedeckt mit kleinen klebrigen und asbestartig gefärbten Schuppen. Die Mikrosporie (*M. equinum*) in adäquater Form ist charakterisiert durch unregelmäßig begrenzte, manchmal zusammenfließende Herde (15 X 20 cm), sowie durch

Desquamation und Anhäufung großer kalkartig weißer, fest zur Basis adhärrierender Schuppen. Zur genaueren Kontrolle der Ätiologie der Seuche wird eine mikroskopische und Kultivationsuntersuchung empfohlen.

Oberflächliche Mykosen; *Trichophyton equinum*; *Microsporum equinum*; Fenoform forte

Adresa autorů:

MVDr. Karel Štros, MVDr. Břetislav Malinský, Okresní veterinární zařízení, třída Míru 68, 530 00 Pardubice;

RNDr. Karel Křivanec, Parazitologický ústav ČSAV, Flemingovo nám. 2, 166 32 Praha 6;

MVDr. Jan Komárek Státní veterinární ústav, Štrossova 57, 530 00 Pardubice

V. Drobníková

DROBNÍKOVÁ, V. (Výzkumný ústav včelařský v Dole, Libčice nad Vltavou): *Diagnostika Bacillus larvae – původce moru včeliho plodu*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 185-191.

V práci byl sledován růst *Bacillus larvae* na různých živných mediích a jeho schopnost redukovat nitráty a rozkládat peroxid vodíku. Závěrem je uveden návod na rychlou kultivační a biochemickou diagnostiku *Bacillus larvae*. Je možné ji dělat v každé mikrobiologické laboratoři, kultivační medium lze připravit z dostupných standardně vyráběných preparátů a pomocí nahromadovací kultivace a opakované pasterizace lze zjistit *B. larvae* v podezřelém materiálu i mimo sezónu. Je navrženo doplnit vyšetření katalázovým testem, který byl u všech 96 zkoumaných kmenů negativní. Fotografická dokumentace různých vývojových stadií *B. larvae* může sloužit jako pomůcka při mikroskopickém vyšetření.

Bacillus larvae; mor včeliho plodu; kataláza; redukce nitrátů

Charakteristika *Bacillus larvae* byla nejprůhledněji uspořádána Gordonovou aj. [1974]. V Bergeyově manuálu z r. 1974 jsou převzaty údaje z předchozího vydání knihy *The Genus Bacillus* Gordonové aj. [1973], a tak došlo k některým nesrovnalostem.

Bacillus larvae je gram-pozitivní, fakultativně anaerobní tyčinka. Vegetativní buňky jsou značně pleomorfní podle použitého media a stáří kultury. Buňky, pohyblivé pomocí bičíků 1 nebo 2 μm dlouhých, se často slepí a vytvoří tzv. „giant whips“ – velké biče (Gochbauer a L'Arrive, 1969). Ty byly původně mylně považovány za spirochety. Spóry se tvoří centrálně nebo terminálně, buňka se při tvorbě spóry značně rozšíří. Spóry jsou elipsovité, hladké (Poljakov aj., 1971; Davidson, 1973).

B. larvae se vyskytuje v přírodě v téměř čisté kultuře (Sturtevant, 1924; Lochhead, 1942).

Kultivace *B. larvae* není snadná, živné medium je nutné obohatit thiaminem a některými aminokyselinami (Lochhead, 1942; Gordon aj., 1974). Tryptický pepton a kvasničný extrakt podporují jak růst, tak sporulaci (Haynes a Rhodes, 1966). Někteří autoři doporučují medium obsahující rozpustný škrob (Bailey a Lee, 1962). Julian a Bulla (1971) s úspěchem použili Brain-Heart Difco infúzi. Kultivační teplota: optimum leží mezi 35 až 37 °C, minimum je při 25 °C, maximum při 40 °C.

Fyziologické a biochemické vlastnosti kmenů *B. larvae* shrnuje Gordonová aj. (1974), u nás se těmito problémy podrobně zabývala Máchová (1976).

Redukce nitrátů na nitrity byla u *B. larvae* považována za jednoznačně pozitivní reakci (Furovič a Zachačevská, 1971; Gordon aj., 1974; Máchová, 1976), ale již v roce 1972 Haynes a v r. 1973 Hitchcock a Wilson objevili po jednom kmenu *B. larvae*, který nitráty neredukoval a přitom byl patogenní.

Údaje o aktivitě katalázy byly rozdílné. Ačkoliv se důkladným studiem katalázy nikdo nezabýval, většina autorů uváděla, že *B. larvae* katalázu má (Bergey, 1974; Máchová, 1976 aj.). Haynes (1972) zkoumal přítomnost katalázy u *B. larvae* podrobně a nenašel ani jeden kmen s pozitivní katalázou.

