

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

5

ROČNÍK 26 (LIV)
PRAHA
KVĚTEN 1981
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí 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., MVDr. Josef Raszyk, CSc., MVDr. Antonín Tesař, CSc., akademik Jaroslav Vrtiak, DrSc.

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

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1981

■

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozboru 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 решенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издаёт 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, 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 wissenschaftliche-technische Information der Landwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion 120 56 Prag 2, Slezská 7.

IMUNIZÁCIA HOVÄDZIEHO DOBYTKA PROTI AUJESZKYHO CHOROBE INAKTIVOVANOU ADJUVANTNOU VAKCÍNOU

A. Žuffa, A. Brányik, J. Žuffová, G. Melčický, M. Hirko, J. Blecha, L. Valent

ŽUFFA, A. — BRÁNYIK, A. — ŽUFFOVÁ, J. — MELČICKÝ, G. — HIRKO, M. — BLECHA, J. — VALENT, L. (Bioveta, n. p., Nitra; OVZ Dunajská Streda): *Imunizácia hovädzieho dobytku proti Aujeszkyho chorobe inaktivovanou adjuvantnou vakcínou*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5) : 257-270.

V pokusoch na ovciach a mladom hovädzom dobytku sme testovali imunizačnú účinnosť inaktivovanej adjuvantnej vakcíny proti Aujeszkyho chorobe. Aplikácia vakcíny v dávke 1 ml a 2 ml osem- až desaťmesačným jahňatám vyvolala tvorbu neutralizačných protilátok (NP) so významným vzostupom titrov po revakcinácii. Infekciu dávkou $10^{5.5}$ TKID₅₀ virulentného vírusu prežilo 62,5 % zvierat očkovaných jednorazovo a 87,5 % zvierat očkovaných dvojrázovo. Pri aplikácii odstupňovaných dávok vakcíny (1 až 10 ml) mladému hovädziemu dobytku bola úroveň protilátkovej odpovede priamo závislá od veľkosti inokula. Dvojrázové očkovanie zvierat 2 ml a 5 ml vakcíny vyvolalo tvorbu NP v titroch 1:35, resp. 1:46. Zvieratá imunizované živou alebo inaktivovanou IBR vakcínou s vysokými titrami protilátok proti IBR vírusu reagovali na očkovanie inaktivovanou Aujeszkyho vakcínou anamnesticky, včasnou produkciou protilátok do vysokých titrov. Metafylaktické očkovanie dobytku v chovoch s akútnym priebehom nákazy 2 ml vakcíny viedlo k zastaveniu ďalších prípadov ochorenia za sedem až deväť dní, najneskôr však za päť dní od revakcinácie, ak sa uskutočnila za sedem dní po prvom očkovaní.

hovädzí dobytok; pseudorabies; inaktivovaná vakcína; protilátky; infekcia; imunita

Prítomnosť Aujeszkyho vírusu (AV — platí aj pre Aujeszkyho vakcínu) v populácii ošípaných predstavuje vážne nebezpečenie pre všetky druhy zvierat vnímavých na infekciu týmto vírusom. Z hospodárskych zvierat ide najmä o hovädzí dobytok a ovce. Od roku 1960, kedy Tepper opísal u nás prvé prípady Aujeszkyho choroby (Au.ch.) u hovädzieho dobytku, došlo v rozličných oblastiach nášho štátu (Rademacher a i., 1963; Kabelík a i., 1967), menovite však na juhozápadnom Slovensku (Žuffa a Dlhý, 1964; Žuffa a Salaj, 1968; Žuffa a i., 1969), k opakovanému vzplanutiu nákazy. Ak však až do roku 1975 bol výskyt Au.ch. u dobytku celkom ojedinelý, v roku 1976 sa prudko zvýšil a v roku 1977, menovite v prvých mesiacoch roku 1978, mal silne vzostupnú tendenciu. Ochorenie postihovalo všetky vekové kategórie zvierat, a to tak teľatá (počnúc dvojťždňovými), ako aj výkrmový dobytok a dojnice. Pri sústavnom zhoršovaní sa nákazovej situácie a vysokých hospodárskych škodách v postihnutých chovoch, neúčinnosti uplatňovaných veterinárne-zdravotných opatrení a absencii akejkoľvek

terapie ostala špecifická profylaxia Au.ch. u dobytku postihnutej oblasti metódou voľby.

Pre účely imunoprofylaxie Au.ch. u dobytku a oviec sú od roku 1968 k dispozícii dva typy živej vakcíny, a to vakcína NORVAK I a NORVAK II. Nakoľko sa však živými vakcínami neodporúča očkovať zvieratá mladšie ako šesť mesiacov, a ochorenie v zamorených chovoch postihovalo aj teľatá najmladších vekových kategórií, javila sa akútna potreba účinnej inaktivovanej vakcíny, ktorej použitie by nebolo obmedzené veľkom zvierat. Inaktivovaná adjuvantná vakcína proti Au.ch., vyvinutá na našom pracovisku (Žuffa a i., 1978), sa ukázala ako účinná v laboratórnych pokusoch na králikoch a ošipáných a osvedčila sa pri núdzovom použití v chovoch ošipáných s akútnym vzplanutím nákazy (Štěpánek a i., 1977). Prišli sme preto k testovaniu jej imunity na ovciach a hovädzom dobytku. Po priaznivých výsledkoch laboratórnych pokusov sme vakcínu použili pre metafylaktické a neskôr aj pre profylaktické očkovanie hovädzieho dobytku a oviec v postihnutých a ohrozených chovoch.

MATERIÁL A METÓDY

VAKCÍNA

Príprava inaktivovanej adjuvantnej vakcíny proti Au.ch., uvedenej na trh pod komerčným názvom INAVAK, je podrobne uvedená na inom mieste (Žuffa a i., 1978).

POKUSNÉ ZVIERATÁ

Do pokusu boli vzaté osem- až desaťmesačné jahňatá, kríženci plemena cigája a valaška, v prvej filiálnej generácii.

Pre laboratórne pokusy sme použili cca osemnásťmesačné dvojročné býčky, ktoré boli predtým vakcinované živou, resp. inaktivovanou IBR-vakcínou a infikované *i. nas.* virulentným IBR-vírusom a ktoré v čase očkovania vykazovali vysoké titry protilátok proti tomuto vírusu. Ostatné pokusy prebiehali na mladom výkrmovom dobytku v chove bez anamnézy Au.ch. za obdobie posledných piatich rokov. Pri metafylaktickom použití vakcíny boli očkované všetky vekové kategórie dobytky v chovoch po vypuknutí nákazy a v chovoch infekciou ohrozených.

SÉROLOGICKÉ VYŠETRENIE

Krvné vzorky sme od pokusných zvierat odobrali v rozličných časových intervaloch po vakcinácii, revakcinácii a u čelenžovaných zvierat aj po infekcii. Séra, inaktivované pri teplote 56 °C počas 30 minút, sme na obsah neutralizačných protilátok (NP) vyšetrovali na skúmavkových kultúrach kuracích embryových buniek (KEB) spôsobom bežne zaužívaným v našom laboratóriu (Žuffa a Škoda, 1962). Pri vyšetrovaní jahňacích sér sme ich dvojnásobné riedenie zmiešali s 10⁵ TKID₅₀ vírusu v pomere 3 : 1 a zmesou sme po inkubácii 1 h pri teplote 37 °C očkovali skúmavkové kultúry v množstve po 0,2 ml.

VYVOLÁVAJÚCE INFEKcie

Pri infekcii sme zvieratám aplikovali infekčné tkanivové tekutiny virulentných kmeňov OLD-5 a Rača-5 v siedmej, resp. v deviatej pasáži na kultúrach KEB zmiešané rovnakým dielom; obsah infekčných jednotiek v inokulu udávame pri opise jednotlivých pokusov. Zvieratám očkovaným v laboratórnych podmienkach sme denne merali telesnú teplotu.

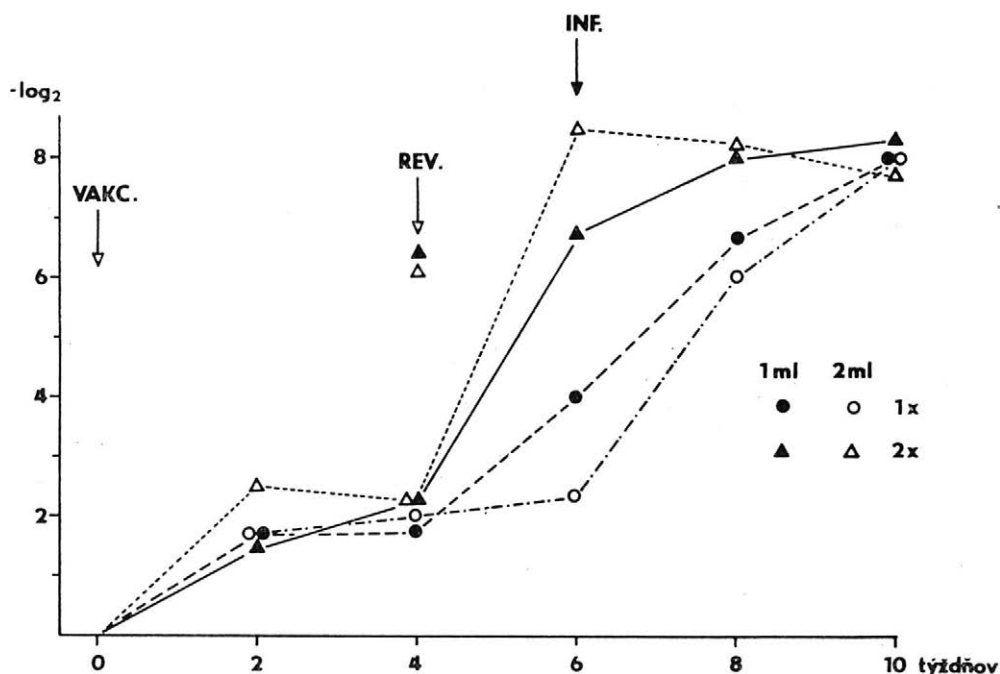
VÝSLEDKY

POKUSY NA JAHŇATÁCH

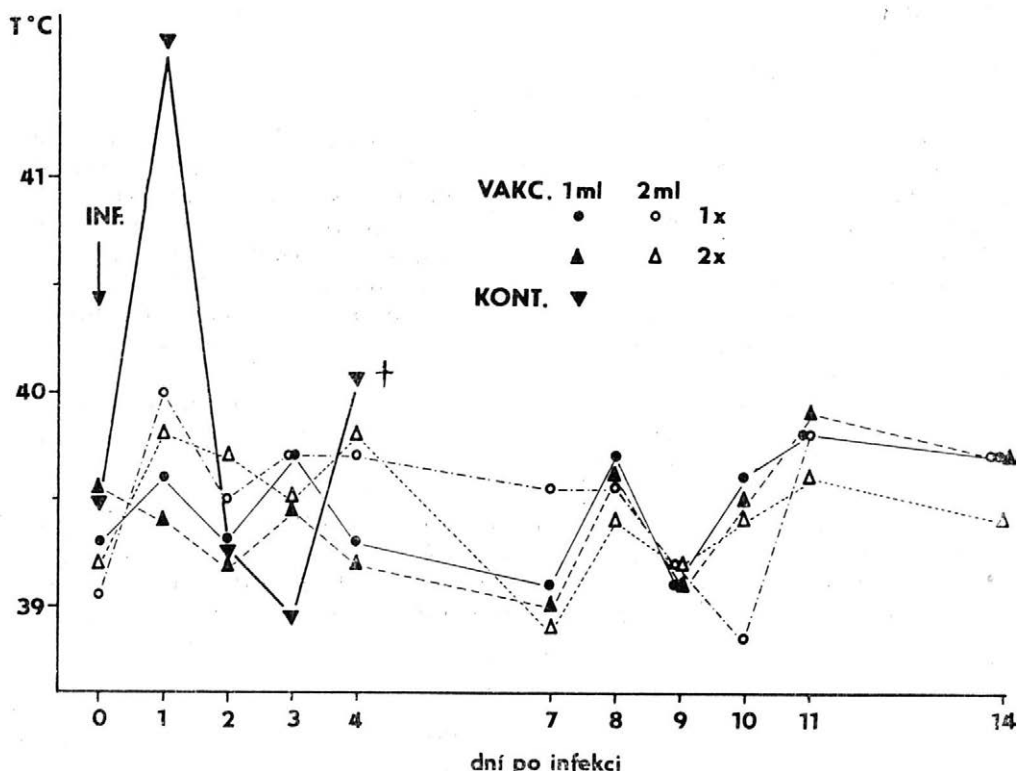
Z 20 jahniat zaradených do pokusu sme ôsmim aplikovali po 1 ml a ôsmim po 2 ml vakcíny *i.m.* Za štyri týždne sme vždy štyri zvieratá každej skupiny revakcinovali rovnakou dávkou vakcíny ako pri prvom podaní. Dve jahňatá ostali neošetrené ako kontroly. Za šesť týždňov po vakcinácii, t. j. za dva týždne po revakcinácii, sme všetky zvieratá (vrátane kontrol) infikovali. Infekčná dávka obsahovala $10^{5.5}$ TKID₅₀ vírusu. Krvné vzorky sme odoberali pred očkovaním a dva a štyri týždne po ňom, t. j. v čase revakcinácie, potom pred infikovaním a za dva a štyri týždne po ňom.

Aplikácia inaktivovanej adjuvantnej vakcíny nevyvolala nijaké poruchy zdravotného stavu zvierat. Pri dennom meraní telesnej teploty sme nezaznamenali výkyvy presahujúce fyziologické hranice.

Výsledky vyšetrení sér na obsah NP sú znázornené na obr. 1. Jednorazová aplikácia 1 ml, resp. 2 ml vakcíny navodila všeobecnú séropozitivitu s titrami NP 1:2 až 1:32 a revakcinácia viedla k vzostupu protilátok do titrov 1:32 až 1:256. Infekcia vyvolala signifikantný vzostup NP u jednorazovo očkovaných zvierat s nižšími východiskovými titrami protilátok.



1. Obsah sérových protilátok u jahniat po očkovaní 1 ml a 2 ml, resp. očkovaní a revakcinácii 1 ml a 2 ml inaktivovanej adjuvantnej Aujeszkyho vakcíny a infekcii virulentným vírusom — Content of serum antibodies in lambs after vaccination of 1 ml and 2 ml, and/or after vaccination and revaccination of 1 ml and 2 ml of inactivated adjuvant Aujeszky's vaccine and after infection with a virulent virus



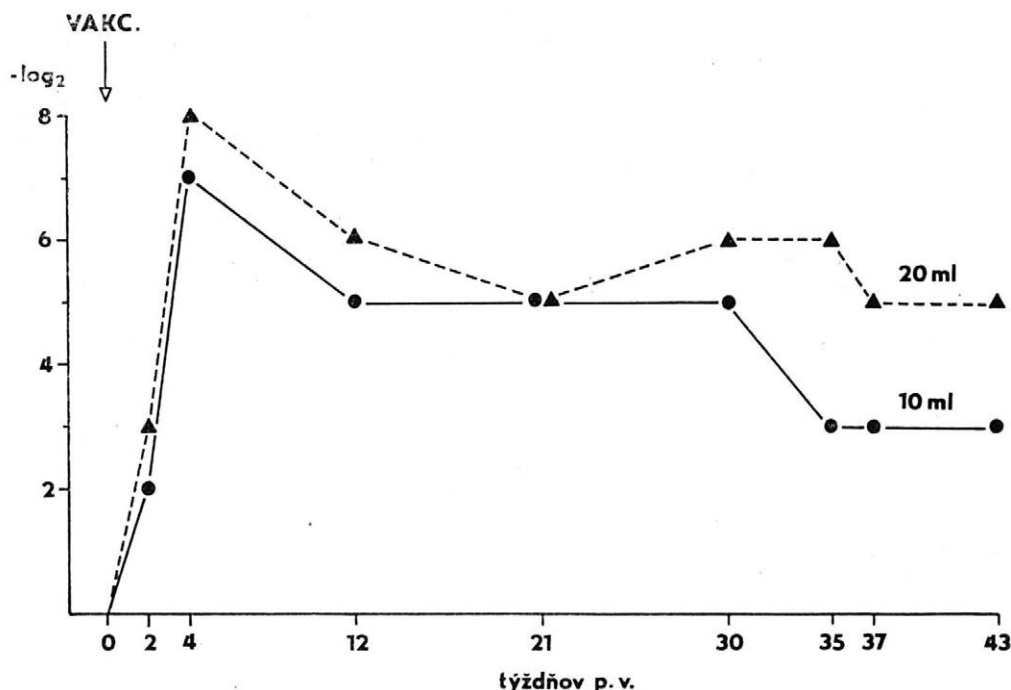
2. Priebeh telesných teplôt po vyvolávajúcej infekcii jahniat očkovaných 1 ml a 2 ml, resp. očkovaných a revakcinovaných 1 ml a 2 ml inaktivovanej adjuvantnej Aujeszkyho vakcíny a kontrolných neočkovaných jahniat — Course of body temperatures after challenge infection in lambs vaccinated with a vaccine of 1 ml and 2 ml, and/or vaccinated and revaccinated with 1 ml and 2 ml of inactivated adjuvant Aujeszky's vaccine and course of body temperatures in control unvaccinated lambs

Priebeh telesných teplôt u zvierat jednotlivých pokusných skupín po infekcii je znázornený na obr. 2. Prvé termické reakcie u kontrolných a u dvoch zo štyroch očkovaných zvierat, ktoré infekcii podľahli, sme zaznamenali už za 24 h, s následným poklesom na normálne hodnoty a ďalším vzostupom krátko pred uhynutím. Ostatné zvieratá nereagovali teplotne alebo vôbec, alebo sme u nich zaznamenali hypertermiu (najviac 40,2 °C) jeden, maximálne dva dni. Infekcii podľahli obidve kontrolné jahňatá (piaty, resp. šiesty deň), po jednom z jahniat očkovaných 1 ml vakcíny (deviaty, resp. desiaty deň) a dve jahňatá zo skupiny očkovanej jedenkrát 2 ml vakcíny (obidve šiesty deň). Uhynuté vakcinované zvieratá vykazovali v čase infekcie titry NP 1 : 4, 1 : 128, 1 : 2, resp. 1 : 2. Príznaky ochorenia sme u nich pozorovali počas jedného až troch dní; boli charakterizované inapetenciou, celkovou depresiou, meteorizmom, potácivým pohybom a ochrnutím, po ktorom niekoľko hodín nasledovalo uhynutie. U ostatných jednorazovo očkovaných zvierat sme pozorovali prechodnú inapetenciu (1 až 2 dni), miernu apatiu a zrýchlené dýchanie. S výnimkou jedného prežili revakcinované zvieratá infekciu bez zjavného narušenia zdravotného stavu.

Kontrola imunogenity vakcíny

Pre prvý laboratórny pokus sme mali k dispozícii dva dvojročné býčky, ktoré sme pred tým použili k imunizačným pokusom s vírusom IBR (očkované *i.nas.* živou vakcínou a následne infikované virulentným vírusom) a v čase očkovania vykazovali NP proti vírusu IBR v titroch 1 : 128, resp. 1 : 256. Jednému z nich sme aplikovali 10 ml, druhému 20 ml inaktivovanej AV s.c. a krvné vzorky sme odobrali pred aplikáciou, dva a štyri týždne po očkovaní a potom v jedno- až dvojmesačných intervaloch až do 10. mesiaca. V mieste vpichu sa vytvorilo zdurenie tuhej konzistencie veľkosti slepačieho vajca, ktoré sa postupne zmenšovalo, ale bolo hmatateľné aj za dva mesiace od aplikácie. Celkové reakcie sme nepozorovali. Vyšetrovanie sér na obsah NP prinieslo prekvapujúce výsledky. U oboch zvierat sme zistili nízke titry protilátok už za dva týždne, pričom do štyroch týždňov došlo k ich vzostupu na 1 : 128, resp. 1 : 256. Po významnom znížení titrov za dva mesiace pokračoval pokles NP u zvierata očkovaného 10 ml vakcíny naďalej, ale u zvierata očkovaného 20 ml vakcíny pretrvávali protilátky takmer na rovnakej úrovni po celé sledované obdobie (obr. 3).

V ďalšom laboratórnom pokuse sme použili štyri osemnásťmesačné býčky, taktiež s vysokými titrami protilátok proti vírusu IBR vyvolanými



3. Priebeh tvorby sérových protilátok u dvojročných býčkov s vysokým obsahom protilátok proti IBR vírusu vyvolanej podaním 10 ml a 20 ml inaktivovanej adjuvantnej Aujeszkyho vakcíny — Course of serum antibody production in two-year-old bullocks with a high level of antibodies to IBR-virus challenged by application of inactivated adjuvant Aujeszky's vaccine of 10 ml and 20 ml

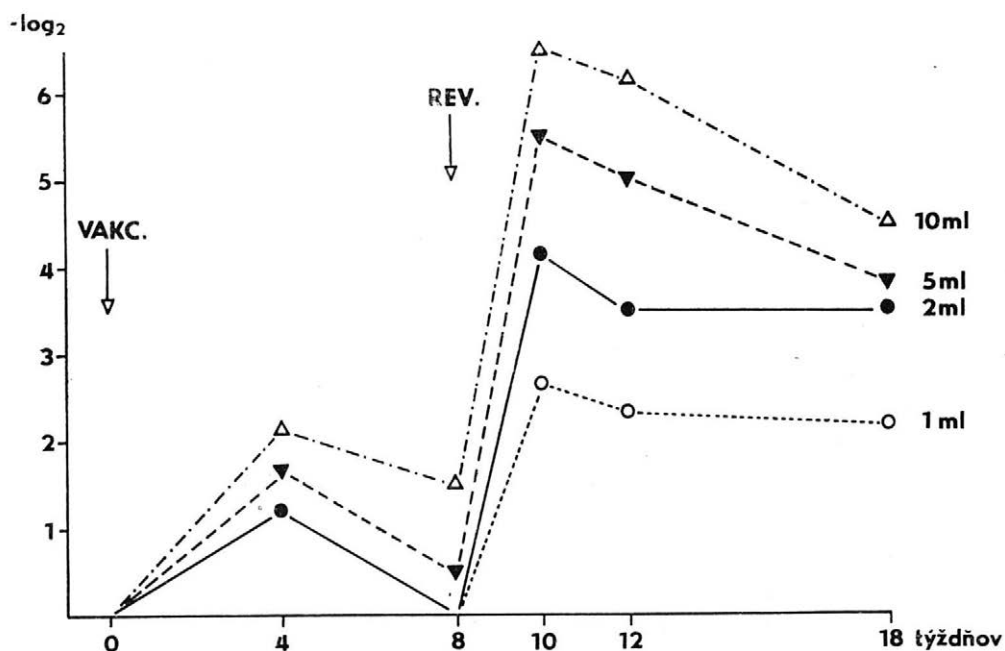
I. Titre neutralizačných protilátok proti Au. vírusu u býčkov imunizovaných inaktivovanou IBR vakcínou po očkovaní a revakcinácii inaktivovanou Aujeszkyho vakcínou a po vyvolávajúcej infekcii — Titres of neutralizing antibodies to Aujeszky's virus in bullocks immunized with inactivated IBR-vaccine after vaccination and revaccination with inactivated Aujeszky's vaccine and after challenging infection

Číslo zvierat	Titre NP proti vírusu IBR v čase očkovania	Titre NP proti AV za dní po			
		vakcinácii		revakcinácii	infekcii
		0	14	14	28
30	128	2	512	4096	1024
82	64	2	8	512	256
78	16	0	32	256	128
98	128	1	512	128	1024

dvojrázovou aplikáciou inaktivovanej IBR-vakcíny a následnou *i. nas.* infekciou virulentným vírusom. Zvieratám sme aplikovali po 5 ml inaktivovanej AV *i.m.* a za dva týždne sme ich rovnakým spôsobom revakcinovali. Po očkovaní sme u zvierat nezaznamenali ani lokálne ani celkové reakcie. Za ďalšie dva týždne sme všetky zvieratá infikovali virulentnými kmeňmi Rača-5 a OLD-5 v dávke $10^{6.6}$ TKID₅₀ vírusu *i.m.*; rovnakou dávkou sme infikovali dva trojročné barany ako kontroly. Odbery krvi sme robili pred očkovaním, pred revakcináciou, potom pred infekciou a za dva týždne po infekcii. Výsledky vyšetrení sér na obsah NP sú zhrnuté v tab. I. Tri zo štyroch sér odobratých pred aplikáciou AV reagovali v NT pozitívne (titre 1 : 1 — 1 : 2), pričom za dva týždne vykazovali všetky séra stredné až vysoké titre protilátok ($2 \times 1 : 512$), ale infekcia vyvolala ďalší vzostup protilátok len u jedného zvieratá (z 1 : 128 na 1 : 1024). Infekciu prežili všetky zvieratá bez termických reakcií a bez akejkoľvek poruchy zdravotného stavu; kontrolné barany uhynuli siedmy, resp. deviaty deň po infekcii.

V ďalšom pokuse sme v chove JRD H. aplikovali mladému výkrmovému dobytku (jeden až dva roky) 1, 2, 5 a 10 ml vakcíny *i.m.* (vždy šiestim zvieratám pre každú dávku) a za osem týždňov sme všetky zvieratá vždy rovnakou dávkou revakcinovali. Krv pre zisťovanie obsahu sérových protilátok sme odoberali pred očkovaním, pred revakcináciou a za dva, štyri a osem týždňov po revakcinácii. Titre NP zisťované v sérach z jednotlivých odberov sú uvedené na obr. 4. Z obrázku vidíme, že obsah protilátok po vakcinácii aj revakcinácii bol priamo závislý od veľkosti inokula, s priemernými hodnotami titrov 1 : 9, 1 : 24, 1 : 65, resp. 1 : 80 po dvojrázovom podaní 1, 2, 5, resp. 10 ml vakcíny.

Pre upresnenie vakcinačnej dávky sme v ďalšom pokuse očkovali vždy desať osemnásťmesačných býčkov dávkami 2 a 5 ml vakcíny a za štyri týždne sme ich vždy rovnakou dávkou revakcinovali. Krv na vyšetrenie sme odoberali pred očkovaním, potom za jeden, dva a štyri týždne, t. j. v čase revakcinácie, a za dva týždne po revakcinácii. Všetky



4. Tvorba sérových protilátok u mladého vykrmového dobytku vyvolaná očkovaním a revakcináciou odstupňovanými dávkami inaktivovanej adjuvantnej Aujeszkyho vakcíny — Serum antibody production in young fattening cattle challenged by vaccination and revaccination of different doses of inactivated adjuvant Aujeszky's vaccine

séra odobraté pred očkovaním reagovali negatívne. Jednorazové podanie 2 a 5 ml vakcíny ostalo u väčšiny zvierat bez merateľnej protilátkovej odpovede, ale revakcinácia navodila tvorbu protilátok do titrov 1 : 8 až 1 : 128. Nakoľko sme v titroch protilátok u zvierat očkovaných 2 ml (priemerná hodnota 1 : 35) a 5 ml vakcíny (priemerná hodnota 1 : 46) nezistili významné rozdiely, stanovili sme pre praktické používanie ako aplikačnú dávku 2 ml vakcíny (tab. II).

II. Titre neutralizačných protilátok u mladého dobytku po dvojrázovej aplikácii inaktivovanej Aujeszkyho vakcíny v dávkach 2 a 5 ml — Titres of neutralizing antibodies in young cattle after double application of inactivated Aujeszky's vaccine at doses of 2 and 5 ml

Dávka vakcíny	Titre NP po dvojrázovom podaní vakcíny						Priemerné hodnoty
	<8	8	16	32	64	128	
2 ml	—	—	4	3	3	—	35,2
5 ml	—	2	—	4	3	1	46,4

V chove ŠM H. došlo u mladého výkrmového dobytku k prudkému vzplanutiu Au.ch. za sedem dní po očkovaní vakcínou proti dermatomykóze. Za tri dni, kedy od prvého prípadu uhynulo, resp. bolo odporazených 105 zvierat, boli všetky klinicky zdravé zvieratá vakcinované a za jeden týždeň revakcinované živou vakcínou NORVAK II. Od vakcinácie do revakcinácie bolo nutne odporazených 66 zvierat a po revakcinácii 11 zvierat, s posledným výskytom ochorenia v 20. dni. V tom čase sme 20 zvieratám aplikovali po 5 ml inaktivovanej AV *i.m.* a súčasne sme od nich odobrali krvné vzorky; ďalší odber krvi bol za dva týždne. Z 20 sér odobratých po dvojrázovej aplikácii vakcíny NORVAK II reagovalo pozitívne 12 zvierat s titrami 1 : 1 až 1 : 2, séra odobraté po aplikácii inaktivovanej vakcíny však obsahovali NP v titroch 1 : 16 až 1 : 256 (tab. III).

