

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

ROČNÍK 31 (LIX)
PRAHA
DUBEN 1986
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada:

akademik Otto Jaroslav Vrtiak (předseda), akademik Koloman Boďa, MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, CSc., prof. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Josef Straka, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Otto Jaroslav Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,
Praha 1986

■

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor 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 заданиях по научному исследованию в области ветеринарии. Издает Чехословацкая сельскохозяйственная академия — Институт научно-технической информации по сельскому хозяйству. — Выход в свет ежемесячно. Редакция 120 56 Прага 2, Слезска 7.

■

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Czechoslovak Academy of Agriculture — Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

■

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

DYNAMIKA VYBRANÝCH BIOCHEMICKÝCH UKAZATELŮ ENERGETICKÉHO METABOLISMU U TELAT PŘI DVOU ODLIŠNÝCH ZPŮSOBECH MLÉČNÉ VÝŽIVY

R. Dvořák, P. Jagoš, M. Skřivánek

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — SKŘIVÁNEK, M. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Dynamika vybraných biochemických ukazatelů energetického metabolismu u telat při dvou odlišných způsobech mléčné výživy*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 193-200.

Studovali jsme vliv dvou různých způsobů mléčné výživy telat na dynamiku vybraných ukazatelů energetického metabolismu. Pokusná skupina telat ($n = 10$) byla po ukončení mlezivové výživy napájena plnotučným mlékem, kontrolní skupina ($n = 10$) mléčnou krmnou směsí Laktosan. Krev k biochemickému vyšetření byla odebírána od třetího dne věku (stanovení koncentrace glukózy), resp. od čtyř týdnů věku (vyhodnocení ukazatelů lipidového metabolismu). Plazmatická koncentrace glukózy u obou skupin telat se po celé sledování významně nelišily. Hladiny celkových lipidů, celkového cholesterolu a triglyceridů v krevním séru byly v období mléčné výživy signifikantně vyšší u telat pokusné skupiny, v pozdějším období se již od hodnot stanovených u kontrolních telat významně nelišily. Koncentrace neesterifikovaných mastných kyselin byly naproti tomu v období mléčné výživy vyšší u telat kontrolní skupiny; zjištěné rozdíly nejsou statisticky významné. Průměrné denní přírůstky hmotnosti byly od 5. do 18. týdne života významně vyšší u telat krmných plnotučným mlékem.

plnotučné mléko; mléčná krmná směs; glukóza; celkové lipidy; celkový cholesterol; triglyceridy; NEMK; přírůstky hmotnosti

Podmínkou existence životních pochodů je dostatek energie. Vyrovnané energetické zásobování živočišných organismů glycidy a tuky umožňuje vysokou využitelnost přijatých bílkovin k nové syntéze; u mladých zvířat jsou tak vytvářeny předpoklady k růstu (Bergner a Ketz, 1975).

Ve výživě telat má příjem energie stejně velký význam jako dotace stravitelnými dusíkatými látkami. V krmné dávce mladých telat tvoří zdroj energie především mléčný tuk a laktóza.

Obsah tuku v plnotučném mléce kolísá mezi 3,6 až 4,4 %. V období mléčné výživy telat je určitý podíl tuku v krmné dávce nevyhnutelný. Tuky slouží především jako zdroj energie, významné však jsou i jejich další funkce, jako je zajištění organismu telat nepostradatelnými mastnými kyselinami nebo úloha nosiče vitamínů. Podíl tuku z plnotučného mléka je v krmné dávce z ekonomických důvodů omezován nebo je nahrazován jinými tuky živočišného nebo rostlinného původu.

V plnotučném mléce je obsaženo 4,6 až 4,9 % laktózy, v mléčné náhražce, obsahující 75 % sušeného odstředěného mléka a 10% podíl syrovátky, představuje laktóza přibližně 45% podíl. Specifickým enzymem laktázou, přítomným v trávicím traktu telat, je laktóza štěpena na glukózu a galaktózu, které jsou vstřebávány do krve.

U telat v období rostlinné výživy se — obdobně jako u dospělých přežvýkavců — hlavním zdrojem energie stávají glycidy, především škrob a vláknina.

Při uplatnění naší nejrozšířenější metody odchovu telat, tzv. zkráceném odstavu, trvá období mléčné výživy do 55. až 60. dne věku. Předpokladem ke změně mléčné výživy na rostlinnou je plnohodnotný rozvoj trávicího traktu telat, který je proto záměrně urychlován časným podáním jaderných a objemných krmiv. Snaha snižovat náklady, jež jsou vynakládány na výživu telat především v mléčném období, se nesmí dostat do protikladu s jejich fyziologickými požadavky.

V našem experimentu jsme sledovali dynamiku vybraných ukazatelů energetického metabolismu, vývoj zdravotního stavu a úroveň průměrných denních přírůstků u dvou skupin telat s odlišným zabezpečením mléčné výživy.

MATERIÁL A METODY

Do pokusu byly zařazeny dva soubory telat, každý o deseti zvířatech, jež byla společně ustájena v samostatné sekci pavilónu mléčné výživy velkokapacitního teletníku. Pokusná skupina přijímala po ukončení mlezivového období plnotučné mléko, kontrolní skupina mléčnou krmnou směs Laktosan. Tato směs obsahovala do 26. dne věku telat 18 % tuku, později byla bez tukové složky. Zvířatům kontrolní skupiny bylo od 27. dne věku podáváno denně až do odstavu po 0,15 kg zvlhčeného lněného semene. Pozvolný odstav byl u obou skupin telat uskutečněn k 54. dni průměrného věku. Celková spotřeba plnotučného mléka na jedno tele pokusné skupiny činila 290 litrů, u mléčné krmné směsi 313 litrů (při ředění 1 : 9).

Od 14. dne přijímala telata obou skupin jadernou krmnou směs TG, kvalitní vojtěškové seno a vodu. Zvířata byla pravidelně vážena, trvale byl sledován jejich zdravotní stav.

Odběry k biochemickému stanovení se do tří měsíců věku dělaly ve dvoutýdenních intervalech, později, až do šesti měsíců věku, jednou měsíčně. Glukóza v plazmě sledovaných telat byla poprvé stanovena třetí den života, ukazatele lipidového metabolismu byly sledovány v krevním séru od 28. dne věku. Odběry se ve věku čtyři a šest týdnů, tedy v období mléčné výživy telat, byly usměrněny u lačných zvířat dvě hodiny před pravidelným ranním krmením.

Plazmatické koncentrace glukózy a obsah celkových lipidů, celkového cholesterolu a triglyceridů v krevním séru byly stanoveny fotometricky Bio-La-testy Lachema. Hladiny neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) v séru byly určeny fotometrickou metodou firmy Boehringer.

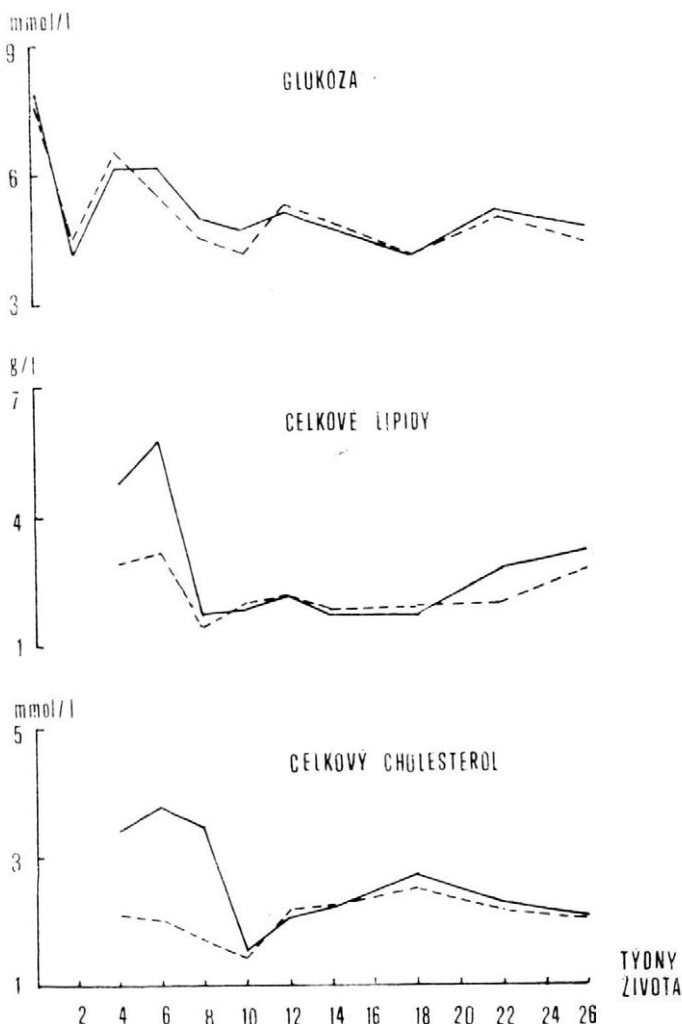
Při testování významnosti dvou výběrových průměrů bylo použito Studentova t-testu.

VÝSLEDKY

Stanovené hodnoty jsou uvedeny graficky. Hladiny glukózy v plazmě, celkových lipidů a celkového cholesterolu v krevním séru znázorňuje obr. 1.

Původní vysoké plazmatické koncentrace glukózy, nalezené u pokusné i kontrolní skupiny telat, se snížily během prvních 14 dnů života. Potom následoval vzestup a další postupné snížení hladin na roz-

1. Dynamika hladin glukózy v plazmě, celkových lipidů a celkového cholesterolu v krevním séru u pokusné (nepřerušovaná čára) a kontrolní (přerušovaná čára) skupiny telat — The levels of glucose in plasma, total lipids and total cholesterol in the blood serum in the experimental (solid line) and control (broken line) groups of calves

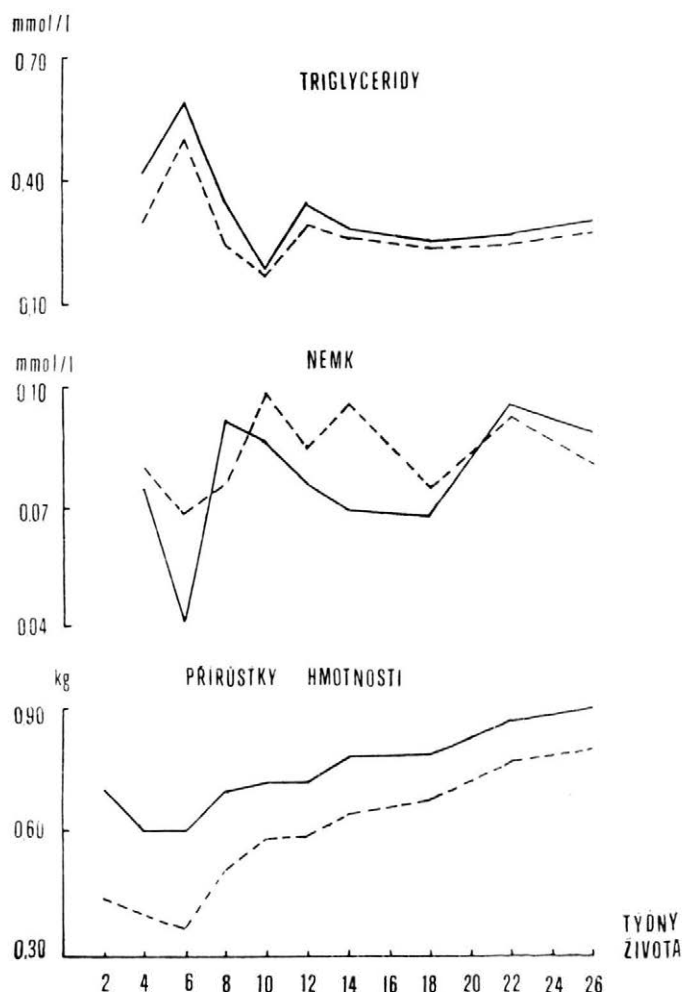


... až 5,3 mmol/l plazmy; toto snížení se u obou skupin zvířat udrželo až do závěru sledování. Rozdíly stanovené koncentrací mezi oběma skupinami nebyly statisticky významné.

Koncentrace celkových lipidů v krevním séru u telat pokusné skupiny byly proti kontrolní skupině signifikantně vyšší ($P < 0,01$) ve věku čtyř a šesti týdnů, kdy zároveň u obou skupin dosahovaly svých nejvyšších hodnot. V osmi týdnech věku hladiny celkových lipidů u všech sledovaných zvířat výrazně poklesly.

Mírný vzestup obsahu celkových lipidů byl zjištěn u obou skupin až v posledních dvou měsících pokusu.

Signifikantní zvýšení obsahu celkového cholesterolu u telat pokusných ve srovnání s kontrolními bylo zjišťováno v době od čtvrtého do devátého týdne života ($P < 0,05$). Následně nižší hladiny, téměř shodné u obou skupin zvířat, byly nalezeny v desátém týdnu života. Potom došlo u všech zvířat k vzestupu s vyvrcholením ve čtvrtém měsíci věku a k následnému mírnému poklesu v pátém a šestém měsíci sledování.



2. Dynamika hladin triglyceridů, neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) v krevním séru a vývoj průměrných denních přírůstků hmotnosti u pokusné (nepřerušovaná čára) a kontrolní (přerušovaná čára) skupiny telat — The level of triglycerides, non-esterified fatty acids (NEFA) in blood serum, and the development of average daily weight gains in the experimental (solid line) and control (broken line) groups of calves

Koncentrace triglyceridů a NEMK v krevním séru a také úroveň průměrných denních přírůstků hmotnosti zachycuje obr. 2.

Ve srovnání s předchozími ukazateli se hladiny triglyceridů v období mléčné výživy u obou skupin již tolik nelišily. Signifikantní rozdíl koncentrací ve prospěch pokusné skupiny se projevil v osmém týdnu života telat ($P < 0,05$). Nejvyšší hladiny triglyceridů byly zjištěny u obou skupin ve věku pět a šest týdnů, potom klesaly až na nejnižší úroveň v desátém týdnu věku. Po mírném vzestupu v dalším období rostlinné výživy stanovené koncentrace nepřekračovaly rozmezí 0,24 až 0,34 mmol/l krevního séra a vzájemně se signifikantně nelišily.

Od předchozích parametrů se odlišovala dynamika hladin NEMK. Po celé období mléčné výživy a významnou část období rostlinné výživy byly tyto hladiny vyšší u telat kontrolní skupiny. Zjištěné rozdíly však nebyly signifikantní. Nejnižší úroveň dosáhly koncentrace NEMK u obou skupin ve věku šesti týdnů.

Průměrné denní přírůstky hmotnosti byly u pokusných telat krmených plnotučným mlékem statisticky významně vyšší ve věku od dvou do 18 týdnů ($P < 0,01$). Zdravotní stav všech telat byl velmi dobrý.

DISKUSE

Obsah glukózy v plazmě mláďat je ve srovnání s úrovní u dospělých přežvýkavců vyšší, stejně jako aktivita enzymu glukózo-6-fosfát dehydrogenázy v erytrocytech a citlivost k inzulinu (Bartoš aj., 1970). V průběhu ontogeneze dochází v uvedené situaci ke změně. K jejím hlavním projevům patří pokles koncentrace glukózy v plazmě, snížení syntézy glykogenu a mastných kyselin z glukózy, omezení glykolýzy a vzestup glukoneogeneze z aminokyselin a kyseliny propionové.

Dlouhodobý pokles koncentrace glukózy, který jsme zaznamenali u obou skupin telat, byl pravděpodobně také spojen s postupným snižováním jejího příjmu potravou, neboť stále větší část glycidů z krmiva byla díky rozvoji bachorového trávení u telat degradována na těkavé mastné kyseliny (Jarret aj., 1964). Vzestup hladin glukózy, zjištěný u telat pokusné i kontrolní skupiny telat ve věku čtyř týdnů, byl zřejmě způsoben vysokou energetickou nabídkou krmné dávky, kdy rostoucí spotřeba jaderné krmné směsi a objemného krmiva doplňovala současnou vysokou spotřebu plnotučného mléka a mléčné krmné směsi (Kitchenham aj., 1975).

Příjem glycidů krmnou dávkou byl u obou sledovaných skupin přibližně na stejné úrovni, proto se v průběhu našeho sledování nevyskytly signifikantní rozdíly v úrovni plazmatických hladin glukózy. Zjištěné hodnoty odpovídají výsledkům, o nichž informovali Reece a Wahlstrom (1972), Jagoš aj. (1980) a Bouda a Jagoš (1984).

Z tuků přijímaných potravou se v důsledku jejich značné energetické hodnoty uvolňují v organismu velká množství energie. Christie (1981) uvádí jako nejvýznamnější složky lipidů krevního séra telat cholesterol a jeho estery (jež jsou společně označovány jako celkový cholesterol) a dále fosfolipidy, triglyceridy a NEMK.

Heterogenní směs všech extrahovaných lipidů získaných z vyšetřovaného séra je označována jako celkové lipidy (Homolka, 1982). Podle Jagoše a Boudy (1981) dosahuje fyziologické rozmezí obsahu celkových lipidů u skotu 1,85 až 5,11 g/l. V našem sledování přesáhl obsah celkových lipidů séra pokusných telat toto rozmezí ve věku šesti týdnů, tedy v době, kdy jejich krmná dávka byla energeticky nejbohatší a kromě vrcholících dávek plnotučného mléka obsahovala také již významné množství přijatých jaderných a objemných krmiv. Po přechodu na rostlinnou výživu byla koncentrace celkových lipidů u obou sledovaných skupin zvířat nižší. Mírný vzestup v závěrečném období pokusu lze v souladu s výsledky Kořánové (1968) přikládat pokračujícímu vývoji bachorového trávení.

Koncentrace celkového cholesterolu v krevním séru telat závisí na množství lipidů přijatých krmnou dávkou. Lumsden aj. (1980) udávají jako fyziologické rozmezí koncentrace celkového cholesterolu u telat ve věku od dvou týdnů do šesti měsíců hodnoty 1,2 až 3,8 mmol/l séra.

V našem experimentu dosahovala hladina celkového cholesterolu u telat pokusné skupiny horní hranice tohoto rozmezí ve věku šesti týdnů, což koreluje s úrovní hodnot celkových lipidů jejich séra a je v souladu s energetickou úrovní uplatněné krmné dávky. Výrazný pokles koncentrace celkového cholesterolu s minimem v desátém týdnu života telat lze rovněž zdůvodnit vlivem krmiva, které v tomto období obsahovalo již pouze rostlinné komponenty.

Hladiny triglyceridů krevního séra telat se mohou podle Bergera a Ketze (1975) zvýšit buď růstem resorpce z trávicího traktu (kdy se po příjmu monoglyceridů a NEMK zvyšuje reesterifikace a v endoplazmatickém retikulu buněk střevní sliznice se tvoří triglyceridy), vzestupem esterifikace NEMK po jejich přívodu krví do jater nebo vlastní jaterní syntézou z glycidů.

Námi stanovené koncentrace triglyceridů odpovídají, podobně jako předchozí uvedené ukazatele lipidového metabolismu, dané energetické úrovni krmné dávky v jednotlivých etapách pokusu. Vysoké hladiny triglyceridů (jež byly opět vyšší u telat pokusné skupiny, se statisticky významným rozdílem v osmi týdnech věku) poklesly v souvislosti s usku-tečným odstavem a ustálily se v rozmezí, jaké udávají Dvořák aj. (1980).

Hladiny NEMK v krevním séru u mladých přežvýkavců podle Hofmana aj. (1975) stoupají tehdy, jestliže rostou energetické nároky organismu a současně je snížena dostupnost glukózy. U těchto zvířat se NEMK podílejí na kompenzaci energetických požadavků do té doby, než po fyziologickém poklesu koncentrace glukózy začnou převážnou část potřeby organismu krýt těkavé mastné kyseliny.

Obdobně v našem sledování byly zvýšené hladiny glukózy v období od čtvrtého do šestého týdne věku doprovázeny, zvláště pak u telat pokusné skupiny, poklesem koncentrace NEMK. Jak uvádějí Webb aj. (1969), existuje mezi hladinami glukózy a NEMK negativní korelace.

V dalším období pokusu (mezi šestým a osmým týdnem věku telat) se také snížení hladin glukózy projevilo vzestupem koncentrace NEMK.

Statisticky významné rozdíly v úrovni hodnot vybraných ukazatelů energetického metabolismu ve prospěch telat pokusné skupiny potvrzu-jí podstatně vyšší dotaci energie při užití plnotučného mléka ve výživě telat.

Vysoký energetický obsah krmné dávky pokusných zvířat se proje-vil signifikantním zvýšením přírůstků hmotnosti proti úrovni dosažené u skupiny zvířat kontrolních.

Literatura

- BARTOŠ, S. — ŠKARDA, J. — DOLEŽEL, F.: Vztah utilizace glukózy a mastných kyselin u koz v prvních čtyřech měsících života. *Veter. Med. (Praha)*, 15, 1970, s. 427-436.
- BERGNER, H. — KETZ, H. A.: Trávenie, resorpcia a intermediárna látková pre-mena u hospodárskych zvierat. 1. slov. vyd. Bratislava, Príroda 1975. 416 s.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P.: Biochemical and haematological reference values in calves and their significance for health control. *Acta veter. (Brno)*, 53, 1984, s. 137-142.
- DVOŘÁK, R. — DVOŘÁK, J. — VRBA, Z. — BOUDA, J.: Vliv rumensinu na zdra-votní stav a energetický metabolismus u žirného skotu. *Veter. Med. (Praha)*, 1980, s. 601-614.
- HOFMAN, J. — BARTOŠ, S. — EMANUEL, L.: Vývoj glykémie a změny v kon-

centraci mastných kyselin v krvi kůžlat během ontogeneze. Živoč. Vyr., 20, 1975, s. 241-248.

HOMOLKA, J.: Klinická biochemie pro praxi. 1. vyd. Praha, Avicenum 1982. 404 s.
CHRISTIE, W. W.: Lipid metabolism in ruminant animals. 1. vyd. Oxford-New York, Pergamon Press 1981. 452 s.

JAGOŠ, P. — BOUDA, J.: Základní biochemické a hematologické hodnoty u domácích zvířat a nové způsoby vyjadřování výsledků laboratorních vyšetření. Odděl. veter. osvěty SVS MZVŽ, Pardubice 1981. 30 s.

JAGOŠ, P. — BOUDA, J. — DVOŘÁK, V.: Vývoj zdravotního stavu telat v podmínkách velkovýrobních technologií. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1980. 63 s.

JARRET, I. G. — JONES, G. B. — POTTER, B. J.: Changes in glucose utilization during development of the lambs. Biochem. J., 90, 1964, s. 189-194.

KITCHENHAM, B. A. — ROWLANDS, G. J. — MANSTON, R. — DEW, S. M.: The blood composition of dairy calves reared under conventional and rapid-growth systems. Brit. veter. J., 131, 1975, s. 436-444.

KOŘANOVÁ, Z.: Lipemie jaloviček červenostrakatého skotu během ontogeneze a vliv úrovně výživy. Živoč. Vyr., 13, 1968, s. 175-180.

LUMSDEN, J. H. — MULLEN, K. — ROWE, R.: Hematology and biochemistry reference values for female holstein cattle. Can. J. comp. Med., 44, 1980, s. 24-31.

REECE, W. J. — WAHLSTROM, J. D.: Variations in plasma composition of calves. Relationship of electrolyte, glucose and urea nitrogen concentration to calf age, ration and feeding time. Amer. J. veter. Res., 33, 1972, s. 2175-2178.

WEBB, D. H. — HEAD, H. H. — WILCOX, C. J.: Effect of age and diet on fasting blood and plasma glucose levels, plasma nonesterified fatty acids and glucose tolerance in dairy calves. J. Dairy Sci., 52, 1969, s. 2007-2013.

Došlo dne 19. 7. 1985

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — SKŘIVÁNEK, M. (Institut veterinární, Brno): **Динамика избранных биохимических показателей энергетического метаболизма у телят в условиях двух разных способов молочного питания.** Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 193-200.

Определяли влияние двух способов молочного питания телят на динамику избранных показателей энергетического метаболизма. Подопытную группу ($n = 10$) после прекращения молозивного питания поили цельным молоком, а контрольную ($n = 10$) — молочным комбикормом Лактосан. Начиная с 3-го дня жизни, отбирали кровь для биохимического исследования (определения концентрации глюкозы), а с 4-й недели определяли показатели липидного метаболизма. Плазменные концентрации глюкозы у обеих групп весь этот период не отличались заметно. Уровни всех липидов, общего содержания холестерина и триглицеридов в кровяной сыворотке в период молочного питания значимо выше у подопытных телят, но позднее не отличаются заметно от показателей контроля. Концентрации неэстерифицированных жирных кислот в молочный период, наоборот, выше у контроля; установленные различия недостоверны. Среднесуточные привесы с 5-й по 18-ю недели жизни значимо больше у телят на цельном молоке.

цельное молоко; молочный комбикорм; глюкоза; все липиды; весь холестерин; триглицериды; неэстерифицированные жирные кислоты; привесы

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — SKŘIVÁNEK, M. (University of Veterinary Medicine, Brno): **The Changes in Selected Biochemical Parameters of Energy Metabolism in Calves Kept on Two Milk Diets.** Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 193-200.

The effect of two milk diets on the changes in selected parameters of energy metabolism was studied in calves. After the termination of colostrum feeding, the experimental group of calves ($n = 10$) was given whole milk whereas the calves in the control group ($n = 10$) were given the Laktosan milk replacer. Blood was collected for biochemical investigation from the third day of age (determination of glucose concentration) and from the fourth week of age (evaluation of the parameters of lipid metabolism). The plasma concentrations of glucose were about the

same in both groups of calves throughout the period of study. The total lipid, total cholesterol and triglyceride levels in blood serum were significantly higher in the calves of the experimental group during the milk feeding period; later they did not differ significantly from the values determined in the control calves. On the other hand, the concentrations of non-esterified fatty acids were higher in the calves of the control group in the milk feeding period; the differences, however, are not statistically significant. The average daily weight gains from the 5th to the 18th week of age were significantly higher in the calves given whole milk.

whole milk; milk replacer; glucose; total lipids; total cholesterol; triglycerides; NEFA; weight gains

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — SKŘIVÁNEK, M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Dynamik ausgewählter biochemischer Kennwerte des Energiestoffwechsels bei Kälber bei zwei unterschiedlichen Methoden der Milchernährung*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 193-200.