MATERIÁL A METODY

K pokusům bylo použito 16 kmenů *B. larvae* izolovaných z larev uhynulých na mor včelího plodu v různých krajích ČSR. Redukce nitrátů i tvorba katalázy byla kromě toho ověřována na 80 kulturách *B. larvae* ze vzorků vyšetřovaných v r. 1975.

KULTIVAČNÍ MEDIA

R-agar-RA (Shimanuki aj., 1965; modifikace Rose, 1969); Yeast extract Difco 10 g, bramborový rozpustný škrob 10 g, agar 15 g, KH_2PO_4 15 g, destilovaná voda ad 1000 cm^3 , pH 7,0.

J-agar-JA (Gordon aj., 1974); Bactotryptone Difco 5 g, Yeast extract Difco 15 g, KH_2PO_4 3 g, agar 15 g, destilovaná voda ad 1000 cm^3 , pH 7,3–7,5, glukóza 2 g (sterilizovat odděleně).

J-medium s thiaminem: pro dosažení mohutnějšího nárůstu byl přidán thiamin v množství 0,01 % (sterilizován filtrací). Místo uvedených substancí Difco lze použít kvasničný autolyzát Imuna a enzymatický hydrolyzát Imuna.

Medium na důkaz redukce dusičnanů na dusitany: maso-peptonový bujón (Bioveta, Terezín) 90 cm^3 , KNO_3 0,1 g. Sterilizováno frakcionovaně 3×30 minut při 100 °C, pak asepticky přidána směs vitamínů B komplexu – 10 cm^3 . Detekční činidla: kyselina sulfanilová a α -naftylamin (Zahranický aj., 1966).

Směs vitamínů B komplexu: thiamin 10 mg, riboflavin 10 mg, pantothenová kyselina 10 mg, nikotinová kyselina 5 mg, biotin 1 mg, pyridoxin 20 mg, listová kyselina 1 mg, paraaminobenzoová kyselina 1 mg, destilovaná voda ad 100 cm^3 . Sterilizováno filtrací.

Důkaz katalázy: kličku bakteriální kultury ponoříme do kapky 10% H_2O_2 , nebo tento roztok kápneme přímo na bakteriální kolonii. Pozitivní reakce: okamžité uvolňování bublinek kyslíku.

VÝSLEDKY

I. RYCHLÁ METODA PRO KULTIVAČNÍ PRŮKAZ *BACILLUS LARVAE*

Hledali jsme vhodné kultivační medium, na němž by *B. larvae* dobře rostl a mohl být snadno v primokultuře diagnostikován. Dobře se nám osvědčila Holst-Sturtevantova kultivační půda (Máchová, 1976), její nevýhoda je však v nestandardnosti mrkvového extraktu. Na R-mediumu, obsahujícím kvasničný extrakt a rozpustný škrob (Rose, 1969), sice všechny kmeny *B. larvae* rostly, ale nesporulovaly. Další postup navržený tímto autorem, podobný metodě Shimanukihovo aj. (1965), je pro sériovou práci v diagnostické laboratoři zdlouhavý.

Nejllepších výsledků jsme dosáhli při použití J-agaru (Gordon aj., 1974) obsahujícího trypton, kvasničný extrakt a glukózu. Na tomto mediu bylo možné dobře sledovat růst i celý vývoj *B. larvae*.

Návod na kultivační průkaz *B. larvae*

Očkovací materiál

a) Přiškvar (vyschlé zbytky rozložené včelí larvy) rozetřeme v několika kapkách sterilní vody a nanášíme kličkou na agarovou plotnu.

b) Rozkládající se larvu ve stavu tmavohnědé táhnoucí se hmoty můžeme nanášet na plotnu očkovací kličkou přímo. Pak rozočkujeme jako při izolaci čisté kultury. Prvních několik čar očkujeme hustě a s dostatečným množstvím inokula.

c) V případě, že na plástu není rozkládající se plod ani příškvary, vytíráme buňky sterilním, thioglykolátovým tampónem a materiál necháme pomnožit ve zkumavce s MPA. Dále postupujeme jako při izolaci čisté kultury (II).

Agarové plotny nesmí před naočkováním vyschnout, jinak se vegetativní buňky deformují. Kultivujeme při teplotě 36 °C v termostatu nasyceném vodními parami. Všechny kultury se však dobře adaptovaly i na teplotu 28 °C. Kolonie *B. larvae* vyrostou na JA za jeden až tři dny, spóry se začínají tvořit po 24 hodinách kultivace.