III. Titre neutralizačných protilátok u zvierat po vakcinácii a revakcinácii živou Aujeszkyho vakcínou a za dva týždne po aplikácii 5 ml inaktivovanej Aujeszkyho vakcíny — Titres of neutralizing antibodies in animals after vaccination and re-vaccination with a live Aujeszky's vaccine and after two weeks following the application of 5 ml inactivated Aujeszky's vaccine

Počet vakcino- vaných zvierat	Počty sér reagujúcich v riedeniach pri odbere									
	pred očkovaním inaktivovanou vakcínou					po očkovaní inaktivovanou vakcínou				
	0	1 : 1	1 : 2	1 : 4	Ø titer NP	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256 Ø titer NP
20	8	7	3	2	1,05	1	3	11	4	1 79,20

V ďalších chovoch boli pri vzplanutí nákazy očkované klinicky zdravé zvieratá vakcínou NORVAK II a revakcinované inaktivovanou vakcínou, alebo vakcinované a revakcinované inaktivovanou vakcínou a v jednom prípade boli zvieratá očkované inaktivovanou vakcínou a revakcinované živou vakcínou. Voľba obidvoch druhov vakcín nesledovala osobitný cieľ, ale bola závislá od toho, či bola k dispozícii inaktivovaná vakcína. Časový interval medzi očkovaním a revakcináciou závisel od prudkosti nákazy v chove. Ak do siedmeho dňa od očkovania chorobnosť významne nepoklesla, prišli sme k revakcinácii. V ostatných prípadoch sme robili revakcináciu za dva týždne a v jednom prípade sme pre nedostatok inaktivovanej vakcíny zvieratá revakcinovali živou vakcínou až za päť týždňov. Za dva až tri týždne od revakcinácie sme v jednotlivých chovoch odobrali krvné vzorky. Výsledky vyšetrovaní sér na obsah NP sú zhrnuté v tab. IV. Vidieť, že hodnoty titrov protilátok u jednotlivých zvierat v jednotlivých chovoch, teda očkovaných rovnakým spôsobom, sú veľmi rozdielne (0—1 : 256). Najvyššie priemerné titre protilátok sme zaznamenali u zvierat očkovaných dvojrázove inaktivovanou vakcínou v odstupe dvoch a viac týždňov a najvyrovnanejšie hodnoty titrov u jednotlivých zvierat v chove plemenných býkov. Preukázali nižšie titre protilátok sme zistili u zvierat očkovaných vakcínou NOR-

IV. Titre neutralizačných protilátok v sérach zvierat očkovaných živou a revakcinovanými inaktivovanou vakcínou, očkovaných a revakcinovaných inaktivovanou vakcínou, resp. očkovaných inaktivovanou a revakcinovaných živou Aujeszkyho vakcínou — Titres of neutralizing antibodies in sera of animals vaccinated with a live vaccine and revaccinated with an inactivated vaccine, vaccinated and revaccinated with an inactivated vaccine, or vaccinated with an inactivated and revaccinated with a live Aujeszky's vaccine

Spôsob očkovania	Hospodárstvo	Kategória zvierat	Interval medzi vakcínou a revakcínou v dňoch	Počet vyšetrení sér	Počet sér reagujúcich pozitívne v riedení									Priemerná hodnota
					2	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256	
NORVAK II + INAVAK	Malý Háj	jalovice	7	21	5	3	3	2	5	3	—	—	—	10,23
	Jahodná	výkrmový dobytok 200—500 kg	7	20	9	6	3	2	—	—	—	—	—	2,45
INAVAK + INAVAK	Padaň	dojnice	10	20	1	6	1	1	4	5	2	—	—	18,85
	Jahodná	dojnice	13	20	3	4	1	4	1	2	5	—	—	22,35
	Okoč-Ohrady	plemenné býky	14	23	—	—	—	1	3	4	7	7	1	77,56
	Gabčíkovo	dojnice	14	20	2	1	4	3	4	4	1	—	1	27,80
	Tekovská Braznica	teľatá 4—5 mesačné	28	12	—	—	—	1	6	3	1	1	—	32,66
	Kútniky	dojnice	14	20	1	3	4	5	5	2	—	—	—	10,35
	Povoda	dojnice	14	20	—	—	1	4	10	3	2	—	—	21,00
	Nový Život	dojnice	43	59	6	2	5	4	7	10	7	5	13	83,11
	Medzičilizie	teľatá, mladý dobytok, dojnice	47	107	56	7	8	14	14	7	1	—	—	6,78

VAK II a revakcinovaných inaktivovanou vakcínou, kým revakcinácia živou vakcínou po očkovaní vakcínou inaktivovanou ostala u 59 % zvierat bez merateľnej protilátkovej odpovede.

DISKUSIA

V posledných dvoch rokoch bol v oblasti juhozápadného Slovenska zaznamenaný u hovädzieho dobytká taký výskyt Au.ch., že si vyžadoval špecifický profylaktický zákrok. Z dôvodov, ktoré sme už uviedli, je u hovädzieho dobytká výhodnejšie použiť pre účely imunoprofylaxie inaktivovanú ako živú vakcínu. Z vírusu napestovaného na bunkových kultúrach boli pripravené inaktivované vakcíny, ktoré v laboratórnych pokusoch na ovciach (Berbinschi a Papadopol, 1968; Nedjalkov a i., 1968, 1970; Haralambiev a i., 1966) a dobytku (Jakubík a i., 1975) vyvolali chránenosť proti experimentálnej infekcii. S výnimkou práce autorov Jakubík a i. (1975), ktorí svoju vakcínu testovali len na štyroch zvieratách, nepredkladajú sa hodnoty titrov protilátok po jednorazovej a opakovanej aplikácii rozdielnych dávok vakcíny. Z predložených údajov sa však zdá, že antigenitu inaktivovaného vírusu určuje vo väčšej miere použité adjuvans ako spôsob jeho inaktívácie. Slabá, ale merateľná protilátková odpoveď bez preukazných rozdielov v titroch NP bola zaznamenaná u zvierat očkovaných vírusom inaktivovaných krištáľvioletou, betapropiolaktómom alebo saponínom (Nedjalkov a i., 1970), resp. etylalkoholom (Haralambiev a i., 1966), ale veľké rozdiely v titroch protilátok boli zistené po aplikácii vírusu inaktivovaného formaldehydom a adsorbovaného na gel hydroxidu hlinitého alebo viazaného na lipoidné adjuvans (Žuffa, 1963; Žuffa a i., 1978; Delagneau a i., 1975). Antigenitu inaktivovaného AV veľmi dobre stimuluje aj DEAE-Dextran (Škoda a Wittmann, 1973; Jakubík a i., 1975).

Ovce sú pre vysokú vnímavosť na experimentálnu infekciu osobitne vhodné pre testovanie imunizačnej účinnosti vakcín proti Au.ch. (Berbinschi a Papadopol, 1968). V našich pokusoch navodila jednorazová aplikácia 1 ml, resp. 2 ml inaktivovanej adjuvantnej vakcíny tvorbu protilátok v titroch 1:2 — 1:32, pričom revakcinácia viedla k vzostupu protilátok do titrov 1:512. Zistené hodnoty NP sú vyššie ako zaznamenali u oviec Berbinschi a Papadopol (1968) po aplikácii 3 až 5 ml saponinovej vakcíny, resp. Haralambiev a i. (1966) po aplikácii 5 až 20 ml alkoholovej vakcíny. Vyvolávajúcej infekcii, ktorej podľahli neočkované kontroly v piatom a šiestom dni, odolalo 62,5 % zvierat očkovaných jednorazove 1 ml alebo 2 ml adjuvantnej vakcíny a 87,5 % zvierat očkovaných dvojrázove. Jedno z vakcinovaných zvierat uhynulo napriek tomu, že v čase infekcie vykazovalo NP v titri 1:128. Potvrdili sa tým zistenia autorov Berbinschi a Papadopol (1968) a Škoda a Wittmann (1973), že medzi obsahom protilátok a chránenosťou proti experimentálnej infekcii nemusí byť priama závislosť. Signifikantný vzostup protilátok, zaznamenaný po infekcii u jednorazove očkovaných zvierat, svedčí o kontrolovanom množení sa infekčného vírusu v organizme očkovaných.

U dobytká bola úroveň protilátkovej odpovede po očkovaní aj revakcinácii priamo závislá od veľkosti inokula. Titre NP zaznamenané po

dvojrázovej aplikácii 2 ml olejovej vakcíny odpovedajú titrom, ktoré zistili Jakubík a i. (1975) po podaní 10 ml EEI-DEAE-Dextran vakcíny.

Pri núdzovom očkovaní dobytká bola zistená najvyššia prevencia séropozitivity a najvyššie titre protilátok u zvierat očkovaných a revakcinovaných inaktivovanou vakcínou, nižšie titre NP u zvierat očkovaných živou vakcínou a revakcinovaných inaktivovanou vakcínou a najnižšie u zvierat, ktorým bola živá vakcína aplikovaná po inaktivovanej vakcíne. Uvedené sérologické nálezy svedčia o tom, že inaktivovaná vakcína stimuluje protilátkovú odpoveď výraznejšie ako živá vakcína. Príčina rozdielov v imunogenitelivej a inaktivovanej vakcíny spočíva najskôr v rozdielnom množstve inokulačného vírusového antigénu. Pri živjej vakcíne sa antigénne uplatní len malá dávka podaného vírusu, kým pri vakcíne inaktivovanej je antigenita mnohonásobne väčšieho množstva vírusu potencovaná účinným olejovým adjuvans.

Najvyrovnannejšie a najvyššie titre NP zaznamenané u plemenných býkov očkovaných a revakcinovaných inaktivovanou vakcínou nasvedčujú tomu, že úroveň protilátkovej odpovede určovala, popri antigenite vakcíny, aj imunologická reaktivnosť zvierat. V ostatných chovoch boli zistené veľké rozdiely v obsahu protilátok u jednotlivých zvierat (ojedinele negatívne hodnoty až titre 1 : 256). Je však otázne, či podstatou tak rozdielnej protilátkovej odpovede je len rozdielna imunologická reaktivnosť zvierat, alebo či v niektorých prípadoch nebola intenzívna produkcia protilátok prejavom sekundárnej imunitnej odpovede zvierat senzibilizovaných predchádzajúcim kontaktom s vírusom. Pri vyslovení takejto domnienky vychádzame zo zistení, že k väčšine zaznamenaných vzplanutí Au.ch. u dobytká došlo v definovanom časovom odstupe po očkovaní vakcínou proti dermatomykóze (2 až 13 dní). Ponúka sa preto vysvetlenie, že stres spojený s očkovaním mykotickou vakcínou bol spúšťacím mechanizmom pre aktivovanie preexistujúcej latentnej infekcie. Aj keď sa o existencii latentných či inaparentných infekcií AV u hovädzieho dobytká doposiaľ neuvažovalo, uvedené pozorovania nabádajú k tomu, aby sme pripustili aj takú možnosť. Je málo pravdepodobné, že by v tak početných prípadoch bolo došlo k infekcii vždy práve v rovnakej časovej nadväznosti na očkovanie proti dermatomykóze. V tejto súvislosti nadobúda osobitný význam nález AV v bunkovej kultúre založenej zo semenníkov zdravého teľaťa (Ulbrich, 1971).

Prekvapujúce bolo zistenie, že hovädzie séra s vysokým obsahom IBR protilátok sú schopné neutralizovať v nízkych riedeniach aj vírus Au.ch., ako aj zistenie, že aplikácia inaktivovanej adjuvantnej vakcíny IBR imúnnym zvieratám pôsobí ako booster a vyvoláva včasnú produkciu protilátok do vysokých titrov. Aj keď sa imunobiologická príbuznosť obidvoch uvedených herpetických vírusov doposiaľ nezistila (Kaplán, 1969), zdá sa, že existuje.

V súlade s výsledkami laboratórnych pokusov, v ktorých sa imunogenita pripravenej inaktivovanej adjuvantnej vakcíny hodnotila podľa titrov protilátok a chránenosti očkovaných zvierat proti experimentálnej infekcii, bolo úspešné nasadenie vakcíny v zamorených chovoch. Zhodnotenie vplyvu metafylaktického očkovania inaktivovanou vakcínou na priebeh nákazy v jednotlivých chovoch bude predmetom osobitného oznámenia.

Výsledky pokusov potvrdili, že dvojrázová aplikácia inaktivovanej adjuvantnej vakcíny vyvolá u dobytka a oviec ochranu proti experimentálnej aj prirodzenej infekcii. Účelom ďalších pokusov bude zistiť, v akej časovej nadväznosti majú byť základné imunizované zvieratá preočkované, aby sa dosiahla trvalá chránenost proti infekcii.

Literatúra

- BERBINSCHI, C. — PAPADOPOULOS, M.: Beiträge zum Studium des immunogenen Wertes der inaktivierten Aujeszky-Vakzine. Arch. Vet., 5, 1968, s. 99-105.
- DELAGNEAU, J. — TOMA, B. — VANNIER, P. — LOQUERIE, R. — PRUNET, P. — TILLON, J. P.: Immunisation contre la maladie d'Aujeszky à l'aide d'un nouveau vaccin huileux à virus inactivé. Recl. Méd. vét., 10, 1975, s. 567-575.
- HARALAMBIEV, H. — MERMERSKI, K. — STOEVI, I. — SIMEONOV, S. — YOTOV, M.: Investigating the immunogenicity of alcohol-inactivated Aujeszky virus on sheep. Comp. rec. de l'Académie bulg. des Sciences, 19, 1966, s. 441-444.
- JAKUBÍK, J. — WITTMANN, G. — ŠKODA, R.: Immunisierung von Kälbern mit der EEI/DEAE-Dextran-Vakzine gegen die Aujeszky'sche Krankheit. Zentbl. VetMed., B, 22, 1975, s. 827-832.
- KABELÍK, V. — KRŠKA, K. — JEŘÁBEK, P.: Aujeszkeho choroba u skotu ve Středočeském kraji. Veterinářství, 17, 1967, s. 413-417.
- KAPLAN, A. S.: Herpes Simplex and Pseudorabies Viruses. Virol. Monographs. Wien - New York, Springer-Verlag 1969.
- NEDJALKOV, S. — RIBAROV, B. — STOICHEV, S.: Opiti za polučavane na inaktivirana vakcina sresču bolestta Aueski. II. Prodlžitelnost na imuniteta i srok za godnost na inaktiviraniite adsorbatni vakcini. VetMed. Nauki, Sofia, 5, 1968, s. 63-68.
- NEDJALKOV, S. — STOICHEV, S. — RIBAROV, R. — STOILOVA, N.: Versuche zur Herstellung von Vakzine gegen die Aujeszky'sche Krankheit. Arch. exp. VetMed., 24, 1970, s. 499-507.
- RADEMACHER, R. — KALÁB, J. — VAŠÁTKO, Z. — SKROVNÝ, R.: První případ pseudovztekliny skotu ve Východočeském kraji. Veterinářství, 13, 1963, s. 53-54.
- TEPPER, I.: Vzplanutie Aujeszkeho choroby v jednom spoločnom chove hovädzieho dobytka. Vet. Čas., 9, 1960, s. 425-431.
- ŠKODA, R. — WITTMANN, C.: Die Immunisierung von Schweinen mit Vakzinen aus inaktiviertem Aujeszky-Virus. Zentbl. VetMed., M, 20, 1973, s. 127-138.
- ŠTĚPÁNEK, J. — ŠMÍD, B. — ŽUFFA, A. — MENŠÍK, J. — HNÁTKOVÁ, Z. — MACHATÝ, J.: Epizootologie, profylaxe a tlumení virové gastroenteritidy prasat u Aujeszkyho choroby. Vývoj inaktivované vakcíny proti Aujeszkyho chorobě. [Závěrečná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1977.
- ULBRICH, F.: Aujeszky-Virus als „pick-up“ in Kälberhodenzellkulturen. Arch. exp. VetMed., 25, 1971, s. 937-941.
- ŽUFFA, A.: Versuch zur Immunisierung von Laboratoriumstieren und Schweinen mittels Formaldehyd- und UV-Strahlen-Inaktiviertem Aujeszky-Virus. Arch. exp. VetMed., 17, 1963, s. 593-613.
- ŽUFFA, A. — DLHÝ, V.: Očkovanie hovädzieho dobytka živou vakcínou proti Aujeszkeho chorobe. Veterinářství, 14, 1964, s. 241-243.
- ŽUFFA, A. — SALAJ, J.: Príspevok k Aujeszkeho chorobe hovädzieho dobytka a možnosti jej prevencie. Imunoprofylaxia, 1968, č. 4, s. 27-31.
- ŽUFFA, A. — ŠKODA, R.: Die Diagnostik der Aujeszky'schen Krankheit auf Gewebekulturen. Arch. exp. VetMed., 16, 1962, s. 491-500.
- ŽUFFA, A. — BRÁNYIK, A. — SALAJ, J. — ŽUFFOVÁ, J. — MENŠÍK, J. — ŠTĚPÁNEK, J.: Inaktivovaná adjuvantná vakcína proti Aujeszkeho chorobe a spôsob jej prípravy. Autorské osvedčenie PV č. 191666, 1978.
- ŽUFFA, A. — VALENTOVIČ, G. — MOKOŠIAK, J. — SALAJ, J.: Výskyt Aujeszkyho choroby u hovädzieho dobytka v rokoch 1960 až 1967 v ČSSR. Veterinářství, 19, 1969, s. 15-19.

Došlo dňa 8. 10. 1979

ЖУФФА, А. — БРАНЬИК, А. — ЖУФФОВА, Й. — МЕЛЧИЦКИЙ, Г. — ГИРКО, М. — БЛЕХА, Й. — ВАЛЕНТ, Л. (Биовета, нац. предпр. Нитра; Районный ветеринарный пункт, Дунайская Стрела): Иммунизация крупного рогатого скота от болезни Ауески инактивированной адъювантной вакциной. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5): 257-270.

В опытах с овцами и молодняком крупного рогатого скота нами проверялась иммунизационная эффективность инактивированной адъювантной вакцины против болезни Ауески. Применение вакцины в количестве 1 и 2 мл ягнятам в возрасте 8—10 месяцев вызвало образование нейтрализующих антител (НА) со значимым повышением титров после повторной вакцинации. Заражение дозой $10^{5.5}$ TKID₅₀ вирулентного вируса преодолело 62,5% животных, привитых в один прием, и 87,5% животных, привитых в два приема. При применении дифференцированных доз вакцины (1—10 мл) молодняку крупного рогатого скота уровень реакции антител непосредственно зависел от размера прививочного материала. Двукратная прививка животных 2 и 5 мл вакцины вызвала образование НА в титрах 1:35, или же 1:46. Иммунизированные животные живой или инактивированной IBR вакциной с высокими титрами антител от IBR вируса реагировали на прививку инактивированной вакциной Ауески анамнестически, своевременной продукцией антител высоких титров. Метафилактическая прививка скота в разведениях с острым заболеванием 2 мл вакцины прекращала появление дальнейших случаев заболевания через 7—9 дней, однако не позже пяти дней с момента ревакцинации, проведенной через семь дней после первой прививки.

крупный рогатый скот; ложное бешенство; инактивированная вакцина; антитела; инфекция; иммунитет

ŽUFFA, A. — BRÁNYIK, A. — ŽUFFOVÁ, J. — MELČICKÝ, G. — HIRKO, M. — BLECHA, J. — VALENT, L. (Bioveta, National Enterprise, Nitra; District Veterinary Station, Dunajská Streda): Immunization of Cattle against Aujeszky's Disease with Inactivated Adjuvant Vaccine. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5): 257-270.

The experiments with sheep and young cattle were carried out to test the immunizing efficacy of inactivated adjuvant vaccine against Aujeszky's disease. The vaccine application at doses of 1 ml and 2 ml to lambs at the age of eight to ten months caused the neutralizing antibody production with a significant rise of titres after revaccination. A survival of infection induced with a dose of $10^{5.5}$ TKID₅₀ of virulent virus was recorded in 62.5% of once vaccinated animals and in 87.5% of twice vaccinated animals. When applying different doses of vaccines (from 1 to 10 ml) to young cattle, the antibody reaction level was directly dependent on the inoculum quantity. The double inoculation of animals with vaccines of 2 ml and 5 ml caused the neutralizing antibody production at titres of 1:35, or 1:46. The animals, immunized with the live or inactivated IBR-vaccine possessing high antibody titres against IBR-virus, reacted upon the vaccination with inactivated Aujeszky's vaccine anamnестически, by early production of antibodies in high titres. Meta-phylactic vaccination (2 ml of vaccine) of cattle in herds with an acute course of infection resulted in a stoppage of further cases of infection during seven to nine days, however earliest during five days from the revaccination when it was carried out in seven days following the first vaccination.

cattle; pseudorabies; inactivated vaccine; antibodies; infection; immunity

ŽUFFA, A. — BRÁNYIK, A. — ŽUFFOVÁ, J. — MELČICKÝ, G. — HIRKO, M. — BLECHA, J. — VALENT, L. (Bioveta, Nitra; Kreis-Veterinäreinrichtung, Dunajská Streda): Immunisierung von Rindern gegen die Aujeszkysche Krankheit mittels inaktivierter adjuvanter Vakzine. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5): 257-270.

In Versuchen mit Schafen und jungen Rindern wurde die Immunisierungswirksamkeit der inaktivierten adjuvanter Vakzine gegen die Aujeszkysche Krankheit getestet. Die Applikation der Vakzine in einer Dosis von 1 ml und 2 ml an Lämmer im Alter von acht bis zehn Monaten rief die Bildung von Neutralisationsantikörpern (NP), mit signifikantem Aufstieg der Titer nach der Revakzinierung hervor. Die Infizierung durch eine Dosis von $10^{5.5}$ TKID₅₀ des virulenten Virus überlebten 62,5% der einmalig geimpften und 87,5% der zweimal geimpften Tiere. Bei der Applikation abgestufter Vakzinendosen (1 bis 10 ml) an junge Rinder war das

Niveau der Antikörperreaktion direkt abhängig von der Inokulumgröße. Eine zweimalige Impfung der Tiere mit 2 ml und 5 ml Vakzine rief die Bildung der NP in Titern 1:35, bzw. 1:46 hervor. Die mit einer lebendigen oder inaktivierten IBR-Vakzine von hohen Titern der Antikörper gegen das IBR-Virus immunisierten Tiere reagierten auf die Impfung durch die inaktivierte Aujeszky'sche Vakzine anamnestic, d. h. durch rechtzeitige Produktion von Antikörpern zu hohen Titern. Die metaphylaktische Impfung von Tieren in Zuchten mit akutem Verlauf der Infektion mittels 2 ml Vakzine führte zur Einstellung weiterer Erkrankungsfälle, u. zw. in sieben bis neun Tagen, spätestens jedoch in fünf Tagen nach der Revakzination, falls diese sieben Tage nach der ersten Impfung realisiert wurde.

Rinder; Pseudorabies; inaktivierte Vakzine; Antikörper; Infektion; Immunität

Adresa autorov:

Doc. MVDr. Alojz Žuffa, CSc., ing. Alexander Brányik, CSc., ing. Jolanda Žuffová, Bioveta, n. p., 949 91 Nitra

MVDr. Gustav Melčický, MVDr. Milan Hirko, MVDr. Ladislav Valent, MVDr. Jozef Blecha, Okresné veterinárne zariadenie, 929 01 Dunajská Streda

DISTRIBÚCIA RABICKÉHO ANTIGÉNU V CNS POTKANOV A MYŠÍ EXPERIMENTÁLNE INFIKOVANÝCH KMEŇMI VÍRUSU BESNOTY IZOLOVANÝMI Z CHRČKOV ROĽNÝCH (*CRICETUS CRICETUS*)

R. Alexander, Š. Švrček, O. J. Vrtiak, R. Ondrejka, Z. Beníšek
J. Zavadová

ALEXANDER, R. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — ONDREJKA, R. — BENÍŠEK, Z. — ZÁVADOVÁ, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny MPVŽ SSR, Košice): *Distribúcia rabického antigénu v CNS potkanov a myši experimentálne infikovaných kmeňmi vírusu besnoty izolovanými z chrčkov roľných (Cricetus cricetus)*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5) : 271-278.

V porovnávacích pokusoch zameraných na štúdium distribúcie rabického antigénu v centrálnom nervovom systéme (CNS) potkanov a myši experimentálne infikovaných tromi „chrčmi“ kmeňmi (pre porovnanie tiež „líščím“ kmeňom 1151) sme zistili, že pri mikroskopickom pozorovaní preparátov farbených priamou metódou imunofluorescencie vytvárali „chrče“ kmene zmiešaný obraz fluoreskujúcich partikul, charakteristický pre kmene so zníženou virulenciou a virulentné uličné kmene. Pri myšiach infikovaných kmeňmi 3 O a 7 E bol rabický antigén detekovaný vo všetkých častiach CNS už za 24 hodín po infekcii. Pri kmeni 9 E nebol v tomto období detekovaný v lumbálnej mieche a pri kmeni 1151 bol detekovaný len v Ammonových rohoch. Po 48 hodinách bol rabický antigén pri myšiach detekovaný vo všetkých častiach CNS pri všetkých štyroch použitých kmeňoch. Vzhľadom na nižšiu vnímavosť potkanov voči vírusu lyssy sme prvú detekciu rabického antigénu v CNS po infekcii kmeňmi 3 O, 7 E a 1151 zaznamenali v šiestom dni, pri kmeni 9 E až v deviatom dni v bedernej mieche iba u niektorých zvierat.

vírus besnoty; rabický antigén; priama metóda imunofluorescencie

Rodentia zahrňujú približne 1700 druhov, rozšírených po celom svete. Sú hlavným zdrojom potravy pre mäsožravcov, teda je možné predpokladať, že by mohli byť ideálnym rezervoárom rabického vírusu. Táto hypotéza by mohla vysvetliť mnohé z epizootologických zvláštností lyssy.

Otázke významu hlodavcov v epizootológii besnoty je venovaná značná pozornosť na celom svete, ale výsledky výskumu nie sú jednoznačné. V Európe bola besnota dokázaná v poslednom období aj u rôznych druhov voľne žijúcich hlodavcov (Smith a i., 1968; Scholtz a Weinhold, 1969; Sodja a i., 1971; Titov a i., 1972; Švrček a i., 1972, 1980). Naproti tomu vyšetrenie tisícov druhov hlodavcov v rôznych oblastiach Ameriky, ktoré sú zamorené besnotou, neodhalili besnotu u týchto mikromamalií.

Početné prieskumy v rabies-endemických oblastiach odhalili pomerne nízke

percento výskytu besnoty hlodavcov — asi 1 až 3% (Clausing, 1963; Noury, 1963; Kauker, 1966). Besnotou bývajú postihnuté najmä druhy žijúce v zemi; v Európe je to najmä *Microtus arvalis*. Môže mať veľký význam ako inaparentný rezervoár vírusu lyssy. Podobným rezervoárom rabcickej infekcie môžu podľa Nikoliča (1965) byť aj chrčky, veveričky, potkany, plchy a ondatry.

U zemných veveričiek (z rodov *Citellus* a *Xerus*) bola besnota zaznamenaná v Indii (Grevel a Nicolas, 1970) a v Južnej Afrike (Neitz, 1949).

Táto práca je pokračovaním predchádzajúcej časti pokusov, ktorá bola zameraná predovšetkým na izoláciu vírusu besnoty z chrčkov (Švrček a i., 1972, 1980) a na ich charakteristiku (Alexander a i., 1977).

MATERIÁL A METÓDA

POKUSNÉ ZVIERATÁ

Pre pokusy sme použili šesť- až osemgramové myši a 200-gramové biele potkany. Myši boli chované po piatich kusoch vo fľašiach. Potkany boli chované vo fľašiach individuálne.

KMENE VÍRUSU BESNOTY

Použili sme tri uličné kmene vírusu besnoty, ktoré sme izolovali z chrčkov roľných (Švrček a i., 1972, 1980), označené ako 3 O, 7 E, 9 E, a pre porovnanie uličný kmeň 1151 izolovaný z líšky obyčajnej. Uličné kmene vírusu besnoty v prvej mozgovej pasáži sme pomnožili intracerebrálnou infekciou morčiat v dávke 500 MICLD₅₀ a lyofilizovali. Lyofilizované kmene vírusu besnoty sme predbežne titrovali na šesť- až osemgramových bielych myšiach intracerebrálnou infekciou a získali sme tieto hodnoty 3 O — 10^{5.3} MICLD₅₀, 7 E — 10^{6.6}, 9 E — 10^{4.7}, referenčný kmeň 1151 — 10^{5.7}. Na riedenie lyofilizovaného vírusu sme použili pufrovaný fyziologický roztok o pH 7,4 s pridaním 2 až 5% normálneho inaktivovaného konského séra a antibiotík (500 m. j. draselnej soli PNC a 2 mg STM na 1 ml).