Wir studierten die Auswirkung zweier verschiedener Methoden der Milchernährung von Kälbern auf die Dynamik ausgewählter Kennwerte des Energiestoffwechsels. Die Versuchskälbergruppe ($n = 10$) wurde nach Beendigung der Kolostralperiode mit Vollmilch getränkt, die Kontrollgruppe ($n = 10$) mit dem Milchaustauschfutter Laktosan. Blut für biochemische Untersuchungen wurde vom dritten Tag des Alters an (Bestimmung der Glukosekonzentration), bzw. von der vierten Lebenswoche an (Bewertung der Kennwerte des Lipidstoffwechsels) entnommen. Die plasmatischen Konzentrationen der Glukose bei beiden Kälbergruppen unterschieden sich während der ganzen Versuchsperiode nicht signifikant. Niveaus der Gesamtlipide, des Gesamtcholesterins und der Triglyzeride im Blutserum waren während der Milchernährungsperiode bei Kälbern der Versuchsgruppe signifikant höher, in der späteren Periode unterschieden sie sich dann von den bei den Kontrollkälbern ermittelten Werten nicht signifikant. Konzentrationen nichtesterifizierter Fettsäuren waren dagegen in der Milchernährungsperiode bei Kälbern der Kontrollgruppe höher; die ermittelten Unterschiede sind allerdings statistisch unsignifikant. Die mittleren täglichen Lebendmassezunahmen zwischen der 5. bis 18. Lebenswoche waren bei den mit Vollmilch gefütterten Kälbern signifikant höher.

Vollmilch; Milchaustauschfutter; Glukose; Gesamtlipide; Gesamtcholesterin; Triglyzeride; nichtesterifizierte Fettsäuren; Lebendmassezunahmen

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Rudolf Dvořák, CSc., prof. MVDr. Přemysl Jagoš, CSc., MVDr. Miroslav Skřivánek, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

VÝSKYT KOKCIDIÍ RODU *CRYPTOSPORIDIUM* (*CRYPTOSPORIDIIDAE*) PŘI PRŮJMOVÝCH ONEMOCNĚNÍCH TELAT

D. Zajíček, A. Dvořáková, K. Haisl

ZAJÍČEK, D. — DVOŘÁKOVÁ, A. — HAISL, K. (Ústřední státní veterinární ústav, Praha): Výskyt kokciidií rodu *Cryptosporidium* (*Cryptosporidiidae*) při průjmových onemocněních telat. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 201-208.

Od března roku 1983 do června roku 1984 byl v roztěrech obsahu střeva a vzorků trusu, barvených podle Heineho (1982), sledován výskyt kokciidií *Cryptosporidium* sp. u telat ve věku do 30 dnů, pocházejících z chovů 16 zemědělských závodů středních Čech. Oocysty *Cryptosporidium* sp. byly diagnostikovány u 68 telat (extenzita výskytu 37,15 %) ze 183 pitvaných telat s indikací zažívacích poruch a ve 177 vzorcích trusu (extenzita 33,71 %) z 525 vyšetřených vzorků trusu. Maximální výskyt kryptosporidií byl prokázán u desetidenních a čtrnáctidenních telat (13,9 — 11,3 %), první nálezy se vyskytly od třetího dne věku telat. Intenzita infekcí vyvolaných kryptosporidiemi hodnocená jako středně silná se vyskytovala u pitvaných selat ve 33,82 %, ve vzorcích trusu telat z odchoven velkokapacitních kravinů v 50 % a z velkokapacitních teletníků ve 36,52 %. Nejpočetnější nálezy kryptosporidií byly spojeny s diagnózou akutní katarální enteritidy (12,02 %), katarálně hemorhagické enteritidy nebo katarálně hemorhagické ileitidy (5,46 %), byly však zjištěny i při negativním nálezu v zažívacím traktu. Souběžný bakteriologický nález *Escherichia coli* a *Cryptosporidium* sp. se vyskytoval při akutní katarální enteritidě (19,12 %) a katarálně hemorhagické enteritidě (11,47 %), souběžný nález se *Salmonella* sp. byl zjištěn u telat s akutní katarální enteritidou (3,27 %). U telat nebyl výskyt kryptosporidií doprovázen souběžným bakteriologickým nálezem (4,37 %).

extenzita výskytu; patologická diagnóza; *Escherichia coli*; *Salmonella* sp.

Vážným epizootologickým problémem ve velkochovech skotu jsou průjmová a respiratorní onemocnění telat. Některé země uvádějí u živě narozených telat během odchovu až 10% ztráty, z nichž významný podíl tvoří onemocnění zažívacího ústrojí, dietetické a metabolické poruchy. V největším počtu případů průjmových onemocnění jde o společnou souhru bakteriálních, virových i parazitárních zárodků v různých kombinacích nebo ve výjimečných případech i samostatně působících (Morin aj., 1976; House, 1978; Moon aj., 1978). Snodgrass aj. (1982) popsali výsledky vyšetření vzorků trusu odebraných od neléčených telat s průjmy i od zjevně zdravých telat na 20 farmách a vyšetřených na bakteriální, virové a protozoární enteropatogeny. S průjmy spojují infekce rotaviry, enterotoxigenní *Escherichia coli* a *Cryptosporidium* sp., ale hlavní význam přikládají koronavirům. Jerrett a Snodgrass (1981) zaznamenali v letním období výskyt kryptosporidií u telat ve věku čtyři až jedenáct dní, výjimečně dva až tři týdny, u pěti z devíti diagnostikovaných průjmů na farmách ve státě Victoria (Austrálie). Morbidita se pohybovala od 30 do 70 % a morta-

lita byla až 50%. Průjmový trus byl žlutavý nebo smetanově zbarvený, klinické příznaky nebyly rozlišitelné. Podle poznatků uvedených autorů byla přítomnost kryptosporidií při průjmech telat doprovázena rotaviry nebo *E. coli* obsahujícími adhezivní faktor K99 antigen; také však šlo o samostatný výskyt protozoí. Tzipori aj. (1980) popisují přirozený vznik průjmu u telat, přičemž kryptosporidia byla zjištěna jako jediný enteropatogen. Onemocnění se objevilo u ustájeného skotu masného plemene, a to u 41 sajících telat. Z celkového počtu bylo 101 vzorků trusu vyšetřeno na rotaviry, koronaviry a ostatní enteroviry a K99 *Escherichia coli*. Zdá se, že kryptosporidie při samostatném působení vyvolávají jen slabé až mírné průjmy bez úhynu. Vliv kryptosporidií na rozšíření syndromu a na výskyt průjmů u telat má určitou prevalenci. Bergeland aj. (1979) našli kryptosporidie u telat s průjmy z 41 stád v USA. *Cryptosporidium* sp. bylo pouze potenciálním a významným původcem prokázaným u telat ze 17 stád, ale u telat ze 24 stád se vyskytovaly interkurentní infekce ostatními enteropatogeny, včetně koronaviřů, rotaviřů, enteropatogenních *E. coli* a *Salmonella* sp. Hlavní příčinou mortality zvířat z deseti stád bylo vyhubnutí následkem přetrvávajících průjmů.

Z těchto poznatků jsme vycházeli při zpracování a hodnocení souboru vzorků trusu i sekčního materiálu, získaných v rámci diagnostické činnosti ÚSVÚ Praha.

MATERIÁL A METODA

Ze 475 telat pitvaných v období 16 měsíců (1. 3. 1983 až 30. 6. 1984) byly k parazitologickému vyšetření dodány 183 vzorky ilea a kolónu (v roce 1983 — 85 vzorků, v roce 1984 — 98 vzorků). Indikací k vyšetření na kryptosporidie byly patologické změny různého typu v zažívacím traktu. Soubor hodnoceného sekčního materiálu pocházel ze zemědělských závodů šesti okresů nasávací oblasti ÚSVÚ Praha.

Vzorky trusu telat jeden až třicet dnů starých byly odebrány v sedmi profylaktických velkokapacitních kravínů (VKK) a devíti odděleních mléčné výživy velkokapacitních teletníků (VKT). Celkem bylo vyšetřeno 525 vzorků trusu telat, z toho 191 v roce 1983 a 334 v roce 1984.

K průkazu oocyst *Cryptosporidium* sp. ve vzorcích trusu i z obsahu střev bylo použito metody podle Heineho (1982). Na odmaštěné podložní skličko se nanese 3 μ l vodnatého trusu a smísí se s 3 μ l karbolfuchsinu v koncentraci používané pro histologické barvení. Směs se rozetře v tenké vrstvě na 2,3 plochy podložního sklička. Kompaktnější (tuhý, polotuhý, mazlavý) trus nebo střevní obsah se nejprve rozmělní vodou ve vzorkovnici nebo přímo na skličku a suspenze, podobná průjmovému trusu, se smísí s uvedeným množstvím karbolfuchsinu *ad*.

Pokud vzorek střeva neobsahoval zažítinu, jemně jsme setřeli hlen ze sliznice a z něho jsme připravili vodou rozředěný a potom obarvený nátěr.

Jakmile rozěr na vzduchu uschne, nanese se kapka imerzního oleje, která se rozetře po nátěru nebo se přikryje krycím skličkem. Při 450násobném zvětšení mikroskopem se na obarveném pozadí objeví neobarvené, bílé, světlolomné, kulaté nebo mírně elipsovitě oocysty kryptosporidií o velikosti 5 μ m. U některých se slabě růžově barví zbytkové tělísko (drobná růžová tečka uvnitř oocysty).

Při vyhodnocení souborů vzorků jsme se soustředili na porovnání výskytu kryptosporidií ve vztahu k patomorfologické diagnóze, průjmovým příznakům a případnému bakteriologickému nálezu. Jedním ze záměrů práce bylo ověřit možnost průkazu oocyst u telat dodaných k pitvě, u nichž postupující autolytické pochody ve střevním traktu nedovolují použít průkazu pomocí histologické techniky.

Výskyt kryptosporidií v rozetřech jsme hodnotili podle četnosti nálezů v deseti zorných polích: + — ojedinělé oocysty (1—25 oocyst), ++ — slabá infekce (25—100), +++ — středně silná infekce (100—250) a ++++ — silná infekce (nad 250).

I. Přehled nálezů *Cryptosporidium* sp. v hodnoceném souboru telat — A survey of the findings of *Cryptosporidium* sp. in the evaluated set of calves

Telata	1983 od 1. 3.	1984 do 30. 6.	Celkem
Pitvy — celkem	284	191	475
Dg. zažívací poruchy	144	76	220
z toho parazitologicky vyšetřeno	85	98	183
<i>Cryptosporidium</i> sp. — pozitivní	31	37	68
extenzita — ‰	36,47	37,75	37,15
Vzorky trusu — celkem	191	334	525
<i>Cryptosporidium</i> sp. — pozitivní	67	110	177
extenzita — ‰	35,07	32,93	33,71

VÝSLEDKY

V souboru pitvaných telat s indikací zažívacích poruch byly zjištěny oocysty *Cryptosporidium* sp. v celkové extenzitě 37,15 ‰. Porovnáme-li vzájemně početně téměř shodný materiál v obou sledovaných rocích, pohyboval se výskyt oocyst v extenzitě s nepatrnou odchylkou — 36,47 ‰ v roce 1983 a 37,75 ‰ v roce 1984 (tab. I). Tato skutečnost naznačuje běžné rozšíření těchto prvoků v odchovech telat.

Celková extenzita výskytu v souboru vyšetřených vzorků trusu odebraných v profylaktoriích VKK a odděleních mléčné výživy VKT dosáhla

II. Pozitivní nálezy kryptosporidií ve vztahu k věku telat — Positive findings of cryptosporidia in relation to the age of the calves

<i>Cryptosporidium</i> sp.	Věk telat (dny)								Celkem
	2	3	5	7	10	14	20	25	
Pitvy:									
pozitivní	5	8	10	8	19	10	6	2	68
‰	0,27	4,37	5,46	4,37	10,4	5,46	3,27	1,09	37,15
negativní	8	12	20	15	26	17	13	4	115
Trusy:									
odchov VKK									
pozitivní	—	—	5	7	26	17	3	—	58
‰	—	—	2,67	3,74	13,9	9,09	1,60	—	31,01
negativní	5	5	15	21	44	26	9	4	129
oddělení mléčné výživy VKT									
pozitivní	—	—	—	—	32	37	30	16	115
‰	—	—	—	—	9,8	11,3	9,20	4,90	35,16
negativní	—	—	—	—	57	61	56	38	212

III. Intenzita invazí *Cryptosporidium* sp. ve vyšetřených souborech telat — The intensity of *Cryptosporidium* sp. infections in the examined sets of calves

Telata	Intenzita nálezů				Celkem pozitivních
	+	++	+++	++++	
Pitvaná	12	20	23	13	68
%	17,64	29,41	33,82	19,11	
VKK	7	19	29	3	58
%	12,06	32,75	50,00	5,72	
VKT	18	31	42	28	119
%	15,12	26,05	35,29	23,52	

nižší úrovně (33,71 %) než u pitvaných telat, s určitým rozptylem v obou rocích sledování — 35,07 % v roce 1983 a 32,93 % v roce 1984 (tab. I). Do tohoto souboru vzorků byly zahrnuty vzorky trusu odebrané jak u klinicky zdravých telat, tak u telat s příznaky průjmů a zažívacích poruch.

Z epizootologického hlediska jsme sledovali výskyt oocyst kryptosporidií ve vztahu k věku telat a výsledky jsou shrnuty v tab. II. U souboru pitvaných telat i u souboru vzorků trusu z VKK jsme měli možnost posoudit výskyt oocyst u telat ve věku dva až 25 dnů. Nálezy proká-

IV. Patomorfologická diagnóza ve vztahu k nálezům kryptosporidií a střevních specifických bakterií u pitvaných telat ve sledovaném období — Pathomorphological diagnosis in relation to the findings of cryptosporidia and specific intestinal bacteria in the dissected calves in the period of study

Diagnóza:	<i>Cryptosporidium</i> sp.			Bakteriologický nález				
	negativní	pozitivní	%	<i>E. coli</i>		<i>Salmonella</i> sp.		negativní
				pozitivní	%	pozitivní	%	
<i>Hyperaemia intest.</i>	5	2	1,09	6	3,27	2	1,09	2
<i>Tympanitis et dilatatio int.</i>	10	8	4,37	15	8,19	—	—	2
<i>Enteritis catarrh. acuta</i>	32	22	12,02	35	19,12	6	3,27	6
<i>Enteritis catarrh. haemorrh.</i>	18	10	5,46	18	9,83	2	1,09	4
<i>Enteritis catarrh. haemorrh. dif.</i>	17	6	3,27	21	11,47	2	1,09	—
<i>Gastroenteritis haemorrh.</i>	—	2	1,09	2	1,09	—	—	—
<i>Ileitis catarrh. haemorrh.</i>	12	10	5,46	16	8,74	2	1,09	—
Bez patologicko-anatomického nálezu	21	8	4,37	18	9,83	—	—	14
Celkem	115	68	37,15	131	71,58	14	7,65	28

zaly možnost infekcí již u dvoudenních a třídných telat. Maximum infikovaných kusů náleželo ke skupině desetidenních až čtrnáctidenních telat. Od 20. dne věku telat nálezy oocyst klesaly.

Soubor vyšetřených vzorků trusu odebraných ve VKT zahrnoval telata ve věku od deseti dnů, což je nejnižší věková hranice zvířat zastavovaných do oddělení mléčné výživy. Výsledky rovněž potvrdily maximální výskyt telat navezených do VKT ve věkovém rozmezí od deseti do čtrnácti dnů s přetrváním až do 20. dne věku. Potom začal počet nálezů klesat. Tato skutečnost má velký význam pro šíření infekcí kryptosporidií mezi navezenými a ustájenými telaty v současně užívané technologii řadových stání telat se společnou chodbou pro kálení.

Porovnáme-li mezi sebou pozitivní a negativní nálezy u nejintenzivněji infikovaných věkových skupin telat (ve věku 10–20 dnů), dosáhla extenzita výskytu u pitvaných telat v deseti dnech 73,07 %, ve 14 dnech 58,82 % a ve 20 dnech 46,15 %; u telat v profylaktoriích VKT ve stejných věkových skupinách to bylo 59,09 %, 65,38 % a 33,3 % (početně nejméně zastoupená skupina); v odděleních mléčné výživy VKT — 56,14 %, 60,65 % a 53,57 %. Z uvedeného přehledu vyplývá, že v tomto kritickém období byla extenzita infekcí ve všech posouzených souborech telat vyšší než 50 %.

Nejčastěji byly zjišťovány slabé a středně silné infekce (+ + až + + +) ve všech třech souborech vyšetřených telat a pohybovaly se v rozmezí 26,05 až 50,00 % intenzity nálezů (tab. III). Ojedinelé oocysty kryptosporidií ve všech souborech se vyskytly v intenzitě od 12,06 do 17,64 %, velmi silné infekce měly intenzitu od 5,72 do 23,52 %.

Mezi nálezy kryptosporidií, patologicko-morfologickými změnami v zažívacím traktu a bakteriologickým nálezem u pitvaných telat je možné pozorovat určité epizootologické souvislosti (tab. IV).

Nejpočetnější nálezy kryptosporidií jsme zjistili u telat při akutní katarální enteritidě (12,02 %), katarálně hemorhagické enteritidě (5,46 %) a katarálně hemorhagické ileitidě (5,46 %). Pozitivní nálezy oocyst kryptosporidií byly prokázány i u ostatních diagnostikovaných změn v zažívacím traktu i při negativním patologicko-morfologickém nálezem. Při enteritidách byly nálezy oocyst kryptosporidií hodnoceny jako středně silné až velmi silné, u ostatních nálezů šlo o průkaz ojedinelých oocyst nebo slabých infekcí.

Souběžný bakteriologický nálezy *Escherichia coli* různých typů se vyskytoval v souboru telat celkem v 71,58 %, s nejvyšší extenzitou u případů akutní katarální enteritidy (19,12 %) a katarálně hemorhagické enteritidy (11,47 %) (tab. IV). Zárodky rodu *Salmonella* byly vykultivovány u 7,65 % telat souboru, z toho nejvyšší záchyt byl zjištěn u telat s akutní katarální enteritidou (3,27 %). Negativní bakteriologický nálezy při souběžném průkazu oocyst kryptosporidií se vyskytl u sedmi telat, z toho u tří telat s akutní katarální enteritidou, u jednoho telete s tympanií a dilatací střev a u jednoho telete bez výrazných patologických změn ve střevním traktu.

DISKUSE

Ve sledovaných souborech telat se výskyt oocyst *Cryptosporidium* sp. nelišil od údajů celkového výskytu popisovaného Heinem a Bo-

chem (1981), Pavláskem (1982) a Sopherem aj. (1984) a pohyboval se okolo 40 %. Zjištěné hodnoty celkového výskytu okolo 37 % u pitvaných telat a okolo 35 % ve vzorcích trusu odpovídají celkovému reálnému a průměrnému stavu u telat odchovávaných v profylaktoriích velkokapacitních kravínů a v odděleních mléčné výživy VKT na území ČSR.

Epizootologicky významným faktorem je vztah invazního cyklu cizopasníků k věku zvířat. V souboru jsme mohli posoudit nálezy u telat ve věku od dvou do 25 dnů. Ukázalo se, že invaze — díky své rychlé interpretaci vývojového cyklu — nastupuje velmi záhy po narození. Naše nálezy u dvoudenních až třídenních telat potvrdily poznatky, k nimž dospěli Jerrett a Snodgrass (1981), Heine a Boch (1981), Moon a Bembrick (1981). Obdobně jako v našem hodnocení popisují nejčastější a nejmasovější invaze kryptosporidií v období od deseti do čtrnácti dnů věku telat i Morin aj. (1976), Bergeland a Johnson (1979), Anderson (1981), Günther (1983), Pavlásek (1982) a Fischer (1982).

Intenzita infekcí kryptosporidii, která podle našich výsledků byla hodnocena až do úrovně středně silné invaze do období 14 dnů věku telat a postihovala až 50 % vyšetřených kusů, bude u sekčního materiálu běžným nálezem. Velmi silné invaze nebyly početné ani časté. Zajímavým poznatkem při hodnocení celého souboru bylo zjištění, že vyšší intenzita nálezů oocyst kryptosporidií nebývá vždy provázena patologickými změnami na sliznici střevního traktu nebo výrazně průjmovým trusem. Tuto skutečnost jsme pozorovali jak u pitvaných telat, tak i ve vzorcích trusu.

Souběžný nález bakteriálních enteropatogenů, zejména *Escherichia coli* a *Salmonella* sp., doplňoval nález kryptosporidií ve všech případech diagnóz stanovených u pitvaných telat. Zahraniční autoři (Morin aj., 1976; Bergeland a Johnson, 1979; Tzipori aj., 1980; Jerrett a Snodgrass, 1981; Snodgrass aj., 1982; Günther, 1983) považují enterotoxigenní *Escherichia coli* a *Salmonella* sp. mezi souběžnými infekcemi rotavirů, koronavirů a jiných enterovirů s kryptosporidiemi za jednoho z nejvážnějších patogenů ovlivňujících onemocnění zažívacího traktu telat. Přesto všichni uvedení autoři nejsou zatím zcela přesvědčeni o tom, který z uvedených patogenních činitelů je primární, sekundární, popřípadě jen příležitostný. Z tohoto hlediska byl velmi zajímavý průkaz solitární invaze kryptosporidií ve slabé až středně silné intenzitě nálezu u sedmi telat, přičemž u dvou z nich nebyl patologicko-morfologický nález výrazný.

Jmenované druhy enterovirů, zjišťované v zahraničí, jsme nemohli zahrnout do našeho přehledu, protože se běžně nediagnosticsují ze sekčního materiálu z důvodů nespolehlivého zachytu z autolytických procesů v zažívacím traktu dle uhynulého zvířete.

Na hodnoceném materiálu jsme ověřili metodu barvení roztěrů z obsahu střeva a trusu karbolfuchsinem metodikou podle Heineho (1982) jako použitelnou v běžné laboratorní diagnostice parazitologických laboratoří, která velmi dobře nahradí složitější koprologické zpracování flotačními metodami s dobarvením flotantu Giemsou (Anderson, 1981; Pavlásek, 1982).

Literatura

- ANDERSON, B. C.: Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. J. Amer. veter. med. Assoc., 178, 1981, s. 982-984.
- BERGELAND, M. E. — JOHNSON, D. D.: Bovine cryptosporidiosis in the north central United States. Amer. Assoc. veter. lab. Diagnostician, 22nd Ann. Proc., 1979, s. 131-138.
- FISCHER, O.: Kryptosporidióza telat v období mléčné výživy. Veter. Med. (Praha), 27, 1982, s. 465-471.
- GÜNTHER, H.: Kryptosporidien beim Kalb — Bedeutung, Nachweis, Bekämpfung. Mh. Veter.-Med., 38, 1983, s. 653-655.
- HEINE, J.: Eine einfache Nachweismethode für Kryptosporidien im Kot. Zbl. Veter.-Med., R. B, 29, 1982, s. 324-327.
- HEINE, J. — BOCH, J.: Kryptosporidien-Infektionen beim Kalb. Nachweis, Vorkommen und experimentelle Übertragung. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 94, 1981, s. 289-292.
- HOUSE, J. A.: Economic impact of rotavirus and other neonatal disease agents of animals. J. Amer. veter. med. Assoc., 173, 1978, s. 573-576.
- JERRETT, I. V. — SNODGRASS, D. R.: Cryptosporidia associated with outbreaks of neonatal calf diarrhea. Aust. veter. J., 57, 1981, s. 434-435.
- MOON, H. W. — BEMRICK, W. J.: Fecal transmission of calf cryptosporidia between calves and pigs. Veter. Path., 18, 1981, s. 248-255.
- MOON, H. V. — McCLURKIN, A. W. — ISSACSON, R. E. — POHLENZ, J. F. L. — SKARVEDT, S. M. — GILLETTE, K. G. — BAETZ, A. L. D.: Pathogenic relationship of rotavirus, *E. coli* and other agents in mixed infections in calves. J. Amer. veter. med. Assoc., 173, 1978, s. 577-583.
- MORIN, M. — LARIVIERE, S. — LALLIER, R.: Pathological and microbiological observations made on spontaneous cases of acute neonatal calf diarrhea. Can. J. comp. Med., 40, 1976, s. 228-232.
- PAVLÁSEK, I.: Diagnostika kryptosporidiózních infekcí u telat. Veter. Med. (Praha), 27, 1982, s. 379-383.
- PAVLÁSEK, I.: Výskyt *Cryptosporidium* sp. u nuceně odporažených telat a průběh vylučování oocyst tohoto prvoka u telat na dvou farmách Jihočeského kraje. Veter. Med. (Praha), 27, 1982, s. 729-740.
- SOPH, M. — LÁVIČKA, M. — ZAJÍČEK, D.: Histologická diagnostika kryptosporidiózy v MPZ Praha-Pisnice. Veterinářství, 34, 1984, s. 107-108.
- SNODGRASS, D. R. — SHERWOOD, D. — TERZOLO, H. G. — SYNGE, B. A.: A field survey of the aetiology of neonatal calf diarrhoea. In: Proc. XIIth wld Congr. Dis. Cattle, the Netherlands. Vol. I. Utrecht 1982, s. 380-384.
- TZIPORI, S. — CAMPBELL, I. — SHERWOOD, D. — SNODGRASS, D. R. — WHITELAW, A.: An outbreak of calf diarrhoea attributed to cryptosporidial infection. Veter. Rec., 107, 1980, s. 579-580.

Došlo dne 13. 5. 1985

ЗАЙИЧЕК, Д. — ДВОРЖАЧКОВА, А. — ГАЙСЛ, К. (Центральный государственный институт ветеринарии, Прага): **Наличие кокцидий сем. *Cryptosporidium* (*Cryptosporidiidae*) во время поносов телят.** Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4): 201-208.