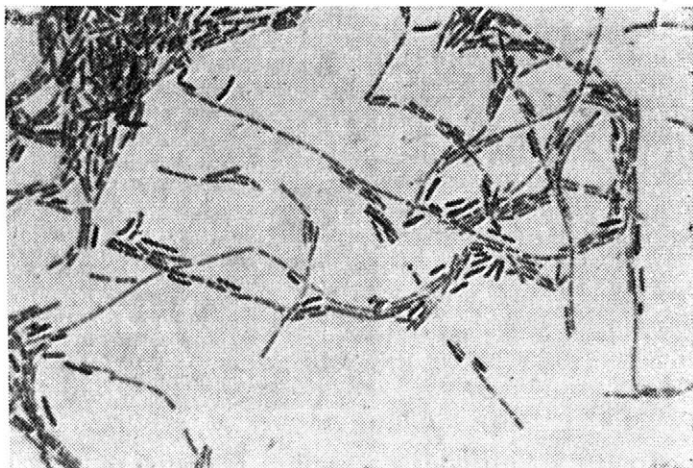
Kolonie jsou drobné (2–3 mm) až střední (10 mm), okraj mají nepravidelný, jsou ploché, lesklé, průsvitné až mléčně zakalené, hlenovité konzistence, špatně se roztírají po agaru. Rostou hlavně na prvních čarách, kde jsou zbytky živin z rozkládající se larvy.

Barvení mikroskopického preparátu

Orientační: barvíme vodným roztokem safraninu (30 s). Spóry barvíme Möllerovou metodou koncentrovaným roztokem karbolfuchsinu ve ve vodní lázni, postupujeme stejně jako při barvení acidorezistentních mikrobů.

1. Vegetativní buňky a tvořící se sporangia *Bacillus larvae* – Vegetative cells and the forming sporangia of *Bacillus larvae*

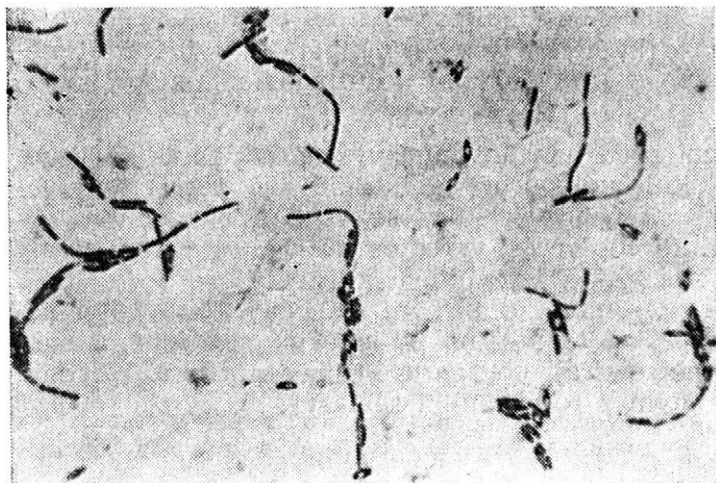
Kmen 53545, J agar, kultivováno 30 hodin při teplotě 36 °C. Barveno Möllerovou metodou, zvětšeno 1500×



Mikroskopické preparáty ze třídních až pětidenních kultur obsahují vegetativní buňky, sporangia i volné spóry. Vegetativní buňky jsou rovné tyčinky na koncích zaoblené, dlouhé 1,5 až 6,0 μm , široké 0,5 až 0,8 μm (obr. 1, 2). Sporangia jsou vřetenovitá s centrálně až paracentrálně umístěnou spórou, nebo kyjovitá (obr. 2). Při tvorbě spóry se buňka značně rozšiřuje. Spóry jsou oválné, dlouhé 1,2 μm až 1,9 μm , široké 0,4 až 0,8 μm (obr. 3).

II. ZÍSKÁNÍ ČISTÉ KULTURY *B. LARVAE* PRO BIOCHEMICKÉ SLEDOVÁNÍ

Použili jsme metody frakciované pasterizace (Rose, 1969), kterou jsme poněkud upravili. Příškvary jsme rozetřeli ve sterilní vodě, do níž jsme přidali očkovací kličku Tweenu 80, a několik kapek suspenze jsme vnesli do zkumavky s masopectonovým bujónem. Zkumavku jsme ve vodní lázni zahřáli na teplotu 70 °C. Po 15 minutách jsme zkumavku