INFEKCIA POKUSNÝCH ZVIERAT

Na infekciu zvierat sme použili jednotlivé kmene v riedení, ktoré v predpokuse pri subkutánnej infekcii do horného pysku vyvolalo 100% mortalitu. Na infekciu myši sme použili kmeň 3 O v riedení 1:40, na infekciu potkanov 1:20; kmeň 7 E na infekciu myši 1:80, potkanov 1:20; kmeň 9 E na infekciu myši 1:40, potkanov 1:20; kmeň 1151 na infekciu myši 1:40, potkanov 1:20. Objem inokula — na infekciu myši 0,1 ml, potkanov 0,25 ml. Takto sme každým z uvedených štyroch kmeňov subkutánne infikovali 50 šesť- až osemgramových myši a 25 200-gramových potkanov.

VYŠETROVANIE INFIKOVANÝCH ZVIERAT

Klinické vyšetrenie sme robili dvakrát denne. Každých 24 hodín sme éterom usmrtili vždy tri infikované myši. Po vypitvaní sme z nich odobrali jednotlivé vzorky CNS: bedernú miechu, predĺženú miechu, mozoček, Ammonové rohy. U potkanov sme postupovali obdobne s tým rozdielom, že prvé tri potkany sme usmrtili po 24 hodinách, ďalšie vždy po nasledujúcich 72 hodinách. Vzorky odobratého materiálu z CNS potkanov boli tie isté ako u myši.

Z jednotlivých častí CNS každého zvierata sme pripravili po dvoch otláčkových preparátoch, ktoré sme po vysušení na vzduchu a po fixácii nad plameňom farbili priamou metódou imunofluorescencie (Goldwasser a Kissling, 1958; Dean, 1966).

Výsledky štúdia distribúcie rabického antigénu v CNS zvierat experimentálne infikovaných tromi kmeňmi vírusu besnoty izolovanými z chrčkov rolných (3 O, 7 E, 9 E) a „líščím“ kmeňom 1151 detekovaným priamou metódou imunofluorescencie ukázali, že všetky spomenuté kmene vírusu besnoty boli detekované vo všetkých nami vyšetovaných častiach CNS.

V Ammonových rohoch, mozočku, predĺženej mieche a lumbálnej mieche sme kmeň 3 O detekovali už za 24 h po infekcii. Vytváral malé množstvo drobných aj väčších nerovnomerne rozložených, miestami ostrovčekovite rozložených okrúhlych granúl. Intenzita fluorescencie bola jasná a hodnotená na ++ až +++.

Kmeň 7 E (v predpokusoch s najkratšou inkubačnou dobou) bol detekovaný v uvedených častiach CNS tiež po 24 hodinách. Mikroskopický obraz pripomínal fluorescenciu „hviezdného prachu“. Veľké množstvo nahustených nerovnomerne roztrúsených malých okrúhlych jasne žiariacich granúl pripomínalo fluorescenčný obraz vírusu fixe. Intenzita fluorescencie bola hodnotená na +++ až ++++.

Pri hodnotení preparátov pripravených 24 hodín po infekcii sme zistili, že kmeň 9 E vytváral obraz podobný obrazu vytváranému kmeňom 3 O. U kmeňa 9 E bol však menší počet svetielkujúcich granúl, bez prítomnosti väčších agregátov. Po 24 hodinách sme rabický antigén nedetekovali v bedernej mieche, kde sa objavil až po 48 hodinách.

Referenčný kmeň 1151 sa objavil v mikroskopickom obraze úplne zhodne s kmeňom 9 E. Po 24 hodinách však rabický antigén nebol dokázateľný v predĺženej a lumbálnej mieche, kde sa objavil až po dvoch dňoch. Intenzita žiarenia fluoreskujúcich granúl u kmeňov 9 E a 1151 bola hodnotená na ++.

V ďalších dňoch sa mikroskopický obraz pri myšiach infikovaných kmeňom 3 O takmer nemenil a ostal „ustálený“ až do deviateho dňa, kedy sme vo vyšetovaných častiach CNS zbadali náznaky ďalšieho pomnoženia rabického antigénu. V desiatom dni sme množstvo granúl hodnotili ako stredne veľké. V čase objavenia sa klinických príznakov a hynutia (10. až 12. deň) sme mohli detekovať stredne veľké, ojedinele až veľké množstvo drobných alebo aj väčších nerovnomerne rozložených okrúhlych svetielkujúcich granúl. Intenzita žiarenia bola na +++.

Kmeň 7 E bol detekovaný vo všetkých už uvedených vyšetovaných častiach CNS za 24 hodín po infekcii. Charakteristika mikroskopického nálezu uvedeného kmeňa sa v ďalšom priebehu inkubačnej doby, objavenia sa klinických príznakov, ako aj v dobe hynutia (piaty až siedmy deň po infekcii) nezmenila. Mikroskopický obraz bol charakterizovaný veľmi veľkým množstvom drobných až prachovitých okrúhlych granúl vytvárajúcich obraz „hviezdného prachu“. Nález väčších okrúhlych granúl bol len ojedinelý. Intenzita fluorescencie bola na +++ až ++++.

Rabický antigén pri myšiach infikovaných kmeňom 9 E v priebehu 48 hodín bol detekovaný vo všetkých vyšetovaných častiach CNS. Potom sa mikroskopický obraz „ustálil“ a pretrvával až do desiateho dňa. Charakteristika fluorescencie a intenzita žiarenia bola zhodná s mikrosko-

pickým obrazom po 48 hodinách. V čase objavenia sa klinických príznakov a hynutia (11. až 14. deň) došlo vo vyšetrovaných častiach CNS k ďalšiemu zmnoženiu rabického antigénu. Mikroskopický obraz bol charakterizovaný väčším množstvom malých a väčších okrúhlych nerovnomerne rozložených granúl. Intenzita žiarenia bola na $^{++}$. Nález ostrovčekovite uložených svetielkujúcich útvarov v malom mozgu nebol badaateľný (na rozdiel od detekcie po 24 a 48 hodinách).

Pri myšiach infikovaných uličným „líščím“ kmeňom 1151 sme mohli detekovať rabický antigén vo všetkých častiach CNS až v priebehu 48 až 72 hodín po infekcii. Charakteristika svetielkujúcich granúl a ich dynamika boli v ďalšom priebehu takmer totožné s kmeňom 9 E.

POTKANY

Výsledky štúdia distribúcie rabického antigénu v CNS zvierat dokazujú detekciu rabického antigénu kmeňov vírusu besnoty vo všetkých častiach CNS, avšak na rozdiel od myší sa nám rabický antigén u potkanov podarilo dokázať so značným oneskorením. Prvú detekciu rabického antigénu sme zaznamenali až v šiestom dni.

Kmeň 3 O vytváral v šiestom dni po infekcii v Ammonových rohoch, malom mozgu, predĺženej a bedernej mieche malé až väčšie množstvo drobných a väčších granúl, vo väčšine prípadov nerovnomerne rozložených. Granuly boli okrúhle, s intenzitou žiarenia na $^{++}$.

Kmeň 7 E vytváral v šiestom dni po infekcii veľké množstvo drobných až prachovitých granúl, len v ojedinelých prípadoch s prímiesou väčších zrníek. Mikroskopický obraz pôsobil dojmom „hviezdneho prachu“. Fluoreskujúce granuly boli jednoznačne nerovnomerne rozložené a ich intenzita žiarenia bola na $^{+++}$. Prvá detekcia rabického antigénu u kmeňa 7 E bola zaznamenaná v šiestom dni po infekcii vo všetkých vyšetrovaných častiach CNS. Podľa výsledku detekcie rabického antigénu mal kmeň 9 E najdlhšiu dobu distribúcie. Prvá detekcia v Ammonových rohoch, v malom mozgu a v predĺženej mieche bola až v deviatom dni u všetkých troch jedincov. V bedernej mieche sme objavili antigén len u dvoch zvierat z troch vyšetrovaných. Granúl bolo čo do množstva pomerne málo, viac veľkozrnných ako prachovitých, a vytvárali nerovnomerne rozmiestnený zmiešaný obraz. Intenzita špecifickej fluorescencie bola na $^{++}$.

Referenčný kmeň 1151 sme prvýkrát detekovali šiesty deň po infekcii u všetkých troch zvierat a vo všetkých vyšetrovaných častiach CNS. Vytváral malé až ojedinele sa vyskytujúce drobné prachovité granuly s pomerne častou prímiesou veľkozrnných okrúhlych útvarov. Intenzita žiarenia bola hodnotená na $^{++}$.

Deviaty deň po infekcii bol pri potkanoch infikovaných kmeňom 3 O nález svetielkujúcich granúl totožný s nálezom získaným v šiestom dni po infekcii. Počnúc 12. dňom došlo k ďalšiemu zmnoženiu antigénu vo všetkých nami vyšetrovaných častiach CNS a mohli sme ho charakterizovať ako stredne veľké až veľké. Granuly boli okrúhle, drobné až väčšie, s prevahou drobných svetielkujúcich útvarov, s intenzitou žiarenia na $^{++}$ až $^{+++}$. Najväčšie zmnoženie antigénu sme zaznamenali v predĺženej mieche. V 13. a 14. dni (v dobe klinických príznakov a hynutia)

nejavil mikroskopický obraz podstatné rozdiely od predchádzajúceho hodnotenia (12. deň). Množstvo detekovaného antigénu bolo stredne veľké až veľké. Granuly boli okrúhle, nerovnomerne rozložené, malé až veľké, s prevahou malých granúl. V predĺženej mieche a mozočku sa vyskytoval ojedinelý nález veľkých granúl. Intenzita žiarenia bola na +++.

U potkanov infikovaných kmeňom 7 E nedošlo v ďalšom priebehu k podstatným zmenám v mikroskopickom náleze. Aj v čase, kedy sa vyskytli klinické príznaky a hynutie (10. až 12. deň po infekcii), bolo množstvo rabického antigénu zhodné s množstvom detekovaným v šiestom dni. Naďalej prevládal nález veľkého množstva drobných až prachovitých granúl pôsobiacich dojmom „hviezdneho prachu“, nerovnomerne rozložených, s ojedinelou prímесou väčších granúl. Intenzita žiarenia bola hodnotená na +++ až ++++.

U potkanov infikovaných kmeňom 9 E sme zistili rabický antigén 12. deň po infekcii vo všetkých častiach CNS a u všetkých vyšetrovaných zvierat. Granúl bolo pomerne málo a boli nerovnomerne rozložené. Intenzita žiarenia bola na ++. Svetielkujúce útvary boli okrúhle, malé a veľkozrnne, s prevahou veľkozrnných granúl. Charakteristika svetielkujúcich granúl a intenzita žiarenia sa nezmenila. V dobe, kedy sa objavili klinické príznaky a hynutie (19. až 21. deň), bolo badateľné ďalšie zmnoženie antigénu (oproti 12. dňu) vo všetkých častiach CNS. Granuly boli veľkozrnne, s prímесou drobných svetielkujúcich útvarov, a vytvárali nerovnomerne rozmiestnený zmiešaný obraz. Intenzita žiarenia bola na ++ až +++.

Charakteristika svetielkujúcich granúl referenčného kmeňa 1151 bola až do 12. dňa totožná s mikroskopickým nálezom, ktorý sme získali v šiestom dni po infekcii. Vo všetkých vyšetrovaných častiach CNS sme zaznamenali malé množstvo drobných prachovitých granúl s prímесou okrúhlych veľkozrnných útvarov. Intenzita žiarenia bola na ++. Mikroskopický nález v 12. a 15. dni bol vo vyšetrovaných častiach CNS rozdielny len v dôsledku zmnoženia počtu svetielkujúcich útvarov. Charakteristika a intenzita žiarenia sa nezmenili. V dobe objavenia sa klinických príznakov a hynutia (16. až 18. deň po infekcii) mohol byť nález množstva svetielkujúcich granúl hodnotený ako stredne veľký, s intenzitou žiarenia na ++. Granuly boli drobné až prachovité, s prímесou nerovnomerne rozmiestnených veľkozrnných útvarov.

DISKUSIA

Porovnaním charakteristiky fluorescencie rabického antigénu jednotlivých „chrčích“ kmeňov na myšiach a potkanoch možno konštatovať, že medzi uvedenými kmeňmi neboli veľké rozdiely. Tieto kmene možno hodnotiť ako kmene vytvárajúce zmiešaný fluorescenčný obraz, charakteristický pre kmene so sníženou virulenciou a pre plne virulentné kmene. Typický obraz atenuovaných kmeňov — jemná fluorescencia typu „hviezdny prach“, ako aj prímес väčších okrúhlych agregátov typických pre uličné kmene — boli pozorované aj v tomto prípade. Zvlášť kmeň 7 E svojou jemnou zrnitosťou a veľkým množstvom nerovnomerne rozložených okrúhlych drobných granúl s jasnou intenzitou fluorescencie poskytoval obraz „hviezdneho prachu“. Medzi mikroskopickým

obrazom spomínaného kmeňa u experimentálne infikovaných myší a potkanov nebol žiaden rozdiel.

Mikroskopický obraz kmeňa 3 O bol u oboch druhov zvierat zhodný a podľa charakteristiky svetielkujúcich granúl patrí medzi plne virulentné uličné vírusy. Opodstatnenosť tohoto názoru potvrdzoval pomerne riedky výskyt malých aj väčších okrúhlych granúl v zornom poli.

Kmene 9 E a 1151 javili úplne zhodný fluorescenčný obraz u myší aj u potkanov. V oboch prípadoch zaraďoval nález malých aj väčších fluoreskujúcich granúl s ojedinelou prímесou väčších agregátov, ktoré neboli v zornom poli huste zastúpené, uvedené kmene medzi uličné vírusy.

Rozdiel vo fluorescenčnom obraze medzi kmeňmi 3 O, 9 E a 1151 bol veľmi malý a spočíval predovšetkým v množstve svetielkujúcich zrníček. Intenzita fluorescencie bola u spomenutých kmeňov na $^{++}$ a len veľmi zriedkavo na $^{+++}$. Dominantné postavenie mal kmeň 7 E, u ktorého ho intenzita žiarenia nebola menšia ako na $^{+++}$.

Pri myšiach experimentálne infikovaných kmeňmi 3 O a 7 E sme rabický antigén detekovali vo všetkých častiach CNS už za 24 hodín po infekcii. V tomto období nebol rabický antigén detekovaný v lumbálnej mieche pri kmeni 9 E a pri kmeni 1151 bol detekovaný len v Ammonových rohoch. Po 48 hodinách sme pri myšiach infikovaných tromi "chrčmi" kmeňmi a „líščím“ kmeňom 1151 rabický antigén detekovali vo všetkých častiach CNS.

Beseda (1974) zistil už za 24 hodín po intracerebrálnej infekcii myší rabický antigén vo veľkom mozgu, za 48 hodín ho zistil v mozgovom kmeni, predĺženej, hrudnej a lumbálnej mieche. Z nenervových orgánov v kornei až štvrtý deň, v pľúcach a obličkách ôsmy deň. Po intramuskulárnej infekcii bol vírusový antigén zistený v lumbálnej a hrudnej mieche tretí deň, v ostatných orgánoch priemerne o jeden až dva dni neskôršie ako po intracerebrálnej infekcii. Pozoruhodné je, že vírusový antigén bol objavený v mnohých nenervových orgánoch (pľúca, obličky, myokard, pečeň, slezina) ešte pred klinickým ochorením, ale nikdy nie prv ako v CNS.

Pri potkanoch bola vzhľadom na ich nižšiu vnímavosť voči vírusu lyssy (Goršunova, 1963; WHO, 1973) prvá detekcia rabického antigénu zaznamenaná v CNS u zvierat infikovaných kmeňmi 3 O, 7 E a kmeňom 1151 v šiestom dni, po infekcii kmeňom 9 E až v deviatom dni.

Literatúra

- ALEXANDER, R. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — ONDREJKA, R.: Štúdium biologických vlastností kmeňov vírusu besnoty izolovaných z chrčkov rolných (*Cricetus cricetus*). Folia vet., Košice, XXI, 1977, č. 1-2, s. 213-228.
- BESEDA, M.: Vírusový antigén besnoty zistený imunofluorescenciou v nervových orgánoch myšiek infikovaných terénym kmeňom. Vet. Čas., XVI, 1974, č. 5-6, s. 169-173.
- CLAUSING, D.: Zur Problematik der Tollwutbekämpfung. Mh. VetMed., 19, 1963, s. 29.
- DEAN, D. J.: The Nyilar test for measuring potencial of antirabies vaccine. In: Lab. techniques in rabies, WHO, Geneva, Sec. ed., 1966, s. 157-158.

- GOLDWASSER, R. A. — KISSLING, R. E.: Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 98, 1958, s. 219-223.
- GORSUNOVA, L. P.: Jestestvennaja rezistentnost k bešenstvu i antirabičeskij immunitet. [Diss. dokt.] Moskva 1963.
- GREVEL, S. D. S. — NICHOLAS, M. J., 1970: cit. podľa IRVIN, A. D.: The epidemiology of wildlife rabies. *Vet. Rec.*, 87, 1970, s. 333-348.
- KAUKER, E.: Die Tollwut in Mitteleuropa von 1953—1966. *Sitzungsberichte der Heidelberg Akademie der Wissenschaften*. Heidelberg, Springer-Verlag 1966.
- NIKOLITSCH, M.: Rabies-aspects of the history disease and its mode of transmission. *Blue Book vet. Prof.*, 1965, č. 10, s. 7-12.
- NEITZ, W. O.: *Fmg. S. Afr.*, 77, 1949, s. 3.
- NOURY, M.: Importance of rabies in Morocco. *Maroc. Med.*, 42, 1963, s. 461-466.
- SCHOLTZ, M. — WEINHOLD, E.: Zur Epidemiologie der Tollwut bei Rattus und Mäusen. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, 82, 1969, s. 255-257.
- SMITH, P. C. — LAWHASWADI, K. — VICK, W. E. — STANTON, J. S.: Enzootic rabies in rodents in Thailand. *Nature*, 217, 1968, s. 954-955.
- SODJA, I. — LIM, D. — MATOUCH, O.: Isolation of rabies virus from small wild rodents. *J. Hyg. Epid. Microbiol. Immun.*, 15, 1971, s. 271-277.
- ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — GERLACHOV, D. — ALEXANDER, R. — ĐURAN, A.: Príspevok k štúdiu patogenézy a ekológie lyssy. Referát na X. sjazdu ČsSM pri ČSAV, Brno 1972, s. 124.
- ŠVRČEK, Š. — ALEXANDER, R. — VRTIAK, O. J. — MAČIČKA, O. — GRULICH, I. — ONDREJKA, R.: Izolacija virusa bešenstva iz chomjaka obyknovenogo (*Cricetus cricetus*) v Českoslovakii. *Acta vet. hung.* XXVIII, 1980.
- TITOV, V. I. a i.: Isolation of a neurotropic viruses from souslikes (*Citellus* spp.). *Veterinarija*, 1972, č. 7, s. 64-66.
- WHO Expert Committee on Rabies. *Tech. report. Ser.*, 6th Report, 1973, č. 523.

Došlo dňa 4. 12. 1980

AЛЕКСАНДЕР, Р. — ШВРЧЕК, Ш. — ВРТИАК, О. Я. — ОНДРЕЙКА, Р. — БЕНИШЕК, З. — ЗАВАДОВА, Й. (Ветеринарный институт, Кошице; Институт экспериментальной ветеринарии, Кошице): Распределение антигена бешенства в ЦНС крыс и мышей, экспериментально зараженных штаммами вируса бешенства, изолированными из хомячков обыкновенных (*Cricetus cricetus*). *Vet. Med., Praha*, 26, 1981 (5): 271-278.

В сравнительных опытах, направленных на изучение распределения антигена бешенства в ЦНС крыс и мышей, экспериментально зараженных тремя «хомячьими» штаммами (для сопоставления также «лисыным» штаммом 1151), нами было установлено, что при микроскопическом наблюдении за препаратами, окрашенными при помощи метода иммунофлюоресценции, «хомячьи» штаммы показывали смешанную картину флюоресцирующих частиц, характерную для штаммов с пониженной вирулентностью и для вирулентных уличных штаммов. У мышей, зараженных штаммами 3 О и 7 Е, антиген бешенства был детектирован во всех частях ЦНС уже спустя 24 часа после инфекции. В это время у штамма 9 Е он не был детектирован в поясничном мозгу, а у штамма 1151 в то же время был детектирован только в аммоновых рогах. После 48 часов антиген бешенства у мышей был детектирован во всех частях ЦНС у всех четырех используемых штаммов. У крыс, учитывая их пониженную восприимчивость к вирусу бешенства, первое детектирование антигена бешенства в ЦНС после инфекции штаммами 3 О, 7 Е и 1151 нами было отмечено на шестые сутки, у штамма 9 Е только на девятые сутки в бедренном мозгу, причем только у некоторых животных.

вирус бешенства; антиген бешенства; прямой метод иммунофлюоресценции

ALEXANDER, R. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — ONDREJKA, R. — BENÍŠEK, Z. — ZÁVADOVÁ, J. (University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Distribution of Rabies Antigen in CNS of Sewer-Rats and Mice Experimentally Infected with the Rabies Virus Strains Isolated from Hamsters (Cricetus cricetus)*. *Vet. Med., Praha*, 26, 1981 (5): 271-278.

The comparative experiments were carried out to study the distribution of the rabies antigen in the central nervous system (CNS) of sewer-rats and mice expe-

perimentally infected with three "hamster" strains (for comparison also with "fox" strain 1151); it was found out that with microscopical observation of preparations stained by the method of direct immunofluorescence the "hamster" strains produced a blended picture of fluorescing particles characteristic of strains with a reduced virulence and virulent strains. As for mice infected with strains 3 O and 7 E the rabies antigen was detected in all parts of CNS as early as 24 hours after infection. In this period the rabies antigen strain 9 E was not detected in lumbar spinal cord and that with strain 1151 was detected only in the Ammonian horns. After 48 hours the rabies antigen in mice was detected in all parts of CNS with all four strains used. In sewer-rats, with regard to their lower susceptibility to the rabies virus, the first detection of rabies antigen in CNS was recorded on the 6th day after infection with strains 3 O, 7 E and 1151, whereas with strain 9 E as late as the 9th day in lumbar spinal cord and not in all animals.

rabies virus; rabies antigen; method of direct immunofluorescence

ALEXANDER, R. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — ONDREJKA, R. — BENÍŠEK, Z. — ZÁVADOVÁ, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice; Institut für experimentelle Veterinärmedizin, Košice): *Distribution des Rabies-Antigens im ZNS der experimentell mit Stämmen des aus Hamstern (*Cricetus cricetus*) isolierten Tollwutvirus infizierten Wanderratten und Mäuse*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5) : 271-278.

In den auf das Studium der Distribution des Rabies-Antigens im ZNS von experimentell mit drei „Hamster“-Stämmen (und zum Vergleich auch mit dem „Fuchs“-Stamm 1151) infizierten Wanderratten und Mäusen ausgerichteten Vergleichsversuchen stellten wir fest, daß bei den mikroskopischen Beobachtungen der mittels der direkten Immunofluoreszenzmethode gefärbten Präparate die „Hamster“-Stämme ein gemischtes Bild fluoreszierender Partikeln darstellten, das für Stämme mit herabgesetzter Virulenz und für virulente Straßenstämme charakteristisch ist. Bei den mit den Stämmen 3 O und 7 E infizierten Mäusen war das Rabies-Antigen in allen Teilen des ZNS bereits 24 Stunden nach der Infizierung nachweisbar. In diesem Zeitraum wurde bei dem Stamm 9 E das Antigen im Lumbalrückenmark nicht vorgefunden und bei dem Stamm 1151 ebenfalls in diesem Zeitraum wurde es ausschließlich in den Ammonshörnern entdeckt. Nach 48 Stunden wurde das Rabies-Antigen bei den Mäusen in allen Teilen des ZNS bei allen vier angewandten Stämmen erfaßt. Bei den Wanderratten wurde im Hinblick auf deren geringere Sensibilität gegenüber dem Tollwutvirus die erste Detektion des Rabies-Antigens im ZNS nach der Infizierung mit den Stämmen 3 O, 7 E und 1151 am sechsten Tag verzeichnet; bei dem Stamm 9 E erschien das Antigen am neunten Tag im Lendenrückenmark und dies nicht bei allen Tieren.

Tollwutvirus; Rabies-Antigen; direkte Immunofluoreszenzmethode

Adresa autorov:

MVDr. Róbert Alexander, doc. MVDr. Štefan Švrček, CSc., akademik Oto Jaroslav Vrtiak, MVDr. Róbert Ondrejka, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Zdeněk Beníšek, MVDr. Jolana Závadová, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Komenského 73, 041 81 Košice

IMUNOGENNÍ ÚČINEK ANTRAXOVÉHO PROTEKTIVNÍHO ANTIGENU

K. Prokůpek, R. Dvořák, R. Poláček

PROKŮPEK, K. — DVOŘÁK, R. — POLÁČEK, R. (Bioveta, Ivanovice na Hané; Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Brno): *Imunogenní účinek antraxového protektivního antigenu*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5) : 279-290.

K pokusné imunizaci ovcí a koz proti antraxu jsme použili vakcíny, která obsahovala námi připravený protektivní antigen (PA), jehož sérologická aktivita byla vyhodnocena titrem 1 : 16. PA byl adsorbován na gel hydroxidu hlinitého v poměru 30 dílů gelu na 100 dílů antigenu. Kontrolní čelenž byla provedena dávkou 10^6 (ovce) a $5 \cdot 10^6$ (kozy) virulentního antraxového kmene. Jednorázová vakcinace poskytovala jen 60% protekci, dvojrázová 100%. Sledování titru protilátek vakcinovaných zvířat ukázalo, že vrcholů titrů (1 : 80 až 1 : 160) bylo dosahováno za dva měsíce po vakcinaci. Pak titr postupně klesal, až asi za dva měsíce byl opět na výchozí hodnotě. Z výsledků práce vyplývá, že k dosažení solidní protekce PA vakcínou je třeba imunizovat dvakrát, nejlépe v intervalu 14 dní.

Bacillus anthracis; protektivní antigen (PA); imunogenní aktivita

Uplynulo již sto let od Pasteurova legendárního pokusu v Pouilly le Fort [r. 1881]. Tento první veřejný pokus v dějinách lidstva prokázal Pasteurovu domněnku, že infekčním nemocem lze předcházet. Od těch dob se v prevenci sněti slezinné v podstatě mnoho nezměnilo. Užívá se stále živé vakcíny, postupně zdokonalované, vyznačující se stabilnějším účinkem a menším postvakcinačním rizikem. Dnes se používá k vakcinaci značně stabilizovaných akapsulárních kmenů, neschopných vyvolat infekci (Sterne, 1967). Je nesporné, že vakcinace těmito kmeny zaznamenala dobré výsledky na celém světě. Nicméně, jak zkušenosti ukazují, imunizace živou vakcínou přináší riziko různých postvakcinačních komplikací, a to jak z hlediska zdravotního a hygienického, tak i ekonomického, které nelze přehlížet. Snaha vyhnout se těmto komplikacím znamená nahradit živou vakcínu látkou neživou, což je ostatně v souladu se světovým trendem vývoje očkovacích látek. Proto bylo naším záměrem věnovat se tomuto problému a aktualizovat jej v odborném tisku.

Protektivní antigen (PA) je jednou ze tří známých komponent antraxového toxického komplexu a je považován za hlavní imunizační faktor. Bližší údaje o jeho biochemických vlastnostech a jeho přípravě jsou uvedeny v naší předešlé práci (Prokůpek aj., 1979). Hodnocení imunologického účinku antraxového protektivního antigenu je věnována početná řada experimentálních prací. Již Bail (1902) zjistil, že antrakózní edematózní tkáň poskytuje látku, kterou lze imunizovat zvířa-

ta. Tento jev nebyl dále studován. Teprve ve čtyřicátých letech se k tomuto zjištění vracejí Gladston (1946) a Cromartie aj. (1947). Tyto dvě práce se staly základem dalšího intenzivního studia. Wright aj. (1954) prokazuje, že protilátky proti PA se tvoří pomalu a v nízkém titru. Ve vyšším titru je lze prokázat teprve po několika dávkách PA. Auerbach a Wright (1955) čelénžovali různými antraxovými kmeny morčata imunizovaná PA. Některé z těchto kmenů byly schopny prolomit imunitu. Neobstála ani imunita morčat imunizovaných homologním PA. Existence těchto aberantních kmenů u dalších druhů zvířat nebyla sledována.

Jackson aj. (1957) dělali pokusy s PA vakcínou na volcích ve věku jeden a půl roku a o hmotnosti 250 až 350 kg. Při jednorázové vakcinaci a po čelénži za tři měsíce po vakcinaci polovina zvířat uhynula. V jiné skupině byli volci za jeden měsíc po první dávce revakcinováni. Při infekci za jeden měsíc po skončené vakcinaci všechna zvířata přežila. Při infekci za tři a půl měsíce po vakcinaci uhynula z osmi zvířat dvě a za sedm měsíců další tři. To naznačuje, že asi po třech měsících došlo k postupnému poklesu imunity. Všechna zvířata imunizovaná živou spórovou vakcínou, kontrolně čelénžovaná za tři měsíce, přežila. Autoři uzavírají, že účinek dvou dávek PA vakcíny se rovná asi účinku jedné dávky živé vakcíny.