С марта 1983 г. до июня 1984 г. в мазках содержимого кишки и в пробе навоза, окрашенных по методу Гайнго (1982), определяли кокцидии *Cryptosporidium* sp. у телят в возрасте до 30 дней из стад 16 хозяйств в центр. Чехии. Оокисты диагностировали у 68 телят (экстенсивность распространения 37,15 %) из 183 аутопсированных с желудочными расстройствами, а также в 177 образцах навоза (экст. 33,71 %) из 525 исследованных образцов навоза. Максимальный процент криптоспоридиев отмечен у 10- и 14-дневных телят (13,9–11,3 %); первые диагнозы отмечены с 3-го дня жизни телят. Средняя интенсивность заражений, вызванных криптоспоридиями, установлена у аутопсированных телят в 33,82 %, в образцах навоза из крупных кравеферм — в 50 %, а из телятников промышленного типа — в 36,52 %. Наиболее частые диагнозы криптоспоридиев связаны с диагнозом острого катарального энтерита (12,02 %), катарально-геморрагического энтерита или катарально-геморрагического илеита (5,46 %), но они установлены и при отрицательном диагнозе в пищеварительном тракте. Параллельный бактериологический диагноз *Escherichia coli* и *Cryptosporidium* sp. отмечен при остром катаральном энтерите (19,12 %) и катарально-геморрагическом энтерите (11,47 %), а параллельный с *Salmonella* sp. — у телят с острым катараль-

ným enteridem (3,27 %). У телят наличие криптоспоридиев не сопровождается параллельным бактериологическим диагнозом (4,37 %).

экстенсивность наличия; патологический диагноз; *E. coli*; *Salmonella* sp.

ZAJÍČEK, D. — DVORÁČKOVÁ, A. — HAIŠL, K. (Central State Veterinary Institute, Praha): *The Occurrence of the Coccidia of the Cryptosporidium Genus (Cryptosporidiidae) in Calves Suffering from Diarrhoeas*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 201-208.

In the period from March 1983 to June 1984, the occurrence of *Cryptosporidium* sp. coccidia in smears of gut contents and samples of excrements stained after Heine (1982) was investigated in calves at the age of 30 days, coming from 16 farms of central Bohemia. The oocysts of *Cryptosporidium* sp. were diagnosed in 38 calves (occurrence extensity 37.15 %) out of the 183 dissected calves with the indication of digestion disorders and in 177 samples of excrements (extensity 33.71 %) out of the 525 samples examined. The maximum occurrence of cryptosporidia was recorded in ten- and fourteen-day-old calves (13.9 — 11.3 %); the first findings were reported on the third day of the age of the calves. The intensity of infections induced by cryptosporidia, evaluated as medium-strong, was reported in 33.82 % of the dissected calves, in 50 % of the samples of excrements of the rearing halls of large cow-houses, and in 36.52 % of the samples from large calf-houses. The largest findings of cryptosporidia were associated with the diagnosis of acute catarrhal enteritis (12.02 %), catarrhal haemorrhagic enteritis or catarrhal haemorrhagic ileitis (5.46 %); however, they were also found when the finding in the digestive tract was negative. Simultaneous bacteriological finding of *Escherichia coli* and *Cryptosporidium* sp. occurred at acute catarrhal enteritis (19.12 %) and catarrhal haemorrhagic enteritis (11.47 %); a simultaneous finding of *Salmonella* sp. was reported in calves suffering from acute catarrhal enteritis (3.27 %). In the calves the occurrence of cryptosporidia was not accompanied by parallel bacteriological findings (4.37 %).

extensity of occurrence; pathological diagnosis; *Escherichia coli*; *Salmonella* sp.

ZAJÍČEK, D. — DVORÁČKOVÁ, A. — HAIŠL, K. (Zentrales staatliches veterinärmedizinisches Institut, Praha): *Vorkommen von Kokzidien der Gattung Cryptosporidium (Cryptosporidiidae) bei Durchfallerkrankungen der Kälber*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 201-208.

Im Zeitraum zwischen März 1983 bis Juni 1984 wurde in Darminhalt- und Kotprobenabstrichen, die laut Heine (1982) gefärbt wurden, das Vorkommen der Kokzidien *Cryptosporidium* sp. bei Kälbern im Alter bis zu 30 Tagen, die aus Zuchten aus 16 landwirtschaftlichen Betrieben in Mittelböhmen stammten, untersucht. Oozyten des *Cryptosporidium* sp. wurden bei 68 von den insgesamt 183 seziierten Kälbern mit Indikation einer Verdauungsstörung (Befallsextenstität 37,15 %) und in 177 Kotproben (Extensität 33,71 %) von insgesamt 525 untersuchten Kotproben diagnostiziert. Das höchste Vorkommen der Kryptosporidien wurde bei zehnte- und vierzehntägigen Kälbern (13,9 — 11,3 %) nachgewiesen, die ersten Funde gab es bereits bei drei Tage alten Kälbern. Eine als mittelstark bewertete Intensität der durch Kryptosporidien hervorgerufenen Infektion kam bei 33,82 % der seziierten Kälber vor, bei Kotproben von Kälbern aus Aufzuchtställen industriemäßiger Milchviehanlagen waren es 50 % und bei Proben aus industriemäßigen Kälberställen 36,52 %. Die zahlenmäßig stärksten Kryptosporidienfunde waren mit den Diagnosen akute katarrhalische Enteritis (12,02 %), katarrhalisch-hämorrhagische Enteritis oder katarrhalisch-hämorrhagische Ileitis (5,46 %) verbunden. Kryptosporidien wurden jedoch auch bei negativen Befunden im Verdauungsapparat vorgefunden. Ein paralleler bakteriologischer Befund von *Escherichia coli* und *Cryptosporidium* sp. kam bei akuter katarrhalischer Enteritis (19,12 %) und katarrhalisch-hämorrhagischer Enteritis (11,47 %) vor. Einen parallelen Befund mit *Salmonella* sp. stellten wir bei Kälbern mit akuter katarrhalischer Enteritis (3,27 %) fest. Bei den Kälbern war das Vorkommen von Kryptosporidien von einem parallelen bakteriologischen Befund nicht begleitet (4,37 %).

Befallsextenstität; pathologische Diagnose; *Escherichia coli*; *Salmonella* sp.

Adresa autorů:

MVDr. Dalibor Zajíček, CSc., MVDr. Alexandra Dvořáková, MVDr. Karel Hašl, Ústřední státní veterinární ústav, Sídlíštní 136, 165 03 Praha-Lysolaje

POROVNANIE IMUNIZAČNEJ ÚČINNOSTI SUBJEDNOTKOVEJ A VÍRUSOVEJ INAKTIVOVANEJ OLEJOVEJ VAKCÍNY PROTI INFEKČNEJ RINOTRACHEITÍDE HOVÄDZIEHO DOBYTKA

A. Žuffa, J. Zajac, T. Žuffa

ZUFFA, A. — ZAJAC, J. — ŽUFFA, T. (Výskumné a vývojové pracovisko Biovety, n. p., Nitra): *Porovnanie imunizačnej účinnosti subjednotkovej a vírusovej inaktivovanej olejovej vakcíny proti infekčnej rinotracheitíde hovädzieho dobytku*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 209-218.

V pokusoch na králikoch a dobytku sme porovnávali imunizačnú účinnosť subjednotkovej vakcíny proti infekčnej bovinnej rinotracheitíde (IBR), predstavujúcej antigény separované solubilizáciou IBR vírusom infikovaných buniek pomocou Tritonu X-100 s olejovým adjuvans, s inaktivovanou olejovou IBR vakcínou. Králiky očkované a revakcinované obidvoma vakcínami v intervale troch týždňov vytvorili neutralizačné protilátky (NP) v stredných titroch, s vyrovnanými hodnotami týchto protilátok v obidvoch pokusných skupinách. Dobytko imunizované subjednotkovou vakcínou reagoval na očkovanie a revakcináciu tvorbou sérových protilátok do vyšších titrov ako dobytko očkované vírusovou vakcínou; sekretorické protilátky boli dokázané až po revakcinácii a vykazovali u zvierat obidvoch pokusných skupín vyrovnané hodnoty. Po *i. nas.* infekcii virulentným vírusom, uskutočnenej za 14 dní po revakcinácii, boli teľatá očkované subjednotkovou aj vírusovou vakcínou chránené proti klinickému ochoreniu, kým kontrolné neočkované teľatá ochoreli za príznakov charakteristických pre IBR. Imunizované zvieratá obidvoch pokusných skupín vylučovali *p. i.* v nosových sekrétoch menej vírusu a kratšiu dobu ako kontrolné neočkované teľatá, pričom intenzita množenia a pretrvávajúca exkrécie infekčného vírusu boli u zvierat obidvoch pokusných skupín rovnaké.

králik; teľa; očkovanie; revakcinácia; sekretorické protilátky

Novšie poznatky o štruktúrálnej skladbe a antigénnych vlastnostiach herpetických vírusov poskytujú predpoklady na prípravu neškodných a účinných vakcín proti ochoreniam vyvolaným touto skupinou vírusov [Vernon a i., 1978]. Antigény herpetických vírusov, schopné vyvolať tvorbu sérových protilátok, boli identifikované v solubilnej časti infikovaných bunkových membrán a v obale purifikovaných vírusov [Leššo a i., 1976; Cohen a i., 1978; Kutinová a i., 1979]. Tieto antigény boli s uspokojivým výsledkom použité na prípravu subjednotkových vakcín proti ochoreniam vyvolaným rozdielnymi herpetickými vírusmi [Papp — Vid a Derbyshire, 1978; Lupton a Reed, 1980; Maes a Schutz, 1983].

Problémy spojené s používaním živých vakcín proti infekčnej bovinnej rinotracheitíde (IBR) [Darcel a i., 1979] viedli k vývoju inaktivovaných vakcín. Ako dostatočne imunogénne sa ukázali len inaktivované vakcíny s obsahom olejového adjuvans [Casselberry, 1968;

Žuffa a Feketeová, 1980); vakcinované a revakcinované zvieratá, vystavené experimentálnej infekcii virulentným vírusom, sú chránené proti klinickému ochoreniu a vykazujú aj parciálnu biologickú imunitu. Úplnú rezistenciu nosových slizníc proti *i. nas.* infekcii dosiahli Lupton a Reed (1980) dvojrázovým očkovaním vnímavého dobytká subjednotkovou olejovou vakcínou. Naproti tomu Darcel a Jericho (1981) nezaznamenali pri očkovaní 13-týždňových teliat subjednotkovou IBR-vakcínou merateľné množstvo protilátok ani chránenosť proti ochoreniu.

V pokusoch na králikoch a dobytku sme testovali antigenitu a protektívny účinok vyvolaný očkovaním subjednotkovou a vírusovou inaktivovanou olejovou IBR-vakcínou.

MATERIÁL A METÓDY

VÍRUSY

Pre prípravu vakcín sme použili kmeň IBR-BK-5 v ôsmej pasáži na primárnych boviných obličkových kultúrach (Žuffa a Feketeová, 1980). Zásobný vírus s obsahom $10^{8.0}$ TKID₅₀/ml sme skladovali pri teplote -70°C . Na experimentálnu infekciu dobytká sme použili kmeň IBR-BK-5 v ôsmej a IBR-R6 v desiatej tkanivovej pasáži.

BUNKOVÉ KULTÚRY

Skúmkavkové kultúry z boviných fetálnych obličiek (FBO) v prvej subpasáži pre titráciu vírusu a protilátok a primárne kultúry FBO v Rouxových fľašiach (RF) na pestovanie vírusu sme pripravovali spôsobom bežne zaužívaným v našom laboratóriu.

PRÍPRAVA VAKCÍN

Inaktivovaná olejová vírusová vakcína predstavovala infekčné médium s obsahom $10^{8.0}$ TKID₅₀/ml odobraté po úplnej lýze buniek, vyčistené odstredením pri $2000 \times g$ počas 30 minút, inaktivované formaldehydom a emulgované v olejovom adjuvans (Žuffa a Brányik, 1979).

Subjednotkovú vakcínu sme pripravili takto: Kultúry FBO, narastené v RF o obsahu 1200 ml v Hanksovom médiu a 5% boviného fetálneho séra (BFS), sme po opakovanom opláknutí roztokom PBS infikovali 2 ml zásobného vírusu. Po adsorpcii počas 60 minút pri teplote 37°C sme médium zliali, kultúry oplákli a zaliali 500 ml Eaglovho média (BEM) bez séra. Po 18-hodinovej inkubácii pri teplote 37°C sme médium zliali, kultúry po opláknutí zoškrabali z povrchu skla a suspendovali do roztoku RSB v množstve 10 ml na jednu RF. Získanú bunkovú suspenziu sme odstredili pri $2500 \times g$ počas 10 minút a sediment resuspendovali v roztoku RSB v množstve 0,25 ml na jednu RF. K získanej bunkovej suspenzii sme pridali rovnaké množstvo Tritonu X-100 v $0,2\%$ koncentrácii, po 30 minútach stánia pri chladničkej teplote sme suspenziu ozvučili pri 100 MHz/cm^2 počas 60 sekúnd a odstredovali pri $100\,000\text{ g}$ po dobu jednej hodiny. Supernatant, doplnený roztokom RSB na 2 ml na jednu RF, sme dialyzovali proti roztoku RSB s obsahom $0,1\%$ boviného sérového albumínu pri chladničkej teplote počas 24 hodín. Pripravený antigén sme skladovali pri teplote -70°C .

Obidve vakcíny sme pripravili emulgovaním štyroch dielov antigénu s jedným dielom adjuvančných olejov na malom laboratórnom zariadení Ultraturax.

POKUSNÉ ZVIERATÁ

Pokusnými zvieratami boli králiky o živej hmotnosti 2,5 kg a teľatá vo veku šesť až osem mesiacov, nakúpené z chovu bez anamnézy výskytu respiračného ochorenia a bez protilátok proti IBR vírusu.

SÉRA A SEKRÉTY

Séra vyčistené odstredením, inaktivované pri teplote 56 °C počas 30 minút, sme až do vyšetrenia skladovali pri teplote -20 °C. Nosové sekrety, získané vytlačením polyuretanových tampónov zasúvaných do obidvoch nosných otvorov, sme vyčírili odstredením, inaktivovali a skladovali pri teplote -20 °C.

Pre zistenie množstva vírusu vylúčeného v nosových sekrétoch sme robili stery nosovej sliznice pomocou vatových tampónov už opísaným spôsobom (Žuffa a i., 1982).

TITRÁCIA VÍRUSU

Obsah vírusu v eluátoch sterov nosových slizníc, vyjadrený v TKID₅₀, sme zisťovali titráciami na skúmavkových kultúrach FBO, očkovaných log₁₀ riedeniami vírusu pri použití štyroch skúmaviek na jedno riedenie. Obsah TKID₅₀ sme vypočítali podľa formuly, ktorú uviedli Reed a Muench.

TITRÁCIA PROTILÁTKO

Obsah neutralizačných protilátok (NP) v sérach a sekrétoch odoberaných v rozličnom čase po očkovaní, revakcinácii a infekcii sme zisťovali neutralizačným testom (NT) na skúmavkových kultúrach FBO skôr opísaným spôsobom (Žuffa a i., 1982).

Antigén pre ELISA test sme pripravili spôsobom ako ho opísali Payment a i. (1979), peroxidázový konjugát postupom podľa Wilsona a Nakaneho (1978). Séra sme vyšetrovali v trojnásobných riedeniach počinúc riedením 1:10.

USPORIADANIE POKUSOV

Vždy desať králikov sme očkovali vírusovou, resp. subjednotkovou olejovou vakcínou v dávke po 1 ml i. m., s revakcináciou rovnakými vakcínami v rovnakých dávkach za dva týždne. Krv sme odoberali pred očkovaním a desať dní po revakcinácii.

Z desiatich teliat boli štyri očkované 2 ml vírusovej vakcíny a štyri 2 ml subjednotkovej vakcíny i. m. a za štyri týždne boli rovnakým spôsobom revakcinované; dve teľatá ostali neošetrené ako kontroly. Za tri týždne od revakcinácie, t. j. za sedem týždňov od zahájenia pokusu, boli všetky pokusné aj kontrolné zvieratá infikované virulentným IBR vírusom (Žuffa a i., 1982). Stery nosovej sliznice sme robili pred očkovaním a ďalej za 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 a 14 dní. Krv a nosové sekrety na zistenie obsahu NP sme odoberali pred očkovaním a potom v jednotýždňových intervaloch pred revakcináciou a za 7, 14 a 21 dní p. i.

Po infekcii sme všetkým zvieratám denne merali telesnú teplotu počas 14 dní a zvieratá sme pozorovali klinicky. Stupeň imunity vyvolanej očkovaním sme posudzovali podľa týchto kritérií: a) množstvo vírusu v nosových sekrétoch a trvanie jeho vylučovania, b) obsah protilátok v sérach a sekrétoch odoberaných po očkovaní, revakcinácii a infekcii, c) vývoj lokálnych zmien na sliznici nosa a celkový zdravotný stav zvierat.

VÝSLEDKY

KRÁLIKY

Hodnoty titrov NP, zistené v sérach králikov po očkovaní a revakcinácii vírusovou, resp. subjednotkovou vakcínou, sú v tab. I. Z tabuľky vidíme, že väčšina králikov ostala po prvej aplikácii obidvoch vakcín bez merateľnej protilátkovej odpovede a ostatné vytvorili NP v nízkych titroch. Na revakcináciu reagovali tvorbou protilátok v titroch 1:8 až 1:64, pričom nebol preukazný rozdiel v úrovni protilátkovej odpovedi u králikov obidvoch pokusných skupín.

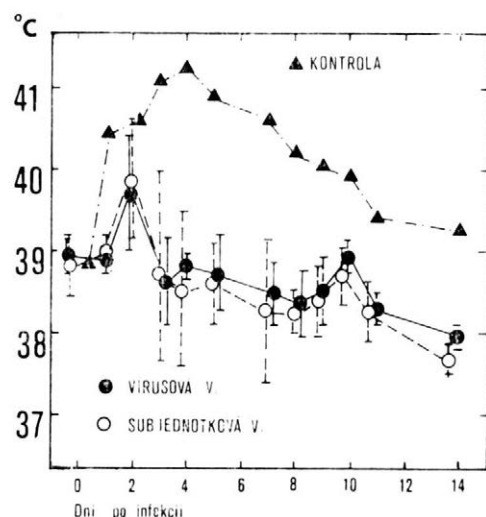
I. Titre neutralizačných protilátok v sérach králikov očkovaných a revakcinovaných subjednotkovou a vírusovou IBR-vakcínou — Titres of neutralizing antibodies in the serums of rabbits inoculated and re-vaccinated with the subunit IBR vaccine and virus-inactivated IBR vaccine

Vakína	Počet králikov	Počet sér reagujúcich v riedení po							Priemerné hodnoty
		vakcinácii			revakcinácii				
		0	1 : 1	1 : 2	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	
Subjednotková	10	4	2	4	1	4	4	1	26,2
Vírusová	10	6	3	1	2	4	3	1	24,0

DOBYTOK

Klinika: Očkovanie vírusovou ani subjednotkovou vakcínou nevyvolalo lokálne ani pozorovateľné celkové reakcie. Telesné teploty sa pohybovali v rozpätí fyziologických hodnôt, bez preukazných rozdielov medzi jednotlivými skupinami zvierat.

Infekcia nenarušila celkový zdravotný stav teliat obidvoch pokusných skupín. V období od tretieho do piateho dňa sme zaznamenali mierne zmnoženie nosového sekrétu seróznej povahy u zvierat obidvoch pokusných skupín, ale na slizniciach nosa sme zmeny nezistili. U kontrolných zvierat boli sliznice nosa počnúc tretím dňom *p. i.* hyperemické s hojným seróznym výtokom, ktorý sa stal neskôr serózne hlienovitý až hlienovito hnisavý. Zúženie nosných priechodov, spojené s opuchom nosových slizníc, vyvolalo zhoršenie dýchania sprevádzané sípavými šelestmi. Postihnutie dýchacích orgánov bolo odprevádzané príznakmi celkového ochorenia charakterizovaného inapetenciou, apatiou, zježenou srstou, s vyvrcholením v šiestom dni. Do 14. dňa sa zdravotný stav kontrolných teliat upravil.



1. Priemerné hodnoty denných telesných teplôt u teliat očkovaných a revakcinovaných subjednotkovou a vírusovou inaktivovanou olejovou IBR-vakcínou a u kontrolných neočkovaných teliat, podrobených *i. nas.* infekcii virulentným IBR vírusom — The average values of circadian body temperatures in calves inoculated and re-vaccinated with the subunit IBR vaccine and virus-inactivated oil IBR vaccine, and in the non-inoculated control calves subjected to intranasal infection with the virulent IBR virus

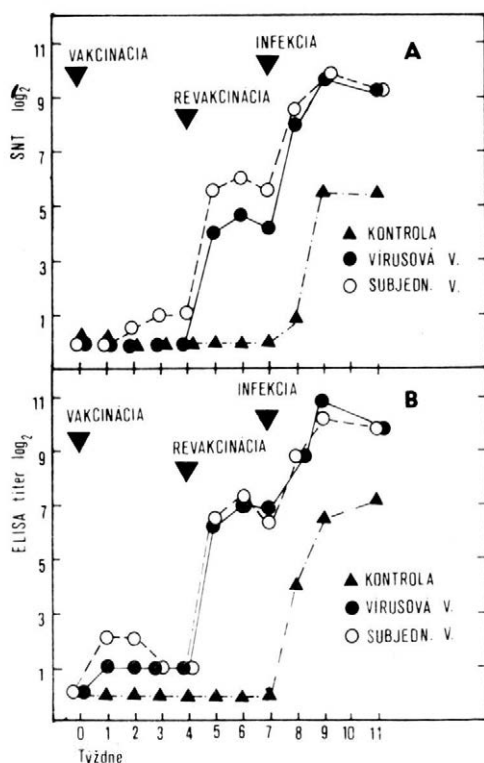
Klinickému prejavu odpovedal aj priebeh telesných teplôt. V každej z pokusných skupín mali dve zvieratá horúčku, vždy len počas jedného dňa. U zvierat kontrolnej skupiny došlo k vzostupu telesnej teploty na 40,2 °C, resp. 40,7 °C v druhom dni *p. i.*, s pretrvávajúcimi horúčkami stavov do siedmeho, resp. deviateho dňa (obr. 1).

Protílátky: Všetky teľatá boli pred zaradením do pokusu bez protílátok proti IBR vírusu. V NT reagovali za 14 dní *p. v.* pozitívne dve a za tri týždne tri teľatá v skupine očkovanej subjednotkovou vakcínou, s miernym vzostupom titrov v ďalšom období; štvrté teľa tejto skupiny ostalo až do revakcinácie negatívne. Naproti tomu v NT reagovali všetky zvieratá očkované vírusovou vakcínou až do revakcinácie negatívne. Revakcinácia stimulovala včasnú tvorbu, resp. vzostup NP, a to do titrov 1:16 až 1:128 v prvej pokusnej skupine a do titrov 1:8 až 1:64 v druhej skupine a infekcia viedla k ďalšiemu signifikantnému vzostupu protílátok. Kontrolné teľatá ostali až do infekcie sérologicky negatívne, pričom infekcia vyvolala tvorbu merateľného množstva NP za sedem dní, s ich vzostupom do titrov 1:32, resp. 1:64 za 28 dní. Zaznamenali sme dobrý súlad medzi titrami protílátok zisťovanými NT a imunoenzymatickým testom ELISA len s tým rozdielom, že séra odoberané po vakcinácii zvierat vírusovou vakcínou, negatívne v NT, reagovali v nízkych riedeniach v ELISA teste (obr. 2).

Nosové sekréty odoberané až do revakcinácie boli bez protílátok, ale sekréty získané za 14 dní *p. v.* obsahovali NP v titroch 1:4 až 1:16 u zvierat obidvoch pokusných skupín. Infekcia vyvolala vzostup protílátok do titrov 1:32 až 1:64. Kontrolné teľatá vytvorili sekretorické protílátky za 14 dní *p. i.*, s ich výrazným vzostupom do 28. dňa (tab. II).

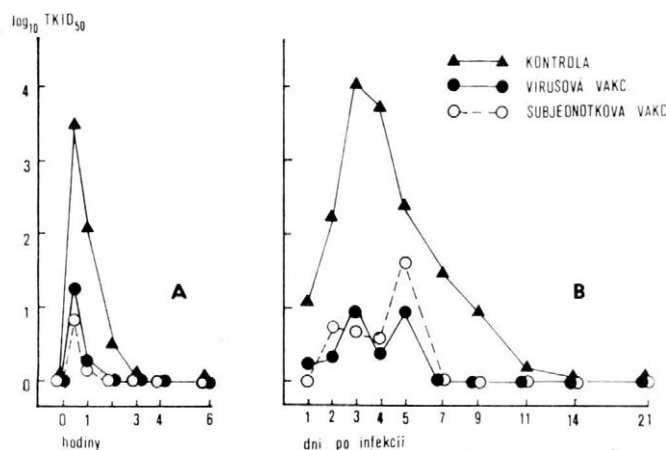
II. Titre neutralizačných protílátok v nosných sekrétoch odobraných v rozličnom čase po očkovaní a revakcinácii teliat subjednotkovou a vírusovou IBR vakcínou a po infekcii virulentným vírusom — The titres of neutralizing antibodies in the nasal secretions sampled after different time from inoculation and re-vaccination of calves with the subunit IBR vaccine and virus-inactivated IBR vaccine, and after infection with the virulent virus

Vakcína	Číslo zvierat	Obsah NP za dni po						
		vakcinácii	revakcinácii			infekcii		
			7	14	21	7	14	28
Subjednotková	1367	0	0	2	4	16	32	32
	1379	0	K	8	16	32	64	64
	1392	0	0	2	4	16	32	64
	1363	0	K	4	16	32	32	64
Vírusová	1365	0	0	2	4	16	32	32
	1375	0	0	8	16	16	32	64
	1397	0	K	8	8	8	16	32
	1394	0	0	4	8	32	64	64
	1399	0	—	—	0	0	2	8
	1380	0	—	—	0	0	2	16



2. Priemerné hodnoty titrov sérových protilátok zisťovaných neutralizačným testom (A) a metódou ELISA (B) u teliat očkovaných subjednotkovou a vírusovou inaktivovanou olejovou IBR vakcínou a u kontrolných neočkovaných teliat, podrobených *i. nas.* infekcii virulentným IBR vírusom — The average values of the titres of serum antibodies determined by the neutralization test (A) and the ELISA method (B) in calves inoculated with the subunit IBR vaccine and virus-inactivated oil IBR vaccine, and in the non-inoculated control calves subjected to intranasal infection with the virulent IBR virus

Obsah vírusu: Zaznamenali sme významné rozdiely v rýchlosti vylučovania čelenžného vírusu u vakcinovaných a kontrolných zvierat a následne v replikovaní vírusu na slizniciach nosa a pretrvávajú jeho exkrécie. Vakcinované zvieratá vylúčili čelenžný vírus za 60 minút, pričom u zvierat obidvoch pokusných skupín neboli v rýchlosti vylučovania rozdiely. U kontrolných neočkovaných zvierat trvalo vylučovanie asi tri hodiny (obr. 3a).