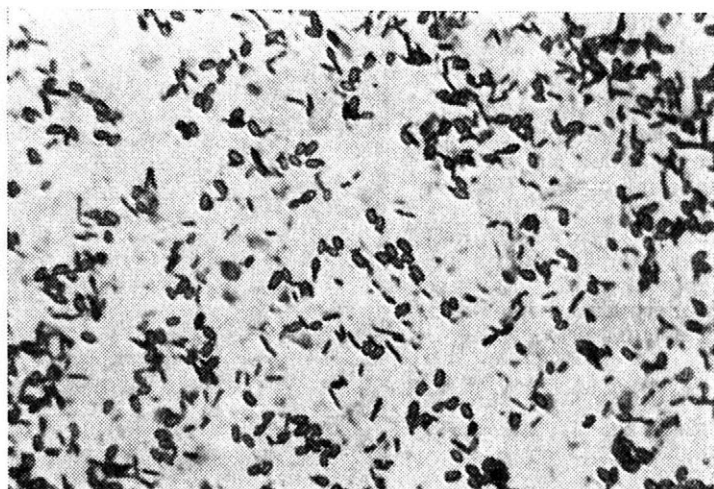


2. Vegetativní buňky a tvorba spor ve sporangiih *Bacillus larvae* — Vegetative cells and the formation of spores in the sporangia of *Bacillus larvae*

Kmen 53755, kultivováno 48 hodin při teplotě 36 °C. Ostatní údaje jsou stejné jako u obr. 1.

3. Spóry, zbytky vegetativních buněk a občas sporangia *Bacillus larvae* — Spores, residues of vegetative cells, and infrequently occurring sporangia of *Bacillus larvae*

Kmen 53545, kultivováno 72 hodiny při teplotě 36 °C. Ostatní údaje jsou stejné jako u obr. 1 (Všechny fotografie autorka)



ochladili a kultivovali 12 hodin při teplotě 36 °C. Celý postup jsme ještě jednou opakovali a po třetí pasterizaci jsme obsah zkumavky vylili do do ochlazeného J-media s thiaminem.

Frakciovanou pasterizací jsme získali čisté kultury i ze starých pláště, které byly značně kontaminovány saprofytními sporulujícími mikróby. Tyto mikróby při jednoduchém izolačním postupu rychle přerůstaly pomalu rostoucí kolonie *B. larvae*. Při dalších pasážích jsme kultivační medium vždy obohacovali thiaminem.

Dlouhodobé uchování *B. larvae*

J-medium bez glukózy s přidavkem 0,01 % thiaminu a 2 % agaru v 10 šroubovacích lékovkách o obsahu 10 cm³ jsme ještě před ztuhnutím naočkovali a po pětidenní inkubaci při teplotě 36 °C uložili v temném prostoru při teplotě asi 20 °C. Podle našich dosavadních výsledků vydrží takto uchované kultury jeden rok.

Schopnost redukce nitrátů jsme prozkoumali u všech 96 kultur a zjistili jsme, že 15 % kultur, které pocházely z různých krajů, nemá schopnost využívat nitráty jako akceptor vodíku. Kultivační podmínky neměly v žádném případě na výsledek tohoto testu vliv.

Při zkoumání katalázové aktivity jsme kromě kultur *B. larvae* použili také larev uhynulých na mor včelího plodu, které byly v různém stupni rozkladu. Zjistili jsme, že ani jedna z 96 sledovaných kultur *B. larvae* nebyla schopna rozkládat peroxid vodíku. Negativní katalázový test vykazoval také materiál z uhynulých larev, které byly ve vysokém stupni rozkladu (tmavohnědá táhnoucí se hmota), a příškvary.

Můžeme tedy říci, že negativní katalázový test je vysoce průkazný a lze ho použít jako doplňujícího testu při rychlé identifikaci *B. larvae*.

DISKUSE

Bacillus larvae je kultivačně náročný mikrob. Příčinou může být jeho parazitický způsob života a z toho plynoucí neschopnost syntetizovat určité látky, které jsou pro jeho růst a vývoj nezbytné. Jsou to zejména některé aminokyseliny a thiamin (Lochhead, 1942; Haynes, 1966). Některé z těchto látek mohou být dodávány do kultivačního media v podobě standardních obchodních preparátů (Bactotryptone Difco, Yeast extract Difco nebo enzymatický kaseinový hydrolyzát Imuna a kvasničný hydrolyzát Imuna). Jiné látky se doporučuje přidávat např. v podobě rostlinných extraktů (mrkvový extrakt v Holst-Sturtevantově mediu (Máchová, 1976). Nestandardnost tohoto extraktu nás vedla k tomu, že jsme po vyzkoušení různých medií navrhli pro rychlou kultivační diagnostiku J-medium (Gordon aj., 1974), pro jehož přípravu máme dostupné složky.