Mnozí autoři pak zjistili kolísání v délce rezistence u skotu jak po PA, tak i po živé vakcíně. Úspěšné pokusy na ovčích imunizovaných PA provedl Molnar (1959). De Armon aj. (1961) posuzovali stupeň imunity kvantitativně stanovením indexu imunity na morčatech a považovali jej za celkem přesné vyjádření té komponenty rezistence, která odpovídá imunizačnímu účinku antigenu. Klein aj. (1962) prokázali opětovně, že hladina protilátek po imunizaci PA i živou vakcínou stoupá pomalu a že titry jsou zpočátku velmi nízké. Některá zvířata však i při nízkém indexu imunity a zcela nízkém titru měla dobrý stupeň protekce. Obvykle se však vysoký stupeň indexu imunity vyznačoval dobrou protekcí, i když nebyl provázen vysokým titrem. Autoři uvádějí index imunity byl 3,2 pro PA jednorázově, pro PA s revakcinací 5,8, ale pro živou vakcínu podanou jednorázově jen 0,7. Stupeň protekce byl v přímém vztahu k dávce antigenu. Revakcinace stupeň protekce výrazně zvyšovala.

Velmi nízký stupeň protekce u morčat byl dosažen po jedné dávce živé vakcíny. Molnarová a Altenbern (1963) se domnívají, že PA je schopen zastavit působení antraxového toxinu ve tkáních a uvažují o možnosti použít PA v léčebné praxi. Studie autorů Ward aj. (1965) ukazuje na složitost problému. Většina morčat imunizovaných PA, která zašla na kontrolní infekci (57 ze 77), měla výrazný podíl protilátek v krvi jak v době čelénže, tak i v době exitu (titry 1:4 až 1:512). Autoři vyslovují obavu, zda neexistuje v přírodě prevalence antraxových kmenů schopných prolomit imunitu (aberantní kmeny). Mahlandt aj. (1966) pozorovali, že letální faktor měl určitý imunogenní účinek u morčat a krys. Také edémový faktor měl v některých kombinacích synergický účinek s PA. Fish aj. (1968) prokazuje, že PA je ve všech stupních purifikace dobrým imunogenem. Uvádějí, že preparát částečně purifikovaný síranem amonným měl index imunity 5,9 a preparát vysoce purifikovaný 5,7. Fish a Lincoln (1968) přinesli ve své práci mnoho zajímavých pozorování. Zjistili, že samotný antraxový toxin i jeho komponenty se zdají být špatnými antigeny, protože nevyvolávají silnou látkovou odpověď. Za jeden měsíc po aplikaci PA i živé vakcíny se nepodařilo u králíků prokázat protilátky. Bylo třeba opakovaných dávek, než byl titr zjistitelný. Zvířata však měla často vysoký stupeň protekce při současně zcela nízkém titru protilátek. Autoři také ověřili Wardovo pozorování, že imunizovaná zvířata mohou uhynout na antraxový toxin i tehdy, jsou-li protilátky v krvi přítomny.

V SSSR se touto problematikou zabývali především Alexandrov se spolupracovníky. Ve svých sděleních (1961, 1962, 1964, 1965) zveřejnili údaje o metodách získávání PA. V pokusech na králících a ovčích byla prokázána jeho imunogenní aktivita. Stupňování dávek PA nevedlo jednoznačně k zvýšenému účinku. Bylo zaznamenáno, že po imunizaci živou vakcínou STI se za 80 dní dostavil zřetelný pokles protekce. Jezepčuk (1968) uvádí, že se v poslední době s úspěchem používá adjuvantní vakcinace PA s použitím gelu hydroxidu hlinitého. Burgasov a Rožkov (1972) hodnotí antiantraxovou imunitu stanovením preventivní aktivity séra imunizovaných zvířat. Metoda je založena na neutralizaci antraxového toxinu na bílých myších. Pokusy na králících ukázaly, že PA vyvolal takové narůstání preventivní aktivity séra, jako živá vakcína. Za dva měsíce po imunizaci se obvykle dosahovalo maxima preventivní aktivity séra i protekce, pak nastalo snižování a za šest měsíců pokles na původní hodnoty.

Z našich autorů, kteří pracovali na této problematice, je třeba uvést Trnka aj. (1962). Ve svých pokusech pracovali s protektivní látkou produkovanou *in vivo*. Mikula (1976) na základě rozsáhlých pokusů na morčatech, ve kterých porovnával výsledky imunizace živou vakcínou s výsledky dosaženými chemovakcínou (PA), dospěl k závěru, že chemovakcína poskytuje lepší výsledky. Zvyšování dávek PA se neprojevovalo výrazně ve zvýšeném účinku.

MATERIÁL A METODY

PA VAKCÍNA

K přípravě jsme použili námi čerstvě připraveného protektivního antigenu, jehož sérologická aktivita byla vyjádřena titrem 1:16 (Prokůpek aj., 1979). Preparát byl uchováván v lyofilizovaném stavu v mrazicím pultu při teplotě -20°C . Antigen jsme adsorbovali na gel hydroxidu hlinitého $[\text{Al}(\text{OH})_3]$ v poměru 30 dílů gelu na 100 dílů PA. Použili jsme preparát „Hydroxid hlinitý — gel“, výrobek Biovety Nitra. Gel musí být sterilní a před přidáním dobře roztřepaný. Aktuální acidita vakcíny, vyjádřená pH, byla 7,0. K pokusům byla připravena vždy čerstvá vakcína.

IMUNOGENNÍ AKTIVITA

byla zjišťována v předpokuse na králících o hmotnosti 2 až 3 kg. Hlavním kritériem v naší práci byl stupeň protekce, dosažený v biologických pokusech na ovčích a kozách (dospělá zvířata v dobrém výživném stavu).

STUPEŇ IMUNITY

Stupeň dosažené protekce jsme vyhodnocovali indexem přežití, formulovaným vztahem:

$$I_p = \frac{\text{počet pokusných zvířat}}{\text{počet přeživších zvířat}} \cdot 100$$

Doplňujícím ukazatelem bylo stanovení průměrné doby přežití v pokusech zašlých zvířat ve srovnání s kontrolními zvířaty.

ZPŮSOB IMUNIZACE

V prvním pokuse jsme PA vakcínu aplikovali jednorázově v odstupňovaných dávkách 3, 5 a 10 cm^3 . Ve srovnávacím pokuse jsme PA vakcínu podávali dvoj-
rázově (revakcinace): první dávka — 3 cm^3 , za týden druhá dávka — 5 cm^3 . Živou spórovou vakcínu, vyráběnou komerčně Biovetou, Ivanovice na Hané (op. č. 090274), jsme podávali jednorázově v dávce 1 cm^3 . Tuto vakcínu jsme aplikovali vždy podkožně.

KONTROLNÍ INFEKCE

Infekční čelenž jsme dělali obvykle za tři až čtyři týdny po skončené vakcinaci standardní spórovou suspenzí virulentního antraxového kmene Letonice, vytitrovaného na králících (MLD $2 \cdot 10^4$). Pokusní králíci a ovce byli čelenžováni dávkou $1 \cdot 10^6$, kozy dávkou $5 \cdot 10^6$, vždy podkožně. Kontrolní zvířata byla čelenžována současně s pokusnými. Spórová suspenze byla uložena v lednici při teplotě $+4^{\circ}\text{C}$. Její hustotu a stupeň virulence jsme průběžně kontrolovali.

DOBA SLEDOVÁNÍ POKUSU

Pokusná zvířata jsme sledovali klinicky denně po dobu 14 dní, přičemž byl zjišťován nejen celkový zdravotní stav, ale také lokální změny v místě aplikace (postvakcinační reakce). Příčina uhynutí byla zjišťována komplexním vyšetřením v SVÚ Brno. Zvířata, která uhynula až po stanovené pozorovací době, ale u nichž byla antraxová infekce prokázána, byla započítána do pokusu.

STANOVENÍ PROTILÁTEK

Titr těchto látek v séru jsme stanovili imunofluorescenční reakcí, nepřímou metodou. Reakci jsme dělali současně dvěma antigeny. Jedním byl PA, použitý při imunizačních pokusech, druhým byla kultura antraxového kmene Sterne, získaná splachem 18hodinové kultury na šikmém agaru z koňského masa. Suspenze byla upravena na hustotu $1 \cdot 10^6$ mikrobiálních jedinců v 1 cm^3 a uložena v chladničce při teplotě $+4^\circ\text{C}$. Na suspenzi protektivního antigenu nebo kultury kmene Sterne, fixované na podložním sklíčku acetonem, jsme nanášeli postupně geometrickou řadou ředěné zkoušené ovčí sérum a ve druhé vrstvě antiglobulinový konjugát (ovčí antiglobulin značený FITC). Za přítomnosti protilátky v séru docházelo k intenzivní fluorescenci. Při použití nekorpuskulárního PA zářily shluky nepravidelných tvarů, při použití korpuskulárního antigenu zářily především kontury buněk a částečně i jejich těla. Reakci jsme hodnotili tak, že jsme značili fluorescenci vyznačující se oslnivě jasným zářením $+++$, zřetelně jasným zářením $++$ a slabě viditelným zářením $+$. Za spodní hranici pozitivního titru séra jsme považovali ředění, které dávalo ještě $++$ fluorescenci.

Negativní sérum dávalo s PA tmavé shluky, s antigenem Sterne tmavé obrysy buněk. Fluorescence nevznikala reakcí antigenu s konjugovaným normálním ovčím sérem. Reakci vyhodnocoval vždy týž pracovník. Ovce v tomto pokuse byly imunizovány touž PA vakcínou jako v předchozích pokusech a komerční živou vakcínou spórovou (op. č. 100474) z produkce Biovety, Ivanovice.

VÝSLEDKY

IMUNOBIOLOGICKÉ POKUSY

V předpokuse jsme orientačně vyzkoušeli účinek PA vakcíny na králíciích. Jelikož výsledky byly uspokojivé, přistoupili jsme k hlavnímu úkolu, a to prověřit imunogenní účinnost PA vakcíny na hospodářských zvířatech. K tomu účelu jsme použili ovce a kozy.

Záměrem našeho prvního pokusu bylo vyzkoušet jednorázovou vakcinaci s odstupňovanými dávkami. K pokusu jsme použili 17 ovcí, z nichž 15 bylo rozděleno do tří skupin po pěti zvířatech, dvě ovce byly kontrolní. Ovce první skupiny byly imunizovány dávkou 3 cm^3 , druhé skupiny 5 cm^3 a třetí skupiny 10 cm^3 . Infekční čelenž byla provedena za 25 dní po skončení vakcinace. Současně s pokusnými ovcemi byly infikovány stejnou dávkou i ovce kontrolní. Kontrolní ovce zašly za dva až tři dny antraxovou sepsí. Postvakcinační reakce místní ani celkové nebyly pozorovány. V každé pokusné skupině uhynuly dvě ovce, takže mezi jednotlivými skupinami se neprojevil očekávaný rozdíl ve výsledku imunizace. V limitované době zašly tři ovce, po této době rovněž tři ovce. Celkem uhynulo v tomto pokuse na antrax šest ovcí. Stupeň protekce, vyjádřený indexem přežití, se rovnal 60. Průměrná doba přežití zašlých pokusných ovcí byla ve srovnání s kontrolními pětikrát delší. Pozoruhodné je, že dvě ovce uhynuly až za 21 a 22 dní po čelenži. Přehledné výsledky pokusu uvádíme v tab. I.

Skupina	Ovce číslo	Dávka cm ³	Přežití	Exitus za dny po čelení	Index přežití
I	42	3	—	22	60
	43		přežila	—	
	50		—	16	
	84		přežila	—	
	90		přežila	—	
II	47	5	přežila	—	60
	83		—	4	
	86		přežila	—	
	87		—	10	
	89		přežila	—	
III	41	10	přežila	—	60
	48		přežila	—	
	49		přežila	—	
	85		—	11	
	88		—	21	

Obdobně byl uspořádán pokus na kozách. Do pokusu bylo zařazeno 14 koz, z toho 12 pokusných a dvě kontrolní. Pokusné kozy byly rozděleny na tři skupiny po čtyřech zvířatech a v těchto skupinách byly imunizovány PA vakcínou jednorázově odstupňovanými dávkami 3 cm³, 5 cm³ a 10 cm³. Infekční čelenž jsme dělali za 31 den po skončené vakcinaci. Současně byla infikována zvířata kontrolní. V pozorovací době uhynula čtyři pokusná zvířata, později žádné. Kontroly zašly za tři až pět dní po infekci. Postvakcinační reakce nebyly pozorovány. V první a druhé skupině uhynulo po jednom zvířeti, ve třetí skupině dvě. Výsledky pokusu jsou uvedeny v tab. II.

Možno říci, že výsledky dosažené v pokuse s kozami jsou obdobné s výsledky v pokuse s ovci. Zde se ještě zřetelněji ukázalo, že zvyšování dávky vakcíny se neprojevovalo v imunizačním efektu. Dosažený stupeň protekce byl sice o něco vyšší než u ovcí (66), ale přece jen stále nízký. Průměrná doba přežití uhynulých pokusných koz byla jen dva a půlkrát větší než u kontrol. Jak v předchozím pokuse s ovci, tak i v tomto pokuse nebyla některá zvířata dostatečně chráněna před antraxovou infekcí a dokonce dvě zvířata (ovce čís. 83 a koza čís. 78) nebyla vlastně imunizována.

Ve třetím pokuse jsme u 22 ovcí použili dvojrázové aplikace PA vakcíny (revakcinace) v porovnání s účinkem živé spórové vakcíny podané jednorázově. Ovce byly rozděleny na dvě skupiny po deseti zvířatech, dvě ovce zůstaly jako kontrolní. Jedna skupina ovcí byla imunizována PA vakcínou v dávce 3 cm³ a za týden po první vakcinaci byla zvířata revakcinována dávkou 5 cm³. Téhož dne, kdy byla provedena revakci-

II. Jednorázová vakcinace koz — Single vaccination of goats

Skupina	Koza číslo	Dávka cm ³	Přežití	Exitus za dny po čelenží	Index přežití
I	62	3	přežila	—	75
	63		přežila	—	
	130		—	9	
	139		přežila	—	
II	31	5	přežila	—	75
	39		přežila	—	
	50		přežila	—	
	77		—	14	
III	32	10	přežila	—	50
	36		přežila	—	
	73		—	11	
	78		—	6	

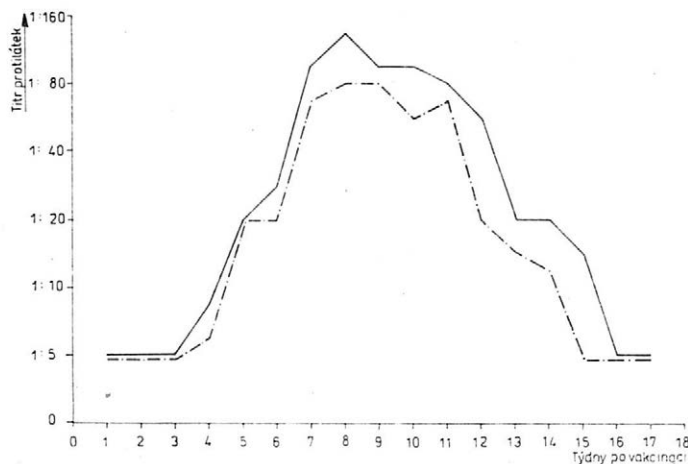
nace, byly ovce druhé skupiny imunizovány jednorázově živou spórovou vakcínou v dávce 1 cm³. Postvakcinační reakce v podobě lehčí lokální reakce se objevila u skupiny ovcí imunizovaných živou vakcínou, jinak však zdravotní stav ovcí v obou skupinách nebyl klinicky narušen. Obě skupiny byly umístěny odděleně. Za 21 den po skončení vakcinace byly obě skupiny ovcí čelenžovány infekční dávkou. Současně byly infikovány obě kontrolní ovce, z nichž jedna zašla za dva a půl dne a druhá za tři dny antraxovou sepsí. Pokusné ovce jsme pozorovali jeden měsíc. Po celou tuto dobu byly všechny ovce v obou skupinách zdravé a čilé. Pokus je možno hodnotit jednoznačně: všechny imunizované ovce přežily, a proto stupeň protekce v obou skupinách byl roven 100.

SLEDOVÁNÍ TITRU PROTILÁTEK

K dlouhodobému sledování titrů protilátek v krevním séru po vakcinaci ovcí PA vakcínou a živou spórovou vakcínou jsme pro neuspokojivé výsledky s použitím inhibiční metody v agarovém gelu (Ray a Kadull, 1964) zvolili imunofluorescenční reakci. K sérologickému vyšetření jsme použili dvou antigenů, z nichž jeden byl PA a druhý byla suspenze kultury antraxového kmene Sterne. Deset ovcí k pokusům dosud nepoužitých jsme rozdělili na tři skupiny. Z toho bylo ve dvou skupinách po třech ovcích, ve třetí skupině ovce čtyři. Ovce první skupiny byly imunizovány jednorázově PA vakcínou dávkou 5 cm³, ovce druhé skupiny PA vakcínou dávkou 5 cm³ a za týden revakcinovány dávkou 10 cm³. Ovce třetí skupiny byly imunizovány jednorázově živou vakcínou v dávce 1 cm³. Vzorky krve jsme odebírali z krční vény v týdenních intervalech a titr protilátek jsme zjišťovali současně oběma antigeny. Titr protilátek pokusných zvířat byl před vakcinací negativní.

1. Titr protilátek po jednorázové a dvojrázové imunizaci ovcí protektivní vakcínou — The titre of antibodies after single and double immunization of sheep by protective vaccine

--- křivka titrů po jednorázové vakcinaci
— křivka titrů po dvojrázové vakcinaci



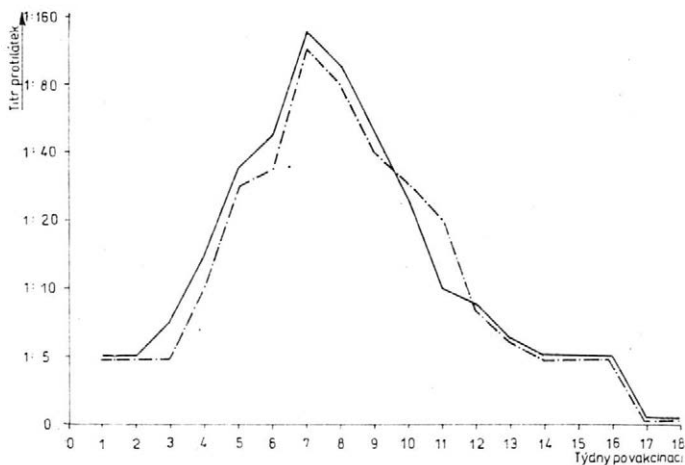
Při jednorázové imunizaci PA jsme zjišťovali po dobu tří týdnů nízký titr (1:5). Po třetím týdnu se titr začal zvyšovat. Stoupal poměrně rychle a svého maxima dosahoval v sedmém až osmém týdnu (1:80). Ještě v devátém týdnu se udržoval při vrcholu, ale od desátého týdne začal klesat, zpočátku pomaleji, později rychle, až v patnáctém týdnu poklesl na výchozí hodnotu (1:5).

Při dvojrázové imunizaci PA se po dva týdny udržoval nízký titr (1:5). Po této době začal rychle stoupat a dosáhl svého maxima (1:160) za osm týdnů. Vysoký titr se udržoval do jedenáctého týdne. Pak začal postupně klesat a dosáhl výchozí hodnoty (1:5) v šestnáctém týdnu. V průběhu této křivky jsme postrádali očekávanou sekundární reakci, která se po revakcinaci dostavuje. Průběh obou křivek je znázorněn na obr. 1. Jednotlivé body křivek jsou vždy průměry titrů příslušné skupiny. Pro zjednodušení grafu jsme zakreslili jen titry získané protektivním antigenem, protože výšky titrů dosažené oběma antigeny se od sebe lišily jen nepatrně. Průběh obou křivek je téměř paralelní. Stoupají strmě, dva až čtyři týdny se udržují při vrcholu a pak pozvolna klesají.

Titry protilátek ovcí třetí skupiny, imunizovaných jednorázově živou vakcínou, byly zjišťovány v týchž týdenních intervalech, také současně oběma antigeny. Tak jako v předchozích pokusech zůstává titr po tři

2. Titr protilátek po jednorázové imunizaci ovcí živou spórovou vakcínou — The titre of antibodies after single immunization of sheep by live spore vaccine

--- křivka titrů na protektivní antigen
— křivka titrů na antigen Sterne



týdny nízký (1 : 5). Pak křivka prudce a bez výkyvů stoupá k svému vrcholu, při němž dosahuje nejvyššího titru 1 : 160. Po dosažení vrcholu však křivka zase rychle strmě klesá a ve čtrnáctém týdnu je opět u své výchozí hodnoty. Pro lepší názornost uvádíme průběh obou křivek graficky (obr. 2), přičemž jednotlivé body křivek jsou opět průměrné hodnoty titrů příslušné skupiny. V tomto grafu uvádíme titry protilátek zjišťované oběma antigeny. Z průběhu obou křivek je patrné, že probíhají opět téměř paralelně. Z toho můžeme usuzovat, že hodnoty titrů dosahované oběma antigeny jsou si velmi blízké. Porovnáme-li průběh křivek v obou grafech, poznáváme, že mají hodně společného: několikátýdenní prodlení a potom prudký vzestup titrů k vrcholu. Zřetelný rozdíl je v tom, že titry zvířat imunizovaných PA vakcínou se udržují po několik týdnů při vrcholu a pak teprve začnou pozvolna klesat, zatímco titry ovcí imunizovaných živou vakcínou prudce klesají hned, jakmile dosáhnou vrcholu.

DISKUSE

Problémy imunologie antraxu spočívají mimo jiné v tom, že imunizace živou vakcínou přináší riziko různých postvakcinačních komplikací, problémy hygienické povahy, aspekty ekonomické a ještě jiné závažné okolnosti. To platí i dnes, třebaže se všechny živé vakcíny vyznačují postupně stabilnějším účinkem a menším postvakcinačním rizikem. Z těchto důvodů a v souladu se světovým vývojem očkovacích látek je snaha připravit účinnou abakteriální vakcínu (chemovakcínu). Až dosud panuje názor, že živá vakcína je pro zvířata výhodnější, především z důvodů výrobně ekonomických, poněvadž z jednoho litru živé vakcíny lze získat 1000 dávek, zatímco z jednoho litru PA vakcíny jen asi 200 dávek (Sterne, 1967). Živá vakcína má dobrý imunizační účinek, její výroba je jednodušší, postvakcinační ztráty jsou zanedbatelné, ale to nejsou brány v úvahu výše uvedené okolnosti. V současné době se živá vakcína používá k imunizaci domácích zvířat v širokém měřítku na celém světě. Všeobecně se soudí, že použití PA vakcíny zůstane vyhrazeno k imunizaci lidí, u nichž důvody ekonomické povahy nejsou obvykle rozhodující a u nichž použití živé vakcíny není kvůli riziku přijatelné. Je však otázka, zda tento názor obstojí v budoucnosti. Neživá vakcína by mohla být bez rizika použita třeba jako inhalační forma k plošné vakcinaci.

Podstata uměle získané aktivní imunity proti antraxu dlouho unikala našemu poznání a ještě dnes není zcela objasněna. Je s největší pravděpodobností zaměřena především proti toxinu, má tedy antitoxický charakter. Je však nutné zdůraznit, že antiantraxová imunita je mnohem komplexnější, než je imunita obvykle vyjadřovaná titrem protilátek. Lze proto předpokládat, že vytváření imunity se účastní ještě jiné složky. Snad nejlépe se může vyjádřit stupeň imunity mírou rezistence imunizovaného organismu proti antraxové infekci. Protektivní antigen je považován za hlavní imunogenní faktor *per se*; s největší pravděpodobností je tomu tak i u živé vakcíny. Zdá se, že ostatní složky toxického komplexu účinek protektivního antigenu synergicky podporují. Ostatní známé antigeny antraxové buňky se nevyznačují imunizačními vlastnostmi

(snad kromě glutamylpolypeptidu u myši) a představují strukturální elementy buňky s výraznou sérologickou aktivitou. Imunoelektroforézou je však možno dokázat ještě další látky antigenní povahy, které však nebyly dosud blíže identifikovány.

Imunogenní aktivita různých preparátů protektivního antigenu je různá a je značně závislá na preparačním postupu. Proto je třeba imunizační schopnost PA vakcíny dobře prověřit. V literatuře jsou uváděny různé metody, jak imunizační účinek hodnotit. Domníváme se, že nejvhodnější a nejpřesvědčivější kontrolou pro tento účel je metoda přežití za použití vhodného biologického materiálu. Z pokusných laboratorních zvířat dáváme přednost králíku. I když je to metoda svou povahou spíše kvalitativní, poukazuje procento zvířat, která přežila kontrolní infekci, přesvědčivě na stupeň protekce imunizovaných zvířat. Při hodnocení stupně imunity je třeba věnovat pozornost infekční dávce a odpovědi pokusných i kontrolních zvířat. Odpověď na infekční čelenž zahrnuje řadu kritérií, z nichž nejdůležitější je přežití nebo úhyn zvířete, popřípadě závažnost příznaků onemocnění. Je také třeba sledovat, o jakou dobu imunizovaná zvířata přežila zvířata kontrolní, neboť tuto okolnost nelze považovat za bezvýznamnou. Infekční dávka má být vyšší, než je minimální letální dávka. Je ovšem možné, že umělá infekce ve vysoké dávce je mnohem větší zátěží pro organismus, než je infekce přirozená, o které dosud víme jen málo. Aby průběh infekce byl standardní, což je nezbytné pro správné hodnocení dosažené imunity, použili jsme ve všech případech infekční čelenže podkožní aplikace. Subkutánní podání umožňuje dobré uchycení spór v lymfatické tkáni, což je podmínkou rozvinutí infekčního procesu.

Při jednorázové vakcinaci ovcí a koz PA vakcínou se ukázalo, že část zvířat (asi jedna třetina) nevykazovala dostatečnou imunitu a po infekční čelenži hynula. To je v souladu s výsledky i jiných autorů. V rozsahu dávek antigenu v našem pokusu (2,4 až 8 cm³ PA) jsme nemohli jednoznačně zaznamenat, že stupeň protekce je v přímém vztahu k dávce antigenu. V pokusech na ovcích s PA vakcínou s použitím revakcinace byly výsledky ve srovnání s živou vakcínou podanou jednorázově oboustranně shodně dobré. Opět se potvrdila již dříve zjištěná skutečnost, že dvojrázová imunizace PA vakcínou se asi rovná svým účinkem jednorázové vakcinaci živou spórovou vakcínou. Překvapující hynutí některých zvířat za 20 a více dní po infekci lze vysvětlit asi tak, že imunizovaná zvířata se chovají při infekci podobně jako zvířata relativně rezistentní. U relativně rezistentních zvířat je třeba k vyvolání antraxové infekce velkého počtu bacilů, ale k exitu postačuje jen malé množství mikrobů a tomu odpovídající nízká hladina toxinu v krvi. Proto jsou tyto případy těžko diagnostikovatelné. Zdá se také, že imunizovaná zvířata jsou citlivější na toxin. Proto musíme počítat s tím, že při imunizaci živou vakcínou může dojít k exitu.

Je všeobecně známé, že tvorba protilátek při imunizaci proti antraxu je pomalá. Uvádí se, že titry protilátek po jednorázové vakcinaci bývají velmi nízké. Vyšších titrů lze dosáhnout obvykle až po revakcinaci. Protilátky na protektivní antigen jsou však primárně důležité tehdy, když už se infekce uchytí a toxin se začal produkovat. V pokusech na ovcích jsme sledovali vývoj titrů protilátek imunofluorescenční reakcí za použití dvou antigenů (PA a kultura kmene Sterne). Průběh křivek

v obou grafech prokazoval, že vývoj titrů protilátek v našich pokusech si byl velmi podobný. Po třítýdenní až čtyřtýdenní sérologické pauze začala křivka titrů rychle stoupat k svému vrcholu a dosahovala nejvyšších titrů 1 : 80 až 1 : 160.