3. Priemerné hodnoty titrov vírusu v nosových sekrétoch u teliat očkovaných subjednotkovou a vírusovou inaktivovanou olejovou IBR vakcínou a u kontrolných neočkovaných teliat, podrobených *i. nas.* infekcii virulentným IBR vírusom — The average values of virus titres in nasal secretions of calves inoculated with the subunit IBR vaccine and virus-inactivated oil IBR vaccine and in the non-inoculated control calves subjected to intranasal infection with the virulent IBR virus

Klinickému obrazu *p.i.* zodpovedala aj intenzita množenia a pretrvávania exkrécie čelenžného vírusu. V obidvoch pokusných skupinách vylučovali infekčný vírus vždy tri zvieratá, pričom u pozitívnych zvierat bol obsah vírusu vo výluhoch nosových výterov o dve až tri log₁₀ jednotky nižší v porovnaní s kontrolnou skupinou teliat. V každej pokusnej skupine bolo po celé sledované obdobie jedno zviera bez vírusu. Hodnoty infekčných titrov 10¹ a viac sme v skupine zvierat očkovaných subjednotkovou vakcínou zistili len trikrát, v skupine očkovanej vírusovou vakcínou päťkrát; nosové sekréty boli v prvej skupine infekčné od druhého do piateho dňa, v druhej skupine od tretieho do piateho dňa a v kontrolnej skupine od prvého do deviateho, resp. jedenásteho dňa (obr. 3b).

DISKUSIA

Očkovanie dobytka živou vakcínou proti IBR z atenuovaných kmeňov pravidelne vedie k navodeniu stavu latencie [Darcel a Dorward, 1975; Pastoret a i., 1980], s nebezpečenstvom jej aktivovania a vylučovania vakcinačného vírusu sekrétmi vonkajších slizníc, semenom a mliekom. Infekcia vakcinovaných zvierat virulentným IBR vírusom vyvolá krátku hypertermiu a mierne zmeny na sliznici nosa, spojené s replikáciou a exkréciou čelenžného vírusu [Mc Kercher a Grenshaw, 1971; Žuffa a i., 1982], s prechodom aktívnej infekcie do stavu latencie [Pastoret a i., 1980]. Použitie inaktivovaných vakcín proti IBR vylučuje riziká spojené so zanášaním živého vírusu do vakcinovaných chovov. Dvojrázové podanie účinnej inaktivovanej olejovej vakcíny vnímavému dobytku vyvolá dobrú klinickú chránenost a parciálnu ochranu nosových slizníc proti infekcii [Žuffa a Feketeová, 1980], ale u dobytka, ktorý prišiel pred očkovaním do kontaktu s prirodzenou infekciou, aj dokonalú rezistenciu slizníc proti kolonizácii virulentným vírusom [Žuffa a i., 1985]. Pri IBR, rovnako ako pri iných herpetických vírusových infekciách, sleduje ďalší vývoj očkovacích látok príprava purifikovaných inaktivovaných vakcín. Subjednotková IBR-vakcína pripravená Luptonom a Reedom [1980], predstavujúca vírusový glykoproteín izolovaný z infikovaných buniek solubilizáciou pomocou neionogénnych detergentov Triton X-100 a Nonidet P-40 emulgovaný v olejovom adjuvans, vyvolala po jednorázovom podaní preukaznú protilátkovú odpoveď a čiastočnú klinickú chránenost proti experimentálnej infekcii, ale dvojrázove očkované zvieratá vykazovali aj čiastočnú alebo úplnú chránenost proti infekcii. Naproti tomu subjednotková vakcína obsahujúca vírusové antigény izolované z IBR infikovaných buniek pomocou okyslenej zmesi chloroformu a metanolu bola síce imunogénna pre 104-týždňové teľatá [Darcel a i., 1979], nie však pre 13-týždňové teľatá [Darcel a Jericho, 1981].

Výsledky našich pokusov potvrdili, že antigény získané solubilizáciou infikovaných buniek neionogénnym detergentom Triton X-100, emulgované v olejovom adjuvans, sú imunogénne. Králiky reagovali na očkovanie subjednotkovou vakcínou tvorbou protilátok v rovnakých titroch ako zvieratá očkované vírusovou vakcínou. U teliat očkovaných subjednotkovou vakcínou sme po vakcinácii aj revakcinácii zaznamenali výraznejšiu protilátkovú odpoveď než u teliat očkovaných vírusovou

vakcínou. Tvorba humórálnych protilátok bola u zvierat obidvoch pokusných skupín sprevádzaná produkciou sekretorických protilátok. Teľatá obidvoch pokusných skupín boli chránené proti klinickému ochoreniu pri čelenži virulentným vírusom, s veľmi blízkym priebehom čistenia a následne množenia infekčného vírusu na slizniciach horných ciest dýchacích a trvaním jeho exkrécie. Naproti tomu neočkované kontrolné teľatá po infekcii ochoreli za príznakov charakteristických pre IBR, s intenzívnou replikáciou a dlhodobou exkréciou čelenžného vírusu. V porovnaní s vakcínou pripravenou Luptonom a Reedom (1980) vykazovala nami pripravená subjednotková IBR-vakcína nižšiu antigénnu aj protektívnu potenciu, bola však účinnejšia ako vakcína pripravená Darcelom a Jerichom (1981).

Predpokladáme, že imunogenita subjednotkových vakcín je nižšia ako imunogenita vírusových vakcín (Yoshino a i., 1982). Príčina môže spočívať v tom, že forma, v ktorej sú vírusové proteíny v subjednotkovej vakcíne zastúpené, môže byť do určitej miery narušená a neodpovedá ich prirodzenej stavbe a imunogénnej štruktúre (Morein a i., 1978). Jedna aplikačná dávka nami pripravenej subjednotkovej IBR-vakcíny obsahovala 50-násobné množstvo povrchových proteínov prítomných v aplikačnej dávke vírusovej vakcíny. Ak berieme do úvahy postulát, že každá aplikačná dávka subjednotkovej vakcíny má obsahovať 100-násobok povrchových proteínov obsiahnutých vo vírusovej vakcíne (Bachrach, 1982), potom pri rovnakej alebo mierne vyššej imunogenite nami pripravenej subjednotkovej vakcíny, v porovnaní s vírusovou vakcínou (hodnotiac podľa titrov sérových protilátok u dobytka), možno predpokladať, že výťažnosť vírusových proteínov separovaných solubilizáciou infikovaných buniek odpovedala všeobecne dosahovaným hodnotám. V protiklade s údajmi o nižšej imunogenite subjednotkových vakcín sú nálezy Luptona a Reeda (1980), ktorí dosiahli dvojrázovým očkovaním vnímavého dobytka chránenosť, aká doposiaľ po očkovaní dobytka živými (Pastoret a i., 1980) ani inaktivovanými vírusovými IBR-vakcínami (Žuffa a Feketeová, 1980; Žuffa a i., 1985) nebola zaznamenaná. Aj pri očkovaní prasiat subjednotkovou vakcínou proti Aujeszkého chorobe zaznamenali Maes a Schutz (1983) preukazne intenzívnejšiu protilátkovú odpoveď ako po živjej alebo inaktivovanej vírusovej vakcíne. Imunogenitu nami testovanej subjednotkovej IBR-vakcíny mohla nepriaznivo ovplyvniť nedostatočná stabilita olejovej emulzie pripravenej jednostupňovým emulgovaním, na rozdiel od dvojestupňového spracovania používaného pri bežnej príprave inaktivovaných vakcín. Tento predpoklad potvrdzuje zistenie, že aj imunogenita kontrolnej vírusovej vakcíny, pripravenej rovnakým spôsobom ako u subjednotkovej vakcíny, bola nižšia ako imunogenita vakcín použitých v predchádzajúcich pokusoch (Žuffa a Feketeová, 1980; Žuffa a i., 1978, 1985).

Literatúra

- BACHRACH, H. L.: Recombinant DNA technology for the preparation of subunit vaccines. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 181, 1982, s. 992-999.
 CASSELBERRY, N. H.: Present status of immunisation procedures for infectious bovine rhinotracheitis. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 152, 1968, s. 853-856.
 COHEN, G. H. — KATZE, M. — HYDREAN-STERN, C. — EISENBERG, R. J.:

- Type-common CP-1 antigen of herpes simplex virus is associated with a 59,000-molecularweight envelope protein. *J. Virol.*, 27, 1978, s. 172-181.
- DARCEL, C. G. — DORWARD, W. J.: Recovery of infectious bovine rhinotracheitis virus following corticosteroid treatment of vaccinated animals. *Can. veter. J.*, 16, 1975, s. 87-88.
- DARCEL, C. G. — JERICHO, K. W. F.: Failure of a subunit bovine herpesvirus 1 vaccine to protect against experimental respiratory disease in calves. *Can. J. comp. Med.*, 45, 1981, s. 87-91.
- DARCEL, C. G. — BRADLEY, J. A. — MITCHELL, D.: Immune response of cattle to antigens obtained from bovine herpesvirus 1 infected tissue culture. *Can. J. comp. Med.*, 43, 1979, s. 288-294.
- KUTINOVÁ, L. — ŠLICHTOVÁ, V. — VONKA, V.: Immunogenicity of subviral herpes simplex virus preparations. I. Formation of neutralizing antibodies in different animals species after administration of herpes virus solubilized antigens. *Arch. Virol.*, 61, 1979, s. 141-147.
- LESSO, J. — HÁNE, L. — MATIS, J.: Reaction of immune sera against the nucleocapsid envelope and whole herpes simplex virus type. *Acta virol.*, 20, 1976, s. 48-52.
- LUPTON, H. W. — REED, D. E.: Experimental subunit vaccines for infectious rhinotracheitis. *Amer. J. veter. Res.*, 41, 1980, s. 383-390.
- MAES, R. K. — SCHUTZ, J. C.: Evaluation in swine of a subunit vaccine against pseudorabies. *Amer. J. veter. Res.*, 44, 1983, s. 123-125.
- McKERCHER, D. G. — CRENSHAW, G. L.: Comparative efficacy of intranasally and parenterally administered infectious bovine rhinotracheitis vaccines. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 159, 1971, s. 1362-1369.
- MOREIN, B. — HELENIUS, A. — SIMONS, K. — PETTERSSON, R. — KÄÄRIÄINEN, L. — SCHIRRMACHER, V.: Effective subunit vaccines against an enveloped animal virus. *Nature*, 276, 1978, s. 715-718.
- PAPP-VID, G. — DERBYSHIRE, J. B.: The protective antigens of equine herpesvirus type 1. *Can. J. comp. Med.*, 42, 1978, s. 219-226.
- PASTORET, P. P. — BABIUK, L. A. — MISRA, V. — GRIEBEL, P.: Reactivation of temperature-sensitive and nontemperature-sensitive bovine rhinotracheitis vaccine virus with dexamethasone. *Infect. and Immun.*, 29, 1980, s. 483-488.
- PAYMENT, P. — ASSAF, R. — TRUDEL, M. — MAROIS, P.: Enzyme-linked immunosorbent assay for serology of infectious bovine rhinotracheitis virus infections. *J. clin. Microbiol.*, 10, 1979, s. 633-636.
- VERNON, S. K. — LAWRENCE, W. C. — LONG, C. A. — COHEN, G. H. — RUBIN, B. A.: Herpesvirus vaccine development: Studies on virus morphological components. In: A. Woller, H. Friedman (Eds.): *New trends and developments in vaccines*. Baltimore, University Park Press, MD, 1978, 179-210.
- WILSON, H. B. — NAKANE, P. K.: In: *Immunofluorescence and related techniques* (W. Knapp, K. Holubar, G. Wick, eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press 1978, s. 215-225.
- YOSHINO, K. — YANAGI, K. — ABE, K.: Efficacy of intradermal administration of herpes simplex virus subunit vaccine. *Microbiol. Immunol.*, 26, 1982, s. 753-757.
- ŽUFFA, A. — BRÁNYIK, A.: Inaktivovaná adjuvančná vakcína proti infekčnej bovinnej rinotracheitide a pustulárnej vulvovaginitide hovädzieho dobytku a spôsob jej výroby. *Autorské osvedčenie č. 191*, 666. 1979.
- ŽUFFA, A. — FEKETEÓVÁ, E.: Protection of cattle vaccinated with inactivated oil-adjuvant IBR-vaccine against experimental infection. *Zbl. Veter.-Med., R. B*, 27, 1980, s. 725-733.
- ŽUFFA, A. — ŽUFFA, T. — ZAJAC, J.: Study of immunity induced by the inactivated oil-adjuvant vaccine after natural infection in cattle. *Zbl. Veter.-Med., R. B*, in press, 1985.
- ŽUFFA, A. — BRÁNYIK, A. — ČERNÍK, K. — SALAJ, J.: Protection against experimental infection of calves vaccinated intranasally by three attenuated strains of IBR virus. *Zbl. Veter.-Med., R. B*, 29, 1982, s. 413-425.

Došlo dňa 31. 7. 1983

ЖУФФА, А. — ЗАЯЦ, Я. — ЖУФФА, Т. (Научно-исследовательский и экспериментальный объект Биоветы, нац. пр. Нитра): Сравнение иммунного действия поединичной и вирусной инактивированной масляной вакцины против заразного ринотрахеита крупного рогатого скота. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986 (4) : 209-218.

В ходе опытов на кроликах и крупном рогатом скоте сравнивали иммунное действие поединичной вакцины против заразного бовинного ринотрахеита (IBR), представляющей антигены, сепарированные солюбилизацией IBR вирусом зараженных клеток с помощью Тритона Икс-100 с масляным компонентом, с инактивированной масляной IBR-вакциной. Вакцинированные и ревакцинированные обеими вакцинами кролики в интервале 3 недель образовали нейтрализующие антитела (НА) в средних титрах с выравненными их величинами в обеих подопытных группах. Иммунизированный поединичной вакциной скот реагировал на вакцину и повторную вакцину образованием сывороточных антител повышенных титров по сравнению со скотом, которому прививали вирусную вакцину; секреторные антитела установлены лишь после повторной прививки, их величины в обеих группах выравнены. После заражения через нос вирулентным вирусом через 14 дней после ревакцинирования телятам прививали поединичную и вирусную вакцину, которые защитили их от клинического заболевания, тогда как контрольные невакцинированные заболели с признаками, характерными для IBR. Иммунизированные телята обеих групп выделяли после инъекции с секретом носа меньше вируса в более короткий срок, чем контрольные, причем интенсивность размножения и продолжительности экскреций инфекционного вируса в обеих подопытных группах одинаковы.

кролик; теленок; прививка; повторная прививка; секреторные антитела

ŽUFFA, A. — ZAJAC, J. — ŽUFFA, T. (Research and Developmental Centre of the Bioveta National Corporation, Nitra): *Comparison of the Immunizing Effectiveness of the Subunit Vaccine and Virus-Inactivated Oil Vaccine against Infectious Bovine Rhinotracheitis*. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986 (4) : 209-218.

Trials were conducted on rabbits and cattle to compare the immunizing effectiveness of the subunit vaccine against infectious bovine rhinotracheitis (IBR), representing antigens separated by the solubilization of the IBR virus-infected cells by means of Triton X-100 with oil adjuvant, with the inactivated oil IBR vaccine. The rabbits inoculated and re-vaccinated with both vaccines in an interval of three weeks produced neutralizing antibodies in medium titres, the values of these antibodies were balanced in both groups. Cattle immunized with the subunit vaccine reacted to the inoculation and re-vaccination by producing serum antibodies of higher titres, as compared with the cattle inoculated with the virus vaccine; secretory antibodies were detected only after re-vaccination and had balanced values in both test groups. After intranasal infection with the virulent virus performed after 14 days from re-vaccination, the calves inoculated with the subunit and virus vaccines were protected against clinical disease whereas the non-inoculated control calves fell ill with symptoms characteristic of IBR. The immunized animals of both experimental groups had a smaller amount of virus *p. i.* in nasal secretions and for a shorter time than the control non-inoculated calves. The intensity of multiplication and persistence of infectious virus excretion were the same in both experimental groups.

rabbit; calf; inoculation; re-vaccination; secretory antibodies

Adresa autorov:

Doc. MVDr. Alojz Žuffa, CSc., MVDr. Ján Zajac, MVDr. Tomáš Žuffa, Výskumné a vývojové pracovisko Bioveta, 949 91 Nitra

OVĚŘOVÁNÍ PROTEKČNÍCH SCHOPNOSTÍ AVIRULENTNÍ VAKCÍNY PROTI TRICHOHYTÓZE SKOTU

A. Rybníkář, J. Chumela, V. Vrzal

RYBNÍKÁŘ, A. — CHUMELA, J. — VRZAL, V. (Bioveta, n. p., Ivanovice na Haně): *Ověřování protekčích schopností avirulentní vakcíny proti trichofytóze skotu*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 219-226.

Protekční účinek živé avirulentní vakcíny proti trichofytóze skotu (výrobce Bioveta, n. p., Ivanovice na Haně) byl velmi dobrý a plně srovnatelný s dříve vyráběnou vakcínou, připravenou ze živé virulentní kultury *Trichophyton verrucosum*. U telat očkovaných těmito vakcínami se po experimentální čelení masivní dávkou virulentního kmene *Trich. verrucosum* vytvořily jen nevýrazné povrchové kožní změny, které v krátké době samovolně zmizely. U kontrolních nevakcinovaných telat vznikly po čelení rozsáhlé hluboké léze, které se rozšiřovaly do okolí. Protekční schopnosti inaktivované vakcíny připravené ozářením virulentní vakcíny Co⁶⁰ byly v porovnání s oběma živými biopreparáty výrazně slabší.

preventivní vakcinace; živá avirulentní vakcína; živá virulentní vakcína; inaktivovaná vakcína; experimentální infekce; *Trichophyton verrucosum*

Praktické zkušenosti ukázaly, že specifická imunoprofylaxe trichofytózy skotu, zavedená do široké veterinární praxe v roce 1971 sovětskými odborníky (Sarkisov, 1979), je nejúčinnějším prostředkem v boji s tímto závažným houbovým onemocněním. Po použití sovětské vakcíny TF-130 a LTF-130 v letech 1970 až 1980 byly ozdraveny rozsáhlé oblasti v SSSR a trichofytóza skotu zde byla jako epizootie likvidována (Sarkisov, 1981).

V Československu bylo po sedmileté (1976—1983) plošné vakcinaci všech nově narozených telat proti trichofytóze dosaženo jako v prvním státě na světě beznákazového stavu (Polák, 1984). Hlavní podíl na tomto významném úspěchu naší veterinární služby mělo použití vakcíny proti trichofytóze skotu lyofilizované, vyráběné v národním podniku Bioveta Ivanovice na Haně. Nevýhodou naší vakcíny, podobně jako vakcín sovětských, bylo, že obsahovaly živý, plně virulentní kmen *T. verrucosum*. S cílem zlepšit kvalitativní parametry vakcíny a především zabránit vzniku postvakcinačních komplikací u očkováných zvířat, vnášení virulentního kmene do ozdraveného chovu a zamezit ohrožení veterinárních a ošetřujících pracovníků jsme se zaměřili na potlačení virulence našeho vakcinačního kmene. Jednak byl genetickou cestou připraven avirulentní mutant, jednak byla ozářením gama-paprsky připravena vakcína inaktivovaná. V biologickém pokusu na telatech jsme ověřovali profylaktickou účinnost těchto vakcín v porovnání s původní virulentní vakcínou.

MATERIÁL A METODA

Jednoměsíční telata byla i. m. očkována dvěma profylaktickými dávkami vakcín proti trichofytóze skotu. Interval mezi první a druhou vakcinací byl 13 dnů.

Použili jsme tři druhů vakcín; byly to:

a) komerční vakcína proti trichofytóze skotu lyofilizovaná, obsahující živé mikrokonidie silně virulentního kmene *T. verrucosum* CCM F-650 (byla vyráběna v Biověť, n. p., Ivanovice na Hané do konce roku 1984);

b) inaktivovaná vakcína, připravená ozářením komerční virulentní vakcíny Co^{60} v adsorbovaném množství 2,5 Mrad, která obsahuje inaktivované mikrokonidie *T. verrucosum* CCM F-650;

c) avirulentní vakcína proti trichofytóze skotu, zavedená do poloprovozní výroby v Biověť, n. p., Ivanovice na Hané ve čtvrtém čtvrtletí roku 1984, obsahuje živé mikrokonidie avirulentního kmene *T. verrucosum*. Tento kmen byl připraven indukovanými mutacemi a selekcemi z virulentního kmene CCM F-650 pracovníky lékařské fakulty UP Olomouc. Jako mutagenu bylo použito UV-záření v subletálních dávkách.

Vakcinační dávky byly u všech použitých vakcín stejné — 8×10^6 houbových elementů aplikovaných v 2,5 cm³ pufovaného fyziologického roztoku. Každou pokusnou i kontrolní (nevakcinovanou) skupinu představovalo deset telat stejného věku.

Jeden měsíc po revakcinaci byla všechna vakcinovaná a kontrolní telata čelenžována silně virulentním kmenem *T. verrucosum*. Suspenze čelenžní kultury v celkovém množství 2×10^6 jednotek byla aplikována epikutánně do oholené, jemně skarifikované pokožky pravého boku každého telete na plochu asi 10 × 10 cm.

Pokusná telata jsme v pravidelných intervalech prohlíželi, sledovali jsme lokální kožní změny v místě inokulace čelenžní kultury *T. verrucosum*. V době ukončení pokusu, to je 31. den po čelenži, jsme odebrali vzorky šupin a chlupů z místa inokulace a kultivačně jsme je vyšetřili jejich inkubací na Sabouraudově agaru s antibiotiky při teplotě 28 °C. Telata s výskytem trichofytických změn byla léčena terapeutickými dávkami avirulentní vakcíny proti trichofytóze skotu (dávkou dvojnásobně vyšší než dávky profylaktické).

VÝSLEDKY

Dobrý protekční vliv byl zjištěn u obou vakcín obsahujících živé konidie virulentního nebo avirulentního kmene *T. verrucosum* (tab. I). Průběh experimentální infekce u telat vakcinovaných těmito vakcínami byl krátký a mírný. V místě inokulace čelenžní kultury vznikly ojedinělé suché povrchové krusty a šupiny bez tendence šířit se do okolí, které po devíti dnech od svého objevení samovolně odpadávaly a zdravá pokožka zarůstala srstí. Po 14 dnech od vzniku těchto kožních změn (24. den po čelenži) byla téměř všechna telata ze skupin vakcinovaných živými vakcínami uzdravena a místa čelenže měla zarostlá srstí. Výsledek mykologického vyšetření místa inokulace byl negativní.

Protekční vliv inaktivované vakcíny nebyl tak výrazný. V době, kdy pokus končil, se u většiny telat očkovaných touto vakcínou stále vyskytovaly trichofytické změny, které však nedosahovaly závažnosti onemocnění kontrolních kusů. Ze vzorků šupin odebraných z místa inokulace byla ojediněle izolována čelenžní kultura *T. verrucosum*.

Kontrolní neočkovaná telata onemocněla po čelenži hlubokou formou trichofytózy. Mykotické krusty často splývaly po celé ploše inokulace za vzniku až 1 cm vysoké léze s krvavou spodinou, s tendencí šířit se do okolí. Příznaky hojení nebyly patrné ani po 31. dnu od inokulace čelenžní kultury. Mikroskopicky i kultivačně byla prokázána kultura *T. verrucosum*, použitá k čelenži.

I. Protekční účinnost virulentní, inaktivované a avirulentní vakcíny proti trichofytóze skotu — The protection efficacy of virulent, inactivated and avirulent vaccines against bovine trichophytosis

Pokusná skupina	Číslo telete	Kožní mykotické změny v místě inokulace čelenžní kultury <i>Trichophyton verrucosum</i> — dny po čelenži				
		10 dnů	14 dnů	19 dnů	24 dny	31 den
Nevakcinované kontroly	1	+	++	++	++	+
	2	—	++	+++	+++	++
	3	—	+	+++	+++	+++
	4	—	—	++	+++	++
	5	+	+	+	++	+++
	6	—	+	+	++	++
	7	+	++	++	+++	+++
	8	—	+	+	++	++
	9	+	++	++	++	+++
	10	—	+	++	++	++
Vakcinace virulentní vakcínou	11	+	++	+	—	—
	12	+	++	—	—	—
	13	+	+	+	—	—
	14	+	—	—	—	—
	15	+	+	+	—	—
	16	—	—	—	—	—
	17	+	++	++	+	—
	18	—	+	—	—	—
	19	+	+	—	—	—
	20	—	+	+	—	—
Vakcinace inaktivovanou vakcínou	21	—	++	++	++	+
	22	—	—	+	+	+
	23	—	++	++	++	+
	24	+	++	+	+	—
	25	+	+	—	—	—
	26	—	—	+	++	+
	27	—	+	+	+	+
	28	—	+	—	—	—
	29	—	++	++	+	+
	30	—	+	+	+	+
Vakcinace avirulentní vakcínou	31	—	+	—	—	—
	32	—	+	+	+	—
	33	—	++	+	+	—
	34	—	+	—	—	—
	35	—	+	—	—	—
	36	—	++	+	—	—
	37	—	++	+	—	—
	38	+	+	—	—	—
	39	—	++	+	—	—
	40	+	+	+	—	—

- bez makroskopických kožních změn
 + výskyt ojedinělých trichofytických změn
 ++ 10 až 20 povrchových trichofytických ložisek
 +++ splývání ložisek v souvislé hluboké krusty

Pokusy připravit účinnou vakcínu k ochraně skotu proti trichofytóze byly provedeny již před 30 až 40 lety. Jednalo se vesměs o inaktivované přípravky, obsahující kultury dermatofytů umrtvené fyzikálními a chemickými metodami. Vakcíny byly většinou aplikovány podkožně.

Flórián aj. (1964) připravili v roce 1947 vakcínu z filtrátu kultury *T. verrucosum* inaktivované teplem. V roce 1959 byla Noskovem navržena neživá hydrolyzovaná vakcína. Kielstein a Richter (1970) připravili inaktivované hydrolyzované vakcíny z kultur *T. verrucosum* a *T. mentagrophytes*. Také další inaktivované očkovací látky, které vyvinuli Fomin a Rozumnyj (1967), Rasulev (1974) a jiní autoři, byly podobně jako již uvedené vakcíny nedostatečně účinné a nebyly zavedeny do komerční výroby.