Jiný důvod pro špatnou kultivovatelnost *B. larvae*, popřípadě pro neschopnost tvořit spóry v určitých mediích, může spočívat v některé složce kultivačního media (např. v glukóze), která potlačuje tvorbu enzymů nutných pro sporulaci. Stejný jev může být u *B. larvae* způsoben jeho neschopností oxidovat kyselinu glutamovou (Julian, Bulla, 1971). Tato problematika ještě není u *B. larvae* dořešena.

V případě, že jsme použili J-media, nebyla v primokultuře ani v dalších pasážích sporulace v přítomnosti glukózy omezena. Naopak, mohli jsme pozorovat tvorbu spór ve sporangii (obr. 2), což lze stěží zachytit *in vivo*. Současně jsme mohli dokumentovat velkou variabilitu ve tvaru sporangii (obr. 1—3). Agarové plotny nesmí před použitím vyschnout, aby se nezměnil tvar vegetativních buněk. Při přímém mikroskopickém vyšetřování vzorků včelích larev uhynulých na mor plodu se však s variabilitou tvaru vegetativních buněk *B. larvae* nesetkáváme.

Dále jsme zjistili, že některé kmeny *B. larvae* nemají nitrátreduktázu, takže testu na její přítomnost nelze využít. Většina kmenů *B. larvae* je však schopna používat nitráty jako náhradní akceptor elektronů. To bylo potvrzeno i výskytem cytochromoxidázy u *B. larvae* (Furovič a Zachačevská, 1971).

Při ověřování základních vlastností nově izolovaných kmenů jsme zjistili, že ani jeden nemá katalázu. Haynes (1972) testoval devět

kmenů a zjistil, že ani jeden nerozkládá peroxid vodíku, a proto navrhl tento test jako pomůcku v diagnostice *B. larvae*. Po prověření 96 kultur jsme zjistili, že tato vlastnost je stálá, že není ovlivněna ani kultivačním médiem, ani teplotou kultivace. Dokonce lze testovat i zbytky infikovaných larev. Negativní katalázový test nemůžeme však použít, pokud není larva úplně rozložena.

Využití testu na přítomnost katalázy má pro sériovou diagnostiku *B. larvae* velký význam. Je to test rychlý a spolehlivý. Většina ostatních aerobních sporulujících mikrobů totiž katalázu má (Gordon aj., 1974). Kataláza chybí druhu *Bacillus pulvefaciens*; ten však, pokud se ve včelstvu vyskytne, vyvolá onemocnění s příznaky zcela odlišnými od moru plodu. Dále se *B. pulvefaciens* liší strukturou spór. Jeho spóry mají čtyři podélné rýhy, zatímco spóry *B. larvae* jsou hladké. Údajů o jeho výskytu máme však velice málo (Gordon aj., 1974). *Bacillus popilliae*, *B. lentimorbus* a některé kmeny *Bacillus stearomorphillus* také nemají katalázu (Gordon aj., 1974), ale první dva se u včel vůbec nevyskytují a třetí roste při teplotě 37 °C velice špatně nebo vůbec neroste. Optimální teplota pro jeho kultivaci je totiž 55 °C, což je teplota zcela nevhodná pro růst *B. larvae*. Naproti tomu je peroxid vodíku rozkládán kmenem *Bacillus alvei*, jedním z původců hniloby včelího plodu. Můžeme tedy říci, že katalázový test bezpečně odliší *B. larvae* od všech ostatních sporulujících bakterií, které se mohou v úlu vyskytnout.