Zatímco křivka titrů ovcí imunizovaných PA vakcínou se ještě několik týdnů udržovala při vrcholu, křivka titrů u zvířat imunizovaných živou vakcínou začala hned po dosažení vrcholu zase prudce klesat. Při revakcinaci PA vakcínou jsme postrádali výraznou sekundární odpověď. Snad bylo období mezi oběma vakcinacemi krátké. Ve všech našich pokusech bylo dosaženo vrcholu titrů asi za dva měsíce a výška titrů poklesla na výchozí hladinu asi za čtyři měsíce po vakcinaci. Jelikož jsme oběma typy vakcinace dosáhli velmi blízkých výsledků titrace protilátek, lze z toho vyvodit, že se pravděpodobně jedná o shodný typ imunogenezy. Třebaže sérologické výsledky nezaznamenaly nápadný rozdíl mezi jednorázovou a dvojrázovou PA vakcinací, vynikl tento rozdíl v biologickém pokuse na ovcích, u kterých při jednorázové vakcinaci bylo dosaženo jen 60% protekce, při revakcinaci 100%. Podobně tomu bylo ve srovnání jednorázové PA vakcíny se živou vakcínou.

Zajímavé bylo, že v době, kdy jsme obvykle prováděli infekční čelenž (za tři až čtyři týdny po skončení vakcinace), byl titr protilátek ještě velmi nízký (1 : 5). Z těchto poznatků lze vyvodit, že sérologická aktivita vyjádřená výškou titrů protilátek nebude skutečně asi hlavním ukazatelem stupně protekce. Na podkladě dosažených výsledků je možné považovat za správný názor, že revakcinace při imunizaci PA vakcínou je nutná, má-li být dosaženo solidní imunity. To se vysvětluje imunogenní neplnohodnotností PA, resp. tím, že živá vakcína disponuje kromě PA, který je považován za hlavní imunizační činitel, ještě ostatními faktory toxického komplexu, popřípadě dalšími dosud neznámými antigeny, které asi synergicky doplňují a podporují účinek protektivního antigenu. Předpokládá se, že při tomto procesu se uplatňuje jak protilátkový, tak i buněčný princip imunity. Antiantraxová imunita se jeví jako komplexní problém, který není dosud zcela vyřešen. Z tohoto hlediska bude třeba ještě dokončit úplnou analýzu antigenní struktury *Bac. anthracis* a připravit komplexní vakcínu, která bude obsahovat všechny imunogenně účinné komponenty v optimálním poměru.

Autoři děkují za spolupráci MVDr. I. Martínkové a MVDr. J. Petrášovi z ÚSKVBL Brno.

Literatura

- ALEXANDROV, N. I. — GEFEN, N. E. — BUDAK, A. P. — JEZEPČUK, Ju. V. — FILIPPENKO, A. I. — RUNOVA, V. F.: Izyskanie effektivnykh chimičeskich vakcin protiv nekotorych zoonozov. Soobščenie I. Razrabotka sibirjazvennoj chimičeskoj deponirovannoj vakciny i izučenie jeje effektivnosti v experimentě na životnykh. Ž. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol., 5, 1961, s. 42-46.
- ALEXANDROV, N. I. — GEFEN, N. E. — JEZEPČUK, Ju. V. — BUDAK, A. P. — RUNOVA, V. F.: Izučenie optimalnykh uslovii obrazovaniia sibirjazvennovo vne-kletečnovo zaščitnovo antigena na moločnoj sredě. Ž. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol., 4, 1962, s. 9-14.
- ALEXANDROV, N. I. — GEFEN, N. E. — VORONIN, Ju. S. — JEZEPČUK, Ju. V. — KOZYREV, M. B. — LEBEDINSKYJ, V. A. — NIKONOV, I. V. — RUNOVA, V. F. — TAMARIN, A. L. — FILIPPENKO, A. I.: Dalnějšije izučenie v eksperi-

- mentě efektivity chymické sibiřské vakcíny. Ž. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol., 8, 1964, s. 45-50.
- ALEXANDROV, N. I. — GEFEN, N. E. — DOBROVOLSKIY, K. F. — JEZEPČUK, Ju. V. — LEBEDINSKIY, V. A. — MUCHAJLOV, B. Ju. — RUNOVA, V. F. — SEREGINA, A. J. — FILIPPENKO, A. I.: Immunogenost chymické sibiřské vakcíny v experimente na ovčích. Ž. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol., 8, 1965, s. 57-60.
- AUERBACH, S. — WRIGHT, P. G.: Studies on immunity in anthrax. VI. Immunizing activity of protective antigen against various strains of *Bacillus anthracis*. J. Immun., 75, 1955, s. 129-133.
- BAIL, O.: Veränderungen der Bakterien im Tierkörper. IX. Über die Korrelation zwischen Kapselbildung, Sporenbildung und Infektiosität des Milzbrandbacillus. Zentbl. Bakt., I. Abt. Orig., 75, 1915, s. 159-173.
- BURGASOV, P. N. — ROŽKOV, G. I.: Metod ocenki protivosibiřskovo imuniteta po preventivnym svojstvum syrovotki. Ž. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol., 6, 1972, s. 124-134.
- CROMARTIE, W. J. — BLOOM, W. L. — WATSON, D. W.: Studies on infection with *Bacillus anthracis*. II. The immunological tissue from lesions of *Bacillus anthracis* infection. J. infect. Dis., 80, 1947, s. 14-27.
- DE ARMON, I. A. — KLEIN, F. K. — LINCOLN, R. E. — MEHLANDT, B. G. — FERNELIUS, A. L.: Immunological studies of anthrax I. An index to determine quantitative immunization. J. Immun., 87, 1961, s. 233-239.
- FISH, D. C. — MAHLANDT, B. G. — DOBBS, J. P. — LINCOLN, R. E.: Purification and properties of *in vitro* produced anthrax toxin components. J. Bact., 95, 1968, s. 907-918.
- FISH, D. C. — LINCOLN, R. E.: *In vivo* produced anthrax toxin. J. Bact., 95, 1968, s. 919-924.
- GLADSTON, G. P.: Immunity to anthrax. Protective antigen present in cellfree culture filtrates. Br. J. exp. Path., 27, 1946, s. 394-418.
- JACKSON, F. C. — WRIGHT, G. G. — ARMSTRONG, J.: Immunization of cattle against experimental anthrax with alum — precipitated protective antigen or spore vaccine. Am. J. vet. Res., 18, 1957, s. 771-777.
- JEZEPČUK, Ju. V.: Protektivnyj antigen *B. anthracis* i jeho vzaimootnošenija s drugimi antigenami etovo mikroba. Ž. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol., 11, 1968, s. 37-42.
- KLEIN, F. K. — DE ARMON, I. A. — LINCOLN, R. E. — MAHLANDT, B. G. — FERNELIUS, A. L.: Immunological studies of anthrax II. Levels of immunity against *Bacillus anthracis* obtained with protective antigen and live vaccine. J. Immun., 88, 1962, s. 15-19.
- MAHLANDT, B. G. — KLEIN, F. K. — LINCOLN, R. E. — HAINES, B. W. — JONES, W. I. — FRIEDMAN, R. H.: Immunologic studies of anthrax. IV. Evaluation of the immunogenicity of three components of anthrax toxin. J. Immun., 96, 1966, s. 727-733.
- MIKULA, J.: Porovnanie imunogén-produkčnej schopnosti niektorých kmeňov *Bacillus anthracis* pre výrobu chemovakcíny. [Kandidátská disertace.] Praha, Ústav sér a očkovacích látok, pracovisko Šarišské Michaľany 1975.
- MOLNAR, J.: Immunization experiments with the protective antigen of the anthrax bacillus. Acta vet. hung., 9, 1959, s. 175-182.
- MOLNAR, D. M. — ALTENBERN, R. A.: Alterations in the biological activity of protective antigen of *Bacillus anthracis* toxin. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 114, 1963, s. 294-297.
- PROKÚPEK, K. — DVOŘÁK, R. — POLÁČEK, R.: Antraxový protektivní antigen a jeho příprava. Vet. Med., Praha, 24, 1979, s. 217-224.
- RAY, J. G. — KADULL, P. J.: Agar-gel precipitin technique in anthrax antibody determinations. Appl. Microbiol., 12, 1964, s. 349-354.
- STERNE, M.: Distribution and economic importance of anthrax. Fedn. Proc., 26, 1967, s. 1493-1495.
- TRNKA, Z. — LANC, A. — ŠTERZL, J.: Příprava a zhodnocení účinnosti nebakteriální látky proti antraxu. Antropozoonózy, Košice 1962.
- WARD, M. K. — MCGANN, V. G. — HOGGE, A. — HUFF, M. — KAPRODE, R. — ROBERTS, E.: Studies on anthrax infections in immunized guinea pigs. J. infect. Dis., 115, 1965, s. 59-67.
- WRIGHT, G. G. — HEDBERG, M. A. — STEIN, J. B.: Studies on immunity in anthrax. III. Elaboration of protective antigen in a chemically-defined non-protein medium. J. Immun., 72, 1954, s. 263-269.

Došlo dne 29. 10. 1980

ПРОКУПЕК, К. — ДВОРЖАК, Р. — ПОЛАЧЕК, Р. (Биовета, Ивановице на Гане; Институт госконтроля ветеринарных биопрепаратов и лекарств, Брно): Иммуногенное действие антраксового защитного антигена. *Vet. Med., Praha*, 26, 1981 (5) : 279-290.

Для экспериментальной иммунизации овец и коз от антракса вводили вакцину, содержащую приготовленный нами антиген (РА), серологическая активность которого выражается титром 1:16. РА адсорбировали на геле гидроокиси алюминия в соотношении 30 долей геля на 100 долей антигена. Контрольно заражали овец дозой 10^6 , а коз — $5 \cdot 10^6$ вирулентного антраксового штамма. Разовая прививка гарантирует лишь 60% защиты, а двойная — 100%. Как показывает титр антител привитых животных, его максимумы (1:80 до 1:160) наступают спустя 2 месяца после прививки, после чего титр понижается, а через 2 месяца снова достигает исходных величин. Результаты показывают, что для достижения надежной защиты РА-вакциной необходимо иммунизировать 2 раза, лучше всего в интервале 14 дней.

Bacillus anthracis; защитный антиген (РА); иммуногенная активность

PROKÚPEK, K. — DVOŘÁK, R. — POLÁČEK, R. (BIOVETA, Ivanovice na Hané; State Institute for the Examination of Veterinary Biopreparations and Drugs, Brno): *The Immunogenic Effect of Anthrax Protective Antigen*. *Vet. Med., Praha*, 26, 1981 (5) : 279-290.

In experimental immunization of sheep and goats against anthrax the vaccine containing our own protective antigen (PA) whose serological activity was evaluated by the titre 1:16 was used. PA was adsorbed on aluminium hydroxide gel at the ratio 30 parts of gel and 100 parts of antigen. In the control experiment the doses of the virulent anthrax strain were as follows: 10^6 (sheep) and $5 \cdot 10^6$ (goats). The single vaccination provided only 60% protection, the repeated 100% protection. By the titration of antibodies of the vaccinated animals was proved that the peak titres (1:80 to 1:160) were reached two months after vaccination. Then the titre decreased gradually, and in approximately two months' time it returned to the initial value. As apparent from these experimental results, a reliable protection by PA vaccine can be achieved only by double immunization, best at 14-day intervals.

Bacillus anthracis; protective antigen (PA); immunogenic activity

PROKÚPEK, K. — DVOŘÁK, R. — POLÁČEK, R. (Bioveta, Ivanovice na Hané; Institut für staatliche Kontrolle veterinärer Biopräparate und Medikamente, Brno): *Immunogene Wirkung des protektiven Anthrax-Antigens*. *Vet. Med., Praha*, 26, 1981 (5) : 279-290.

Bei der Versuchsimmunisierung von Schafen und Ziegen gegen Anthrax benutzten wir eine Vakzine, die ein von uns zubereitetes Antigen (PA) enthielt, dessen serologische Aktivität durch den Titer 1:16 bewertet wurde. Das PA wurde auf Aluminiumhydroxid-Gel adsorbiert, u. zw. im Verhältnis 30 Gel-Anteile zu 100 Antigen-Anteilen. Die Kontrollchallenge wurde mittels einer Dosis von 10^6 (bei Schafen) und $5 \cdot 10^6$ (bei Ziegen) virulenten Anthraxstamms durchgeführt. Die einmalige Vakzinierung gewährte eine nur 60%ige Beschirmung, die zweimalige jedoch 100%. Untersuchungen des Antikörpertiters der vakzinierten Tiere erwiesen, daß Höhepunkte der Titer (1:80 bis 1:160) zwei Monate nach der Vakzinierung erreicht wurden. Dann ging der Titer allmählich zurück, um etwa nach weiteren zwei Monaten wieder auf den Ausgangswert zurückzukehren. Aus Ergebnissen der Arbeit geht hervor, daß zum Erreichen einer soliden Protektion durch die PA-Vakzine zweimal zu immunisieren ist, am besten in einem Intervall von 14 Tagen.

Bacillus anthracis; protektives Antigen (PA); immunogene Aktivität

Adresa autorů:

MVDr. Kamil Prokúpek, CSc., Bioveta, n. p., 683 23 Ivanovice na Hané
MVDr. Rastislav Dvořák, ing. Radomil Poláček, Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, 600 00 Brno

HODNOCENÍ VÝKONNOSTI KONÍ PO UKONČENÍ ZÁKLADNÍHO VÝCVIKU NA PODKLADĚ ZÁTĚŽOVÉ DYNAMIKY TEPOVÉ FREKVENCE

J. Kovář, B. Kostecká

KOVÁŘ, J. — KOSTECKÁ, B. (Výzkumná stanice pro chov koní, Slatiňany): *Hodnocení výkonnosti koní po ukončení základního výcviku na podkladě zátěžové dynamiky tepové frekvence*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5) : 291-295.

Na základě výsledků testu odezvy tepové frekvence na stupňovanou zátěž, obdrženy u 278 tříletých koní v období po ukončení základního výcviku (145 českých teplokrevníků, 115 kladrubských vranů a 18 anglických polo-krevníků), jsme vypracovali metodu pro hodnocení jejich výkonnosti. Jako hodnotící kritérium byla zvolena rychlost v_{170} , která se získá z experimentálně stanovené regresní závislosti rychlosti na tepové frekvenci při 170 tepech za minutu. Soubor dat v_{170} jsme statisticky zpracovali a na základě kvantilů normálního rozdělení pro použité plemena jsme vypočítali rozptylová pásma, která se hodnotí 1 až 10 body. Pomocí tohoto hodnocení lze posoudit stupeň výkonnosti testovaného koně vůči příslušnému plemeni.

kůň; výkonnost; fyziologický test

Zvyšování výkonnosti koní je podmíněno jednak výběrem plemenného materiálu, jednak kontrolou účinnosti tréninkových postupů na základě objektivních fyziologických metod.

Výkon kardiovaskulárního systému se zvyšuje při svalové práci trojím způsobem: zvětšením systolického objemu, zvýšením tepové frekvence a konečně fyziologickou hypertrofií srdce [Holub aj., 1969]. Zvyšováním průtoku krve v důsledku zvýšené tepové frekvence je z uvedených mechanismů nejméně ekonomické, protože v srdečním cyklu se zkracuje diastola, a tím se zkracuje doba odpočinku srdce. U trénovaného organismu proto dochází ke zvyšování minutového objemu srdce v důsledku většího systolického objemu a hypertrofie srdce. Zvýšení tepové frekvence při tomtéž výkonu je pak menší než u netrénovaného jedince. Této úvahy lze využít při vypracování testu hodnocení výkonnosti podle změn tepové frekvence v důsledku definované zátěže.

Studiem změn tepové frekvence u koní při různých zatěžích se zabývali různí autoři (Persson, 1967; Keul aj., 1968; Witke a Krzywanek, 1970 a další). Pro objektivní posouzení výkonnosti koní je ovšem třeba definovat standardní test a z reakcí tepové frekvence na něj lze pak hodnotit jednotlivé koně. Základ pro takový test vytvořili Ehrlein aj. (1970), kteří podrobili testované koně stupňované zátěži skládající se ze šesti úseků, při nichž se zvyšovala rychlost i druh chodu (krok, 2× klus a 3× cval). Vyhodnocení vycházelo z experimentálně ověřené lineární závislosti tepové frekvence na rychlosti pohybu. Z naměřených hodnot tepové frekvence v setrvalém stavu při jednotlivých rychlostech byla vypočítána pro

každého koně regresní přímka, která byla vzata za základ hodnocení výkonnosti. Tuto metodu rozpracoval u nás Klement (1975), který navrhuje hodnotit regresní přímky pomocí bodových rozptylových pásem vypracovaných pro určitý soubor koní. Výsledná hodnotící známka pro příslušného koně by byla dána průměrem z dosažených známek při stanovené rychlosti v jednotlivých úsecích zátěže. Engelhardt (1977) zjednodušuje toto hodnocení na jedinou hodnotu v_{150} — rychlost při 150 tepích za minutu (popřípadě pro skupinu s vyšší výkonností v_{200} , vypočtenou z regresní přímky). Hanák (1980) hodnotí dostihové koně na základě v_{170} .

Aby bylo možné interpretovat naměřené hodnoty popsaných kritérií v rutinní praxi, je potřeba vypracovat pro jednotlivé skupiny koní (rozdělené podle plemen i stupně výcviku) jednoduchý hodnotící systém, kterým bude porovnáváno postavení sledovaného koně vůči danému souboru. Vypracování tohoto systému je podstatou předložené práce.

MATERIÁL A METODA

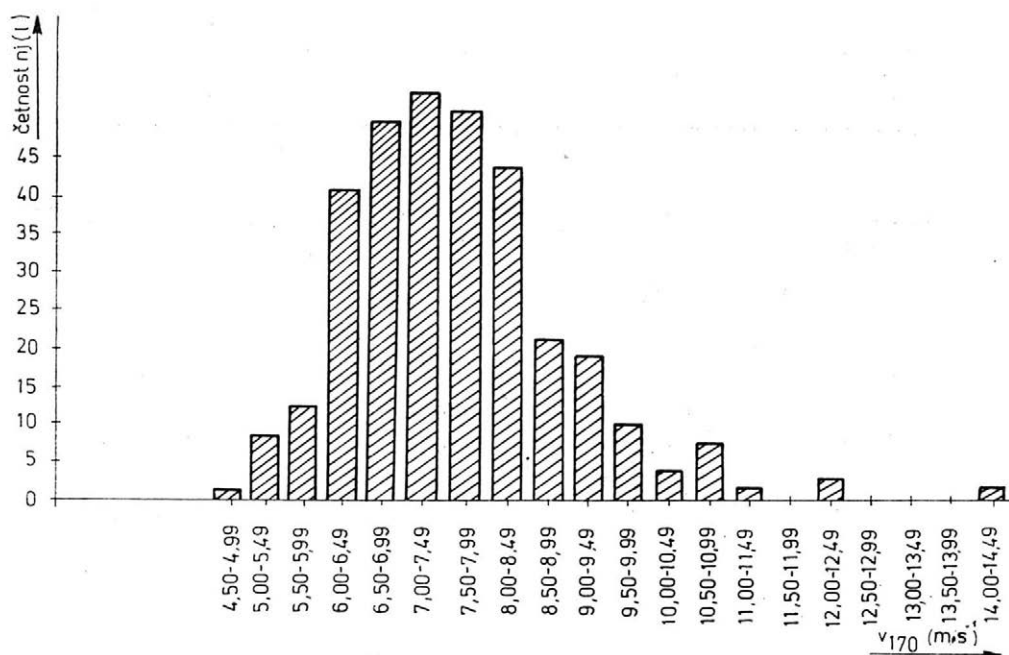
V této studii se zabýváme hodnocením výkonnosti remont po ukončeném základním výcviku. Dosavadní praxe při výkonnostních zkouškách je založena na subjektivním dojmu hodnotící komise, a to po terénní a distanční jízdě, po nichž se orientačně měří také tepová a dechová frekvence. Výsledný dojem se hodnotí body v rozmezí 1–10. Abychom mohli vytvořit objektivní test výkonnosti, podrobili jsme v letech 1975 až 1980 145 remont českého teplokrevníka, 115 remont kladrubskeho vranika a 18 remont anglického polokrevníka stupňované standardizované zátěži. Při sestavení této zátěže jsme vypustili tepovou frekvenci obdrženou při pohybu v kroku, poněvadž je do značné míry ovlivněna emocionálním stavem koně. Za základ výpočtu regresní přímky byly vzaty hodnoty obdržené ve dvou klusových a třech cvalových stupních. Délka jednoho stupně byla minimálně 800 m a rychlost v jednotlivých stupních byla řízena tak, aby byla rovnoměrně rozložena mezi minimální a maximální hodnotu (klus — $3,6 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$; $4,5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$; cval — $6,0 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$; $7,5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$; $9,0 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$). Zátěž se uskutečnila na oválné travnaté dráze. Při počátečních pokusech řídili jezdci rychlost subjektivně podle vlastního odhadu. Pro lepší rozložení rychlosti v daném intervalu jsme přešli na způsob, podle něhož byla rychlost koní řízena pokyny jezcům předem nahranými na magnetofonový záznam a vyznačením úseků na trati po 50 metrech.

Při této zátěži byl snímán biosignál EKG pomocí dvou elektrod fixovaných na čele a v oblasti *cartilago xiphoidea* a v modulovaném stavu již jako tepová frekvence nahráván na magnetofon. Po skončení zátěže jsme záznam tepové frekvence převedli na registrační papír a vypracovali grafickou závislost změn tepové frekvence na časovém průběhu zátěže. Hodnoty tepové frekvence v setrvalém stavu v jednotlivých stupních a skutečně dosažená rychlost měřená stopkami byly vzaty za základ výpočtu regresních přímek závislosti tepové frekvence na rychlosti.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Jako kritérium pro hodnocení výkonnosti testovaných koní jsme z regresních přímek vypočítali rychlost, které by koně dosáhli při tepové frekvenci 170 tepů za minutu — v_{170} . Tuto frekvenci jsme zvolili vzhledem ke skutečnosti, že jsou při ní dosahovány rychlosti v rozsahu $6,5$ až $10,0 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$, které jsou v mezích maxima fyziologických hranic pro mladé koně po absolvování základního výcviku. Základním předpokladem našeho pojetí řešené problematiky je, aby se nepřekročily fyziologické možnosti mladého organismu. Důležitá je i skutečnost, že při této tepové frekvenci je rychlost mezi jednotlivými koňmi již dostatečně rozdílná, což umožňuje jejich diferenciaci.

Abychom mohli statisticky zpracovat soubor naměřených hodnot v_{170} , je potřeba nejdříve alespoň graficky ověřit normalitu rozdělení těchto hodnot. Na obr. 1 je uvedena frekvenční funkce základního souboru hodnot v_{170} . Z jejího tvaru je patrné, že základní soubor má vlast-



1. Frekvenční funkce u základního souboru dat v_{170} — Frequency function in a basic set of v_{170} data

nosti Gaussova normálního rozdělení a lze pro něj použít postup navržený Duškem (1974) při hodnocení mechaniky pohybu koní. Tímto postupem získáme deset rozptylových pásem, konstruovaných na základě kvantilů normálního rozdělení podle rovnice pro šířku pásma l

$$l = \bar{v}_{170} \pm k_t \cdot s$$

kde: $\bar{v}_{170}$ — průměrná hodnota v_{170} pro celý soubor

s — směrodatná odchylka

k_t — nabývá pro jednotlivá pásma těchto hodnot:

$k_{10} = 0,251$; $k_{20} = 0,524$; $k_{30} = 0,841$; $k_{40} = 1,280$

Vytvořená pásma jsou hodnocena 1–10 body. Z jejich konstrukce vyplývá, že při dostatečně rozsáhlém souboru měření zahrne každé 10 % výsledků. V tab. I jsou uvedena jednotlivá pásma pro remoty sledovaných plemen. Při rozboru vypočítaných pásem pro jednotlivá plemena můžeme dojít ke zdánlivému paradoxu. Např. kladrubský kůň, hodnocený na základě $v_{170} = 9 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$, obdržel 8 bodů, přičemž porovnáním se stupnicí pro anglického polokrevníka by obdržel vyšší bodové hodnocení (9 bodů). Tento paradox lze vysvětlit na základě konstrukce pásem: pro kladrubské koně vycházíme ze souboru s větším rozptylem výkonnostních typů (potomstvo po hřebcích Nonius, Solo, Sacramoso, Romke a dalších) než u anglických polokrevníků, kde i šířka pásma je daleko užší. Každého koně je proto nutné hodnotit vůči stupnici vypracované pro příslušné plemeno.

Popsaná metoda poskytuje možnost objektivně hodnotit výkonnost koní po skončení základního výcviku. Zvolené kritérium — v_{170} charakterizuje především fyziologické schopnosti koně pro krátkodobé zá-

I. Bodové hodnocení stupňované zátěže na základě v_{170} — Score evaluation of an increased load on the v_{170} basis
($\bar{v}$ — průměrná rychlost; s — směrodatná odchylka; n — počet měření)

Bodové hodnocení	Hranice pásma pro hodnocení podle v_{170} (m.s ⁻¹)		
	český teplokrevník	kladrubský vraník	anglický polokrevník
	$\bar{v}_{170} = 7,46$ m.s ⁻¹ $s = 1,38$ $n = 145$	$\bar{v}_{170} = 7,87$ m.s ⁻¹ $s = 1,60$ $n = 115$	$\bar{v}_{170} = 7,98$ m.s ⁻¹ $s = 0,94$ $n = 18$
1	< 5,69	< 5,82	< 6,78
2	5,69–6,29	5,82–6,51	6,78–7,18
3	6,30–6,73	6,52–7,03	7,19–7,48
4	6,74–7,10	7,04–7,46	7,49–7,73
5	7,11–7,45	7,47–7,86	7,74–7,97
6	7,46–7,80	7,87–8,26	7,98–8,21
7	7,81–8,17	8,27–8,69	8,22–8,46
8	8,18–8,61	8,70–9,21	8,47–8,76
9	8,62–9,22	9,22–9,91	8,77–9,11
10	≥ 9,23	≥ 9,92	≥ 9,12

těže. Obdobné hodnocení může být vypracováno podle uvedeného postupu při nashromáždění dostatečného množství dat i pro další plemena a jednotlivé výkonnostní skupiny koní. Vytvoří se tím objektivní hodnotící báze, která dosud schází v hipologické praxi při řešení otázek výkonnosti.

Literatura

- DUŠEK, J.: Návrh standardů k hodnocení mechaniky pohybu koní různých plemen. In: Bulletin VSCHK Slatiňany, 21, 1974, s. 65-105.
- EHRLIN, H. J. — ENGELHARDT, W. — HÖRNICKE, H. — TOLKMITT, G. — DUŠEK, J.: Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Herzschlagfrequenz und Leistung bei Pferden. Zentbl. Vet. Med., A, 17, 1970, s. 577-591.
- ENGELHARDT, W.: Cardiovascular effects of exercise and training in horses. Adv. vet. Sci., 21, 1977, s. 173-205.
- HANÁK, J.: Bioradiotelemetrie a elektrokardiografie u koní při zátěži. [Habilitační práce.] Brno 1980. 192 s. — Vysoká škola veterinární.
- HOLUB, A. aj.: Fyziologie hospodářských zvířat. Praha, Stát. zeměd. nakl. 1970.
- KEUL, J. — SPECHT, D. — SCHARF, K. — NOCKER, L.: Herzfrequenz und Substratspiegel im Blut bei Sprintpferden während des Trainings in Mexico-City (2250 m ü. m.). Pflügers Arch. Eur. J. Physiol., 301, 1968, s. 358-369.
- KLEMENT, J.: Výzkum výkonnosti plnokrevných a sportovních koní. [Závěrečná zpráva.] Slatiňany, Výzk. stanice pro chov koní 1975. 103 s.
- PERSSON, S. G. B.: On blood volume and working capacity in horses. Acta vet. scand., Suppl. 19, 1967, 189 s.
- WITTKKE, G. — KRZYWANEK, N.: Sportphysiologische Untersuchungen an Rennpferden. Vollblut, 41, 1970, s. 51-55.

Došlo dne 24. 10. 1980

КОВАРЖ, Й. — КОСТЕЛЕЦКА, Б. (Научно-исследовательская станция коневодства, Слатианы): Оценка продуктивной способности лошадей после окончания основного тренинга на принципе динамики загрузки частоты пульса. *Vet. Med., Praha*, 26, 1981 (5) : 291-295.

На основе результатов теста реакции частоты пульса на дифференцированную загрузку, полученных у 278 трехлетних лошадей в период после окончания основной тренировки (145 чешских верхово-упряжных лошадей, 115 кладрубских вороных лошадей и 18 английских полукровных лошадей), нами был разработан метод оценки их продуктивной способности. В качестве критерия оценки бралась скорость v_{170} , которая вычисляется по экспериментально определенной регрессивной зависимости скорости от частоты пульса при 170 пульсах в минуту. Совокупность данных v_{170} была обработана статистически; на основе квантилей нормального распределения для используемых пород были вычислены дисперсионные зоны, оцениваемые 1—10 баллами. При помощи такой оценки можно судить о степени продуктивной способности тест-лошади по отношению к соответствующей породе.