Široké uplatnění ve veterinární praxi našla teprve vakcína TF-130 a zvláště její lyofilizovaná forma LTF-130, navržená kolektivem sovětských výzkumných pracovníků (Sarkisov aj., 1972). Vakcína obsahuje živou kulturu *T. verrucosum* a způsob aplikace je hluboko intramuskulární. Výsledky, kterých bylo dosaženo s touto vakcínou při praktickém použití v SSSR (Petrovič a Makarčenko, 1974; Garaev, 1978; Sarkisov, 1979, 1981; Vojnič, 1979 a další) a v dalších zemích (Heinrichs aj., 1977; Krdžalić aj., 1978; Aamodt aj., 1982; Pehrson a Törnquist, 1983) a také s naší vakcínou proti trichofytóze skotu lyofilizovanou v ČSSR (Jaroš, 1976; Komárek a Štros, 1979; Pavlas aj., 1979; Šaloun a Voldřich, 1979; Šišák, 1980, 1981; Otčenášek aj., 1981; Stracenská a Nedvěd, 1982; Polák, 1984; Komárek, 1985), vysokou profylaktickou a terapeutickou účinnost živých antimykotických vakcín dostatečně potvrdily.

Dobré protekční schopnosti dvou živých protitrichofytických vakcín jsme prokázali i v našem biologickém pokusu na telatech. U telat imunizovaných živými vakcínami (virulentní i avirulentní) se po experimentální čelenži vytvořily pouze nevýrazné povrchové kožní trichofytické změny, které v krátké době zcela vymizely. Tytéž čelenžní dávky přitom vyvolaly u nevakcinovaných kontrolních telat závažnou hlubokou formu onemocnění trichofytózou s dlouhodobým průběhem. Stejných výsledků jsme dosáhli i v několika předpokusech, chráněnost vakcinovaných telat před experimentálně vyvolaným onemocněním trichofytózou byla v porovnání s nevakcinovanými kontrolami vždy průkazná.

Vytvoření drobných kožních trichofytických změn u vakcinovaných telat po čelenži je možné si vysvětlit nepřiměřeně vysokou čelenžní zátěží v našich pokusech. Způsob experimentální inokulace vysokých dávek silně virulentní kultury *T. verrucosum* do skarifikací porušené pokožky totiž mnohonásobně přesahuje podmínky, při kterých dochází k přirozenému onemocnění trichofytózou. Vznik trichofytických ložisek po experimentální čelenži u telat imunizovaných vakcínou TF-130 nicméně popisují i Sarkisov aj. (1972). Denzita inokulované čelenžní kultury a metoda inokulace jsou zřejmě významným faktorem při podobných biologických pokusech.

Z našich výsledků je dále patrné, že virulenci vakcinačního kmene lze úspěšně potlačit genetickou cestou indukovanou mutací a selekcí imunogenního kmene za použití UV-záření v subletálních dávkách jako

mutagenu. Protekční schopnosti u některých avirulentních mutantů přitom zůstávají zachovány. Profylaktický účinek avirulentní vakcíny, jejíž účinnou složkou jsou živé konidie avirulentního mutantu *T. verrucosum*, byl stejný jako u vakcíny připravené z výchozího virulentního kmene.

To je v souladu s výsledky dřívějších pokusů, ve kterých jsme ověřovali imunogenní vlastnosti virulentní a avirulentní vakcíny proti trichofytóze skotu. Obě vakcíny vyvolaly po intramuskulární aplikaci v histologickém obraze svaloviny morčat změny, které se mezi sebou kvalitativně nelišily. Výrazná odezva jak leukocytární, tak i makrofagická byla přitom silnější po aplikaci avirulentní vakcíny (Hejtmánek aj., v tisku).

Dále se ukázalo, že inaktivace živé imunogenní kultury *T. verrucosum* použitou dávkou gama záření výrazně snížila její protekční schopnosti. Telata očkováná inaktivovanou vakcínou sice po experimentální infekci onemocněla mírnější formou trichofytózy než neočkované kontroly, ochranný vliv této vakcíny byl však nepoměrně slabší než u živých vakcín. Metoda inaktivace vakcinačního kmene gama-zářením, úspěšně využitá k přípravě antivirových vakcín (Dilovskí, 1973), přinesla při použití dávce stejné výsledky jako způsob inaktivace kultury *T. verrucosum* teplem, chemicky apod., ověřené výše uvedenými autory. Inaktivované vakcíny sice prokázaly určitý protekční vliv, ovšem jejich účinnost nedosahovala efektivnosti živých vakcín.

To potvrzují i výsledky, k nimž dospěli Hussin a Smith (1983), kteří připravili vakcíny z kultury *T. mentagrophytes* var. *erinacei*. Nejúčinnější byla vakcína ze živých spor, která napodobovala typ imunity vyvíjející se následkem přirozené infekce. Inaktivované vakcíny prokázaly menší aktivitu. Morčata vakcinovaná inaktivovanou vakcínou z buněčných stěn onemocněla mírnou formou trichofytózy s kratším trváním než u nevakcinovaných kontrol. Ve skupině morčat očkových inaktivovanou vakcínou z cytoplazmatického extraktu byl průběh experimentální infekce dokonce závažnější, než u kontrolních morčat.

Práce polských autorů (Wawrzkiewicz a Rzechowski, 1983; Wawrzkiewicz a Wawrzkiewicz, 1984) naopak použití inaktivovaných vakcín proti trichofytóze ve veterinární praxi doporučují. Zatímco inaktivované vakcíny připravené speciální metodou ukázaly u morčat po i. m. aplikaci velmi dobrou profylaktickou a léčebnou účinnost a silnou imunitní odpověď, živé biopreparáty (Trichovac, Bovitrichovac a další) indukovaly jen slabou imunitní reakci, třebaže cílená metoda byla nevnímavost zvířat k nakažení virulentním kmenem *T. verrucosum* prokázána. Ochranný účinek těchto inaktivovaných vakcín však nebyl dostatečně ověřen ve velkochovech skotu.

Z uvedeného literárního přehledu i z výsledků naší práce je zřejmé, že metoda imunoprofylaxe trichofytózy skotu živými vakcínami přinesla nejlepší výsledky. Důležité je zjištění, že potlačením virulence vakcinačního kmene indukovanými mutacemi lze získat avirulentní mutanty, jejichž imunogenní schopnosti nejsou proti výchozímu kmenu změněny. Široké použití avirulentní vakcíny proti trichofytóze skotu, zavedené do naší terénní veterinární praxe začátkem roku 1985, vytváří předpoklad pro to, aby se navázalo na úspěšné výsledky, kterých bylo dosaženo v boji s trichofytózou skotu v ČSSR a aby se beznákazový stav udržel i v dalším období.

Literatura

- AAMODT, O. — NAESS, B. — SANDVIK, O.: Vaccination of norwegian cattle against ringworm. Zbl. Veter.-Med., R. B, 29, 1982, s. 451-456.
- DILOVSKI, M.: Der Einfluss der ionisierenden Bestrahlung auf Tierviren. II. Die Wirkung einer subletalen Dosis von Gammastrahlen auf die Vermehrung des Aujeszky-Virus. Zbl. Veter.-Med., R. B, 20, 1973, s. 250-255.
- FLÓRIÁN, E. — NEMESÉRI, L. — LOVAS, G.: Aktiv immunizálási kísérletek borjak tarlósömöre ellen. Magy állatorv. Lap., 19, 1964, s. 529-530.
- FOMIN, A. I. — ROZUMNYJ, P. G.: O specifičeskich profilaktike i lečenii striguščego lišaja. Veterinarija (Moskva), 1967, č. 12, s. 41-42.
- GARAEV, I. M.: Mery po likvidacii trichofitii. Veterinarija (Moskva), 1978, č. 1, s. 50-52.
- HEINRICHS, B. — VERTER, W. — ROSSOW, N.: Prophylaktische und therapeutische Maßnahmen zur Bekämpfung der Trichophytie des Rindes unter besonderer Berücksichtigung industriemäßiger Produktionsmethoden. Mh. Veter.-Med., 32, 1977, s. 832-834.
- HEJTMÁNEK, M. — KOĐOUSEK, R. — WEIGL, E. — RYBNÍKÁŘ, A. — VRZAL, V. — CHUMELA, J.: Tkáňová reakce u morčat po intramuskulární aplikaci živé vakcíny proti trichofytóze. Acta Univ. Palack. Olomuc., Fac. med., v tisku.
- HUSSIN, Z. — SMITH, J. M. B.: Vaccination procedures and the infectivity of dermatophyte lesions. Mycopath., 81, 1983, s. 71-76.
- JAROŠ, J.: Zkušenosti s tlumením trichofytózy ve VKT Trutnov. Veterinářství, 26, 1976, s. 256.
- KIELSTEIN, P. — RICHTER, W.: Versuche zur Immunoprophylaxe der Rindertrichophytie. Arch. exp. Veter.-Med., 24, 1970, s. 1205-1218.
- KOMÁREK, J.: Trichofytóza skotu. Veterinářství, 35, 1985, s. 291.
- KOMÁREK, J. — ŠTROS, K.: Zkušenosti s vakcinací skotu proti trichofytóze v ČSR v letech 1976—1978. Veterinářství, 29, 1979, s. 540-541.
- KRDŽALIĆ, P. — STOJICEVIĆ, S. — BRESNAJAC, D.: Praktične mogućnosti imunoprotekcijske trihoficije goveda u industrijskom uzgoju. Veter. Glas., 32, 1978, s. 343-349.
- NOSKOV, A. I.: Fungal antigen for treatment of ringworm in cattle. Tr. Vsesojuz. nauč.-issled. Inst. veter. Sanit. Ektoparazit., 14, 1959, s. 86-88.
- OTČENÁŠEK, M. — ŠTROS, K. — KOMÁREK, J. — TOMŠÍKOVÁ, A. — RAŠKOVÁ, H. — HAMÁČEK, F.: Zkušenosti s vakcinací skotu proti trichofytóze při prevenci a tlumení dermatofytických zoonóz. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 193-202.
- PAVLAS, M. — WILLOMITZER, J. — MRVA, V. — PATLOKOVÁ, V. — PROCHÁZKA, F.: Preventivní a léčebná účinnost vakcíny proti trichofytóze u skotu. Veter. Med. (Praha), 24, 1979, s. 209-216.
- PEHRSON, B. — TÖRNQUIST, M.: Försök med vaccination mot ringworm hos nötkreatur i mjölkproducerande besättningar. Sven. Veter., 35, 1983, s. 569-571.
- PETROVIĆ, S. V. — MAKARČENKO, V. A.: Terapevtičeskaja effektivnost preparata TF-130. Veterinarija (Moskva), 1974, č. 1, s. 50-52.
- POLÁK, L.: Utlumení trichofytózy skotu zavazuje k další náročné ochraně zdraví zvířat. Veterinářství, 34, 1984, s. 49-51.
- RASULEV, S. T.: Izučenie imuniteta pri trichofitii krupnogo rogatogo skota. Veterinarija (Moskva), 1974, č. 1, s. 54-56.
- SARKISOV, A. CH.: Specifičeskaja profilaktika trichofitii krupnogo rogatogo skota. Veterinarija (Moskva), 1979, č. 1, s. 40-41.
- SARKISOV, A. CH.: Dermatomikozy životnyh i sovremennye sredstva ich profilaktiki. Bjull. Vsesojuz. nauč. issl. Inst. eksp. Veter., 42, 1981, s. 3-10.
- SARKISOV, A. CH. — PETROVIĆ, S. V. — NIKIFOROV, I. I. — JABLOČNIK, L. M.: Specifičeskaja profilaktika striguščego lišaja krupnogo rogatogo skota. Bjull. Vsesojuz. Ord. Lenina eksper. Veter., 12, 1972, s. 9-14.
- STRACENSKÁ, H. — NEDVĚD, M.: Problém trichofýcie (*Trichophyton verrucosum* Bodin, 1902) ako antropozoonózy v okrese Svidník. Českoslov. Dermatol., 57, 1982, s. 177-181.

SALOUN, V. — VOLDŘICH, J.: Zkušnosti s použitím vakcíny proti trichofytóze skotu v okrese Domažlice. Veterinářství, 29, 1979, s. 175-176.

SÍŠÁK, M.: Trichofytóza skotu — zkušenosti se specifickou imunoprophylaxi a imunoterapií v ČSSR. Veterinářství, 30, 1980, s. 396-398.

SÍŠÁK, M.: Trichofytóza skotu v ČSSR — po 5 letech od zavedení plošné specifické imunoprophylaxe. Veterinářství, 31, 1981, s. 536-537.

VOJNÍČ, I. G.: Mery borby s trichofitijí krupnogo rogatogo skota. Veterinarija (Moskva), 1979, č. 4, s. 33-34.

WAWRZKIEWICZ, K. — RZECZOWSKI, T.: Szczepionki w leczeniu i zapobieganiu grzybicy skórnej świńek morskich. Med. wet., 39, 1983, s. 72-75.

WAWRZKIEWICZ, K. — WAWRZKIEWICZ, J.: Ocena właściwości immunogennych szczepionek żywych i inaktywowanej przeciwko trychofitozie bydła. Med. wet., 40, 1984, s. 33-36.

Došlo dne 9. 9. 1985

РЫБНИКАРЖ, А. — ХУМЕЛА, Й. — ВРЗАЛ, В. (Биовета, нац. пр. Ивановице-на-Гане): Испытание защитных свойств авирулентной вакцины против трихофитоза крупного рогатого скота. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 219-226.

Защитное действие живой авирулентной вакцины против трихофитоза скота (продукт Биовета, нац. пр. Ивановице-на-Гане) оказалось весьма удовлетворительным и полностью сопоставимым с ранее изготавливаемой вакциной из живой вирулентной культуры *Trichophyton verrucosum*. У привитых этими вакцинами телят после экспериментального заражения массивной дозой вирулентного штамма *T. verrucosum* образовались слабые изменения на поверхности кожи, которые в короткий срок сами исчезли. У невакцинированных же контрольных телят после заражения появились обширные глубокие повреждения, которые распространялись и на близкие партия. Протективные свойства инактивированной вакцины, приготовленной путем облучения вирулентной вакцины Co^{60} , гораздо слабее, чем у обоих живых биопрепаратов.

профилактическая прививка; живая авирулентная вакцина; живая вирулентная вакцина; инактивированная вакцина; экспериментальное заражение; *Trichophyton verrucosum*

RYBNIKÁŘ, A. — CHUMELA, J. — VRZAL, V. (Biovet, National Corporation, Ivanovice na Hané): Testing the Protection Effects of Avirulent Vaccine against Bovine Trichophytosis. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 219-226.

The protective action of live avirulent vaccine against bovine trichophytosis, produced by the Biovet National Corporation at Ivanovice na Hané, was very good and fully comparable with the earlier vaccine produced from the virulent live culture of *Trichophyton verrucosum*. Experimental challenge with a massive dose of a virulent strain of *T. verrucosum* produced only minor surface dermal changes in the calves vaccinated with these vaccines, but these changes spontaneously disappeared in a short time. In the control non-vaccinated calves, large and deep lesions were induced by the challenge, spreading to the neighbouring tissues. Compared with both live biopreparations, the protective effect of inactivated vaccine prepared by the irradiation of virulent vaccine with Co^{60} was much lower.

preventive vaccination; live avirulent vaccine; live virulent vaccine; inactivated vaccine; experimental infection; *Trichophyton verrucosum*

RYBNIKÁŘ, A. — CHUMELA, J. — VRZAL, V. (Biovet, volkseigener Betrieb, Ivanovice na Hané): Testung von Schutzfähigkeiten der avirulenten Vakzine gegen Trichophytose der Rinder. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 219-226.

Die Schutzfähigkeit der lebendigen avirulenten Vakzine gegen die Trichophytose der Rinder (Hersteller Biovet, volkseigener Betrieb, Ivanovice na Hané) erwies sich als sehr gut und mit der vordem erzeugten, aus lebendiger virulenter Kultur von *Trichophyton verrucosum* zubereiteten Vakzine voll vergleichbar. Bei den mit

diesen Vakzinen geimpften Kälbern bildeten sich nach Experimentalchallenge durch eine massive Dosis des virulenten Stammes *T. verrucosum* nur unwesentliche oberflächige Hautveränderungen, die in kurzer Zeit von selbst verschwanden. Bei den nicht vakzinieren Kontrollkälbern entstanden nach der Challenge ausgedehnte tiefe Läsionen, die sich in die Umgebung ausbreiteten. Die Schutzfähigkeiten der inaktivierten, durch Bestrahlung der virulenten Vakzine Co⁶⁰ zubereiteten Vakzine waren im Vergleich mit den beiden lebendigen Biopräparaten wesentlich schwächer. Präventivvakzinierung; lebendige avirulente Vakzine; lebendige virulente Vakzine; inaktivierte Vakzine; experimentelle Infektion; *Trichophyton verrucosum*

Adresa autorů:

RNDr. Alois Rybníkář, MVDr. Josef Chumela, MVDr. Vladimír Vrzal,
Bioveta, n. p., Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané

VLIV OESTROPHANU SPOFA (SYNTETICKÉHO ANALOGU PROSTAGLANDINU F₂ALFA) PŘIDANÉHO DO INSEMINAČNÍ DÁVKY NA BŘEZOST A PLODNOST PRASNIC

J. Kozumplík, J. Martinek

KOZUMPLÍK, J. — MARTINEK, J. (Vysoká škola veterinární, Brno; Okresní veterinární zařízení, Blansko): *Vliv Oestrophanu Spofa (syntetického analogu prostaglandinu F₂alfa) přidaného do inseminační dávky na březost a plodnost prasnic*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 227-232.

V laboratorních pokusech byl zkoumán vliv různé koncentrace cloprostenolu na motilitu a morfologické změny akrozomů spermií kance. Bylo stanoveno, že koncentrace 250 ng. ml⁻¹ semene až 2500 ng. ml⁻¹ ředěného semene negativně neovlivňuje ani motilitu spermií, ani morfologické změny akrozomů spermií. Koncentrace 5000 ng cloprostenolu v preparátu Oestrophan Spofa na 1 ml ředěného semene negativně ovlivňuje motilitu spermií. Po aplikaci 500 ng cloprostenolu do inseminační dávky (100 ml ředěného semene) bylo osemeno 152 prasnic; 166 prasnic stejného zemědělského závodu, inseminovaných bez přidání cloprostenolu, sloužilo jako kontroly. Zvířata, která dosud nerodila, nebyla do pokusu zařazena. Ze 152 pokusných prasnic zabřezlo po první inseminaci 113, tj. 74,35 %, a na jeden vrh bylo získáno 10,04 selat. V kontrolní skupině porodilo ze 166 inseminovaných prasnic 125, tj. 75,30 %, a na jeden vrh připadlo 9,96 selat. Na základě srovnání hodnocených ukazatelů reprodukce pokusné a kontrolní skupiny prasnic je možné říci, že aplikace 500 ng cloprostenolu do inseminační dávky bezprostředně před inseminací neovlivnila ani procento březosti, ani počty selat na vrh.

cloprostenol; semeno kance; fertilizační schopnost

Na základě studií chemické skladby a biologické účinnosti spermatu různých plemenů hospodářských zvířat bylo stanoveno, že v ejakulátu jsou různé farmakologicky účinné látky. Předpokládá se, že některé z nich se podílejí na regulaci pohlavní činnosti samců (Niwa a Hashizume, 1978), ovlivňují funkce spermiogenetického i vývodného epitelu (Setchel, 1979), mohou však ovlivňovat i funkce pohlavních orgánů samic, a tím i proces oplození (Grünberger aj., 1981). Při hodnocení biologické aktivity byly v ejakulátech stanoveny různé koncentrace steroidních hormonů, prostaglandinů i látek s gonadotropním účinkem (Řežábek a Raboch, 1963; Ganjan a Amann, 1973; Kozumplík a Vinkler, 1982 a další).

Po velmi dobrých zkušenostech s přidávkou oxytocinu, zvláště jeho depotní formy (Depotocin inj. Spofa), do inseminační dávky (Kozumplík a Šlehoferová, 1984) jsme zkoušeli i vliv přidávky syntetického analogu prostaglandinu F₂alfa ve specialitě Oestrophan Spofa na motilitu spermií, březost a plodnost prasnic.

MATERIÁL A METODA

K pokusům *in vitro* bylo použito 16 ejakulátů tří kanců ředěných ředidlem podle Sadovnikovové (1966) v poměru 1:1. Naředěný ejakulát byl rozdělen na sedm částí. Jedna část sloužila jako kontrola, do zbylých částí byl přidáván Oestrophan Spofa v koncentraci 250, 312, 625, 1250, 2500 a 5000 ng cloprostenolu na mililitr ředěného semene. Naředěné vzorky v odpovídajícím počtu zkumavek byly uloženy v teplotě 15 °C. V intervalu 24 h do 96 h byla sledována u spermií vystavených termorezistentnímu testu (38 °C) motilita a hodnoceny morfologické změny na akrozómech spermií. Na základě vyhodnocení výsledků laboratorních testů a v souladu s literárními údaji bylo do inseminační dávky těsně před inseminací přidáno 500 ng cloprostenolu v přípravku Oestrophan Spofa. K pokusům byly vzaty 152 prasnice, které měly nejméně jednou selata. 166 kontrolních prasnic bylo vybráno stejným způsobem. Prasnice byly ustájeny v jednom zemědělském závodě, takže podmínky krmení a ošetřování, způsob určování říje a technika inseminace byly shodné.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Při laboratorním posuzování vlivu cloprostenolu na biochemické vlastnosti semene bylo určováno i pH spermatu. Jak je patrné z tab. I, nebylo pH semene ovlivněno ani při jedné ze zkoušených koncentrací cloprostenolu.

Naše výsledky se v porovnání s údaji, které uvedli Schvarc a Mesároš (1985), zásadně rozcházejí. Uvedení autoři zaznamenali

I. Vliv různé koncentrace cloprostenolu na motilitu a morfologické změny akrozómu spermií v průběhu termorezistentního testu (38 °C) — The effect of cloprostenol concentrations on the motility and morphological changes of the acrosomes of spermatozoa during the thermoresistance test (38 °C)

Koncentrace cloprostenolu ng. ml ⁻¹ semene	pH	Motilita spermií (v %)			Neporušený akrozóm (v %)			n
		ihned	2 h	6 h	ihned	2 h	6 h	
5000	6,80 ± 0,10	89,37 ± 2,50	67,50 ± 9,31	37,50 ± 13,90	96,68 ± 1,77	94,12 ± 3,13	89,43 ± 4,17	16
2500	6,88 ± 0,10	89,37 ± 2,50	69,37 ± 7,72	40,31 ± 13,22	96,56 ± 2,44	94,12 ± 3,36	90,06 ± 3,49	
1250	6,82 ± 0,10	89,37 ± 2,50	68,37 ± 8,11	41,33 ± 13,16	96,50 ± 2,39	94,00 ± 2,58	89,40 ± 3,33	
625	6,83 ± 0,10	89,37 ± 2,50	69,69 ± 8,46	42,50 ± 13,16	96,50 ± 1,26	94,37 ± 2,39	90,43 ± 2,75	
312	6,83 ± 0,10	89,37 ± 2,50	69,69 ± 8,05	45,62 ± 13,02	96,68 ± 2,35	93,56 ± 4,33	89,31 ± 4,33	
250	6,83 ± 0,11	89,37 ± 2,50	70,94 ± 7,35	45,25 ± 11,90	96,00 ± 3,79	93,25 ± 5,13	89,75 ± 4,21	
Kontrola	6,86 ± 0,11	89,37 ± 2,50	72,50 ± 5,16	45,94 ± 10,99	97,50 ± 1,03	94,18 ± 4,24	89,75 ± 5,28	

značné zvýšení kyselosti semene po přidání cloprostenolu. Rozdílné výsledky je možné vysvětlit tím, že ředidlo podle Sadovnikovové (1966) má pravděpodobně lepší pufrovací schopnost než ředidlo používané k mrazení semene býka, a dále tím, že Schvarc a Mesároš (1985) použili i vyšší koncentrace cloprostenolu. Vysoká kyselost semene pak mohla být příčinou toho, že se motilita spermií snížila až zastavila. V našich pokusech při hodnocení motility spermií v průběhu termorezistentního testu byl negativní účinek cloprostenolu pozorován, až když se jeho koncentrace zvýšila na $5000 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ semene. pH semen se ani v tomto případě proti kontrole výrazněji nezměnilo. Po šesti-hodinovém testování však byla motilita spermií statisticky významně nižší ($P < 0,05$). Srovnáme-li výsledky našich pokusů s údaji jiných autorů, pak je možné konstatovat, že v některých případech je uváděn pozitivní vliv cloprostenolu na motilitu spermií (Zagorsky aj., 1979; Looney a Godke, 1980; Gamčík aj., 1982). Naproti tomu Guillory aj. (1979) zdůrazňují, že nebyl zjištěn statisticky významný efekt 10 až $5000 \mu\text{g}$ PGF₂alfa, i když se tímto ošetřením semene přezítelnost spermií poněkud prodloužila (Abbit aj., 1977). Nepříznivé působení vyšších dávek cloprostenolu na motilitu spermií zaznamenali shodně s námi i Čeřovský a Vinter (1985).

Rozdílný vliv cloprostenolu na motilitu spermií jednotlivých druhů hospodářských zvířat může být vysvětlován i tím, že běžná koncentrace PGF₂alfa je v ejakulátech různých druhů značně rozdílná. Nejbohatší koncentrace PGF₂alfa jsou zjišťovány v ejakulátu beranů, zatímco v seminální plazmě kance byl zjištěn $1,00 \pm 0,32 \text{ ng}$ PGF₂alfa $\cdot \text{ml}^{-1}$ (Niwa a Hashizume, 1978). Proto jsme do 100 ml inseminační dávky aplikovali 500 ng cloprostenolu, což odpovídá asi koncentraci PGF₂alfa v celém, neděleném ejakulátu kance.

Při hodnocení účinku cloprostenolu na morfologii spermií (tab. I) bylo zjištěno, že námi zkoušené koncentrace Oestrophanu Spofa neměly ani v jednom případě nepříznivý vliv na morfologii akrozomů spermií. Menon aj. (1980) zaznamenali negativní působení prostaglandinu F₂alfa na morfologii spermií až do koncentrace $600 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ semene berana, což jsou dávky značně vysoké a s našimi pokusy nesrovnatelné. Čeřovský a Vinter (1985) zjistili, že s růstem koncentrace cloprostenolu klesá aktivita intracelulární AST, což svědčí o poruchách permeability povrchových membrán spermií. Tento jev pozorovali u koncentrací vyšších než 1000 ng cloprostenolu na ml ředěného semene.