Literatura

- BAILEY, L. — LEE, D. C.: *Bacillus larvae*: Its cultivation *in vitro* and its growth *in vivo*. J. gen. Microbiol., 29, 1962, s. 711-717.
- BERGEY's manual of determinative bacteriology. 8. ed., The Williams a. Wilkins Comp., Baltimore, 1974.
- DAVIDSON, E.: Ultrastructure of American Foulbrood disease pathogenesis in larvae of the worker honey bee, *Apis mellifera*. J. invertebr. Pathol., 21, 1973, č. 1, s. 53-61.
- FUROVIČ, A. J. — ZACHAČEVSKÁ, M.: Biochemische Untersuchungen zur Bestimmung der Empfindlichkeit von Stämmen der *Bacillus larvae* White gegenüber Antibiotika. Der XXIII. Inter. Bienenzüchtkongress, Moskva, 1971, Apimondia-Verlag, Bukarest, 476 s.
- GOCHNAUER, T. A. — L'ARRIVE, J. C. M.: Experimental infections with *Bacillus larvae*. I. A strain with a morfological marker. J. invertebr. Pathol., 13, 1969, s. 280-284.
- GORDON, R. E. — HAYNES, W. C. — PANG, Ch. N.: The genus *Bacillus* U. S. Dept. Agric., Handbook No 427, Washington, D. C., 1974.
- HAYNES, W. C.: The catalase test. An aid in the identification of *Bacillus larvae*. Am. Bee. J., 112, 1972, č. 4, s. 130-131.
- HAYNES, W. C. — RHODES, I. J.: Spore formation by *Bacillus popilliae* in liquid medium containing activated carbon. J. invertebr. Pathol., 13, 1966, s. 161-166.
- HITCHCOCK, J. D. — WILSON, W.: Pathogenicity to honey bee of strain of *Bacillus larvae* that does not reduce nitrate. J. econ. Ent., 66, 1973, č. 4, s. 901-902.
- JULIAN, C. St. — BULLA, L. A.: Physiology of sporeforming bacteria associated with insects. IV. Glucose metabolism in *Bacillus larvae*. J. Bact., 108, 1971, č. 2, s. 820-834.
- LOCHHEAD, A. G.: Growth factor requirements of *Bacillus larvae* White. J. Bact., 44, 1942, s. 185-189.
- MÁCHOVÁ, M.: Fysiologie *Bacillus larvae* a jeho biochemická identifikace. In: Vědecké práce výzkumného ústavu včelařského v Dole, 7, Praha 1976, s. 107-113.
- POLJAKOV, A. A. — SMIRNOV, A. M. — KULIKOWSKI, A. W.: Sporogenese von *Bacillus larvae* und *Bacillus alvei* und ultradünne Sporenveränderung unter der Einwirkung von Lauge. Der XXIII. Inter. Bienenzüchtkongress, Moskva 1971, Apimondia-Verlag, Bukarest, s. 467-469.

ROSE, R. J.: *Bacillus larvae* isolation, culturing und vegetative thermal point. J. Invertebr. Pathol., 14, 1969, s. 415-416.
SHIMANUKI, H. — HARTMAN, P. A. — ROTHENBUHLER, W. C.: The effect of serial passage of *Bacillus larvae* White in the honey bee. J. Invertebr. Pathol., 7, 1965, s. 75-78.
STURTEVANT, A. P.: The development of American foulbrood in relation to the metabolism of its causative organism. J. agric. Res., 28, 1924, s. 129-168.
ZAHRADNICKÝ, J. aj.: Mikrobiologické vyšetřovací metody. SZN, Praha 1966.

Došlo dne 7. 4. 1977

ДРОБНИКОВА, В. (Научно-исследовательский институт пчеловодства в Доле, Либиче над Влтавой): Диагностика *Bacillus larvae* — возбудителя американского гнильца. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 185-191.

В работе изучается рост *Bacillus larvae* на разных питательных средах и его способность сокращать нитраты и разлагать перекись водорода. В заключение приведено руководство по проведению быстрой культивационной и биохимической диагностики *Bacillus larvae*. Ее можно делать в любой микробиологической лаборатории, культивационную среду можно приготовить из доступных стандартно производимых препаратов и с помощью накопляющей культивации и повторной пастеризации можно установить *B. larvae* в подозрительном материале даже вне сезона. Предложено дополнить обследование каталазным тестом, который у всех 96 обследованных штаммов оказался отрицательным. Фотодокументация разных стадий развития *B. larvae* может служить в качестве пособия при микробиологическом обследовании.

Bacillus larvae; американский гнилец; каталаза; редукция нитратов

DROBNÍKOVÁ, V. (Research Institute for Apiculture at Dol. Libčice nad Vltavou): *Diagnostics of Bacillus larvae, the Causative Agent of American Foul Brood*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 185-191.

The authoress studied the growth of *Bacillus larvae* on different nutrient media and its ability of decomposing hydrogen peroxide and reducing nitrates. There are also instructions for rapid cultivation and biochemical diagnosis of *Bacillus larvae*. It can be performed in any microbiological laboratory, the culture medium can be prepared from available commercially produced preparations, and *B. larvae* can be detected in suspected material even out of the season, if the method of selective cultivation and repeated pasteurizing is used. Catalase test is proposed to be added to the examination; the result of this test was negative in all 96 strains studied. Photographic documentation of different developmental stages of *B. larvae* can serve as an aid in microbiological examination.