лошадь; продуктивная способность; физиологический тест

KOVÁŘ, J. — KOSTELECKÁ, B. (Research Station for Horse Breeding, Slatiňany): *Evaluation of Performance of Horses after Finishing the Elementary Training on the Basis of Load Dynamics of Pulse Rate*. *Vet. Med., Praha*, 26, 1981 (5) : 291-295.

On the basis of test results, regarding the pulse rate response to the increased load, obtained from 278 three-year-old horses after finishing their elementary training (145 Bohemian warm-blooded horses, 115 Kladrub Black horses and 18 English half-bred horses), a method was worked for the evaluation of their performance. As an evaluating criterion a velocity (v_{170}) was chosen which was obtained from an experimentally determined regression dependence of velocity on the pulse rate at 170 pulses per minute. A set of v_{170} data were statistically processed and on the basis of quantiles of normal distribution for the used breeds the variance zones were computed which were evaluated with 1 to 10 scores. By this evaluation the degree of performance of the tested horse can be estimated with regard to the corresponding breed.

horse; performance; physiological test

KOVÁŘ, J. — KOSTELECKÁ, B. (Forschungsstation für Pferdezzucht, Slatiňany): *Leistungsbewertung bei Pferden nach Beendung der Grundausbildung aufgrund der Belastungsdynamik der Pulsfrequenz*. *Vet. Med., Praha*, 26, 1981 (5) : 291-295.

Aufgrund von Testergebnissen der Pulsfrequenzreaktion auf gesteigerte Leistung, die von insgesamt 278 dreijährigen Pferden nach der Beendung der Grundausbildung gewonnen wurden (145 Böhmisches Warmblüter, 115 Kladruher Rappen und 18 Englische Halbblüter), erarbeiteten wir eine Methode für die Bewertung ihrer Leistungsfähigkeit. Als Bewertungskriterium wurde die Geschwindigkeit v_{170} , erwählt, die aufgrund einer experimentell bestimmten Regressionsabhängigkeit der Geschwindigkeit von der Pulsfrequenz bei 170 Pulsschlägen pro Minute festgelegt wird. Die Gesamtheit der v_{170} -Daten verarbeiteten wir statistisch und aufgrund von Quantilen der normalen Verteilung errechneten wir Streuungszonen, welche mit 1 bis 10 Punkten bewertet werden. Mit Hilfe dieser Bewertungsmethode kann der Leistungsgrad des getesteten Pferdes gegenüber der betreffenden Rasse beurteilt werden.

Pferd; Leistungsfähigkeit; physiologischer Test

Adresa autorů:

Ing. Josef Kovář, MVDr. Blažena Kostecká, Výzkumná stanice pro chov koní, 538 21 Slatiňany

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.

BERG, J. J.

D 30.900/627

Experimental infection with *Mycobacterium avium*, serotype 2, in pigs.
Copenhagen, Statens veterinære serumlaborat. 1978. S. 546-558., tab. Meddelelser 627. (Prase — *Mycobacterium avium* — sérotyp 2 — infekce umělá — aplikace orální — očkovací látka — titr — koncentrace vysoká — výzkum — Dánsko)

MIKSCH, D.

D 61.393/22

Diarrhea of new born calves (Calf scours).

University of Kentucky (1979). 3 s., 2 obr. VET-22. (Průjem — telata — diagnóza, ochrana a léčení)

D 60.275/1979/24

Virus diarrhé hos nötkreatur.

Jönköping, SLI 1979. Nestr. SLI 24. (Telata — nemoci střevní — průjem)

HARRIS, D. L. — GLOCK, R. D.

C 21.944/92

Swine dysentery. (Bloody scours, vibronic dysentery, black scours).

Lexington, Kentucky Univ. Nestr. ASC-92. (Průjem — prase — diagnóza, ochrana a léčení)

BOHL, E. H. — LECCE, J. G.

C 21.944/95

Rotaviral diarrhea in pigs.

Lexington, Kentucky College of agric. 1979. 4 s., 2 obr. ASC-95. (Rotaviry — průjem — selata — výzkum / Selata — nemoci střevní — průjem — rotaviry — ochrana a léčení)

J. Dušek, Z. Munk

DUŠEK, J. — MUNK, Z. (Výzkumná stanice pro chov koní, Slatiňany): *Hodnocení proměnlivosti délky gravidity klisen*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5): 297-304.

V souboru klisen anglického plnokrevníka napajedelského chovu jsme vyhodnotili délku gravidity v časové etapě let 1880 až 1972. Proměnlivost délky gravidity jsme hodnotili v souborech sestavených spojením vždy dvou ročníků s diferenciací sledovaného období na desetileté úseky. Variance a výběrové průměry délek gravidit těchto dílčích souborů jsou ve sledovaném období významně rozdílné. Aby se vyloučilo působení negenetických vlivů podmiňujících proměnlivost délky gravidity, navrhuje se ke zvýšení objektivnosti jejich hodnocení počítat nikoliv s absolutními hodnotami délky gravidity, ale naopak s hodnotami transformovanými, a to $\frac{(x_i - \bar{x})}{s}$, které by byly vypočítány pro každý příslušný rok ohřebovacího období. Druhý metodický postup k vyloučení proměnlivosti délky gravidity podmíněné sezónními vlivy je použití korekčních faktorů, které jsme stanovili pro jednotlivé měsíce hřebení, a to na základě sinusoidového tvaru křivky délky gravidity v průběhu kalendářního roku. Při sledování vlivu věku plemeníků na délku gravidity se sice naznačuje zkracování délky gravidity s jejich zvyšujícím se věkem, ale signifikantně se tento vztah prokázal jen ojediněle. Předložená práce je dílčím úsekem tématu zaměřeného na reprodukci koní.

délka gravidity klisen; vliv věku; metodika hodnocení

Při řešení širšího komplexu dílčích otázek v rámci reprodukce chovu koní se zabýváme i proměnlivostí délky gravidity s přihlédnutím k vlivu věku hřebců. Předpokladem řešení je však poznání příčin proměnlivosti tohoto znaku z hlediska působení negenetických vlivů. A to je podstatou předložené práce.

Problematika délky gravidity byla v chovu koní často řešena; ne snad pro její důležitost, ale pro dostatečnou základnu numerické dokumentace. Pokud se zmiňujeme o studiích zabývajících se vlivy působícími na délku gravidity, chceme tak zdůraznit, že i při jejich značném počtu nedocházejí autoři k závěrům, které by bylo možné zobecnit. Je to pravděpodobně v důsledku zanedbání sezónních vlivů, podmiňujících proměnlivost tohoto znaku.

I když problematika délky gravidity je jen doplňující částí řešeného komplexu otázek zaměřených na reprodukci (Dušek a Munk, 1980a, b), mohou závěry uváděné v předložené práci podstatně usměrňovat metodické pojetí analýzy délky gravidity ve vazbě na komplex působících biologických vlivů. Vzhledem k obsáhlé literární dokumentaci v našich pracích, ve kterých se zabýváme délkou gravidity (Dušek a Richter, 1966), omezuje se zde jen na závěry naší práce (Du-

šek, 1967), v níž analyzujeme proměnlivost délky gravidity v rámci širšího tématu, zaměřeného na sledování biorytmů živé hmoty a funkční periodicity. Zjistili jsme, že interpretační křivka délky gravidity má v průběhu kalendářního roku sinusoidový charakter. Z tohoto základního poznatku jsme pak vycházeli v naší další práci, ve které jsme se zabývali odhadem koeficientů dědivosti délky gravidity (Dušek, 1975) a ve které srovnáváme naše výsledky se závěry jiných autorů.

METODA

Délka gravidity byla hodnocena v souboru klisen anglického plnokrevníka hřebčinského chovu v Napajedlech z časového období let 1880 až 1972. Z tohoto souboru byly vybrány vždy dva ročníky v desetiletých etapách, které byly spojeny. K hodnocení vlivu věku plemeníků na délku gravidity byli v souboru zařazeni jen jedinci působící v hřebčinském chovu v Napajedlech nepřetržitě nejméně 13 let.

Použité metody zpracování jsou popsány při hodnocení dosažených výsledků v jednotlivých kapitolách.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Problematiku diferencujeme do dvou částí:

1. ROZDÍL DÉLEK GRAVIDITY KLISEN HODNOCENÝCH V DESETELETÝCH ČASOVÝCH ETAPÁCH V OBDOBÍ LET 1880 AŽ 1972

Při řešení zadaného komplexu nás zajímala otázka proměnlivosti délky gravidity v delším časovém období, abychom tak získali informace o její proměnlivosti či o její stabilitě. Aritmetické průměry a rozptyly délek gravidit hodnoceného období jsou uvedeny v tab. I.

Rozdíly rozptylu délek gravidit byly vyhodnoceny analýzou variance pro jednofaktorový model (tab. II); hodnota $F(4,29)$ vysoce překračuje zvolenou hladinu testovacího kritéria pro $\alpha_{0,05}$ a značně se blíží hladině signifikance pro $\alpha_{0,01}$. Rozdíly v délce gravidity jsou velmi proměnlivé a nemají jednoznačný trend.

I. Aritmetické průměry a rozptyl délky gravidity ve sledovaných časových etapách — Arithmetical means and variance of the gravidity length in time periods under study

Hodnocené ročníky	Dílčí soubory	n	$\bar{x}$	s^2	s	$s_{\bar{x}}$	$v \%$
1889 ; 1890	1	16	340,8	38,96	6,24	1,560	1,830
1899 ; 1900	2	42	331,5	105,67	10,28	1,586	3,101
1909 ; 1910	3	64	333,9	94,69	9,73	1,216	2,914
1919 ; 1920	4	53	339,6	75,68	8,70	1,195	2,562
1929 ; 1930	5	47	333,9	52,60	7,25	1,057	2,171
1939 ; 1940	6	40	337,2	59,37	7,71	1,220	2,286
1949 ; 1950	7	48	337,2	87,74	9,37	1,352	2,779
1959 ; 1960	8	75	336,9	73,09	8,55	0,987	2,538
1969 ; 1970	9	65	337,7	96,99	9,85	1,222	2,917

II. Analýza rozptylu délky gravidity klisen anglického plnokrevníka v desetiletých časových etapách v období let 1888 až 1972 — Analysis of variance of the gravidity length in mares of English Thoroughbred horse in ten-year time periods from 1880 to 1972

Zdroj variance	Součet čtverců	Počet stupňů volnosti	Rozptyl
Vliv faktorů	$s'_1 = 35052,344$	$v_1 = 449$	$s^2_1 = 340,765$
Reziduální	$s'_r = 2726,117$	$v_r = 8$	$s^2_r = 79,484$
Celkové	$s'_o = 37778,461$	$v = 441$	$F = 4,287$

Po zjištění signifikantního rozdílu variance délky gravidity mezi výběrovými ročníky byly testovány rozdíly výběrových průměrů. Hodnoty testovacího kritéria $t = \frac{(\bar{x}_k - \bar{x}_l)}{\hat{\sigma}(\bar{x}_k - \bar{x}_l)}$ řádkových průměrů jsou většinou vysoce signifikantní, hlavně při srovnání dílčích souborů z počátku a konce sledovaného období (tab. III). Těmito výsledky potvrzujeme proměnlivost tohoto znaku, která je do značné míry podmíněna negenetickými vlivy. Právě působící vlivy prostředí mají značnou proměnlivost a ovlivňují objektivitu genetických analýz. Proto pro objektivizaci metodického pojetí při zpracování délek gravidit k biologickým cílům je nutné vycházet z našeho předchozího zjištění o funkční periodicitě tohoto znaku.

Na proměnlivost délky gravidity působí komplex faktorů s podmiňujícími změnami funkčního tonu CNS s následnými změnami vegetativních funkcí. Z širšího fyziologického hlediska lze tedy alimentární složku považovat za jakýsi primární synchronizér. Při hodnocení funkční periodicity je nutné přihlížet i k aktivitě organismu ve vztahu s intenzitou osvětlení a dále k teplotě ovlivňující amplitudu rytmu a frekvence.

Vzhledem ke kratšímu období hřebení u anglických plnokrevníků ve srovnání s ostatními plemeny zachycuje tato časová fáze jen část sinusoidy interpretující délku gravidity v průběhu roku, a to její vzestupnou větev. Tím je v chovu anglického plnokrevníka při sloučení délek gravidit z jarního hřebení chyba menší než při zpracování souboru délek gravidit zahrnujícího údaje z podzimního a jarního ohřebovacího období, která jsou využívána v chovu ostatních plemen koní (tedy mimo chov anglického plnokrevníka).

Na základě uvedeného zjištění o významné rozdílnosti variance délek gravidit v delším časovém období je tedy pro stabilizaci proměnlivých vlivů prostředí, které se v organismu synchronizují a manifestují se pak i realizací různé délky gravidity, nutné počítat nikoliv s absolutními hodnotami délek gravidit, ale s hodnotami standardizovaných odchylek:

$y_i = \frac{(x_i - \bar{x})}{s}$, tedy podíl rozdílu i .té hodnoty a výběrového ročníkového průměru a příslušné směrodatné odchylky délek gravidit tohoto ročníku. Navržená transformace může být přínosem k objektivizaci výsledků dosažených zpracováním délek gravidit, které jsou často

III. Odhady směrodatných odchylek rozdílů řádkových průměrů a hodnoty testovacího kritéria t — Estimates of standard deviations of differences in line means and values of the testing criterion (t)

Srovnávané dílní soubory	Četnost		$\hat{\sigma}_{\bar{x}_k - \bar{x}_l}$	t
	n_k	n_l		
1 : 2	16	42	0,73	12,74 ⁺⁺
1 : 3	16	64	0,69	10,00 ⁺⁺
1 : 4	16	53	0,71	1,69
1 : 5	16	47	0,72	9,58 ⁺⁺
1 : 6	16	40	0,74	4,86 ⁺⁺
1 : 7	16	48	0,72	5,00 ⁺⁺
1 : 8	16	75	0,68	5,74 ⁺⁺
1 : 9	16	65	0,69	4,49 ⁺⁺
2 : 3	42	64	0,49	4,90 ⁺⁺
2 : 4	42	53	0,51	15,88 ⁺⁺
2 : 5	42	47	0,53	4,53 ⁺⁺
2 : 6	42	40	0,55	10,36 ⁺⁺
2 : 7	42	48	0,53	10,75 ⁺⁺
2 : 8	42	75	0,48	11,25 ⁺⁺
2 : 9	42	65	0,49	12,65 ⁺⁺
3 : 4	64	53	0,46	12,39 ⁺⁺
3 : 5	64	47	0,48	0
3 : 6	64	40	0,50	6,60 ⁺⁺
3 : 7	64	48	0,47	7,02 ⁺⁺
3 : 8	64	75	0,42	7,14 ⁺⁺
3 : 9	64	65	0,44	8,64 ⁺⁺
4 : 5	53	47	0,50	11,40 ⁺⁺
4 : 6	53	40	0,52	4,62 ⁺⁺
4 : 7	53	48	0,50	4,80 ⁺⁺
4 : 8	53	75	0,45	6,00 ⁺⁺
4 : 9	53	65	0,46	4,13 ⁺⁺
5 : 6	47	40	0,53	6,23 ⁺⁺
5 : 7	47	48	0,51	6,47 ⁺⁺
5 : 8	47	75	0,46	6,52 ⁺⁺
5 : 9	47	65	0,48	7,92 ⁺⁺
6 : 7	40	48	0,53	0
6 : 8	40	75	0,49	0,61
6 : 9	40	65	0,50	1,00
7 : 8	48	75	0,46	0,65
7 : 9	48	65	0,47	1,06
8 : 9	75	65	0,42	1,90

značně rozdílné. Domníváme se, že právě tyto rozdílné závěry autorů bývají podmíněny nikoliv biologickými vlivy, ale i vlivy technickými. Svůj názor můžeme dokumentovat např. i značnými rozdíly odhadnutých koeficientů dědivosti délek gravidit různými autory. Hodnoty h^2 , zjištěné našimi a zahraničními autory u plemen s podzimním a jarním ohřebovacím obdobím, se pohybují v rozsahu 0,03 až 0,36. Rollins a Howell (1951) uvádějí pro dědivost délky gravidity hodnotu $h^2 = 0,36$. Rollins aj. (1956) v další práci v populaci koní ardenského plemene, lipicánů a polokrevníků (Gidran, Nonius) $h^2 = 0,27$, Roderó a Pozo-Lora (1960) pro arabské a španělské koně hodnoty $h^2 = 0,31$ a 0,22, Matassino (1962) pro haflingy $h^2 = 0,32$, Salerno a Montemurro (1966) pro salernské koně $h^2 = 0,30$, Nový a Hučko (1967) pro arabské koně, lipicány, nonia a hucula hodnoty 0,07, 0,17, 0,03, a 0,20. V chovu anglického plnokrevníka s výrazně kratším ohřebovacím obdobím zjistil však Dušek (1968) hodnotu koeficientu dědivosti ve srovnání s předchozími autory již poněkud vyšší, a to 0,42. Rozborem této problematiky, ve kterém uvádíme dosud zjištěné koeficienty dědivosti všech vlastností koní, se zabýváme v samostatné práci (Dušek, 1981). V ní se zaměřujeme hlavně na objektivní výklad hodnot h^2 z hlediska použitelnosti vstupních dat a použitých metod odhadu; aby tak publikované koeficienty dědivosti nebyly přeceňovány.

V předchozím textu jsme přihlédlí k možnosti určité stabilizace proměnlivosti délky gravidity v průběhu kalendářního roku. Druhý metodický postup, který by stabilizoval hodnoty délek gravidit, je podmíněn využitím korekčních faktorů. Ty jsme vypočítali na základě tvaru interpretační křivky vyjadřující proměnlivost tohoto znaku v průběhu kalendářního roku. Pro přepočet délky gravidity na standardní hodnoty uvádíme tyto korekční faktory: pro hřebata narozená v lednu 0,987, v únoru 0,986, v březnu 0,985, v dubnu 0,983, v květnu 0,981, v červnu 0,978, v červenci 0,984, v srpnu 1,010, v září 1,015, v říjnu 1,013, v listopadu 1,003, v prosinci 0,992.

Minimální odchylky korekčních faktorů od jedné jsou podmíněny danou variační šíří průměrů tohoto znaku v jednotlivých měsících ve vztahu k absolutnímu průměru.

Při využití navrženého metodického postupu lze tedy snížit vliv sezónních faktorů a objektivizovat tak vstupní data pro odhad genetických parametrů. Nutnost využití stabilizace tohoto znaku, tedy délky gravidity, je podmíněna délkou ohřebovacího období. Význam má korekce délky gravidity v hřebčínských chovech teplokrevných plemen, ve kterých se využívá i podzimního ohřebovacího období s určitým větším nahuštěním porodů v časných podzimních měsících.

2. VLIV VĚKU PLEMENÍKŮ NA DÉLKU GRAVIDITY

Abychom navázali v kontextu na základní sledovanou problematiku, přihlédneme v této stati k vlivu věku plemeníků na délku gravidity.

Délky třídních intervalů ΔI jsou zvoleny u alternativního znaku (délky gravidity) takto: ≤ 325 dní, 326 — 333 dní, 334 — 339 dní, 340 — 346 dní, ≥ 347 dní. Šířka třídních intervalů pro věk hřebců v letech ($\Delta \text{š}$) je u jednotlivých plemeníků volena individuálně, a to podle čet-

nosti gravidit, aby zejména okrajové četnosti nebyly příliš nízké. Jedná se tedy o kontingenční tabulku (polychorickou) typu $k \times m$. Tím, že u každého pleménika jsou zpracovány délky gravidity za dobu jejich působení v plemenitbě v jednom chovu (13 až 17 let), snižujeme i vliv výraznější proměnlivosti, která se manifestuje v dlouhodobém časovém termínu. Toto šetření navazuje na naši předchozí studii, ve které jsme hodnotili vliv různého věku hřebců a klisen na jejich plodnost (D u š e k a M u n k, 1980b).

M A S I S ($\Delta\bar{s} = 2$ roky; $n = 251$ gravidit)

Dosažená hodnota $\chi^2 = 32,63$. Vypočítaná hodnota nedosahuje zvolené hodnoty testovacího kritéria, neboť $\chi^2_{0,05}$ o $(k-1) \cdot (m-1)$, tedy o 28 stupních volnosti, se rovná 41,34. Vliv věku pleménika se na délku gravidity neprojevil.

D E T V A N ($\Delta\bar{s} = 5$ let; $n = 99$)

Dosažená hodnota $\chi^2 = 7,33$; nedosahuje 5% kritické hladiny, neboť $\chi^2_{0,05}$ při 8 stupních volnosti se rovná 15,51.

G R A D I V O ($\Delta\bar{s} = 4$ roky; $n = 150$)

Vypočítaná hodnota $\chi^2 = 31,35$; převyšuje při 16 stupních volnosti hodnotu testovacího kritéria pro $\chi^2_{0,50} = 26,30$ a potvrzuje, že u tohoto pleménika se s jeho zvyšujícím se věkem délka gravidity signifikantně zkracuje.

S I M S O N ($\Delta\bar{s} = 4$ roky; $n = 186$)

Vypočítaná hodnota $\chi^2 = 12,74$; při 16 stupních volnosti $\chi^2_{0,05} = 26,30$. Sledovaný vztah není tedy významný.

M A T C H B O X ($\Delta\bar{s} = 4$ roky; $n = 148$)

Vypočítaná hodnota $\chi^2 = 23,68$ (při 16 stupních volnosti $\chi^2_{0,05} = 26,30$) se již výrazně blíží k zvolené 5% statistické významnosti a naznačuje obdobný vztah jako u hřebce Gradiovo.

Pro doplnění uvádíme ještě výsledky několika dalších plemének, kteří však měli u připuštěných klisen menší počet evidovaných délek gravidit, a proto tyto výsledky považujeme za informativní. Menší četnost délek gravidit podmiňovala také různé šířky tříd plemének podle věku:

D A G O R, $n = 57$; $\chi^2 = 13,68$;

T H E S T O R Y, $n = 64$; $\chi^2 = 13,76$;

K O O L W I N D E R, $n = 86$, $\chi^2 = 14,02$;

P E R C Y, $n = 50$, $\chi^2 = 8,55$;

O S S I A N, $n = 92$, $\chi^2 = 6,88$.

Všechny zjištěné hodnoty χ^2 těchto pěti plemének nedosahují při 8 stupních volnosti, kdy $\chi^2_{0,05} = 15,51$, hladiny signifikance.

Tyto výsledky tedy ukazují, že věk hřebce nemá vliv na délku gravidity, neboť u všech sledovaných případů (kromě dvou výjimek) jsou ostatní hodnoty pod úrovní hladiny signifikance.

Další analýza této problematiky by vyžadovala paralelní hodnocení vlivu věku matek a upřesnění korekcemi vstupních dat formou standardizované odchylky. Vzhledem k okrajovému významu této problematiky se jí však dále nezabýváme.

Šetření můžeme uzavřít konstatováním, že při hodnocení délky gravidity z hlediska vlivu věku plemének je nutné posuzovat výsledky různých autorů z metodologického hlediska, kdy při hodnocení délky gra-

vidity v delším časovém období nastává zvýšená proměnlivost tohoto znaku.

Druhý z důležitých aspektů je proměnlivost délky gravidity v průběhu kalendářního roku. Náhodným sestavením vyhodnocených souborů délek gravidit po jednotlivých plemeních z určitých časových fází kalendářního roku mohou být změny tohoto znaku podmíněny technickou chybou, která je podstatně vyšší, než intervaly podmíněné vlivy genetickými nebo věkem plemeníků.

Literatura

- DUŠEK, J. — RICHTER, L.: Rozbor délky gravidity klisen starokladrubského plemene. In: Věd. práce VSCHK, Bulletin, 1966, č. 2, s. 26-48.
- DUŠEK, J.: Délka gravidity klisen z hlediska sezónní rytmičnosti. Živočišná Výroba, 12, 1967, č. 3, s. 213-222.
- DUŠEK, J.: Genetické aspekty na délku gravidity koní. Stud. Inform. ÚVTI, Ř. Živočišná Výroba, 1966.
- DUŠEK, J.: Der Einfluss einiger biologischer und leistungsmässiger Faktoren auf die Erbllichkeit in der Pferdezucht. Bayer. landw. Jb., 52, 1975, č. 2, s. 224-241.
- DUŠEK, J. — MUNK, Z.: Odhad koeficientu dědivosti plodnosti hřebců. Vet. Med., Praha, 25, 1980a, č. 5, s. 229-304.
- DUŠEK, J. — MUNK, Z.: Vliv věku hřebců a klisen na jejich plodnost. Vet. Med., Praha, 25, 1980b, č. 7, s. 437-448.
- DUŠEK, J.: Hodnocení vlastností koní a jejich dědivost. Stud. Inform. ÚVTIZ, Ř. Živočiš. Výroba, 1981.
- MATASSINO, D.: Studio sulle statistiche vitali nelle cavalle di razza Avelignese nel Mezzogiorno: II Intervallo interparto e sue frazioni, e loro ripetibilità. Ann. Fac. Agr., Portici, Serie III, 28, 1962, s. 269-285.
- NOVÝ, J. — HUČKO, V.: Štúdium dedivosti dĺžky gravidity u kobýl. In: Sborník VŠP Nitra, 23, 1966, s. 31.
- RODERO, A. — POZO-LORA, R.: Heritabilidad y repetibilidad de la duración de la gestación de las yeguas de las razas española y árabe. Archos Zootecnia, 9, 1960, č. 34, s. 132.
- ROLLINS, W. C. — HOWELL, L. E.: Genetic sources of variations in the gestation length of the horse. J. Anim. Sci., 10, 1951, s. 797-806.
- ROLLINS, W. C. aj.: Gestation length in an inbred Jersey herd. Dairy Sci., 39, 1956, s. 1578-1593.
- SALERNO, A. — MONTEMURRO, N.: La lunghezza della gestazione nella popolazione cavallina del Salernitano. Prod. Anim., 5, 1966, s. 243.

Došlo dne 6. 11. 1980

ДУШЕК, Я. — МУНК, З. (Научно-исследовательская станция коневодства, Слатинаны): Оценка изменчивости продолжительности беременности кобыл. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5) : 297-304.

У совокупности кобыл от английского полнокровного жеребца, разводимого в Напаедлах, оценивалась нами продолжительность беременности за период 1880—1972 гг. Изменчивость продолжительности беременности оценивалась по совокупностям, составленным соединением всегда двух годов с дифференциацией изучаемого периода по десятилетиям. Дисперсия и выборочные средние значения продолжительностей беременности ланных частных совокупностей за изучаемый период оказываются весьма различными. Во избежание действия негенетических влияний, обуславливающих изменчивость длины беременности, с целью повышения объективности их оценки мы предлагаем рассчитывать не на абсолютные значения длины беременности, а наоборот, на трансформированные значения, а именно $\frac{(x_i - \bar{x})}{s}$, которые

были вычислены для каждого соответствующего года периода жеребости. Вторым методическим приемом по исключению изменчивости длины беременности, обусловленной сезонными влияниями, считается применение скорректированных факторов, определенных нами для

отдельных месяцев жеребости, а именно, на основе синусоидной кривой длины беременности в течение календарного года. При изучении влияния возраста жеребца на длину беременности, хотя и несколько отмечает сокращение длины беременности с их возрастом, однако значимо такое явление отмечается лишь в редких случаях. Данная статья представляет собой частный этап обширной темы, направленной на репродукцию лошадей.

продолжительность беременности кобыл; влияние возраста; методика оценки

DUŠEK, J. — MUNK, Z. (Research Station for Horse Breeding, Slatiňany): *Evaluation of Variability of the Gravidity Length in Mares*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5) : 297-304.

In a set of mares of English Thoroughbred horse of the Napajedla stock the gravidity length in the time period from 1880 to 1972 was evaluated. The variability of the gravidity length was evaluated in sets which were put together by combination of two age groups with a division of the studied time period into ten-year stages. Variance and sample means of the gravidity lengths in these sub-groups are significantly different in the period under study. In order to eliminate the action of non-genetic influences qualifying the variability of the gravidity length, and to increase the objectivity of their evaluation it is proposed not to calculate with absolute values of the gravidity length, but on the contrary with transformed

values: $\frac{(x_i - \bar{x})}{s}$ which would be computed for each corresponding year of the

foaling period. Another methodical approach to exclude the variability of the gravidity length depending on seasonal influences was based on the use of correction factors which were determined for individual months of foaling, on the basis of the sinusoid form of the curve of the gravidity length in the course of the calendar year. When observing the influence of the age of sires on the gravidity length, the shortening of the gravidity length in dependence on their higher age has been suggested, however this relation was significant only sporadically. The submitted work is a part of a larger theme referring to the reproduction of horses.

gravidity length of mares; influence of age; method of evaluation

DUŠEK, J. — MUNK, Z. (Forschungsstation für Pferdezücht, Slatiňany): *Bewertung der Veränderlichkeit der Trächtigkeitsdauer bei Stuten*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5) : 297-304.