Účinek prostaglandinů je třeba hodnotit nejen z hlediska jejich možného působení na spermie, ale především z hlediska jejich vlivu na samičí pohlavní orgány, kam se s ejakulátem dostávají. V této souvislosti je popisováno jejich působení na děložní motoriku a na ovlivňování rychlosti průchodu spermií pohlavním traktem (Edquist aj., 1975; Blair a Beck, 1977). Ředění a následné dělení ejakulátů a zvláště mrazení semene snižuje koncentraci prostaglandinů v inseminační dávce, a tím znemožňuje předpokládané působení těchto látek (Žilcov aj., 1974; Gamčík aj., 1982).

Z výsledků našich pokusů s přidáváním 500 ng cloprostenolu do inseminační dávky vyplývá, že námi zkoušená koncentrace cloprostenolu neovlivnila ani březost, ani plodnost prasnic (tab. II). Ze 152 prasnic inseminovaných s přídatkem cloprostenolu zabřezlo 113 (74,34 %) a na vrh se narodilo v průměru 10,04 selat. U kontrolních prasnic za-

II. Vliv přidavku 500 ng cloprostenolu do inseminační dávky na březost a plodnost prasnic — The effect of a 500ng addition of cloprostenol to insemination dose on the pregnancy rate and fertility of sows

Pořadí vrhu	Skupina pokusná						Skupina kontrolní				
	prasnice			narozená selata			prasnice			narozená selata	
	insemi- nováno	zabřezlo		celkem	na vrh		insemi- nováno	zabřezlo		celkem	na vrh
	ks		‰	ks			ks		‰	ks	
2.	23	17	73,9	150	8,8		24	15	62,5	143	9,53
3.	28	17	60,7	170	10,0		23	18	78,2	182	10,10
4.	19	14	73,7	158	11,3		33	22	66,6	241	10,90
5.	29	24	82,7	256	10,7		24	19	79,2	186	9,80
6.	13	11	84,6	115	10,5		14	10	71,4	104	10,40
7.	7	2	28,6	18	9,0		10	8	80,0	80	10,00
8.	8	8	100,0	86	10,7		8	6	75,0	57	9,50
9.	5	4	80,0	46	11,5		12	12	100,0	123	10,70
10.	9	8	88,8	69	8,6		4	2	50,0	17	8,50
11.	8	5	62,5	42	8,2		12	11	91,7	86	7,80
12.	3	3	100,0	25	8,3		2	2	100,0	21	10,50
Celkem	152	113	74,34	1135	10,04		166	125	75,30	1245	9,96

březlo po první inseminaci ze 166 zvířat 125 (75,3 %) a na vrh připadlo v průměru 9,96 selat. Ze srovnání uvedených ukazatelů reprodukce vyplývá, že přidáním cloprostenolu do inseminační dávky se neovlivnila ani úroveň plodnosti, ani procento březosti po první inseminaci. Obdobné výsledky, ale s podstatně vyššími koncentracemi cloprostenolu, zaznamenali Vinter a Čeřovský (1985), zatímco Vejnar (1982) hodnotil efekt přidavku cloprostenolu příznivě. Lepší výsledky v zabřezávání jsou uváděny po přidání prostaglandinů do rozmrazeného semene berana (Gustafsson aj., 1975; Gamčík, 1981), stejně jako do rozmrazeného semene býka (Zagorski aj., 1979). Z hodnocení publikovaných výsledků vyplývá, že kromě pokusů, ve kterých jejich autoři přidávali cloprostenol do inseminační dávky přežvýkavců, se příznivý efekt této látky v semeni kanců neprojevil jednoznačně. V našich pokusech jsme volili koncentraci cloprostenolu, která zhruba odpovídá koncentraci PGF₂alfa v celém a neděleném ejakulátu kance. Vinter a Čeřovský (1985) dávali asi tutéž koncentraci, ale na mililitr ředěného semene. Pouze Vejnar (1982) zvolil ještě vyšší koncentrace (0,25 až 2,0 ml Oestrophanu Spofa) a zaznamenal výsledky příznivější než u kontrolních inseminací.

Z nejednotných výsledků prací pojednávajících o působnosti prostaglandinů jako implementorů vyplývá, že biologická aktivita těchto látek se uplatňuje v inseminační dávce převážně u těch druhů zvířat, v jejichž ejakulátech jsou prostaglandiny v relativně velkém množství, ale jejich působnost je ředěním, dělením a mrazením spermatu snížena.

Pro výraznější uplatnění funkce implementorů v inseminačních dávkách bude nutné vyřešit i úlohu dalších biologicky aktivních složek ejakulátu, včetně jejich kombinací, které se mohou v působnosti na pohlavní orgány doplňovat nebo podporovat.

Literatura

- ABBIT, B. — SEIDEL, G. E. jr. — BERNDTSON, W. E.: Effect of tris (Hydroxymethyl) aminomethane salt of prostaglandin F₂alpha on the post-thaw motility of bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.*, 60, 1977, č. 12, s. 1991-1993.
- BLAIR, W. D. — BECK, L. R.: *In vivo* effects of prostaglandin F₂alpha and E₂ on contractibility and diameter of the rabbit oviduct using intraluminal transducers. *Biol. Reprod.*, 16, 1977, s. 122-127.
- ČEROVSKÝ, J. — VINTER, P.: Vliv syntetického analogu PGF₂alpha — Oestrophanu Spofa — na spermie kance v ředěném krátkodobě konzervovaném spermatu. *Živoč. Vyr.*, 30, 1985, č. 3, s. 237-244.
- EDQUIST, S. — EINARSSON, S. — GUSTAFSSON, B.: Effect of prostaglandin F₂alpha on spermitransport in the reproductive tract of the ewe. *Acta veter. scand.*, 16, 1975, s. 149-153.
- GAMČÍK, P.: Štúdium reprodukčných funkcií a porúch plodnosti oviec. [Doktorská dizertácia.] Košice 1981. 269 s. — Vysoká škola veterinárska.
- GAMČÍK, P. — SCHVARC, F. — MESÁROŠ, P.: Štúdium vplyvu analogu PGF₂alpha na niektoré vlastnosti spermií barana a na transport spermií genitáliami oviec. *Biol. a Chem. Veter.*, 3, 1982, s. 245-248.
- GANJAN, V. K. — AMANN, R. P.: Testosterone and dihydrotestosterone concentrations in the fluid milieu of spermatozoa in the reproductive tract of the bull. *Acta endocrin.*, 74, 1973, s. 186-200.
- GRÜNBERGER, W. — MAIER, U. — LUNGLMAYR, G.: Effect of prostaglandin F₂alpha on sperm motility *in vitro*. *Reprod.*, 5, 1981, s. 141-144.
- GUILLORY, B. M. — POOL, S. H. — BYRD, E. W. — GODKE, R. A.: Effect of various concentrations of prostaglandin F₂alpha (THAM) on bovine spermatozoa *in vitro*. *Theriogenology*, 11, 1979, č. 1, s. 100.
- GUSTAFSSON, B. — EDQUIST, S. — EINARSSON, S. — LINGE, F.: The fertility of deepfrozen ram semen supplemented with PGF₂alpha. *Acta veter. scand.*, 16, 1975, s. 468-470.
- KOZUMPLÍK, J. — ŠLEHOFFEROVÁ, L.: Vliv Depotocinu inj. Spofa aplikovaného do semene na procento březosti a plodnost prasnic. *Biol. a Chem. Veter.*, 2, 1984, s. 181-192.
- KOZUMPLÍK, J. — VINKLER, A.: Hladina testosteronu a 17 beta estradiolu v semenné plazmě býků a kanců. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982, č. 12, s. 715-720.
- LOONEY, C. R. — GODKE, R. A.: Influence of PGF₂alpha (THAM) and cloprostenol upon bovine spermatozoa *in vitro*. *Theriogenology*, 13, 1980, č. 1, s. 101.
- MENON, M. A. — GUSTAFSSON, B. K. — GRAHAM, E. F. — CRABO, G.: Influence of prostaglandins on acrosome morphology of ram spermatozoa. In: 9th International congress on animal reproduction and i. a. III. Symposia summaries of contributed (short) papers. Madrid 1980, s. 148.
- NIWA, T. — HASHIZUME, T.: Studies on the concentrations of prostaglandin F₂alpha in seminal plasma and on the effect of prostaglandin F₂alpha upon semen properties of boar. *Hyology 5th World I. P. V. S. Cong. and Hyoatrics, K. B. 5. Zagreb 1978.*
- ŘEŽÁBEK, K. — RABOCH, J.: Podíl androgenů na uterotrofní aktivitě lidského ejakulátu. *Ceskoslov. Gynek.*, 9, 1963, s. 610-612.
- SADOVNIKOVA, M. T.: Chranenija semeni chrjakov bez chladoagentov. *Svinovodstvo*, 5, 1966, s. 28-31.
- SETCHELL, B. P.: The actions of androgens. *Res. Reprod.*, 11, 1979, č. 5.
- SCHVARC, F. — MESÁROŠ, P.: Vplyv PGF₂alpha na kvalitu inseminačnej dávky pri hovädzom dobytku. In: Seminár k problematike riadenej reprodukcie hospodárskych zvierat. Košice 1985.
- STOJANOV, T. — ZAGORSKI, D. — MAKAROV, M.: Ispolzovanie „Enzaprost F“ v srede dlja ottaivanie semeni barana. In: Sbor. Ref. Meždunarodnyi simpozium po kriokonservacii semeni barana i chrjaka, 14.—15. 10. 1982 — Varna. *Bolg. Akad. Nauk. Sofija* 1984, s. 55-62.
- VEJNAR, J.: Zkušenosti z aplikace biotechnických metod v reprodukci prasnic. In: Sbor. Ref. ČSVTS, Kostelec nad Orli., VÚCHP 1982, s. 66-73.

VINTER, P. — ČEŘOVSKÝ, J.: Zdokonalení inseminační dávky zásahy biologického charakteru. [Závěrečná zpráva etapy.] Kostelec nad Orlicí, VÚCHP 1985.
ZAGORSKI, D. — SAVOO, A. — STOJANOV, T.: Effect of the prostaglandin analogue Enzaprost F (PGF₂alpha) on bull spermatozoa stored at -196 °C. In: XXI. World veterinary Congr. Moskva 1979. Summaries, 5, s. 137.
ŽILCOV, N. Z. — GOLUB, V. S. — VARNAVSKAJA, V. A. a kol.: O možnosti priměnění prostaglandinů dle zvýšení účinnosti zkušenostmi oseměnění ovcí. Živočišná výroba, 1974, č. 8, s. 67-70.

Došlo dne 9. 8. 1985

КОЗУМПЛИК, Я. — МАРТИНЕК, Й. (Институт ветеринарии, Брно; Областное ветеринарное управление, Бланско): Влияние Эстрофана Споса (синтетического аналога простагландина F₂ альфа), добавляемого в осеменительную дозу, на супоросность и плодovitost свиноматок. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 227-232.

В ходе лабораторных опытов определяли влияние разной концентрации клопростенола на подвижность и морфологические изменения акрозом живчиков хряков. Как установлено, концентрация 250—2500 нг. мл⁻¹ разбавленного семени не ухудшает ни подвижности живчиков, ни морфологии акрозом спермиев. Концентрация же 5000 нг клопростенола в препарате Эстрофан Споса/мл разбавл. семени уже влияет на подвижность живчиков. В результате введения 500 нг клопростенола в осеменительную дозу (100 мл разбавл. семени) осеменили 152 свинок; 166 свиноматок того же хозяйства, осемененных без добавки клопростенола, служили контролем. Не поросившиеся до сих пор свиньи в опыт не входили. Из 152 подопытных свинок зачали после первого осеменения 113, т. е. 74,35 %, и с одного помета получили по 10,04 поросенка в среднем. В контрольной группе из 166 осемененных маток опоросились 125, т. е. 75,30 %, на помет пришлось по 9,96 поросенка. На основе сравнения оцениваемых показателей воспроизводства в обеих группах можно сделать вывод, что введение 500 нг клопростенола в осеменительную дозу перед самим осеменением не влияет ни на процент зачатия, ни на количество поросят с помета.

клопростенол; семя хряка; оплодотворительная способность

KOZUMPLÍK, J. — MARTINEK, J. (University of Veterinary Medicine, Brno; District Veterinary Station, Blansko): The Effect of Oestrophon Spofa (Synthetic Analogue of Prostaglandin F₂ alpha) in an Insemination Dose on the Pregnancy Rate of Sows and their Litter Size. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 227-232.

Laboratory trials were conducted to study the effect of various concentrations of cloprostenol on the motility and morphological changes of the acrosomes of boar spermatozoa. As found, a cloprostenol concentration of 250 ng per ml of semen to 2500 ng per ml of diluted semen has no adverse effect on the motility of spermatozoa and on the morphological changes of their acrosomes. The concentration of 5000 ng of cloprostenol (in the Oestrophon Spofa product) per 1 ml of diluted semen negatively influences the motility of spermatozoa. An insemination dose of 100 ml of diluted sperm treated with 500 ng of cloprostenol was used for the artificial insemination of 152 sows; 166 sows of the same farm inseminated with untreated semen were used as controls. No gilts were included in the trial. Out of the 152 test sows, 113 conceived after the first insemination, i. e. 74.35 %, and the average litter size was 10.04 piglets. In the control group, 125 sows delivered their litters, i. e. 75.30 % of the total number, the average litter size being 9.96 piglets. Comparing the reproduction parameters of the experimental and control groups it can be said that the treatment of an insemination dose with 500 ng of cloprostenol immediately before insemination had no influence on the pregnancy rate and on the size of litters.

cloprostenol; boar semen; fertilizing ability

Adresy autorů:

Prof. MVDr. Jaroslav Kozumplík, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. Josef Martinek, Okresní veterinární zařízení, 678 01 Blansko

FYZIKÁLNÍ, CHEMICKÉ A BIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ PRACHU Z VELKOVÝKRMEN PRASAT

J. Raszyk a kol.

RASZYK, J. a kol. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Fyzikální, chemické a biologické vyšetření prachu z velkovýkrmen prasat*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 233-244.

Byl analyzován sedimentovaný prach ze 16 hal dvou velkovýkrmen prasat se suchým a vlhkým typem krmení. V halách s vlhkým krmením bylo zjištěno maximálně 28 prachových částic do velikosti 10 μm a 17 částic do 5 μm v cm^3 vzduchu, v halách se suchým krmením pak 220 částic do 10 μm a 205 částic do 5 μm v cm^3 vzduchu. Celkový obsah aminokyselin v sedimentovaném prachu činil $17,440 \pm 1,820$ g ve 100 g vzorku a obsah dusíkatých látek ($\text{N} \times 6,25$ v %) $24,170 \pm 2,910$. Obsah chemických prvků byl tento ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$): zinek 448 ± 151 ; mangan $109,9 \pm 49,5$; měď $40,5 \pm 12,1$; olovo $4,77 \pm 4,79$; chrom $1,64 \pm 1,47$; kadmium $1,61 \pm 1,62$; rtuť $0,36 \pm 0,39$. Obsah chlоровaných uhlovodíků a herbicidů triazinové a diazinové řady činil ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$): HCB $0,0023 \pm 0,0021$; Lindan $0,0058 \pm 0,0079$; DDE $0,0048 \pm 0,0024$; DDT $0,0065 \pm 0,0015$; Simazin $0,060 \pm 0,020$; Atrazin $0,083 \pm 0,059$; Prometryn $0,093 \pm 0,040$; Chloridazon $0,036 \pm 0,008$; Terbutryn $0,085 \pm 0,029$. Obsah aflatoxinu B₁ činil $12,89 \pm 9,31$ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ a maximálně stanovené množství polychlоровaných bifenyly bylo 8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Pouze v prachu ve dvou halách byl určován Nitrovin: $4,0$ a $7,9$ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. V sedimentovaném prachu bylo dále určeno 21 rodů a druhů plísní, šest druhů roztočů, četné saprofytické bakterie a příležitostně i *Staphylococcus aureus*. Viry jsme zatím v prachu neprokázali.

sedimentovaný prach; aminokyseliny; dusíkaté látky; chemické prvky; pesticidy; aflatoxin B₁; polychlоровané bifenyly; plísně; roztoči; bakterie

Ve velkovýkrmnách prasat představuje prach faktor vnějšího prostředí, který poutá stále větší zájem pracovníků veterinární i humánní medicíny (Fišer, 1976; Škrdlík a Marek, 1981). Dosud byla hlavní pozornost věnována tomu, že se zjišťovalo množství prachu v objemové jednotce vzduchu výkrmen prasat, ať již bylo toto množství stanovováno gravimetricky [tj. hmotnostně, mg v m^3] či konimetricky [tj. číselně, počet prachových částic do 10 μm v cm^3] (Fišer a Klepal, 1975; Lankašová a Staněk, 1976; Oppl, 1980; Hájek a Zářecký, 1981; Nilsson, 1983), nebo se zjišťoval prašný spad ve výkrmnách prasat v gramech na m^2 za 28 dní (Doskočil, 1977; Marsa, 1984).

O chemickém a biologickém složení prachu z výkrmen prasat jsme v literatuře našli pouze velmi obecné či dílčí údaje (Curtis aj., 1975a, b; Fišer, 1978; Tačeva, 1978; Berka, 1979; Hájek a Zářecký, 1981; Škrdlík a Marek, 1981).

Stájový prach ovlivňuje zdravotní stav výkrmenových prasat i jejich ošetřovatelů svým komplexním účinkem mechanickým, chemickým,

alergizujícím a infekčním (Tačeva, 1978). Může způsobovat kožní choroby, konjunktivitidy, faringitidy, bronchitidy, pneumonie, popřípadě může navozovat rozmanité alergické stavy (Vyskočil a Lejhanová, 1974; Vyskočil aj., 1975; Fišer, 1978; Tačeva, 1978; Berka, 1979; Vyskočil aj., 1980; Nilsson, 1983). Kromě přímých negativních účinků stájového prachu jsou významné i jeho účinky nepřímé (pozdní), vznikající jako důsledek kumulace reziduí škodlivin v organismu po jejich vstřebání.

Cílem práce bylo zhodnotit stájové mikroklima, stanovit počet prachových částic do $5\text{ }\mu\text{m}$ a $10\text{ }\mu\text{m}$ v cm^3 vzduchu velkovýkrmen prasat a ve vzorcích sedimentovaného prachu odebraného z vnitřního zařízení velkovýkrmen stanovit látkové koncentrace jednotlivých aminokyselin, dusíkatých látek, chemických prvků, látek pesticidního charakteru, polychlorovaných bifenylů, aflatoxinu B₁ a neantibiotického stimulatoru růstu prasat Nitrovinu. Dále jsme chtěli vyšetřit sedimentovaný prach na obsah houbovitých mikroorganismů, roztočů, bakterií a virů.

MATERIÁL A METODY

Vzorky prachu byly v průběhu jednoho roku odebírány ve dvou velkovýkrmenách, které jsou od sebe vzdáleny vzdušnou čarou 3 km.

Ve velkovýkrmně D. bylo ambulantně vyšetřeno mikroklima v sedmi výkrmových halách a v jedné hale registračního sledování. Ve velkovýkrmně M. bylo mikroklima vyšetřeno pouze ambulantně ve třech výkrmových halách. Ambulantně byly měřeny teplota a relativní vlhkost (Assmanovým aspiračním psychrometrem), rychlost proudění vzduchu (Hillovým katateploměrem), obsah plynů oxidu uhličitého, amoniaku a sirovodíku (detekčními trubičkami fy Labora s nasávacím zařízením Universal) a prašnost vzduchu (konimetrem fy VEB Carl Zeiss, Jena). Registračně byla sledována relativní vlhkost a teplota pomocí termohygrografu fy Metra. Jednotlivé parametry stájového mikroklimatu byly hodnoceny podle ON 73 4517 (1977).

Dále jsme podrobně vyšetřovali průměrné vzorky sedimentovaného prachu, odebraného ze 16 výkrmových hal. Ve velkovýkrmně D. bylo vyšetřeno 12 výkrmových hal. Prach byl odebírán na stropních svítidlech umístěných nad kotel, pro akarologické vyšetření i z povrchu dopravníku krmiva. Ve velkovýkrmně M. byly vyšetřeny čtyři výkrmové haly, prach byl odebírán ze zábradlí kotců umístěných nad koryty. Zpočátku jsme prach získávali ometáním odběrových míst smetáčkem, později jsme používali elektrický vysavač. Získaný prach jsme přesívali přes síto o velikosti hrany oka $0,7\text{ mm}$. Částice prachu větší než $0,7\text{ mm}$ tvořily průměrně 15 % z celkového množství odebraného prachu.

Obsah aminokyselin v prachu z výkrmových hal byl stanoven na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 881 (Mikrotechna, Praha). Kvantitativní vyhodnocení bylo prováděno metodou vnitřního standardu (Nápravník, 1976). Dusíkaté látky byly stanoveny na přístroji KJEL-FOSS-AUTOMATIC (výrobce N. Foss Electric, Dánsko) na principu Kjeldahlovy metody stanovení dusíku, resp. proteinů (Montag, 1974).

Vyšetřované vzorky prachu byly analyzovány na obsah chemických prvků — kadmia, manganu, mědi, olova, zinku a chromu. Vzorky byly zpopelněny s přidávkou dusičnanu hořečnatého při teplotě do $480\text{ }^{\circ}\text{C}$, popel byl rozpuštěn ve zředěné kyselině dusičné a obsah uvedených prvků byl stanoven na atomovém absorpčním spektrofotometru fy Perkin-Elmer, model 4000, plamenovou technikou metodou standardního přidávku a obsah chromu na téměř přístroji technikou elektrotermické atomizace. Obsah rtuti byl stanoven na analyzátoru-stopových množství rtuti, sestaveném ve Výzkumném ústavu veterinárního lékařství v Brně na základě technických údajů poskytnutých z Výzkumného ústavu pro hnědé uhlí v Mostě. Obsah jednotlivých chemických prvků ve sledovaných vzorcích je uváděn v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ nativního materiálu, pouze obsah rtuti je uváděn v sušině.

Rezidua chlorovaných uhlovodíků byla stanovena modifikovanou metodou podle Hrušky a Kociánové (1975) na plynovém chromatografu Varian 2 740

s detektorem elektronového záchytu. Rezidua herbicidů na bázi triazinů a diazinů byla určena chromatografií na tenkých vrstvách silikagelu s chemickou detekcí o-tolidinem (G a j d ů š k o v á, 1982). Polychlorované bifenyly byly stanoveny metodou plynové chromatografie na chromatografu Varian 2 740 s detektorem elektronového záchytu (V á v r o v á, 1984).

Vzorky prachu na přítomnost aflatoxinu B₁ byly vyšetřovány modifikovaným Ria testem pomocí setů a návodů na použití soupravy RIA-test-AFLA-B₁, výrobce Ústav radioekologie a využití jadrové techniky, Košice. Obsah Nitrovinu se stanovil polarografií (DPP) po předchozí separaci Nitrovinu chromatografií na tenké vrstvě silikagelu (metodika Ústavu pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv v Brně).

Vzorky prachu z výkrmových hal na přítomnost roztočů byly vyšetřeny na pracovišti Parazitologického ústavu ČSAV v Praze modifikovanou metodou podle Spieksmy a Spieksmy-Boezemana (S a m š i ň á k aj., 1974).

Při mykologickém vyšetření byl prach posouzen organolepticky (konzistence, barva, pach) na přítomnost houbových mikroorganismů. Inokulace se prováděla v Hansenově skřini na povrch ztuhlých živných půd (Sabouraudův, Czapek-Doxův a 3% sladinkový agar) vždy po dvou Petriho miskách. Houbové mikroorganismy byly určovány ve 24hodinových intervalech po dobu jednoho týdne, u vzorků inkubovaných při nižší teplotě i déle (až 14 dnů). Houbové mikroorganismy byly určovány podle makroskopického zřetelného a mikroskopického posouzení rodově — a pokud byly identifikační znaky zřetelné — i druhově.

K bakteriologickému vyšetření prachu byly použity sterilní vatové tampóny na chromniklovém drátu ve zkumavce nebo komerční tampóny s tioglykolátovým médiem Imuna. Vzorky vyšetřovaného prachu byly co nejdříve po odběru naočkovány na základní bakteriologické půdy a kultivovány 24 až 48 hodin při teplotě 37 °C. Ke zvýšení záchytu stafylokoků z kontaminovaného materiálu bylo použito selektivní půdy, což byl živný agar s 8% chloridem sodným nebo Mannitol Salt Agar fy Oxoid. Při identifikaci bakteriálních porostů se postupovalo podle standardních mikrobiologických metod (Veterinární laboratorní vyšetřovací metodiky, 1975). K diagnostice a diferenciaci stafylokoků a mikrobů bylo použito standardních laboratorních vyšetřovacích postupů (H á j e k aj., 1983).

Virologické vyšetření prachu bylo vzhledem k epizootologické situaci v obou chovech zaměřeno na izolaci viru Aujeszského choroby. Z každého vzorku prachu bylo odebráno 5 g prachu, který byl mísen s 20 ml Earlova média bez séra s přidavkem penicilinu (1000 mg . ml⁻¹), streptomycinu (500 gamma . ml⁻¹) a fungicidinu. Po roztřepání byl každý vzorek ponechán jednu hodinu při teplotě 4 °C a potom byl odstředován na chlazené centrifúze při teplotě 4 °C a 1000 × g po dobu 30 minut. Získaný supernatant byl použit k infekci buněčných kultur. Jeden mililitr supernatantu každého vzorku byl aplikován na monolayer linie králíčích ledvinových buněk RK 13, narostlých v Rouxově láhvi s objemem 100 ml. Po jednodinové adsorpci při teplotě 37 °C byla tekutina slita, monolayer třikrát propláchnut Earlovým médiem a potom byla každá láhev naplněna 15 ml Earlova média a inkubována při teplotě 37 °C. Porost byl sledován denně po dobu jednoho týdne.

Získané výsledky byly vyhodnoceny běžnými matematicko-statistickými postupy. V textové části i v tabulkách jsou uváděny aritmetické průměry ± směrodatné odchylky.