Bacillus larvae; american foul brood; catalase; nitrate reduction

DROBNÍKOVÁ, V. (Forschungsinstitut für Bienenzucht in Dol-Libčice nad Vltavou): *Diagnostik der bösartigen Faulbrut — Bacillus larvae*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (3) : 185-191.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Wachstum des *Bacillus larvae* auf verschiedenen Nährböden sowie dessen Fähigkeit Nitrate zu reduzieren und Wasserstoffperoxyd zu zersetzen untersucht. Abschließend wird eine Anleitung zur schnellen Kultivierung und biochemischen Diagnostik des *Bacillus larvae* angeführt. Diese ist in jedem mikrobiologischem Laboratorium durchführbar. Das Kultivationsmedium kann aus zugänglichen und standardmäßig erzeugten Präparaten hergestellt werden. Mit Hilfe der Ansammlungskultivierung und wiederholten Pasteurisation kann *B. larvae* in verdächtigem Material auch außerhalb der Saison festgestellt werden. Es wird die Ergänzung der Untersuchung durch den Katalasetest, der bei allen 96 untersuchten Stämmen negativ war, beantragt. Die photographische Dokumentation verschiedener Entwicklungsstadien des *Bacillus larvae* kan als Hilfsmittel bei der mikrobiologischen Untersuchung dienen.

Bacillus larvae; bösartige Faulbrut; Katalase; Nitratreduktion

Adresa autora:

RNDr. Věra Drobňáková, CSc., Výzkumný ústav včelařský, Dol, 252 66 p. Libčice

Výběr z přírůstků
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTIZ
z úseku veterinární medicína

Uvedené publikace je možné si vypůjčit osobně nebo písemně v ÚZLK, výpůjční oddělení, 120 56 Praha 2, Slezská 7. Výpůjční doba: pondělí až pátek od 9 do 18 hodin. U každé žádané publikace uveďte signaturu.

EGBERTS, J. D 51.913/90

Prenatal lung maturation and hyaline membrane diseases in lambs.

Proefschrift. Rijksuniv. te Utrecht.

Utrecht, n. vl. 1977. 79 s. obr. tab. (Jehňata — embryo — nemoci — plíce — hyalinní membrána — biochemický výzkum — Holandsko)

BITSCH, V. — FRIIS, N. F. — KROGH, H. V. D 30.900/590

A microbiological study of pneumonia calf lungs.

København, Statens veter. serumlab. 1976. S. 32-42. tab. Meddelelser 590. (Plicní zánět — telata — plíce — mikrobiologický výzkum — Dánsko)

ÜBERREITER, O. D 59.577/27

Klinische Krebsforschung bei Tieren.

Berlin, P. Parey 1977. 80 s. 9 obr. 28 tab. Fortschritte d. Veterinärmedizin 27. (Onkologie — zvířata — výzkum — NSR / Nádory — vznik — veterinární nemocnice — výzkum — NSR)

SØNNICHSEN, H. V. D 65.832

Tendinitis hos hesten. Klinisk-patologiske studier.

København, Inst. for kirurgi Den kgl. veterinaer- og landbohøjskole 1976. 86 s. obr. tab. (Kůň — nemoci — šlachy — tenosynovitis — morfologický a fyziologický výzkum / Kůň — nemoci — šlachy — tenosynovitis — ochrana a léčení — výzkum — Dánsko)

LASTERNAS, Y. J. A. D 38.168/1976/91

Contribution à l'étude de l'etiopathogenie de la listeriose ovine. Thèse

prés. devant l'Univ. Paul-Sabatier de Toulouse. Toulouse, n. vl. 1976. 109 s. tab. École nat. vétér. 1976/91. (Listeriózy — ovce — výzkum — Francie — disertační práce)

NIELSEN, R. — THOMSEN, A. D. — DUEDAHL, S. D 30.900/598

Pleuropneumonia caused by Haemophilus parahemolyticus. An attempt to control the disease at two progeny testing stations by serological blood testing followed by removal of the seropositive animals and their litter mates.

København, Statens veter. serumlab. 1976. S. 349-352. 4 s. tab. Meddelelser fra Statens veterinaere serumlaboratorium 598. (Prase — nemoci bakteriální — pleuropneumonie — Haemophilus parahemolyticus — serologický výzkum — Dánsko)