In einer Gesamtheit Englischer Vollblutstuten der Zucht Napajedla bewerteten wir die Länge der Gravidität im Zeitbereich der Jahre 1880 bis 1972. Die Veränderlichkeit der Graviditätsdauer bewerteten wir in Gesamtheiten, die durch Verbindung jeweils zweier Jahrgänge, mit Differenzierung der untersuchten Periode in zehnjährige Abschnitte, zusammengestellt wurden. Die Varianz und der Auswahlmittelwert der Graviditätslängen dieser Teilgesamtheiten in dem untersuchten Zeitraum sind signifikant unterschiedlich. Um die Einwirkung nichtgenetischer, die Veränderlichkeit der Graviditätslänge bedingender Einflüsse zu eliminieren, empfehlen wir zur Erhöhung der Objektivität ihre Bewertung nicht aufgrund absoluter Werte der Graviditätslänge zu berechnen, sondern im Gegenteil mit transformierten Werten zu

arbeiten, u. zw. $\frac{(x_i - \bar{x})}{s}$ welche für jedes bezügliche Jahr der Beschälperiode

errechnet wären. Ein zweites methodisches Verfahren zur Eliminierung der saisonbedingten Variabilität der Graviditätslänge ist die Anwendung von Korrekturfaktoren, welche wir für die einzelnen Abfohlmonate bestimmt haben, u. zw. aufgrund der Sinusform der Graviditätslängenkurven im Verlauf eines Kalenderjahrs. Bei Untersuchungen über den Einfluß des Alters der Vätertiere auf die Graviditätslänge erscheinen zwar Andeutungen einer Verkürzung der Graviditätslänge mit deren zunehmendem Alter, signifikant konnte jedoch diese Beziehung nur vereinzelt nachgewiesen werden. Die vorliegende Arbeit repräsentiert einen Teilabschnitt eines breiteren, auf die Reproduktion bei Pferden orientierten Themas.

Graviditätsdauer bei Stuten; Alterseinfluß; Bewertungsmethodik

Adresa autorů:

Doc. ing. Jaromír Dušek, CSc., MVDr. ing. Zdeněk Munk, Výzkumná stanice pro chov koní, 538 21 Slatiňany

ODEZVA ORGANISMU KUŘAT NA PŘIDÁVÁNÍ KVASNIC RŮZNÉ PROVENIENCE DO BROJLEROVÝCH SMĚSÍ

I. Pašková, M. Lávička

PAŠKOVÁ, I. — LÁVIČKA, M. (Ústřední státní veterinární ústav, Praha): *Odezva organismu kuřat na přidávání kvasnic různé provenience do brojlerových směsí*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5) : 305-312.

Cílem biologické testace bylo ověřit zdravotní nezávadnost kompletních směsí pro předvýkrm a výkrm brojlerů s použitím kvasnic vyrobených ze sulfitových louhů, syntetického etanolu a sulfitetanolového substrátu. Kvasnice byly zařazeny do směsí v 6% a 10% koncentraci a fortifikovány metioninem a B₁₂. Na základě získaných výsledků a hodnocení celkového zdravotního stavu kuřat lze konstatovat: — biochemickými ani hematologickými ukazateli se nepodařilo prokázat přímý toxický vliv ověřovaných kvasnic na kuřecí organismus; — při 10% koncentraci kvasnic se nezávisle na jejich původu projevuje tendence snižování živé hmotnosti kuřat na konci pokusu; — krevní výrony svědčící pro hemoragickou diatézu, zjištěné v jednotlivých etapách, mohly být podle našeho názoru i podle literárních údajů způsobeny zvýšeným oksyločováním vitamínu K; určitý vliv mohl mít i stres v důsledku kokcidiózy, při níž se snižuje hladina tohoto vitamínu; — krevní výrony byly výraznější u skupin s 10% koncentrací kvasnic; — i když nebyl jednoznačně prokázán přímý toxický vliv kvasnic, lze na základě patologicko-anatomických nálezů doporučit, aby se kvasnice do brojlerových směsí zařazovaly pouze do výše 6% a aby se obsah vitamínu K zvýšil na 400 mg na 100 kg.

kuřata; kvasnice; hemoragická diatéza; vitamín K

Již po léta se v mnoha státech využívá k výrobě krmných kvasnic netradičních surovin — sulfitových louhů, n-alkanů, plynového oleje, syntetického etanolu apod. V ČSSR jsou jedním z potenciálních zdrojů bílkovinné složky krmných směsí (zvláště pro prasata a drůbež) považovány kvasnice vyrobené ze sulfitových louhů a syntetického etanolu. V proteinu kvasnic jsou značné kvalitativní rozdíly; týká se to především aminokyselinového složení. Máme však brát v úvahu i rozdíly v kvalitě kvasniční biomasy jako takové, které mohou být způsobeny případnými zbytky substrátu, resp. vlivem technologického postupu. Např. Š a b a d aj. (1964) zjistili v preparátech BVK (bílkovinný vitamínový komplex — produkt mikrobiologické syntézy z uhlovodanů nafty) přítomnost benzpyrenu. Tento karcinogen se dostal do BVK z technických minerálních solí (konkrétně z amonijsulfátu). Proto je nezbytné, aby před použitím určitého druhu kvasnic v široké praxi byla ověřena nejen jejich nutriční hodnota, ale i celková zdravotní nezávadnost.

V domácí i zahraniční literatuře se touto problematikou zabývají různí autoři. Velmi důkladně např. byly prozkoumány kvasnice z petrochemických surovin. Pokrovskij (1972), Tkačev a Taranenko (1969), Ključkina a Fosfanov (1966) a jiní uvádějí podrobné výsledky z pokusů na kryších, drůbeži, psech, opicích, prasatech, skotu a dalších zvířatech. Experimentální pokusy prováděné v Ústavu výživy AMV SSSR (Pokrovskij, 1972) ukázaly, že využití kvasniční bílkoviny různými druhy zvířat závisí do určité míry na dávce kvasnic. Optimální podíl kvasniční bílkoviny z celkového obsahu bílkovin v krmné dávce je 25 %, tj. 3 až 5 % kvasnic ve směsích. Zvyšování procentuálního podílu kvasniční bílkoviny na úkor jiných bílkovin způsobovalo snížení využití dusíku a zaostávání v růstu. Při dlouhodobém zkrmování těchto kvasnic nebyly však prokázány příznaky chronické intoxikace (posuzovaly se: morfologické složení krve, resp. kostní dřeně, některé biochemické ukazatele, funkce jednotlivých orgánů, patologické nálezy apod.). Podobných výsledků dosáhli ve svých pokusech Llewelyn (1967), Shaklady (1967, 1974), Landan (1968). Při ověřování případného toxického vlivu kvasnic z petrochemických surovin na zdravotní stav kuřat (Duben, 1968, 1969, 1970) bylo zjištěno, že při 3% až 5% koncentraci kvasnic v kompletních krmných směsích byly rozdíly v sledovaných hodnotách mezi skupinami nepatrné, kdežto při 10% přídavku kvasnic byl zaznamenán pokles živé hmotnosti kuřat. Toxický vliv kvasnic nebyl však ani na jednom ze sledovaných biologických parametrů prokázán. Bilanční pokusy Hudského a Bartošové (1977) na kuřatech a kachňatech se zkrmováním kvasniční bílkoviny ze sulfitových louhů, syntetického etanolu a sulfitetanolového substrátu neprokázaly podstatné rozdíly mezi skupinami. Machálek a Hudský (1979) při sledování vlivu 5% a 10% koncentrace kvasnic stej-

I. Schéma pokusů v jednotlivých etapách — The layout of the experiments in their different stages

Skupina	Etapy		
	I	II	III
1	BR 1 a BR 2 bez kvasnic	BR 2 bez kvasnic	BR 2 bez kvasnic
2	BR 1 a BR 2 6 % fortifikovaných kvasnic S	BR 2 6 % fortifikovaných kvasnic S	BR 2 6 % kvasnic S
3	BR 1 a BR 2 10 % fortifikovaných kvasnic S	BR 2 10 % fortifikovaných kvasnic S	BR 2 6 % fortifikovaných kvasnic S
4	BR 1 a BR 2 6 % fortifikovaných kvasnic S × E	BR 2 6 % fortifikovaných kvasnic S × E	BR 2 6 % kvasnic E
5	BR 1 a BR 2 10 % fortifikovaných kvasnic E × S	BR 2 10 % fortifikovaných kvasnic E × S	BR 2 6 % fortifikovaných kvasnic E
6	BR 1 a BR 2 6 % fortifikovaných kvasnic E	BR 2 6 % fortifikovaných kvasnic E	BR 2 6 % kvasnic S × E
7	BR 1 a BR 2 10 % fortifikovaných kvasnic E	BR 2 10 % fortifikovaných kvasnic E	BR 2 6 % fortifikovaných kvasnic S × E

6% koncentrace kvasnic byla náhradou za 3 % SEŠ, 2 % SOM, 1 % RM
10% koncentrace kvasnic byla náhradou za 7 % SEŠ, 2 % SOM, 1 % RM

ného původu ve směsích pro odchov kuřic zjistili u všech pokusných skupin podstatně nižší živou hmotnost v porovnání s kontrolou. Úhyn kuřic se pohyboval v mezích normy bez zjevných rozdílů mezi skupinami. Dále autoři sledovali vliv těchto kvasnic na snášku a kvalitu finálních produktů. Zjistili, že 5% přídavek kvasnic výrazně zvyšuje snášku, kdežto 10% koncentrace kvasnic ve směsích ji ve srovnání s kontrolou snižovala. Analytickými rozbory masa a vajec nebyl prokázán negativní vliv kvasnic na jejich kvalitu, ani průkazné zvýšení hladiny látek škodlivých lidskému organismu.

MATERIÁL A METODA

Do pokusů byly zařazeny kvasnice vyrobené ze sulfitových louhů (ozn. S), syntetického etanolu (ozn. E) a sulfitetanolového substrátu (ozn. SxE), a to v 6% a 10% koncentraci, jako částečná náhrada za sójový extrahovaný šrot (SEŠ), sušené odstředěné mléko (SOM) a rybí moučku (RM). V I. a II. etapě byly kvasnice fortifikovány 0,5% metioninu a 0,04% B₁₂ a ve III. etapě pouze metioninem. Pokusy probíhaly podle metodiky používané ÚKZÚZ pro ověřování nutriční a produkční hodnoty krmiv a metodiky ÚSVÚ pro ověření zdravotní nezávadnosti kompletních krmných směsí, resp. krmných doplňků. Jednodenní kuřata masného typu byla namátkově rozdělena do sedmi skupin po 110 kusech a umístěna ve voliérách na hluboké podestýlce. Krmné směsi byly vyrobeny v mísiřně pokusných krmiv ÚKZÚZ podle platných receptur. Analytické rozbory byly provedeny v laboratořích ÚKZÚZ a ÚSVÚ.

Schéma pokusu v jednotlivých etapách je uvedeno v tab. I.

Z násad určených pro pokusy jsme za účelem biologické kontroly líhnutí pitvali nedolíhlá vejce. Průběžně jsme pitvali uhynulá kuřata a zjišťovali příčinu jejich úhynu. Namátkově odebraná kuřata (po 10 kusech z jedné skupiny) ve čtyřech a sedmi týdnech věku byla vždy individuálně zvážena. Pak byl od každého kuřete odebrán vzorek ke stanovení vybraných hematologických a biochemických ukazatelů. Při pitvě kuřat jsme posuzovali případné patologické změny. V podezřelých případech jsme odebírali vzorky jednotlivých orgánů k bakteriologickému a histologickému vyšetření. U všech kuřat se dělalo parazitologické vyšetření střevního traktu. Z morfologických parametrů jsme kromě živé hmotnosti kuřat stanovili i hmotnost Fabriciovy burzy, střevního traktu, jater a sleziny. U sledovaných ukazatelů jsme vypočítali průměrné hodnoty a směrodatné odchylky. Rozdíly v hodnotách mezi skupinami byly ověřeny analýzou rozptylu.

Veškerá vyšetření jsme dělali podle Veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Při bakteriologickém a mykologickém vyšetření vzorků podestýlky, ověřovaného materiálu a kompletních směsí jsme nezjistili patogenní zárodky ani nežádoucí plísň. Na základě shrnutí výsledků pitev všech nedolíhlých vajec byla biologická hodnota násadových vajec označena jako dobrá. O vysoké životaschopnosti a celkem dobrém zdravotním stavu kuřat svědčí značně vysoká živá hmotnost kuřat ve čtyřech týdnech věku (v průměru 700 g) a zcela nepatrný úhyn v průběhu pokusů, který se v jednotlivých etapách pohyboval od 0,8 do 1,4 %. Pitvou dodaných uhynulých kuřat nebyly zjištěny podstatné patologicko-anatomické nálezy, z nichž by bylo možné usuzovat na toxicitu ověřovaného materiálu.

Živá hmotnost kontrolní skupiny ve věku čtyř týdnů nebyla jednoznačně větší než u skupin s přídavkem kvasnic. Na konci pokusu, tj. v sedmi týdnech věku, byla živá hmotnost kuřat všech pokusných skupin nižší ve srovnání s kontrolou (tab. II). Průkazně nižší rozdíl byl zjištěn v I. etapě u skupin 3 a ve II. etapě u skupin 7, 6 a 3 ve srovnání

II. Živá hmotnost kuřat ve věku čtyři a sedm týdnů (v gramech) — The live weight of the chickens at the age of four and seven weeks (in grams)

Skupina	Etapy			
	I (4 týdny)	I (7 týdnů)	II	III
1	660±83	1596±182	1540±200	1517±230
2	665±83	1508±217	1442±243	1497±133
3	637±68	1417±126	1410±175	1489±300
4	699±40	1518±204	1458±203	1507±130
5	645±63	1543±189	1448±200	1459± 85
6	714±65	1532±161	1409±192	1464±183
7	717±63	1508±203	1334±163	1497±155

s kontrolou a u skupiny 7 i ve srovnání se skupinou 4. Při porovnání souborů krmných směsí se 6 % a 10 % kvasnic bylo zjištěno, že se ve skupinách s 10% koncentrací (nezávisle na původu kvasnic) projevuje tendence ke snižování živé hmotnosti kuřat na konci pokusů, což se shoduje s výsledky autorů uvedených v literárním přehledu (Duben, 1969, 1970; Hudský a Bartošová, 1977; Machálek a Hudský, 1979 a další). Obdobnou tendenci zaznamenali Bougon aj. (1978) při sledování laktoproteinových kvasnic na kuřatech masného typu.

Procentuální podíl hmotnosti jednotlivých orgánů byl v relaci k živé hmotnosti kuřat bez významných rozdílů mezi skupinami. Ze stanovených biochemických a hematologických ukazatelů (anorg. fosfor, váp-

III. Nejčastěji se vyskytující patologicko-anatomické nálezy u utracených kuřat — The most frequent patho-anatomic findings in the killed chickens

Skupina	Etapy					
	I		II		III	
	steatóza jater	krevní výrony	steatóza jater	krevní výrony	steatóza jater	krevní výrony
1	—	2×	1×	—	—	—
2	—	2×	—	2×	—	—
3	—	7×	2×	4×	3×	—
4	—	4×	—	—	—	—
5	3×	11×	1×	3×	—	—
6	2×	6×	—	1×	—	—
7	3×	10×	2×	—	—	—

Pozn.: v I. etapě jsou výsledky shrnuty za předvýkrm a výkrm; jedná se o krevní výrony v kosterní svalovině a játrech

ník, AP, kyselina močová, cholesterol, GOT, GPT, vitamín A, erytrocyty, leukocyty, hemoglobin, granulocyty: agranulocyty) byly pouze u aktivity sérové GOT a kyseliny močové zjištěny u všech pokusných skupin mírně zvýšené hodnoty v porovnání s kontrolou. Hodnoty všech sledovaných ukazatelů se pohybovaly v rámci fyziologických normálů.

Z pitevního nálezu utracených kuřat nejmarkantněji vystupovaly krevní výrony v kosterní svalovině, svědčící pro hemoragickou diatézu a steatózu jater. Tyto nálezy byly výraznější zejména u skupin s vyšším obsahem kvasnic (tj. s 10% koncentrací) ve směsích (tab. III). Z literárních údajů je známé, že hemoragická diatéza se vyskytuje mimo jiné v důsledku snížené aktivity faktoru VII, resp. při podávání léčebných preparátů (Petrov, 1954). Stavy krvácivosti, zejména výskyt hemoragického syndromu, byly v letech 1964 až 1965 soustavně zjišťovány v ČSSR, přičemž se tyto nálezy vyskytovaly častěji na Slovensku, což bylo pravděpodobně způsobeno širokou aplikací sulfaquinoxalinu (Duben, 1968). Hemoragický syndrom u kuřat byl pozorován i při zvýšené dávce embazinu (Sriraman aj., 1978). Sansi (1976) popisuje hemoragický syndrom u kuřat a domnívá se, že etiologickým faktorem ve výskytu tohoto syndromu mohl být kokcidiostatický preparát amprolium, podávaný kuřatům.

V souladu s uvedenými autory lze předpokládat, že v našem případě došlo ke zvýšenému okysličování vitamínu K. Určitou úlohu mohla zde hrát i kokcidióza. I když se v průběhu pokusů kokcidióza nevyskytla v klinické formě, byly v jednotlivých etapách ve střevním traktu kuřat zjišťovány oocysty na + až +++ (*E. mitis*, *E. praecox*, *E. necatrix*) cca u 20 až 30 % kuřat. V těchto případech se spotřeba vitamínu K u kuřat zvyšuje, a proto je vhodné, aby jeho obsah činil 400 až 800 mg na 100 kg směsi. Nelze opomenout ani fakt, že přísun vitamínu K z jednotlivých komponentů směsi byl omezen v důsledku náhrady rybí moučky a sójového extrahovaného šrotu kvasnicemi (zvláště při 10% koncentraci). O zvýšených dávkách při stresech (zejména kokcidióze) se zmiňují Abaturková, 1973; Walldrup, 1978 a jiní.

Z výsledků bakteriologických vyšetření trávicího traktu kuřat vyplývá, že použité kvasnice neovlivnily složení střevní mikroflóry. V další práci se chceme ještě hlouběji zabývat touto problematikou a ověřit naše předpoklady.

Literatura

ABATUROVA, E. A.: Novoje o vitamine K. Svodnyj referát, Sel. Choz. Rub., 1973, č. 4, s. 16.

BOUGON, M. — HOSPITALIER, R. — PROTAIS, J.: Intérêt des lactoprotéines levurrés dans l'alimentation du poulet. Bull. Inf. Stat. exp. Avic. Ploufragen, 18, 1978, č. 1, s. 3-6.

DUBEN, Z.: Hemoragie u drůbeže — jejich etiologie a morfologie. Veterinářství, 1968, č. 6, s. 276.

DUBEN, Z.: Stavy krvácivosti avitaminózního původu u drůbeže. Veterinaria Spofa, 1968, č. 2.

DUBEN, Z.: Stanovení zdravotní nezávadnosti, ekonomiky použití, výživné hodnoty, aplikačních forem a dávkování krmných bílkovin z petrochemických surovin —

I. etapa: z nafty. [Závěr. práce výzk. úkolu.] Praha, Ústřední státní veterinární ústav 1969.

DUBEN, Z.: Stanovení zdravotní nezávadnosti, ekonomiky použití, výživné hodnoty, aplikačních forem a dávkování krmných bílkovin z petrochemických surovin — II. etapa: z n-alkanů. [Závěr. práce výzk. úkolu.] Praha, Ústřední státní veterinární ústav 1970.

DUBEN, Z. — HALADEJ, Š.: Zdravotní nezávadnost krmiv vyrobených z petrochemických surovin u kuřat ve výkrmu. Biologizace Chem. Výž. Zvíř., 1968, č. 5/6, s. 513.

DUBEN, Z. — ZAHRADNÍKOVÁ, W.: Příspěvek ke stanovení normálů některých biochemických parametrů u kuřat brojlerového typu. Referát na II. celostátní konferenci o fyziologii drůbeže. Praha, 1969.

HUDSKÝ, Z. — BARTOŠOVÁ, J.: Bilanční pokusy se zkrmováním kvasniční biomasy. Biologizace Chem. Výž. Zvíř., 1977, č. 3, s. 233.

KLJUŠKINA, N. N. — FOFANOV, V. I.: Voprosy pitaniya, 1966, č. 6, s. 3. Cit. POKROVSKIJ, A. A.: Medikobiologičeskie issledovaniya uglevodorodnyh drožžej. Moskva, izd. Nauka 1972.

LANDAN, P. E.: Ispoľzovanie bĕlkovo-vitaminogo koncentrata v životnovodstve. Životnovodstvo, 1968, č. 12, s. 36-40.

LLEWELYN, D.: Sympos. on Microbiol., London, Sept. 1967. Cit.: POKROVSKIJ, A. A.: Medikobiologičeskie issledovaniya uglevodorodnyh drožžej. Moskva, izd. Nauka 1972.

MACHÁLEK, E. — HUDSKÝ, Z.: Využití fortifikovaných kvasnic u kuřic a slepic nosného typu. Kvalita finálního produktu slepic krmných vyššími dávkami kvasnic. Biol. Chem. Výž. Zvíř., 1979, č. 5, s. 429-440.

PAŠKOVÁ, I. — ZAHRADNÍKOVÁ, W.: Hematologické a biochemické hodnoty u klinicky zdravých kuřat masného typu s přihlédnutím k různým věkovým kategoriím. [Odbor. tem. práce.] Praha, Ústřední státní vet. ústav 1976.

PETROV, V. P.: Vsasyvanie, raspredĕlenie i vyvedĕnie sulfanilamidnyh preparatov u životnyh i ptic. Avtoreferat. 1954.

POKROVSKIJ, A. A.: Vĕstnik AMN SSSR, 1964, č. 4, s. 80. Cit. POKROVSKIJ, A. A.: Medikobiologičeskie issledovaniya uglevodorodnyh drožžej. Moskva, izd. Nauka 1972.

SANSI, K. O.: Hemorrhagic syndrome of chickens: a case report. Bull. Anim., Hlth Afr., 24, 1976, č. 1, s. 93-96.

SHACKLADY, C. A.: The use of hydrocarbon grown yeasts in commercial type rations for pigs and poultry. II Inter. Confer. Appl. Microbiol. 1967.

SHACKLADY, C. A.: Symposium o specificky účinných látkách a syntetických proteinech ve výživě zvířat. Praha 1974.

SRIRAMAN, P. K. — RAMA, R. P. — NISSAR, A. M. — MADHAVA, R. M. — SASTRY GANTI, A.: Haemorrhagic syndrome in chicken. Indian vet. J., 55, 1978, č. 9, s. 680-682.

TKAČEV, I. F. — TARANENKO, G. A.: Biologická hodnota krmných kvasnic, obohacených vitamínem B₁₂ a methioninem. Biol. Chem. Výž. Zvíř., 1970, č. 3, s. 277.

WALDROUP, P. W.: Comparison of the relative biological availability of commercial sources of vit. K. Anim. Feed., Sci. Technol., 3, 1978, č. 4, s. 329-334.

Došlo dne 14. 10. 1980

ПАШКОВА, И. — ЛАВИЧКА, М. (Центральный государственный ветеринарный институт, Прага): Реакция организма цыплят на добавление дрожжей разного происхождения в бройлерные кормосмеси. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5): 305-312.

Цель биологического испытания заключалась в проверке санитарной безупречности комбикормов для откорма бройлеров (стартер - финиш) с использованием дрожжей, произведенных из сульфитных щелоков, синтетического этанола и сульфитэтанолового субстрата. Дрожжи были включены в смеси в 6 и 10%-ых концентрациях и дополнены метионином и B₁₂. На основе полученных результатов и оценки общего состояния здоровья цыплят можно констатировать: ни путем биохимических, ни гематологических показателей не удалось доказать непосредственного токсического влияния испытываемых дрожжей на организм цыплят; при 10%-ной концентрации дрожжей, независимо от их происхождения, проявляется тенденция к снижению живой массы цыплят в конце опыта; установленные на отдельных этапах гематомы, свидетельствующие о геморрагическом диатезе, по нашему мнению и согласно данным литературы могли быть вызваны повышенным окислением витамина К; определенное влияние мог оказывать также стресс в результате кокцидиоза, при котором падает уровень этого витамина; кровоизлияния были сильнее у групп с 10%-ной концентрацией дрожжей; хотя и не было однозначно доказано непосредственного токсического действия дрожжей, на основе патологоанатомических диагнозов можно рекомендовать, чтобы дрожжи добавлялись в комбикорма для бройлеров только до концентрации 6% и чтобы содержание витамина К повысилось до 400 мг на 100 кг.

цыплята; дрожжи; геморрагический диатез; витамин К

PAŠKOVÁ, I. — LÁVIČKA, M. (Central State Veterinary Institute, Praha): *The Response of the Chick Organism to the Addition of Yeasts of Different Origin to Broiler Mixtures*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5): 305-312.

The bioassays were aimed at testing the safety of complete starter and fattening broiler feed mixtures containing yeasts produced from sulphite liquors, synthetic ethanol and sulphite-ethanol substrate. The yeasts were included in the formulation of the mixtures at a 6% and 10% concentration and were enriched with methionine and B₁₂. The following can be stated on the basis of the obtained results and evaluation of the over-all health state of the chickens: the effort to demonstrate a direct toxic effect of the tested yeasts on the chick organism by biochemical and haematological parameters failed, — at a 10% yeast concentration a tendency to a decreasing of chick live weight occurred towards the end of the experiment, irrespective of the origin of the yeasts, — the haemorrhages testifying to haemorrhagic diathesis, observed in different stages, might be caused by increased oxygenation of vitamin K, as suggested by our experience and by literary data: some role might also be played by stress from coccidiosis, which reduces the level of this vitamin, — the haemorrhages were more pronounced in the groups with a 10% concentration of yeasts, — although no direct toxic effect of yeasts was clearly demonstrated, it can be recommended on the basis of patho-anatomic findings that the yeasts should not constitute more than 6% of the volume of broiler mixtures and that the content of vitamin K should be increased to 400 mg per 100 kg.

chickens; yeasts; haemorrhagic diathesis; vitamin K

PAŠKOVÁ, I. — LÁVIČKA, M. (Staatliches Zentralinstitut für Veterinärmedizin, Praha): *Reaktion des Kükenorganismus auf Beigaben von Hefe verschiedener Provenienz zum Broilermischfutter*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5): 305-312.

Das Ziel der biologischen Tests beruhte in der Überprüfung der gesundheitlichen Anstandslosigkeit der Komplexmischungen für die Broilervormast und -mast mit Anwendung von aus Sulfitablaugen, synthetischem Äthanol und Sulfitäthanolsubstrat erzeugter Hefe. Die Hefe wurde in das Mischfutter in 6%- und 10%iger Konzentration beigemischt und mit Methionin und B₁₂ fortifiziert. Aufgrund der ermittelten Ergebnisse und der Bewertung des Allgemeinesundheitszustands der Küken kann konstatiert werden: — weder biochemische noch hämatologische Kennwerte konnten den Beweis einer direkten toxischen Einwirkung der geprüften Hefe auf den Kükenorganismus erbringen, — bei der 10%igen Konzentration der Hefe kam, unabhängig von deren Herkunft, eine Tendenz zur Herabsetzung der Lebendmasse der

Küken gegen Ende des Versuchs zum Vorschein, — die von einer hämorrhagischen Diathese zeugenden Blutergüsse, die in den einzelnen Etappen festgestellt wurden, wären unserer Ansicht nach und auch nach Literaturangaben auf eine erhöhte Oxydation durch Vitamin K zurückzuführen; einen gewissen Einfluß konnte auch der als Folge der Kokzidiose, bei der der Spiegel dieses Vitamins herabgesetzt wird, entstandene Streß ausüben, — die Blutergüsse waren in der Gruppe mit der 10⁰/₀igen Hefekonzentration deutlicher, — obwohl eine direkte toxische Einwirkung der Hefe nicht eindeutig nachgewiesen werden konnte, kann doch aufgrund pathologisch-anatomischer Funde empfohlen werden, daß Hefe in die Broilermischfutter in höchstens 6⁰/₀iger Konzentration eingereiht werden und daß der Vitamin K-Gehalt auf 400 mg je 100 kg erhöht wird.

Küken; Hefen; hämorrhagische Diathese; Vitamin K

Adresa autorů:

Ing. Inna Pašková, MVDr. Miroslav Lávička, Ústřední státní veterinární ústav, Sídlíšní 156, 165 03 Praha 6 - Lysolaje

M. Cupák, R. Blechová, E. Fialová

CUPÁK, M. — BLECHOVÁ, R. — FIALOVÁ, E. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Diagnostika, klinika a terapie sternostomiázy kanárů*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5) : 313-320.