VÝSLEDKY

ZOOHYGIENICKÉ HODNOCENÍ SLEDOVANÝCH VELKOVÝKRMEN, VČETNĚ KONIMETRICKÉHO VYŠETŘENÍ PRACHU

1. Stručná charakteristika výkrmových hal a mikroklimatu v halách ve velkovýkrmně D

Výkrmové haly jsou deset let staré, mají kovový plášť. Jde o bezokenní systém. K napájení prasat vodou se používají miskovité napáječky. Ke krmení se používají granulované (ojediněle sypké) komerční krmné směsi. V hale jsou použity kryté přepravníky, krmivo padá do zásobníků nad krmítka a při krmení ze zásobníků do krmítek.

Při opakovaných ambulantních měřeních ve výkrmových halách byly zjišťovány teplota, relativní vlhkost, proudění vzduchu i obsah amoniaku a sirovodíku v mezích optima. Pouze obsah oxidu uhličitého byl ve třech případech (19. 11. 1983, 20. 1. 1984 a 23. 2. 1984) zvýšený (0,5 % obj., 0,4 % obj., 0,5 % obj.).

Několikaměsíční registrační vyhodnocení mikroklimatu v jedné hale (listopad 1983 — březen 1984) ukázalo, že teplota v hale byla od 28. 11. 1983 do 20. 2. 1984 převážně optimální (s výjimečným výskytem teploty zvýšené) a od 21. 2. 1984 do 18. 3. 1984 většinou zvýšená. Relativní vlhkost se pohybovala převážně v rozmezí optimálních hodnot s občasným výskytem relativní vlhkosti zvýšené, výjimečně i vysoké.

Prašnost vzduchu ve výkrmové hale (počet částic menších než $10\text{ }\mu\text{m}$ v cm^3 vzduchu) byla nejnižší v době klidu (68), zvýšila se při krmení (97) a maxima dosáhla v okamžiku plnění do zásobníků nad krmítky (220). Obdobně vzrůstal i počet částic menších než $5\text{ }\mu\text{m}$ v cm^3 vzduchu. V době klidu činil 59, při krmení 86 a při plnění do zásobníků 205. Při krmení docházelo k víření prachu po spadu krmiva do krmítek. Největší víření prachu nastávalo při plnění zásobníků nad krmítky, neboť prach silně unikl z horní otevřené plochy zásobníků.

2. Stručná charakteristika výkrmových hal a mikroklimatu v halách ve velkovýkrmně M

Haly jsou deset let staré, mají kovový plášť a jde o bezokenní systém. Větrání je zajištěno podtlakovým způsobem. K napájení prasat se používají kolíkové napáječky. Krmí se vlhkými komerčními krmnými směsmi (KS s vodou a syrovátkou). Krmivo se mísí v přípravné části výkrmové haly v krmných vozících Supra-Agra ZP 2-064. Při vlastním krmení prasat je krmivo rozváženo vozíky do koryt.

Při opakovaných ambulantních měřeních ve výkrmových halách byly zjišťovány optimální teplota i relativní vlhkost a částečně snížená ventilace vzduchu, která se projevila mírným zvýšením obsahu oxidu uhličitého (0,4 % obj.).

Vyhodnocení prašnosti ve výkrmové hale (počet částic menších než $10\text{ }\mu\text{m}$ a $5\text{ }\mu\text{m}$ v cm^3 vzduchu): V době klidu počet částic prachu menších než $10\text{ }\mu\text{m}$ činil 20 a počet částic menších než $5\text{ }\mu\text{m}$ byl 11. Při plnění krmných vozíků počet prachových částic menších než $10\text{ }\mu\text{m}$ činil 18 a počet částic menších než $5\text{ }\mu\text{m}$ byl 10. Během krmení prasat počet částic menších než $10\text{ }\mu\text{m}$ činil 28 a počet částic menších než $5\text{ }\mu\text{m}$ byl 17. Při krmení narůstala prašnost tím, že se vířil prach projíždějícím krmným vozíkem, dále třením elektrického kabelu v dřevěném korýtku nad kotci při jízdě vozíku a pohybem zvířat v kotcích, která čekala na naplnění koryt.

CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ PRACHU Z VÝKRMOVÝCH HAL

Obsah aminokyselin a dusíkatých látek je uveden v tab. I, obsah chemických prvků v tab. II a obsah chlorovaných uhlovodíků a herbicidů triazinové a diazinové řady v tab. III. Polychlorované bifenylly (PCB) byly zjištěny pouze v prachu jedné haly ve velkovýkrmně D. v koncentraci nižší než $1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Naproti tomu ve vzorcích prachu odebra-

I. Obsah aminokyselin (AMK) a dusíkatých látek v sedimentovaném prachu odebraném ze 16 výkrmových hal ve dvou velkovýkrmnách prasat (D. a M.) (aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka) — The content of amino acids (AMK) and nitrogen compounds in dust deposition collected from 16 fattening houses of two large pig fattening farms (D. and M.) (arithmetical mean $\pm$ standard deviation)

Aminokyselina	Obsah AMK v g na 100 g vzorku
LYS (lysin)	1,010 $\pm$ 0,214
HIS (histidin)	0,410 $\pm$ 0,063
ARG (arginin)	0,865 $\pm$ 0,121
ASP (asparagová kyselina)	1,656 $\pm$ 0,188
THR (threonin)	0,834 $\pm$ 0,120
SER (serin)	1,089 $\pm$ 0,225
GLU (glutamová kyselina)	3,122 $\pm$ 0,365
PRO (prolin)	0,933 $\pm$ 0,179
GLY (glycin)	1,315 $\pm$ 0,191
ALA (alanin)	1,155 $\pm$ 0,304
CYS $\frac{1}{2}$ (cystin)	0,097 $\pm$ 0,074
VAL (valin)	0,983 $\pm$ 0,144
MET (methionin)	0,316 $\pm$ 0,081
ILEU (isoleucin)	0,708 $\pm$ 0,124
LEU (leucin)	1,451 $\pm$ 0,202
TYR (tyrosin)	0,611 $\pm$ 0,085
PHE (fenylalanin)	0,870 $\pm$ 0,137
AMK celkem	17,440 $\pm$ 1,820
Dusíkaté látky (N $\times$ 6,25 v %)	24,170 $\pm$ 2,910

ných ve velkovýkrmně M. byly zjištěny PCB ve všech vyšetřených halách. Maximální stanovené množství zde činilo 8 mg . kg⁻¹ PCB. Průměrný obsah aflatoxinu B₁ v prachu činil 12,89 $\pm$ 9,31 μ g . kg⁻¹. Prach z velkovýkrmny M. však obsahoval dvojnásobné množství aflatoxinu B₁ než prach z velkovýkrmny D.

Neantibiotický stimulátor růstu prasat Nitrovin byl orientačně stanoven pouze v prachu ze dvou hal velkovýkrmny D., kde jeho obsah činil 4,0 a 7,9 mg . kg⁻¹.

BIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ PRACHU Z VÝKRMOVÝCH HAL

V prachu bylo určeno 21 rodů a druhů plísní. Nejčastěji byly izolovány *Penicillium* sp. a *Rhizopus nigricans* (68,7 % vyšetřených vzorků prachu), *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* a *Mucor* sp. (50,0 %), *Mucor piriformis* (43,7 %), *Absidia* sp. a *Rhizopus* sp. (18,7 %), *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. a *Mucor racemosus* (12,5 %), *Absidia glauca*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus terreus*, *Cladosporium* sp., *Geotrichum*

II. Obsah chemických prvků v sedimentovaném prachu odebraném ze 16 výkrmových hal ve dvou velkovýkrmnách prasat (D. a M.) (aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka) — The content of chemical elements in dust deposition collected from 16 fattening houses of two large pig fattening farms (D. and M.) (arithmetical mean $\pm$ standard deviation)

Chemický prvek	Obsah mg. kg ⁻¹
Zinek (Zn)	448 $\pm$ 151
Měď (Cu)	40,5 $\pm$ 12,1
Mangan (Mn)	109,9 $\pm$ 49,5
Olovo (Pb)	4,77 $\pm$ 4,79
Kadmium (Cd)	1,61 $\pm$ 1,62
Rtuť (Hg)	0,36 $\pm$ 0,39
Chrom (Cr)	1,64 $\pm$ 1,47

ležitostně zjišťován i patogení zatím v prachu neprokázali.

DISKUSE

Prašnost ve výkrmnách prasat často mnohonásobně přesahuje koncentraci 10 mg v m³ vzduchu, což je podle československých hygienických předpisů hraniční hodnota pro tzv. inertní prach v pracovním prostředí (Berka, 1979). Během vlastního krmení prasat suchými krmivy je obvykle zjišťována maximální prašnost v rozmezí 100 až

sp., *Mortierella* sp., *Mucor pusillus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus* sp. a *Zygorhynchus* sp. (6,2 %).

Akarologické vyšetření prachu ve velkovýkrmně D. bylo toto: Ze 13 vzorků prachu odebraných ze stropních svítidel byl pozitivní pouze jeden vzorek (7,7 %), v němž byl zjištěn roztoč *Caloglyphus berlesei* (4 kusy). Ve 21 vzorcích prachu získaných z povrchu dopravníku krmiva bylo pozitivních pět vzorků (18,5 %), ve kterých byli nalezeni roztoči *Acarus siro* (2 kusy), *Aleuroglyphus ovatus* (1 kus), *Caloglyphus berlesei* (1 kus), *Gohieria fusca* (1 kus), *Cheyletus eruditus* (1 kus), *Chortoglyphus arcuatus* (1 kus).

V prachu byl kromě saprofytických druhů jako *Bacillus* sp., *Enterobacter aerogenes*, *Micrococcus albus* a *Streptomyces* sp. přítomen i *Staphylococcus aureus*. Viry jsme

III. Obsah chlorovaných uhlovodíků a herbicidů triazinové a diazinové řady v sedimentovaném prachu odebraném ze 16 výkrmových hal ve dvou velkovýkrmnách prasat (D. a M.) (aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka) — The content of chlorinated carbohydrates and triazine and diazine herbicides in dust deposition collected from 16 fattening houses of two large pig fattening farms (D. and M.) (arithmetical mean $\pm$ standard deviation)

Chlorované uhlovodíky	Obsah mg. kg ⁻¹	Herbicidy triazinové a diazinové	Obsah mg. kg ⁻¹
HCB	0,0023 $\pm$ 0,0021	Simazin (S)	0,060 $\pm$ 0,020
Lindan	0,0058 $\pm$ 0,0079	Atrazin (A)	0,083 $\pm$ 0,059
DDE	0,0048 $\pm$ 0,0024	Prometryn (P)	0,093 $\pm$ 0,040
DDT	0,0065 $\pm$ 0,0015	Chloridazon (CH)	0,036 $\pm$ 0,003
		Terbutryn (T)	0,085 $\pm$ 0,029

400 mg v m³ vzduchu (Fišer, 1976; Lankašová a Staněk, 1976; Oppl, 1980; Nilsson, 1983). Tyto maximální hodnoty prašnosti jsou většinou krátkodobé, do hodiny po krmení koncentrace prachu značně poklesne a obvykle bývá do 10 mg v m³ vzduchu (Oppl, 1980; Hájek a Zářecký, 1981; Nilsson, 1983).

Fišer (1976) zjišťoval konimetrovými Zeiss Jena 10 počty prachových částic do velikosti 10 μm v cm³ vzduchu výkrmen prasat. Před krmením zjistil 44,2 až 44,8 prachových částic v cm³, za pět minut po spadu krmiva na podlahu kotce naměřil 106,3 až 173,3 prachových částic v cm³.

Z hlediska ohrožení zdraví jsou nejnebezpečnější prachové částice menší než 5 μm, tj. respirabilní fáze aerosolu, která proniká až do plicních sklípků (Berka, 1979).

Doskočil (1977) zjišťoval ve stájích pro výkrm prasat s různou technologií krmení 338 až 760 g prašného spadu na m² za 28 dní. Marsa (1984) zjistil ve třech výkrmnách prasat (jedna s vlhkým a dvě se suchým typem krmení) průměrné množství prašného spadu od 157 do 1071 g na m² za 28 dní. Lze předpokládat, že prašný spad nad 1000 g na m² za 28 dní není při suchém výkrmu prasat mimořádný.

O chemickém složení prachu z výkrmen prasat jsme v literatuře mnoho konkrétních údajů nezjistili. Je však zřejmé, že závisí především na složení krmných dávek a na použité technologii krmení výkrmových prasat. Hájek a Zářecký (1981) uvádějí, že ve výkrmnách prasat převažuje prach organického původu, jehož hlavním zdrojem jsou částice krmiv; dále pak obsahuje stopové prvky, soli kovů, antibiotika a vitamíny. Marsa (1984) zjistil, že ve výkrmně prasat s vlhkým krmením tvoří organické látky 72 % prašného spadu, při suchém krmení až 86 % prašného spadu. Škrdlík a Marek (1981) sledovali metodou diferenciální termické analýzy obsah oxidu křemičitého v prachu odebraném z konstrukcí a zařízení 12 výkrmen prasat. Zjistili, že prach obsahoval až 6 % oxidu křemičitého.

Často bývá obtížné určit hlavní zdroje a možné cesty přenosu chemických látek do stájového prostředí výkrmových prasat. Oxid zinečnatý, síran měďnatý a uhličitán manganatý jsou obvyklou součástí minerálních doplňků krmných směsí pro prasata. Organická rtuť (fenylmerkurichlorid) se používá k moření osiva proti houbovým chorobám. Za významný zdroj kadmia se považují fosfátová hnojiva s vyššími hodnotami kadmia. Zkrmování kožedělných odpadů jako netradičních zdrojů krmiv může být zdrojem chromu (k vydělávání kůží se používají soli chromu). Hlavním zdrojem kontaminace zemědělského prostředí olovem zůstává získávání energie na bázi uhlí a tekuté pohonné hmoty s přísadkou tetraetylova jako antidetonálního prostředku. Látky pesticidního charakteru (chlorované uhlovodíky, herbicidy diazinové a triazinové řady) patří mezi typické agrochemikálie, a proto jejich výskyt v sedimentovaném stájovém prachu velkovýkrmen prasat nepřekvapuje. Naproti tomu polychlorované bifenylly nelze mezi agrochemikálie zařadit. Hlavními zdroji polychlorovaných bifenylů budou podle našich prozatímních šetření některé komponenty krmných směsí (např. rybí moučka, masokostní moučka), voda používaná k napájení výkrmových prasat a nátěrové hmoty používané k ošetření konstrukcí a vnitřního zařízení výkrmen. Aflatoxiny jsou produkovány i plísní *Aspergillus*

flavus, kterou jsme zjistili v 50 % vyšetřovaných vzorků sedimentovaného prachu. Neantibiotický stimulátor růstu prasat Nitrovin je součástí kompletní krmné směsi A3, která je v současné době používána při závěrečné fázi výkrmu prasat.

Předpokládali jsme, že ve stájovém prachu bude značný počet roztočů, kteří by mohli navozovat alergické stavy u prasat. Podle dosavadních poznatků však nalezení roztoči nepatří ke druhům působícím alergií u lidí a také jejich počet ve vzorcích sedimentovaného prachu je velmi nízký. Samšiňák (1984 — osobní sdělení) uvádí, že i ve výkrmně prasat v Kojeticích u Prahy zjistil větší množství roztočů pouze v granulích (druh *Aleuroglyphus ovatus*), zatímco prach v okolí výkrmových kotců byl téměř vždy bez roztočů.

Tačeva (1978) ve svém přehledném referátu uvedla, že v zemědělském prachu převládají houby rodu *Mucor*, *Aspergillus* a *Cladosporium*. Vyskočil aj. (1975) našli ve stěrech prachu ze stěn a zařízení drůbežárny houbovitě mikroorganismy rodu *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* a různé druhy *Candida*. V sedimentovaném prachu z velkovýkrmů prasat jsme určili 21 rodů a druhů plísní. Podle Polstera (1983) jsou čtyři izolované druhy potenciálně toxigenní: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus clavatus* a *Aspergillus terreus*. U izolovaných zástupců čtyř rodů — *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* a *Cladosporium* — nelze jejich toxigenitu vyloučit vzhledem k vysokému procentu toxigenních kmenů v rámci těchto rodů.

Curtis aj. (1975a, b) zjistili, že v uzavřených stájích prasat se koncentrace bakteriálních částic ve stájovém vzduchu pohybuje od 15 000 v m³ v teplém počasí do 350 000 v m³ v chladném počasí, v závislosti na rychlosti ventilace. Většinu bakterií ve stájovém ovzduší tvoří stafylokoky nebo fekální streptokoky, koliformní zárodky jsou vzácnější.

Složení sedimentovaného prachu v obou sledovaných velkovýkrmnách (D. a M.) bylo přibližně stejné. Pouze koncentrace aflatoxinu B₁ a polychlorovaných bifenyly byly ve velkovýkrmně M. (vlhký způsob krmení) významně vyšší. Nález vysokých koncentrací aflatoxinu B₁ v prachu ve výkrmových halách velkovýkrmny M. (24 µg.kg⁻¹) si vysvětlujeme používáním vlhkých krmných směsí, a tím vhodnějšími ekologickými faktory pro produkci aflatoxinu B₁ plísní *Aspergillus flavus*. Zvýšené koncentrace polychlorovaných bifenyly jsou pravděpodobně způsobeny kontaminovaným krmivem a vodou používanou k napájení prasat. Dodatečným šetřením jsme ve vodě odebrané z potoka tekoucího v těsné blízkosti vodárny velkovýkrmny M. prokázali přítomnost polychlorovaných bifenyly (0,027 µg.l⁻¹), které za určitých podmínek mohou prosakovat přes písčité podloží do napájecí vody.

Konkrétní údaje o negativních účincích stájového prachu na zdravotní stav jsou známy v humánní medicíně. Sledují a vyhodnocují je především odborníci z pracovního lékařství. U prasat konkrétní údaje doposud chybí. Vyskočil a Lejhancová (1974) prokázali u 11 % pracovníků v mísírnách krmiv (po expozici 6 a více let) profesionální kontaktní poškození kůže, které vzniklo iritací prachem, nikoliv alergií. Dále nacházeli akutní a subakutní konjunktivitidy, chronické faryngitidy a bronchitidy. Podobně 55 % žen pracujících pět a více roků ve velkokapacitní drůbežárně mělo různé kožní choroby,

ale ani u jedné nebyla prokázána kožní nemoc z povolání. Znepokojivý však byl výskyt houbovitých mikroorganismů ve sputu nebo ve výtěru z hltanu u ošetřovatelek nosnic (Vyskočil aj., 1975). Žáček aj. (1980) upozornili na to, že prach z mísíren krmných směsí svým obsahem antibiotik a vitamínů působí na zaměstnance alergicky a má vliv i na složení střevní mikroflóry a bakteriální flóry spojivkového vaku. Předpokládá se, že senzibilizace na organické prachy a houbovité mikroorganismy dává možnost vzniku alergické reakce III. typu (Arthusův typ) s tvorbou imunokomplexů v plicích (Vyskočil aj., 1980). Souhrnně pak byly negativní účinky zemědělského prachu na zaměstnance mísíren krmiv, drůbežáren i kravínů zhodnoceny Vyskočilem aj. (1983).

Dlouhodobé pronikání masivních množství živých i neživých mikroskopických částic prachu do vzdušných cest prasat, které musí být v plicích imobilizovány, inaktivovány a transportovány, snižuje rezistenci plic. Tím je připravována půda pro infekční procesy a zánětlivé reakce (Goiš, 1979). Nilsson (1983) uvádí, že pravidelné vysávání prachu ve výkrmně prasat, prováděné průmyslovými vysavači jednou týdně, vedlo k poklesu výskytu pneumonií u porážených prasat z 25 % na 5 %. Zvlhčování vzduchu výkrmny (tříkrát týdně po dobu 10 minut), které redukuje především prachové částice menší než $2,5\ \mu\text{m}$, snížilo výskyt pneumonií u prasat z 25 % na 15 % (Nilsson, 1983).

Další negativní účinky na zdraví ošetřovatelů i výkrmových prasat mohou nastávat po vstřebání škodlivin obsažených v prachu. Dýchacími cestami mohou vstupovat do organismu například kadmium, rtuť, lindan, polychlorované bifenylly, olovo, chrom a aflatoxin. Intaktní kůži pak proniká organická rtuť, lindan, polychlorované bifenylly, chrom a olovo.

Chemické analýzy sedimentovaného prachu z výkrmů prasat, odebraného 10 až 14 dnů před plánovanou porážkou prasat, by bylo možné využít i k orientačnímu posouzení hygienické úrovně daného výkrmového turnusu. Podle výsledků chemické analýzy prachu by se u reprezentativního počtu kusů mohlo zaměřit prohloubené vyšetření masa a orgánů po jejich porážce.

K vlastnímu snížení prašnosti ve výkrmových halách prasat lze přispět těmito postupy: 1. Co nejméně používat sypké krmné směsi, zvýšit soudržnost granulovaných krmných směsí. 2. Používat zvlhčovaná krmiva, čímž lze snížit prašnost ve výkrmových halách až o 50 %. 3. Zbytečně nevyrušovat prasata v kotcích a nevyvolávat jejich pohybovou aktivitu. Prach sedimentovaný na hrazení a konstrukci je vlivem pohybu zvířat a proudění vzduchu zdrojem tzv. sekundární prašnosti. 4. Zajistit správnou funkci mechanismů dopravujících krmivo. 5. Dodržovat optimální teplotně vlhkostní režim. 6. Zabezpečit dokonalý systém větrání. Jako vysoce účinné se projevuje krátkodobé intenzivní větrání v okamžiku maximální prašnosti nebo při úklidu v hale. 7. Zvlhčovat vzduch v době krmení, čímž se redukuje především prachové částice menší než $2,5\ \mu\text{m}$. 8. V zahraničí je doporučováno použití průmyslových vysavačů a pravidelné vysávání výkrmové haly jedenkrát týdně. Po skončení každého výkrmového turnusu provést důkladnou mechanickou očistu i vlastní dezinfekci. 10. Vyvíjet zařízení s bezprašným systémem dopravy krmiva v hale s omezením prašnosti při dávkování a krmení.

Literatura

- BERKA, I.: Proti prašnosti ve velkovýkrmnách. *Věda a Život*, 24, 1979, s. 686-687.
- CURTIS, S. E. — GRUNLOH, D. J. — KELLEY, K. W. — DRUMMOND, J. G. — MEARES, V. J. — JENSEN, A. H. — NORTON, H. W.: Diurnal and annual fluctuations of aerial bacterial and dust levels in enclosed swine houses. *J. anim. Sci.*, 41, 1975a, s. 1502-1511.
- CURTIS, S. E. — GRUNLOH, D. J. — DRUMMOND, J. G.: Relative and qualitative aspects of aerial bacteria and dust in swine houses. *J. anim. Sci.*, 41, 1975b, s. 1512-1520.
- DOSKOČIL, O.: Možnosti snížení prašnosti stájového ovzduší velkokapacitních výkrmů prasat. *Veterinářství*, 27, 1977, s. 223-225.
- FÍŠER, A.: Prašnost stájového ovzduší. *Veterinářství*, 26, 1976, s. 221-222.
- FÍŠER, A.: Prašnost a mikrobiologické vlastnosti ovzduší. In: HOJOVEC, J. — RO-SOCHA, J. a kol.: Hygiena hospodářských zvířat. Část obecná. Hygiena prostředí a jeho asanace. 1. svazek. 1. vyd. Praha, SPN 1978, s. 80-93.
- FÍŠER, A. — KLEPAL, M.: Význam mikroklimatu v komplexu hygienických opatření při výkrmu prasat. *Veterinářství*, 25, 1975, s. 170-172.
- GAJDŮŠKOVÁ, V.: Kontrola potravinového řetězce na rezidua herbicidů. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1982, 45 s.
- GOIŠ, M.: Health control scheme in minimal disease herds. Předneseno pro pracovníky Maďarské akademie zemědělských věd, Budapešť 11. 10. 1979.
- HAJEK, J. — ZÁRECKÝ, M.: Prašnost ve stájích pro výkrm prasat. In: Soubor referátů ze semináře „Problematika bioklimatu objektů pro živočišnou výrobu“, Brno 26. 9. 1979. Pardubice, SVS — Oddělení veterinární osvěty 1981, s. 18-20.
- HÁJEK, V. — MARŠALEK, E. — HORÁK, V.: Diagnostika stafylokoků a stafylokokových infekcí. *Acta hyg., epidem. microbiol.*, příloha č. 5, 1983, 44 s.
- HRUŠKA, J. — KOCIÁNOVÁ, M.: Stanovení reziduí chlorovaných pesticidů v potravinách, biologickém materiálu a vodě metodou plynové chromatografie. České Budějovice, Krajská hygienická stanice 1975, 15 s.
- LANKAŠOVÁ, T. — STANĚK, I.: Fyzikální faktory pracovního prostředí ošetřovatelů hospodářských zvířat. *Pracov. Lék.*, 28, 1976, s. 234-239.
- MARSA, V.: Srovnání metod sledování prašnosti sedimentací. [Ústavní výzkumná práce.] Brno, Státní veterinární ústav 1984, 9 s.
- MONTAG, A.: Stickstoffbestimmungen nach der Kjeldahl Methode im KJEL-FOSS-AUTOMATIC-Gerät. *Gordian*, 74, 1974, s. 203-210.
- NÁPRAVNÍK, A.: Použití vnitřních standardů při analytickém stanovení aminokyselin na automatickém analyzátoru AAA 881 Mikrotechna-ZN 67 76, správce Mikrotechna, n. p., Praha.
- NILSSON, C.: Dust investigations in pig houses. *Pigs News Inform.*, 4, 1983, č. 3, s. 346.
- OPPL, L.: K pracovnímu prostředí velkochovů hospodářských zvířat. *Českoslov. Hyg.*, 25, 1980, s. 324-329.
- ON 73 4517. Projektování staveb pro chov prasat. 1977.
- POLSTER, M.: Mykotoxiny. In: ROSIVAL, L. — SZOKOLAY, A. a kol.: Cudzořodé látky v poživatinách. 2. vyd. Martin, Osveta 1983, s. 252-269.
- SAMŠIŇÁK, K. — VOBŘÁZKOVÁ, E. — KASAL, P. — ŠPIČÁK, V.: Metodika kontroly lůžek k vyhledávání roztočů čeledi *Pyroglyphidae*. *Čas. Lék. čes.*, 113, 1974, s. 563-568.
- ŠKRDLÍK, M. — MAREK, V.: Prašnost v některých objektech zemědělské výroby v Jihomoravském kraji v letech 1976 až 1980. *Pracov. Lék.*, 33, 1981, s. 281-286.
- TACEVA, J.: Účinek zemědělského prachu na dýchací systém. *Vnitřní Lék.*, 24, 1978, s. 1194-1198.
- VÁVROVÁ, M.: Stanovení reziduí polychlorovaných bifenyly v biologickém materiálu chromatografickými metodami. [Kandidátská disertace.] Brno 1984, 138 s. — Vysoká škola veterinární. Katedra hygieny a technologie potravin.
- Veterinární laboratorní vyšetřovací metodiky. 1975.
- VYSKOČIL, J. — LEJHANCOVÁ, M.: Poškození kůže u pracovníků v míchárnách krmiv. *Prakt. Lék.*, 54, 1974, s. 259-262.
- VYSKOČIL, J. — TACEVA, J. — MACEK, M. — NEMEČEK, R.: Morfologické a biochemické změny v plicích krys při vzájemném působení obilného, senného prachu, *Candida albicans* a *Aspergillus niger*. *Pracov. Lék.*, 32, 1980, s. 129-133.