Černík K.: Inhalační vakcinace kuřat proti pseudomoru sovětským diskovým aerosolovým generátorem (DAG-2)	129
Derka J., Carbonell G., Petrovský E.: Indukce složek přirozeného precipitačního systému (GANS) a další protilátky po aloimunizaci sérem nebo vaječným žloutkem u kura	141
Časnocha E., Salaj J.: Izolácia a detekcia aviárnych adenovírusov na bunecných kultúrach	147
Bobáková E., Adamec O., Košutzký J., Šárniková B.: Indukcia mikrozomálnych enzýmov pečene kurčiat účinkom niektorých perzistentných cudzorodých látok	157
Paulov S., Gažo M., Illéšová D.: Vplyv bielkovín z kožiarskeho odpadu na telové bielkoviny vtákov	165
Komárek J., Matoušek V., Jadrný L.: Biochemické a hematologické změny v krvi koní po dostihu „Velká pardubická“	169
Štros K., Křivanec K., Komárek J., Malinský B.: Hromadný výskyt dermatofytózy koní vyvolaný houbou <i>Trichophyton equinum</i>	175
Drobníková V.: Diagnostika <i>Bacillus larvae</i> — původce moru včelího plodu	185

СОДЕРЖАНИЕ

Черник К.: Ингаляционное вакцинирование цыплят против псевдочумы советским дисковым аэрозольным генератором (ДАГ-2)	129
Дерка Й., Карбанелл Г., Петровски Э.: Индукция компонентов естественной системы (GANS) и другие антитела после аллоиммунизации сывороткой или яичным желтком у кур	141
Часноха Э., Салай Й.: Изоляция и детекция птичьих аденовирусов на клеточных культурах	147
Бобакова Е., Адамец О., Кошутзки Й., Шарникова Б.: Индукция микросомных ферментов печени цыплят под действием некоторых стойких иностранных веществ	157
Паулов Ш., Гаžo М., Иллешова Д.: Влияние белков из кожевенных отходов на телесные белки птиц	165
Комарек Й., Матоушек В., Ядрны Л.: Некоторые биохимические и гематологические изменения в крови лошадей после скачек «большой пардубицкий стиль-чез»	169
Штрос К., Кршиванец К., Комарек Й., Малински Б.: Массовое появление дерматофитоза лошадей, вызванного грибом <i>Trichophyton equinum</i>	175
Дробникова В.: Диагностика <i>Bacillus larvae</i> — возбудителя американского гнильца	185

CONTENTS

Černík K.: Aerosol Vaccination of Chickens against the Newcastle Disease Using the Soviet Aerosol Disk Generator (DAG-2)	129
Derka J., Carbonell G., Petrovský E.: Induction of Components of the Natural Precipitation System (GANS) and Another Antibody after Alloimmunization with Serum or Egg Yolk in Fowl	141
Časnocha E., Salaj J.: The Isolation and Detection of Avian Adenoviruses on Cell Cultures	147
Bobáková E., Adamec O., Košutzký J., Šárniková B.: Induction of Hepatic Microsomal Enzymes in Chickens by the Action of Some Persistent Foreign Compounds	157
Paulov S., Gažo M., Illéšová D.: The Effect of Tannery Waste Proteins on the Body Proteins of Birds	165
Komárek J., Matoušek V., Jadrný L.: Some Biochemical and Haematological Changes in the Blood of Horses after the "Velká Pardubická" Steeple-Chase	169
Štros K., Křivanec K., Komárek J., Malinský B.: Mass-scale Occurrence of Dermatophytosis of Horses Caused by the Fungus <i>Trichophyton equinum</i>	175
Drobníková V.: Diagnostics of <i>Bacillus larvae</i> , the Causative Agent of American Foul Brood	185

Černík K.: Inhalationsvakzinierung der Kücken gegen Pseudogeflügelpest mit Hilfe des sowjetischen Aerosol-Diskusgenerator (DAG-2)	129
Derka J., Carbonell G., Petrovský E.: Die Induktion der Komponenten des natürlichen Präzipitationssystems (GANS) und weitere Antikörper nach der Alloimmunisierung mit Serum oder Eidotter beim Huhn	141
Časnocha E., Salaj J.: Isolierung und Detektion aviären Adenoviren auf Zellkulturen	147
Bobáková E., Adamec O., Košutský J., Šárníková B.: Induktion mikrosomaler Enzyme der Kückenleber ausgelöst durch einige persistente Fremdstoffe	157
Paulov S., Gažo M., Illéšová D.: Einfluß der Proteine aus Abfällen der Lederindustrie auf die Körperproteine von Vögeln	165
Komárek J., Matoušek V., Jadrný L.: Einige biochemische und hämatologische Veränderungen im Blut der Pferde nach dem „Großen Pardubitzer“ Rennen	169
Štros K., Krivánek K., Komárek J., Malinský B.: Massenweises Auftreten der Dermatophytose von Pferden, hervorgerufen vom Pilz <i>Trichophyton equinum</i>	175
Drobníková V.: Diagnostik der bösartigen Faulbrut — <i>Bacillus larvae</i>	185

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 MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, Legerova ulice 22, 120 00 Praha 2.