U 15 kanárů byla zkoušena možnost objektivní intravitální diagnostiky pomocí výtěrů z průdušnice, transparentní tracheoskopie, rtg snímkování a koprologického vyšetřování. Všechny výsledky byly negativní. Pozitivním výsledkem je metoda fixace kanárů pro rentgenologické vyšetřování, použitelná i pro jiné účely. 30 kanárů bylo použito k ověření výsledků terapie přípravkem na bázi DTHP - Hypocidem. Z nich bylo 12 kusů utraceno před terapií k postmortálnímu stanovení diagnózy, 12 kusů bylo utraceno za dva dny a šest kusů za deset dnů po ukončení terapie. Postmortální vyšetření léčených kanárů prokázalo účinnost terapie, ale její nedostatečnost pokud se týká dávkování, intervalu aplikací a místa aplikace.

kanár; roztoč; tracheobronchitida; tracheální výtěr; transparentní tracheoskopie; rtg snímkování; koprologické vyšetřování; klinika; postmortální vyšetřování; Hypocid; terapie

Roztočová onemocnění dechových orgánů ptáků jsou známa již delší dobu. U drůbeže, bažantů a holubů je uvádějí např. Klimeš aj. (1961), přičemž jako původce označuje roztoče *Cytodites nudus*, kterého však považuje za málo patogenního.

U kanárů byla parazitární tracheobronchitida popsána poprvé v roce 1948 jednak Strandtmannem, jednak Lawrencem, přičemž je za původce označován roztoč *Sternostoma tracheacolum*. Téhož roztoče označuje za hlavního původce i Kronberger (1974), uvádí však výskyt i jiných roztočů, např. opět *Cytodites nudus*. Zwart (1961) označuje onemocnění jako akariázu kanárů, stejně jako Cupák (1970), který kromě toho používá označení parazitární tracheobronchitida. Kronberger (1974) uvádí výskyt tohoto onemocnění u kanárů v četnosti až na druhém místě za Amadinami Gouldové.

Všichni autoři se shodují v tom, že biologie těchto roztočů je málo známá. Baker a Wharton (1955) je označují za živořodé. Za jediný způsob přenosu je označován přímý styk (Kronberger, 1974), aerogenní cesty (Borchert, 1962), event. vzájemné krmení partnerů a mláďat.

U nás bylo toto onemocnění poprvé zaznamenáno na klinice chorob malých zvířat Vysoké školy veterinární v Brně kolem roku 1972, a to především u Amadin Gouldové, později i u kanárů, kteří byli předtím pro nižší hodnotu z neznalosti chovateli utráceni. Na rozdíl od údajů Klimeše (1961), který označuje onemocnění u drůbeže, bažantů a holubů za sporadické, má u exotického ptactva, zejména u kanárů, charakter závažných enzootií s častým úhynem.

V zahraničí je v terapii tohoto onemocnění mimo jiné využíváno přípravků na bázi DTHP - Hypodix (Lauckner, 1971; Kasulke, 1972). Na klinice chorob malých zvířat VŠV v Brně byla zavedena terapie přípravkem na stejné bázi pod označením Hypocid (Konrád, 1975). Jeho toxicitu pro exotické a drobné tužemské ptactvo ověřoval Zlámal (1974), který pro ptáka o velikosti kanára

(30—40 g ž. hm.) označil za LD₅₀ 8,15 mg. V pokusné terapii byla pak zavedena dávka 0,75 mg v 5% roztoku Hypocidu, a to frakcionovaně třikrát v intervalu pěti dnů, aplikovaném *per cutim* na dorsum krku. Terapie je nasazována vždy u ptáků se suspektní diagnózou na základě klinických příznaků onemocnění dechových orgánů, zejména při hromadném výskytu, nebo na základě postmortálního vyšetření uhynulých ptáků u dalších dosud žijících ptáků v témž chovu.

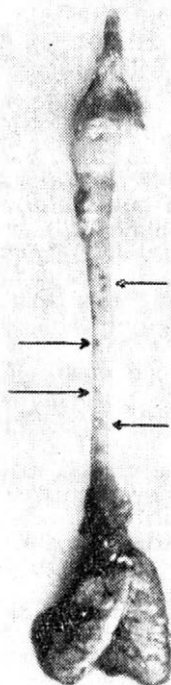
Možnost vedlejších toxických účinků léčebného preparátu na bázi organofosfátů by však vyžadovala využívání této terapie pouze při bezvýhradně potvrzené diagnóze roztočové invaze. Možnostmi objektivní exaktní diagnostiky sternostomiázy *intra vitam* se zabývá první část naší práce. Údaje o intravitální diagnostice tohoto onemocnění nebyly v literatuře zjištěny. Pouze Klimeš (1961) uvádí, že intravitální diagnostika je u drůbeže, bažantů a holubů téměř nemožná a onemocnění je zjišťováno pouze vyšetřením *post mortem*.

Terapeutické výsledky se hodnotily pouze na základě vymizení nebo podstatného zmírnění klinických příznaků onemocnění dechových orgánů. Přitom se podle zpráv chovatelů o recidivách klinických příznaků předpokládalo, že jde o reinvazi. Objektivní exaktní zhodnocení pokusné zavedené terapie bylo cílem druhé části naší práce.

MATERIÁL A METODA

K první části pokusu objektivní intravitální diagnostiky roztočů v dechových orgánech jsme použili 15 kanárů různého pohlaví, u nichž na základě anamnestických údajů, klinických příznaků dechových potíží a jejich původu ze zamořených chovů bylo možné předpokládat parazitární tracheobronchitidu. Diagnóza byla dodatečně potvrzena vyšetřením postmortálním.

Jako možnost intravitálního zjištění roztočů v dechových orgánech jsme zvolili pracovní postupy: 1. výtěr z průdušnice, 2. transparentní tracheoskopie, 3. rtg snímkování, 4. koprologické vyšetření.



1. Roztoči viditelní přes stěnu průdušnice kanára po jejím obnažení (foto R. Halouzka) — Acarine mites visible through the tracheal wall of a canary after its exposure (photo by R. Halouzka)

K tracheálnímu výtěru bylo použito tenkého mandrénu s jemným vatovým tampónem smočeným ve fyziologickém roztoku.

K transparentní tracheoskopii bylo použito bodové mikroskopické lampy, jak ji používali k intravirální diagnostice syngamózy u kuřat Willomitzer a Ziegler (1965). Využití této metody navozovala skutečnost, že u pitvaných kanárů jsou po úplném obnažení průdušnice přes její stěnu přítomní roztoči viditelní i pouhým okem jako drobné tmavé tečky (obr. 1). Kanár byl fixován v dlaní levé ruky, krk byl natažen a peří bylo rozhrnuto oběma palci v oblasti průdušnice. K ověření efektu transparence bylo kontrolnímu kanáru po utracení a částečném otevření průdušnice těsně pod larynxem vpraveno do lumina několik makových zrněk.

Metody rtg snímkování bylo použito pouze jako metody doplňkové s minimálním očekáváním efektu, ale především proto, že o možnosti rtg snímkování u drobného exotického ptactva jsme v dostupné literatuře nenašli zmínky. Snímkovali jsme přístrojem MINIDENT při ohniskové vzdálenosti 50 cm a expozici 0,2 s. Při snímkování byli kanáři fixováni na kazetě ve hřbetní poloze s roztaženými křídly, a to náplastí přes každé rozepjaté křídlo a společně natažené končetiny.

Ke koprologickému vyšetření jsme používali nativní preparáty z čerstvého trusu zachyceného na papír na dně kleci.

Výsledky pokusné terapie Hypocidem jsme ověřovali u série kanárů ze tří lokalit po deseti kusech různého pohlaví. U všech ptáků byla pozorována polypnoe, dyspnoe, dýchání s pootevřeným zobákem, sípavý dech, kašel a ztráta hlasu u zpěvných samců. Tyto příznaky se zhoršovaly po jakémkoliv prudším pohybu ptáků. Po jejich odchytu a jemné palpaci hrdélka bylo slyšet výrazné mlaskavé zvuky. Jinak tito pacienti neprojevovali celkové příznaky onemocnění, chuť k příjmu potravy byla dobrá. Pouze ojedinelí ptáci byli poněkud apatičtí a posedávali s nachechraným peřím. Suspektní diagnózu parazitární tracheobronchitidy jsme ověřovali metodou postmortálního stanovení diagnózy. Z každé skupiny byli utraceni čtyři ptáci a bylo provedeno vyšetření makroskopické i mikroskopické, a to nativních i histologických preparátů z dechových orgánů. Histologicky jsme vyšetřovali vzhledem k odkazu na možnost, že se roztoči zavrtávají do tkání dechových orgánů. Histologické preparáty, barvené hematoxilinem-eozinem, byly pořízovány z kranální části průdušnice, z oblasti bifurkace a z plic.

Za dva dny po ukončení zavedené terapie byly z každé skupiny léčených ptáků utraceny čtyři kusy, které byly vyšetřeny stejným způsobem jako předtím ptáci bez terapie. Další postmortální vyšetření bylo provedeno u zbývajících dvou kanárů z každé skupiny za deset dnů po ukončení terapie. Histologické vyšetření v těchto případech se již nedělalo.

VÝSLEDKY

Pokus o intravitální diagnostiku roztočového onemocnění výtěrem z průdušnice byl zcela neúspěšný. Palpací i adspekcí při současné transparentní tracheoskopii bylo zjištěno, že zaváděný mandren s tampónem vniká ve všech případech pouze do jícnu a zavedení do průdušnice, zejména při obranných projevech ptáků, se nedaří. Možnost zavádět tampón do průdušnice byla ověřena i *post mortem*. Bylo zjištěno, že ačkoliv tampón svou velikostí odpovídá lumen průdušnice, nepronikne za zúženou hlasivkovou šterbinu bez nebezpečí traumatizace nebo spasmu v důsledku stresového stavu.

První negativní výsledky transparentní tracheoskopie byly přisuzovány té okolnosti, že ani při následné pitvě nebyli roztoči v průdušnici nalezeni. Maková zrnka, která jsou sice větší než roztoči, ale barvou zhruba odpovídají, byla při transparentní tracheoskopii *per cutim* u kontrolního utraceného kanára viditelná jen velmi matně, přičemž je nutné brát v úvahu subjektivní ovlivnění pozorovatele vědomím o přítomnosti cizích tělísek v průdušnici. U dalších vyšetřovaných kanárů nebyli při transparentní tracheoskopii *per cutim* roztoči viditelní ani



2. Rentgenologický snímek kanára — výrazné stíny (světlá místa) jsou polknutá zrnka písku ve voleti a svalnatém žaludku (foto archiv I. int. kliniky VŠV) — An X-ray picture of a canary — the marked shades (light spots) are swallowed sand grains in the crop and gizzard (photo: Archives of Int. Clinic I, University of Veterinary Medicine)

v těch případech, kdy byla *post mortem* zjištěna masivní invaze v celém rozsahu průdušnice.

Rtg snímkování přineslo pozitivní výsledky jen pokud se týká ověření v metodice uvedeného způsobu fixace kanárů, kterou vyšetřovaní ptáci velmi dobře snášeli a která je použitelná i pro jiné účely. Negativní však byly výsledky nejen pokud se týká zjištění roztočů, ale i dechové orgány jako měkká tkáň se zobrazovaly jen velmi nejasně (obr. 2).

Výsledky koprologického vyšetřování byly ve všech případech negativní.

Postmortálním vyšetřováním kanárů před nasazením terapie byli již makroskopicky zjištěni roztoči v průdušnici i ve vzdušných vacích, a to jako tmavé drobné tečky o velikosti asi $300 \times 500 \mu\text{m}$. Někteří ptáci měli pneumonická ložiska v plicích a zánětlivé příznaky ve vzdušných vacích. V nativních preparátech se roztoči vyskytovali ve všech úsecích dechových orgánů. V histologických preparátech se vzhledem k omezenému počtu řezů vyskytovali roztoči jen ojediněle, a to ještě vzhledem k jejich velikosti spíše ve zlomcích.

U kanárů utracených dva dny po ukončení terapie byli makroskopicky i v nativních mikroskopických preparátech zjištěni ojedinělí roztoči, přičemž v průdušnici byli mrtví, v plicích odumřelí a rozpadající se, ve vzdušných vacích živí. Histologicky v daném případě roztoči zjištěni nebyli.

U kanárů utracených deset dní po ukončení terapie jsme v plicích zjišťovali ojedinělá pneumonická ložiska, přičemž jsme našli ojediněle nepohyblivé, ale dosud se nerozpadající roztoče. Vzdušné vaky vykazovaly rovněž příznaky zánětu a vyskytovali se zde i živí roztoči, i když invazi bylo možné označit za slabou proti nálezům u kanárů před terapií.

Klinické příznaky onemocnění se během terapie zmírňovaly až téměř do vymizení, u samců docházelo k prvním hlasovým projevům, i když jen velmi slabým.

DISKUSE

Výtěry hrdla exotických ptáků jsou v dostupné literatuře (Cupák, 1970 a jiní) uváděny pouze v souvislosti s terapeutickým zákrokem jodglycerinem, zejména při suspektně mykotických zánětech. Tampón se však nezavádí až za hlasivkovou štěrbinu, předpokládá se, že do ní léčebný prostředek z tampónu částečně zateče. V pokusech jsme ověřili, že zavedení tampónu až do průdušnice není prakticky možné. Navíc dochází při zavádění i k traumatizaci dutiny zobákové, hltanu a hlasivek, což je z klinického hlediska pro vyšetřování nežádoucí. Vzhledem k tomu, že i při masivní invazi roztočů v bronších, plicích a zejména ve vzdušných vácích se nemusí roztoči v průdušnici vyskytovat vůbec nebo jen ojediněle, lze konstatovat, že negativní výsledek eventuálně zdařilého výtěru průdušnice by nevylučoval roztočové onemocnění dechových orgánů.

Transparentní tracheoskopii použili s úspěchem Willomitzer a Ziegler (1965) při intravitální diagnostice syngamózy u kuřat. Vyšetřovaný objekt, ale i parazité jsou však podstatně větší než kanár a hledání roztočů. Dále je krk kanára bohatě opeřen nejen prachovým, ale i krycím peřím, což znesnadňuje vyšetřování vzhledem k obtížnějšímu odhalování průdušnice pod kůží. Náslilné odstranění peří by bylo z hlediska chovatelského nežádoucí. I při úspěšnosti této vyšetřovací metody by její negativní výsledek měl stejný dopad jako u metody předcházející.

Rentgenologicky vyšetřovali menší ptáky — slepice — Fried aj. (1961), kachňata a housata Kralj (1953, 1960). Použitá expozice a ohnisková vzdálenost odpovídá přibližně námi použitým hodnotám. Shodná je také kvalita snímků. I když předcházejícím autorům šlo především o kostru, je i u nich kresba dutých a méně kompaktních kostí ptáků málo jasná. Kresba měkkých orgánů je pak již neurčitá. Tím méně lze této metody použít pro diagnostiku roztočů, kteří jsou v měkké tkáni málo kontrastní. Slepice byly fixovány manuálně, u kachňat a housat šlo o kavadery. Fixaci námi zavedenou, kterou považujeme pro rtg snímkování živých exotů i pro jiné účely za velmi vyhovující, jsme v dostupné literatuře nenašli popsánou.

Na základě údajů Bakera a Whartona (1955) o tom, že roztoči z dechových orgánů jsou živorodí, by bylo možné předpokládat jejich nález v trusu pouze tehdy, když by při vykašlávání byli polknuti a neporušení prošli zažívacím traktem. V našem souboru kanárů bylo koprologické vyšetření vždy negativní, i když je známé, že u exotů se

občas v trusu vyskytnou ojedinělé roztoči nebo jejich blíže neidentifikovatelné zlomky, pocházející z krmiva.

Námi zkoušené metody objektivní intravitální diagnostiky roztočové tracheobronchitidy u kanárů se ukázaly jako neúspěšné. V souhlase s Klimešem aj. (1961) lze tedy konstatovat, že diagnózu tohoto onemocnění je možné stanovit jen z anamnestických údajů, klinického stavu a postmortálního vyšetření nemocných ptáků.

Jako úspěšná léčba roztočové tracheobronchitidy exotického ptactva je podle literatury (Lauckner, 1971; Kasulke, 1972) uváděno jednorázové použití 1 mg preparátu na bázi DTHP, a to *per cutim* ve 4% olejové suspenzi kápané na hřbet postižených ptáků. V terapii zavedené na klinice chorob malých zvířat VŠV v Brně (Konrád, 1975) byla patrně předpokládána rychlejší resorpce lihového přípravku Hypocid ředěného vodou na 5 % a dávka byla snížena na 0,75 mg, a to ještě frakcionovaně třikrát v intervalu pěti dnů. Jako místo aplikace bylo voleno dorsum krku místo hřbetu proto, aby si je ošetřovaní pacienti nemohli ozobávat. Terapeutická dávka uváděná autory ze zahraničí i námi ověřovaná je však hluboko pod LD₅₀, kterou zjistil Zlámal (1974).

Naše výsledky ukazují, že terapie Hypocidem, používaná na klinice chorob malých zvířat VŠV, je v podstatě účinná. Ale skutečnost, že jsou pacienti roztoči postihováni především v průdušnici a plicích a ještě deset dnů po ukončení terapie nalézáme živé roztoče ve vzdušných vacích, poukazuje současně na to, že není dostatečná. Vzhledem k dané LD₅₀ by bylo možné dávku terapeutického preparátu zvýšit, eventuálně zkrátit intervaly nebo zvýšit počet aplikací. Hlavně se zdá výhodnější literárními údaji uváděné místo aplikace, a to na hřbet mezi lopatky v úrovni tracheální bifurkace, kde po resorbci ovlivní léčebný preparát ve větší míře i roztoče ve vzdušných vacích.

Výsledky práce se týkají pouze kanárů. Jiné drobné exoty, zejména Amadiny Gouldové, nebylo vzhledem k jejich menšímu rozšíření a poměrně vyšší hodnotě možné k pokusům použít.

Literatura

- BAKER, E. W. — WHARTON, G. W.: Vvedeniye v akrologiju. Moskva 1955, s. 92-95.
- BORCHERT, A.: Lehrbuch der Parasitologie für Tierärzte. S. Hirzel Verlag, Leipzig 1962.
- CUPÁK, M.: Veterinární příručka pro chovatele exotického ptactva. Praha, Svěpomoc 1970.
- FRIED, K. — LOPUCHOVSKÝ, J. — HRUDKA, F.: Příspěvek ke studiu osteoporózy a jejího rtg důkazu u slepic v klíčovém odchovu. Vet. Čas., 10, 1961, s. 490-504.
- KRALJ, I.: RTG obraz embryonálního a postembryonálního vývoje kostry kachny. Veterinaria, Sarajevo, 2, 1953, s. 272-282.
- KRALJ, I.: RTG obraz embryonálního a postembryonálního vývoje kostry husy. Veterinaria, Sarajevo, 9, 1960, s. 541-552.
- KASULKE, 1972: cit. ZLÁMAL, 1974.
- KLIMEŠ, B. aj.: Nemoci drůbeže. Praha, Stát. zeměd. nakl. 1961.
- KRONBERGER, H.: Haltung von Vögeln, Krankheiten der Vögel. Jena, VEB G. Fischer Verlag 1974.
- LAUCKNER, D.: Eine Möglichkeit zur Behandlung der Luftsackmilbenerkrankung bei exotischen Ziervögeln. Ziergef., Exoten, 10, 1971, s. 122-123.
- LAWRENCE, R. F.: Studies on some parasitic mites from Canada and South Africa. J. Parasit., 34, 1948, s. 364-369.

LINDT, S.: Beitrag zur Pathologie und Klinik der Stubenvögel. Kleintier-Praxis, 9, 1964, s. 4-17.
 STRANDTMANN, R. W.: The mesostigmatic nasal mites of birds. J. Parasit., 34, 1948, s. 505-514.
 WILLOMITZER, J. — ZIEGLER, K.: Léčba syngamózy a imunitní pochody v hostitelském organismu při invazi *Syngamus trachea*. [Závěrečná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1965.
 ZLÁMAL, P.: Ověření toxicity přípravku DTHP jako endoparazitika pro drobné exoty. [Stud. věd. práce.] Brno, Vysoká škola veterinární 1974.
 ZWART, P.: Acariasis in canaries. Nord. VetMed., 14, 1961, s. 292-296.

Došlo dne 6. 10. 1980

ЦУПАК, М. — БЛЕХОВА, Р. — ФИАЛОВА, Е. (Ветеринарный институт, Брно): Диагностика, клиника и терапия стерностомиаза канареек. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5): 313-320.

У 15 канареек испытывали возможность объективной прижизненной диагностики методом мазков из трахеи, транспарантной трахеоскопии, рентгеновских снимков и копрологического обследования. Все результаты оказались отрицательными. Положительным результатом явился метод фиксации канареек для рентгенологического обследования, применимый и для других целей. 30 канареек послужило для проверки результатов лечения препаратом на базе DTHP — Гипоцидом. Из них 12 птиц было умерщвлено перед терапией для посмертного определения диагноза, 12 было умерщвлено через два дня и 6 птиц через 9 дней после завершения терапии. Посмертное обследование леченных канареек подтвердило эффективность лечения, но вместе с тем его недостаточность в смысле дозирования, интервала и места аппликации.

канарейка; клещик; трахеобронхит; трахеальный мазок; транспарантная трахеоскопия; рентгеновские снимки; копрологическое обследование; клиника; посмертное обследование; Гипоцид; терапия

CUPÁK, M. — BLECHOVÁ, R. — FIALOVÁ, E. (University of Veterinary Medicine, Brno): The Diagnostics, Clinics and Therapy of Sternostomiasis in Canaries. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5): 313-320.

Fifteen canaries were tested for the possibility of objective intravital diagnostics by smears from the trachea, by transparent tracheoscopy, X-ray examination, and coprological examination. All the results were negative. A positive outcome of the tests is the method of the fixing of the birds for X-ray examination, also applicable for other purposes. Thirty canaries were used for testing the results of therapy by a preparation based on DTHP - Hypocide. Twelve of them were killed before therapy for post-mortem diagnosis, twelve were killed two days, and six were killed nine days from the termination of the therapy. The post-mortem examination of the treated birds demonstrated the effectiveness of the therapy; however, the dosage, application intervals and application sites were found to be unsuitable.

canary; acarine mite; tracheobronchitis; tracheal smear; transparent tracheoscopy; X-ray examination; coprological examination; clinics; post-mortem examination; Hypocide; therapy

CUPÁK, M. — BLECHOVÁ, R. — FIALOVÁ, E. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): Diagnostik, Klinik und Therapie der Sternostomiase bei Kanarienvögeln. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (5): 313-320.

Bei 15 Kanarienvögeln wurde die Möglichkeit einer objektiven intravitalen Diagnostik mit Hilfe von Trachealabstrichen, transparenter Tracheoskopie, Röntgenaufnahmen und koprologischer Untersuchungen geprüft. Alle Ergebnisse erwiesen sich als negativ. Als positives Ergebnis ist eine Fixationsmethode für die Röntgenuntersuchung, bzw. -ographie von Kanarienvögeln, die auch für evtl. andere Zwecke anwendbar ist, anzusehen. Zur Überprüfung von Ergebnissen einer Therapie mit

dem Präparat Hypocid (auf DTHP-Basis) wurden 30 Kanarienvögel angewandt. 12 Stück von ihnen wurden zur postmortalen Bestimmung der Diagnose vor der Therapie getötet, weitere 12 wurden zwei Tage und die übrigen 6 neun Tage nach Beendigung der Therapie getötet. Die postmortale Untersuchung der behandelten Kanarienvögel ergab, daß die Therapie zwar wirksam, aber in bezug auf die Dosierung, das Applikationsintervall und den Applikationsort unzureichend war.

Kanarienvogel; Milbe; Tracheobronchitis; Trachealabstrich; transparente Tracheoskopie; Röntgenographie; koprologische Untersuchung; Klinik; postmortale Untersuchung; Hypocid; Therapie

Adresa autorů:

MVDr. Miloš Cupák, MVDr. Renata Blechová, MVDr. Eva Fialová, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

Žuffa A., Brányik A., Žuffová J., Melčický G., Hirko M., Blecha J., Valent L.: Imunizácia hovädzieho dobytku proti Aujeszkyho chorobe inaktivovanou adjuvantnou vakcínou	257
Alexander R., Švrček Š., Vrtiak O. J., Ondrejka R., Beníšek Z., Závadová J.: Distribúcia rabického antigénu v CNS potkanov a myši experimentálne infikovaných kmeňmi vírusu besnoty izolovanými z chrčkov rolných (<i>Cricetus cricetus</i>)	271
Prokůpek K., Dvořák R., Poláček R.: Imunogenní účinek antraxového protektivního antigenu	279
Kovář J., Kostelecká B.: Hodnocení výkonnosti koní po ukončení základního výcviku na podkladě zátěžové dynamiky tepové frekvence	291
Dušek J., Munk Z.: Hodnocení proměnlivosti délky gravidity klisen	297
Pašková I., Lávička M.: Odezva organismu kuřat na přidávání kvasnic různé proveniencie do brojlerových směsí	305
Cupák M., Blechová R., Fialová E.: Diagnostika, klinika a terapie sternostomiázy kanárů	313

СОДЕРЖАНИЕ

Жуффа А., Браныик А., Жуффо́ва Й., Мелчицкий Г., Гирко М., Блеха Й., Валент Л.: Иммунизация крупного рогатого скота от болезни Ауески инактивированной адьювантной вакциной	257
Александр Р., Шврчек Ш., Вртиак О. Я., Ондрейка Р., Бенишек З., Завадова Й.: Распределение антигена бешенства в ЦНС крыс и мышей, экспериментально зараженных штаммами вируса бешенства, изолированными из хамяков обыкновенных (<i>Cricetus cricetus</i>)	271
Прокупек К., Дворжак Р., Полачек Р.: Иммуногенное действие антраксового защитного антигена	279
Коварж Й., Костелецка Б.: Оценка продуктивной способности лошадей после окончания основного тренинга на принципе динамики загрузки частоты пульса	291
Душек Я., Мунк З.: Оценка изменчивости продолжительности беременности кобыл	297
Пашкова И., Лавичка М.: Реакция организма цыплят на добавление дрожжей разного происхождения в бройлерные кормосмеси	305
Цупак М., Блехова Р., Фиалова Е.: Диагностика, клиника и терапия стерностомияза канареек	313

CONTENTS

Žuffa A., Brányik A., Žuffová J., Melčický G., Hirko M., Blecha J., Valent L.: Immunization of Cattle against Aujeszky's Disease with Inactivated Adjuvant Vaccine	257
Alexander R., Švrček Š., Vrtiak O. J., Ondrejka R., Beníšek Z., Závadová J.: Distribution of Rabies Antigen in CNS of Sewer-Rats and Mice Experimentally Infected with the Rabies Virus Strains Isolated from Hamsters (<i>Cricetus cricetus</i>)	271
Prokůpek K., Dvořák R., Poláček R.: The Immunogenic Effect of Anthrax Protective Antigen	279
Kovář J., Kostelecká B.: Evaluation of Performance of Horses after Finishing the Elementary Training on the Basis of Load Dynamics of Pulse Rate	291
Dušek J., Munk Z.: Evaluation of Variability of the Gravidity Length in Mares	297
Pašková I., Lávička M.: The Response of the Chick Organism to the Addition of Yeasts of Different Origin to Broiler Mixtures	305
Cupák M., Blechová R., Fialová E.: The Diagnostics, Clinics and Therapy of Sternostomiasis in Canaries	313

INHALT

Žuffa A., Brányik A., Žuffová J., Melčický G., Hirko M., Blecha J., Valent L.: Immunisierung von Rindern gegen die Aujeszky-sche Krankheit mittels inaktivierter adjuvanter Vakzine	257
Alexander R., Švrček Š., Vrtiak O. J., Ondrejka R., Beníšek Z., Zavadová J.: Distribution des Rabies-Antigens im ZNS der experimentell mit Stämmen des aus Hamstern (<i>Cricetus cricetus</i>) isolierten Tollwutvirus infizierten Wanderratten und Mäuse	271
Prokúpek K., Dvořák R., Poláček R.: Immunogene Wirkung der protektiven Anthrax-Antigens	279
Kovář J., Kostecká B.: Leistungsbewertung bei Pferden nach Beendigung der Grundausbildung aufgrund der Belastungsdynamik der Pulsfrequenz	291
Dušek J., Munk Z.: Bewertung der Veränderlichkeit der Trächtigkeitsdauer bei Stuten	297
Pašková I., Lávička M.: Reaktion des Kükenorganismus auf Beigaben von Hefe verschiedener Provenienz zum Broilermischfutter	305
Cupák M., Blechová R., Fialová E.: Diagnostik, Klinik und Therapie der Sternostomiase bei Kanarienvögeln	313

Rukopisy odevzdány k tisku 5. 2. 1981 — Podepsáno k tisku 10. 6. 1981

Omlouváme se čtenářům za opožděné vydání tohoto čísla, způsobené přestavbou tiskárny.

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, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2.