VYSKOČIL, J. — ČERMÁKOVÁ, E. — MAKEŠOVÁ, B. — SKLENSKÝ, B. — ŠEVČÍK, M.: O vlivu zemědělského prachu včetně mikrobiálního znečištění na zdraví pracujících. *Pracov. Lék.*, 35, 1983, s. 267.

VYSKOČIL, J. — CHROMÁ, M. — HORSKÁ, H. — BERKA, I. — LEJHANCOVÁ, M. — POSPÍŠIL, L.: Pracovní podmínky a zdravotní stav zaměstnankyň velkokapacitních drůbežáren. *Pracov. Lék.*, 27, 1975, s. 240-246.

ŽÁČEK, I. — HÁKOVÁ, L. — TENGLEROVÁ, J. — HRDINOVÁ, J.: Některé hygienické problémy mísení krmných směsí. *Českoslov. Hyg.*, 25, 1980, s. 330-334.

Došlo dne 2. 9. 1985

РАШИК, Й. и колл. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): **Физическое, химическое и биологическое исследование пыли из крупных свинооткормочников.** *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986 (4) : 233-244.

Анализировали седиментированную пыль из 16 залов двух откормочников промышленного типа на сухом и мокром типе кормления. В залах с мокрым кормлением установлено макс. 28 пылевых частиц размерами до 10 μm и 17 частиц до 5 $\mu\text{m}/\text{cm}^3$ воздуха, а в залах с сухим кормлением — 220 частиц до 10 μm и 205 частиц до 5 $\mu\text{m}/\text{cm}^3$ воздуха. Общее содержание аминокислот в седиментированной пыли составляло $17,440 \pm 1,820$ г в 100 г образца, а азотистых веществ ($\text{N} \times 6,25$ в %) $24,170 \pm 2,910$. Содержание химических элементов ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$): цинк 448 ± 151 ; марганец $109,9 \pm 49,5$; медь $40,5 \pm 12,1$; свинец $4,77 \pm 4,79$; хром $1,64 \pm 1,47$; кадмий $1,61 \pm 1,62$; ртуть $0,36 \pm 0,39$. Содержание хлорид. углеводов и гербицидов триазинного и диазинного рядов ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$): HCB $0,0023 \pm 0,0021$; Линдан $0,0058 \pm 0,0079$; ДДЕ $0,0048 \pm 0,0024$; ДДТ $0,0065 \pm 0,0015$; Симазин $0,060 \pm 0,020$; Атразин $0,083 \pm 0,059$; Прометрин $0,093 \pm 0,040$; Хлоридазон $0,036 \pm 0,008$; Тербутрин $0,085 \pm 0,029$. Содержание афлатоксина B₁ $12,89 \pm 9,31$ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, а макс. установленное количество полихлорид. бифенилов 8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Нитровин обнаружен лишь в пыли из двух залов: 4,0 и 7,9 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. В той же пыли еще установили 21 семейств и видов плесеней, 6 видов акарид, множество сапрофитных бактерий, в отдельных случаях и *Staphylococcus aureus*. Вирусов в пыли не обнаружено.

седиментированная пыль; аминокислоты; азотистые вещества; химические элементы; пестициды; афлатоксин B₁; полихлорированные бифенилы; плесени; акариды; бактерии

RASZYK, J. et al. (Veterinary Research Institute, Brno): **Physical, Chemical and Biological Examination of Dust Deposition in Large Pig-Fattening Houses.** *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986 (4) : 233-244.

Dust deposition in 16 halls of two large pig-fattening farms with dry or wet feeding systems was analyzed. In the halls with wet feeding the samples contained maximally 28 dust particles up to 10 μm and 17 particles up to 5 μm per cm^3 of air, in the halls with dry feeding 220 particles smaller than 10 μm and 205 particles smaller than 5 μm per cm^3 of air. The total amino acid content in the dust deposition was $17,440 \pm 1,820$ g per 100 g of sample and the content of nitrogen compounds ($\text{N} \times 6,25$, %), was $24,170 \pm 2,910$. The contents of chemical elements were as follows (mg per kg): zinc 448 ± 151 ; manganese $109,9 \pm 49,5$; copper $40,5 \pm 12,1$; lead $4,77 \pm 4,79$; chromium $1,64 \pm 1,47$; cadmium $1,61 \pm 1,62$; mercury $0,36 \pm 0,39$. Chlorinated carbohydrates and triazine and diazine herbicides were present in the following amounts (mg per kg): HCB $0,0023 \pm 0,0021$; Lindane $0,0058 \pm 0,0079$; DDE $0,0048 \pm 0,0024$; DDT $0,0065 \pm 0,0015$; Simazine $0,060 \pm 0,020$; Atrazine $0,083 \pm 0,059$; Prometryn $0,093 \pm 0,040$; Chloridazon $0,036 \pm 0,008$; Terbutryn $0,085 \pm 0,029$. The content of aflatoxin B₁ was $12,89 \pm 9,31$ μg per kg and the maximum amount of polychlorinated biphenyls was 8 mg per kg . Nitrovin was found out only in the dust of two halls: 4.0 and 7.9 mg per kg . The dust deposition also contained 21 genera and species of moulds, six species of mites, numerous saprophytic bacteria and, in some cases, *Staphylococcus aureus*. For the time being, no viruses have been detected in the dust samples.

dust deposition; amino acids; nitrogen compounds; chemical elements; pesticides; aflatoxin B₁; polychlorinated biphenyls; moulds; mites; bacteria

RASZYK, J. und Kollektiv (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Physikalische, chemische und biologische Untersuchung von Staub aus industriemäßigen Schweinemastanlagen*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 233-244.

Es wurde der abgesetzte Staub aus 16 Hallen zweier industriemäßiger Schweinemastanlagen u. zw. mit trockenem und feuchtem Typ der Fütterung, analysiert. In den Hallen mit der feuchten Fütterung wurden höchstens 28 Staubpartikeln in der Größenordnung bis 10 μm und 17 Partikeln bis 5 μm in 1 cm^3 Luft ermittelt, während es in den Hallen mit der trockenen Fütterung 220 Partikeln bis 10 μm Größe und 205 Partikeln bis 5 μm in 1 cm^3 Luft waren. Der Gesamtgehalt an Aminosäuren im abgesetzten Staub betrug $17,440 \pm 1,820$ g in einer 100 g-Probe und der Gehalt an stickstoffhaltigen Substanzen ($\text{N} \times 6,25$ in %) war $24,170 \pm 2,910$. Der Gehalt an chemischen Elementen war wie folgt ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$): Zink 448 ± 151 ; Mangan $109,9 \pm 49,5$; Kupfer $40,5 \pm 12,1$; Blei $4,77 \pm 4,79$; Chrom $1,64 \pm 1,47$; Cadmium $1,61 \pm 1,62$; Quecksilber $0,36 \pm 0,39$. Der Gehalt an chlorierten Kohlenwasserstoffen und Herbiziden der Triazin- und Diazinreihe betrug ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$): HCB $0,0023 \pm 0,0021$; Lindan $0,0058 \pm 0,0079$; DDE $0,0048 \pm 0,0024$; DDT $0,0065 \pm 0,0015$; Simazin $0,060 \pm 0,020$; Atrazin $0,083 \pm 0,059$; Prometryn $0,093 \pm 0,040$; Chloridazon $0,036 \pm 0,008$; Terbutryn $0,085 \pm 0,029$. Der Aflatoxin-B₁-Gehalt betrug $12,89 \pm 9,31$ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ und die maximale ermittelte Menge der polychlorierten Biphenyle war 8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Das Nitrovin wurde nur im Staub zweier Hallen ermittelt u. zw. 4,0 und 7,9 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. In dem sedimentierten Staub wurden ferner 21 Gattungen und Arten von Schimmelpilzen, sechs Milbenarten, zahlreiche saprophytische Bakterien und gelegentlich auch *Staphylococcus aureus* identifiziert. Viren konnten wir bis jetzt im Staub nicht nachweisen.

sedimentierter Staub; Aminosäuren; stickstoffhaltige Substanzen; chemische Elemente; Pestizide; Aflatoxin B₁; polychlorierte Biphenyle; Schimmelpilze; Milben; Bakterien

Adresy autorů:

MVDr. Josef Raszyk, CSc., MVDr. Zdeněk Knotek, ing. Věra Gajdůšková, CSc., RNDr. Josef Mašek, CSc., RNDr. Hana Dočekalová, doc. MVDr. Jindřich Willomitzer, CSc., MVDr. Jaroslav Wiktora, RNDr. Magda Vodičková, MVDr. Jaroslav Bartoš, CSc., RNDr. Milada Neumannová, RNDr. Stanislav Standara, RNDr. Vlastimil Zezula, MVDr. František Šišák, CSc., MVDr. Bedřich Šmíd, CSc., MVDr. Jaroslav Palásek, CSc., MVDr. Oldřich Fischer, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

RNDr. Karel Samšíňák, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Flemingovo nám. 2, 166 32 Praha

Doc. MUDr. Jiří Rovenský, CSc., Výzkumný ústav pediatrický, Černopolní 9, 662 62 Brno

RNDr. Květa Frgalová, Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Hudcova 56 A, 621 00 Brno

MVDr. Miloslav Štefan, Okresní veterinární zařízení, 695 11 Hodonín

MVDr. Jan Pavlica, Velkovýkrmny, o. p., závod 05, 695 37 Hodonín

BIOLOGICKÁ METÓDA NA STANOVENIE MYKOTOXÍNOV — *TETRAHYMENA PYRIFORMIS*

F. Ništiar, J. Hrušovský, J. Mojžiš, P. Mižik, A. Ništiarová

NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J. — MIŽIK, P. — NIŠTIAROVÁ, A. (Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, Košice; Lekárska fakulta UPJŠ, Košice): *Biologická metóda na stanovenie mykotoxínov — Tetrahymena pyriformis*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 245-250.

Overili sme toxický účinok vybraných mykotoxínov pre biologický objekt prvoka *Tetrahymena pyriformis*: toxínu T-2 v dávkach od 1,52 μg do 100,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média, ochratoxínu A v dávkach od 12,21 μg do 800,00 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média a rubratoxínu B v dávkach od 12,21 μg do 800,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média. U toxínu T-2 bola stanovená LD_{100} okolo 390,63 μg a LD_{50} okolo 48,83 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ média, u ochratoxínu A LD_{100} okolo 25,0 mg a LD_{50} okolo 3,13 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média, u rubratoxínu B LD_{100} okolo 200,0 mg a LD_{50} okolo 25,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média.

toxín T-2; ochratoxín A; rubratoxín B; mykotoxíny; biologická metóda

V posledných 30 rokoch bolo započaté intenzívne štúdium v súvislosti s hromadnými výskytmi ochorení u zvierat a ľudí, ktoré boli vyvolané toxickými produktmi saprofytických plesní — mykotoxínmi. Sme presvedčení, že problematika mykotoxikológie prekonala počiatočné negatívne črty tzv. módných výskumov a podarilo sa systematickou a zodpovednou prácou objasniť problémy, medzi ktoré patrí napr. relatívne častý výskyt mykotoxikóz vyvolaných skladištnými a pôdnymi plesňami za miernych klimatických podmienok a karcinogénny účinok subletálnych dávok. Bol vypracovaný súbor preventívnych opatrení, najmä v oblasti stanovenia a metodických postupov na dôkaz mykotoxínov v požívatinách a krmivách. V domácej literatúre k tomu prispeli najmä Piskač a i. (1975), Bartoš a Matyáš (1981, 1982a, b) a Veselý a i. (1984). V svetovej literatúre väčšina autorov predložila metodiky založené na stanovení mykotoxínov metódou chromatografie na tenkej vrstve (Gimeno a Martins, 1982) a vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou (Bata a i., 1984). Novšie literárne pramene uvádzajú využitie enzýmovej imunoanalýzy (Chu, 1983; Lee a Chu, 1984; Gendloff a i., 1984) a rádioimunoanalytického stanovenia (Fontelo a i., 1983; Obršál a Vyskočil, 1984).

Zavedením uvedených nových postupov sa do značnej miery upustilo od biologických metód dôkazu mykotoxínov, ako sú: kŕmne pokusy, testy na kuracích embryách, kožné testy, využitie kôrovcov (*Artemia salina*), mikroorganizmov a tkanivových kultúr (Harrach, 1978).

V predloženej práci upozorňujeme na možnosti využitia biologického testu na dôkaz mykotoxínov využitím prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W, ktorý v kombinácii s chromatografiou na tenkej vrstve môže poskytovať veľmi spoľahlivé výsledky, ľahko interpretovateľné, lac-

né a použiteľné aj v jednoduchých prevádzkových podmienkach. Táto práca nadväzuje na naše doterajšie skúsenosti s týmto biologickým testovacím objektom na dôkaz pesticídnych látok (Ništiar a i., 1981, 1984, 1985).

MATERIÁL A METÓDY

Prvok *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W, bol pre testy toxicity použitý v technickom prevedení, ako sme už o tom referovali (Ništiar a i., 1981).

Toxín T-2 (producent *Fusarium sporotrichoides* fy Calbiochem) bol aplikovaný v dávkach 1,52; 3,05; 6,10; 12,21; 24,41; 48,83; 97,66; 195,31; 390,63 a 781,25 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 a 100,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média. Z každej dávky boli spracované štyri paralelné vzorky.

Ochratoxín A (fy Calbiochem) bol aplikovaný v dávkach 12,21; 24,41; 48,83; 97,66; 195,31; 390,63 a 781,25 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0; 100,0; 200,0; 400,0 a 800,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média. Z každej dávky boli spracované štyri paralelné vzorky.

Rubratoxín B (producent *Penicillium rubrum* fy Calbiochem) bol aplikovaný v rovnakých dávkach ako ochratoxín A. Z každej dávky boli spracované štyri paralelné vzorky.

Súbežne sme vykonali kontrolu hladiny mykotoxínov v experimentálnom médiu chromatografiou na tenkej vrstve metódou ako uvádzajú Gimeno a Martins (1982).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri sledovaní toxicity mykotoxínov boli morfológické zmeny reprezentované zaguľacovaním buniek, vakuolárnou degeneráciou, chromatinovou degeneráciou, hypomotilitou až amotilitou s následnou lýzou buniek.

Pri sledovaní toxicity toxínu T-2 v 24-hodinovom teste bola LD₁₀₀ okolo 390,63 μg a LD₅₀ okolo 48,83 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ média (tab. I). Tieto údaje sú v dobrej korelácii s výsledkami, ktoré zistil Ueno (1983), udáva-

I. Vplyv toxínu T-2 na prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The effect of toxin T-2 on the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

Dávka noxy na liter μg	Počet buniek na mililiter	Percento
Kontrola	131 250 (121 875 – 140 625)	100,0 (92,9 – 107,1)
1,52	129 248 (126 312 – 134 312)	98,5 (96,2 – 102,3)
3,05	111 228 (105 625 – 117 016)	84,7 (80,5 – 89,2)
6,10	94 327 (87 214 – 101 024)	71,9 (66,4 – 77,0)
12,21	82 822 (80 321 – 84 238)	63,1 (61,2 – 64,2)
24,41	73 554 (72 531 – 75 428)	56,0 (55,3 – 57,5)
48,83	64 211 (63 338 – 64 988)	48,9 (48,3 – 49,5)
97,66	31 333 (29 247 – 34 242)	23,9 (22,3 – 26,1)
195,31	3 125 (2 560 – 4 128)	2,4 (2,0 – 3,1)
390,63	0	0
781,25	0	0

II. Vplyv ochratoxínu A na prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The effect of ochratoxin A on the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

Dávka noxy na liter μg	Počet buniek na mililiter	Percento
Kontrola	131 250 (121 875 – 140 625)	100,0 (92,9 – 107,1)
195,31	115 481 (111 123 – 119 328)	88,0 (84,7 – 90,9)
390,63	100 258 (99 238 – 104 032)	76,4 (75,6 – 79,3)
781,25	89 311 (86 282 – 91 841)	68,0 (65,7 – 70,0)
1,56	72 612 (71 721 – 74 138)	55,3 (54,6 – 56,5)
3,13	65 811 (64 722 – 66 211)	50,1 (49,3 – 50,4)
6,25	30 063 (28 842 – 31 112)	22,9 (22,0 – 23,7)
12,50	8 421 (3 125 – 11 242)	6,4 (2,4 – 8,6)
25,00	0	0
50,00	0	0

júci, že 50% inhibíciu delenia buniek *Tetrahymena pyriformis* vyvoláva dávka $0,05 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, a boli menej citlivé než výsledky získané na tkanivových kultúrach, kde LD₅₀ pre toxín T-2 bola u bunkovej línie PK 15 stanovená na $0,005 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ (Bodon a Zöldág, 1974).

Štúdium uvedeného mykotoxínu má osobitný význam preto, lebo bol v poslednej dobe zaradený do arzenálu bojových chemických látok. O jeho bojovom nasazení v Afganistane referoval Marshall (1982).

Pri sledovaní toxicity ochratoxínu A v 24-hodinovom teste sa LD₁₀₀ pohybovala okolo 25,0 mg a LD₅₀ okolo $3,13 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média (tab. II). Tieto výsledky sú v korelácii s výsledkami, ktoré boli získané

III. Vplyv rubratoxínu B na prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The effect of rubratoxin B on the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

Dávka noxy na liter μg	Počet buniek na mililiter	Percento
Kontrola	131 250 (121 875 – 140 625)	100,0 (92,9 – 107,1)
1,56	125 075 (123 125 – 126 232)	95,3 (93,8 – 96,2)
3,13	110 273 (108 885 – 111 882)	84,0 (83,0 – 85,2)
6,25	97 882 (96 216 – 99 063)	74,6 (73,3 – 75,5)
12,50	84 311 (82 223 – 85 814)	64,2 (62,6 – 65,4)
25,00	65 212 (64 923 – 66 665)	49,7 (49,5 – 50,8)
50,00	30 625 (28 772 – 31 811)	23,3 (21,9 – 24,2)
100,00	6 250 (2 815 – 8 888)	4,8 (2,1 – 6,8)
200,00	0	0
400,00	0	0
800,00	0	0

pri stanovení na bunkách HeLa, kde sa LD₅₀ pohybovala v rozmedzí 1,0 až 32,0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ (Ohtsubo a Saito, 1970).

Pri sledovaní toxicity rubratoxínu B v 24-hodinovom teste sa LD₁₀₀ pohybovala okolo 200,0 mg a LD₅₀ okolo 25,0 mg $\cdot \text{l}^{-1}$ média [tab. III]. Tieto výsledky sú v zhode s údajmi, ktoré zistil Ueno (1983) a ktorý uviedol, že dávka inhibujúca rast *Tetrahymena pyriformis* na 50 % je 25,0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, a sú lepšie než údaje získané na primárnych te-
lacích obličkových bunkách, na ktorých LD₅₀ je 80,0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ (Ge-
dek, 1972).

Vzhľadom na to, že mykotoxíny predstavujú v poslednom období zá-
važný národohospodársky problém, sú tieto poznatky nesmierne dôležité.

Nakoľko biologické testy dokazujú len to, že vyšetrovaná látka má
viac-menej špecifickú biologickú aktivitu, ale nepodarilo sa pomocou
nich dokázať, o aký druh mykotoxínov ide, bolo samozrejmosťou, že bo-
la vyvinutá obrovská snaha vypracovať chemické metódy na dôkaz
jednotlivých mykotoxínov.

V praxi sa z uvedených dôvodov tieto chemické postupy využívajú
takmer vždy, nakoľko sú považované za presnejšie tak po kvalitatívnej,
ako aj po kvantitatívnej stránke.

Vynára sa otázka, kedy je možné a potrebné použiť biologický
test, ktorý je nesmierne dôležitý pri dôkaze alebo vylúčení
určitého neznámeho mykotoxínu. V takom prípade dokazujeme, či vô-
bec je prítomný nejaký mykotoxín, ktorý napr. nie sme schopní doká-
zať chemickou metódou.

IV. Porovnanie citlivosti chemických a biologických testov pri dôkaze toxínu T-2 — Comparison of the sensitivity of chemical tests and bioassays used for the de- monstration of toxin T-2

Metóda	Citlivosť dôkazu $\mu\text{g}/\text{test}$	
	biologická	chemická
Tkaninové kultúry cytotoxicita	0,001	
Kožný test na králikoch	0,005 – 0,01	
Inhibícia proteosyntézy	0,03	
<i>Artemia salina</i>	0,03	
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	0,05	
Test na kuracích embryách	0,07	
<i>Prototheca wickerhamii</i>	0,1	
Emetický účinok	0,1	
Inhibícia klíčenia	0,5	
Poškodenie enzýmov	200,0	
Flyn-kvapalinová chromatografia		0,03 – 0,05
Chromatografia na tenkej vrstve		0,07 – 0,10
Plynová chromatografia (hmotová spektrometria):		
— normálne vzorkovanie		0,03 – 0,05
— selektívny ionhľadací program		0,02

Obdobná situácia je aj v terénnej, resp. poľnej diagnostike mykotoxikóz, kde sú len minimálne alebo vôbec neexistujú možnosti chemického dôkazu. Biologické pokusy sa používajú aj v prípade známych mykotoxínov, ak pre ne doposiaľ neboli vypracované spoľahlivé chemické metódy. Je to typické napr. pre stachybotryotoxín.

Napriek tomu, že chemické testy sú špecifickejšie, sú biologické testy často citlivejšie [Pathre a Mirocha, 1977]. Ich porovnanie prezentujeme v tab. IV.

Na základe vykonaných pokusov sa domnievame, že predložený biologický test za využitia prvoka *Tetrahymena pyriformis* bude nesporným prínosom pre diagnostické laboratóriá, ktoré doposiaľ nedisponujú možnosťami chemickej analýzy mykotoxínov. Obdobne veľké perspektívy má pri štúdiu mechanizmu účinkov mykotoxínov na bunkovej a subbunkovej úrovni. V kombinácii s chromatografiou na tenkej vrstve je bezpochyby veľmi perspektívnou metódou na stanovenie neznámych mykotoxínov. Jediným nedostatkom predloženej biologickej metódy je skutočnosť, že sa nedá použiť na detekciu aflatoxínov, nakoľko ich prvok *Tetrahymena pyriformis* efektívne metabolizuje [Polster, 1971].

Literatúra

- BARTOŠ, J. MATYÁŠ, Z.: Průzkum přítomnosti aflatoxinu M₁ v mléce z prvovýroby. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 419-423.
- BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z.: Biologická testace trichothecénů v zrninách. Veter. Med. (Praha), 27, 1982a, s. 567-574.
- BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z.: Průkaz T-2 toxinu v zrninách chromatografií na tenké vrstvě silikagelu (TLC). Veter. Med. (Praha), 27, 1982b, s. 635-640.
- BATA, A. — VÁNYI, A. — LÁSZTITY, R.: Rapid analytical method for the quantitative determination of trichothecene toxins in food and feeds. Acta veter. Acad. Sci. hung., 32, 1984, s. 51-56.
- BODON, L. — ZÖLDAG, L.: Acta veter. Acad. Sci. hung., 24, 1974, s. 451. Cit. Harrach, B.: A biológiai próbak szerepe a mikotoxinok kimutatásában. In: Incze, K. (ed.): Hazai mikotoxin-vizsgálatok. Budapest, MÉTE kisk. sor. 1978, s. 61-94.
- FORTELO, P. A. — BEHELER, J. — BUNNER, D. L. — CHU, F. S.: Detection of T-2 toxin by an improved radioimmunoassay. Appl. Envir. Microbiol., 45, 1983, s. 640-643.
- GEDEK, B.: Zbl. Veter.-Med., R. B, 19, 1972, s. 15. Cit. Harrach, B.: A biológiai próbak szerepe a mikotoxinok kimutatásában. In: Incze, K. (ed.): Hazai mikotoxin-vizsgálatok. Budapest, MÉTE kisk. sor. 1978, s. 61-94.
- GENDLOFF, E. H. — PESTKA, J. J. — SWANSON, S. P. — HART, L. P.: Detection of T-2 toxin in *Fusarium sporotrichioides* infected corn by enzyme-linked immunosorbent assay. Appl. Envir. Microbiol., 47, 1984, s. 1161-1163.
- GIMENO, A. — MARTINS, M. L.: Multimycotoxin method for analysis of 17 mycotoxins in raw materials, mixed feeds, food products and animal tissues by thin layer chromatography. In: V. Int. IUPAC Symp. Mycotox. Phytotox. Vienna, 1982, s. 1-25.
- HARRACH, B.: A biológiai próbak szerepe a mikotoxinok kimutatásában. In: Incze, K. (ed.): Hazai mikotoxin-vizsgálatok. Budapest, MÉTE kisk. sor. 1978, s. 61-94.
- CHU, F. S.: Immunochemical methods for mycotoxin analysis. In: Naguib, K. — Naguib, M. N. — Park, D. L. — Pohland, A. E. (eds.): Proceedings of the International Symposium on Mycotoxins. Nat. Res. Ctr., Dokki Cairo, 1983, s. 177-194.
- LEE, S. C. — CHU, F. S.: Enzyme-linked immunosorbent assay of ochratoxin A in wheat. J. Assoc. off. anal. Chem., 67, 1984, s. 45-48.
- MARSHALL, E.: A cloudburst of yellow rain reports. U. N. and Canadian investigators agree that chemical weapons are being used, but fail to endorse the U. S. discovery of mycotoxins. Science, 218, 1982, s. 1202-1203.
- NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — BENEŠ, J.: Využitie prvoka *Tetrahymena pyriformis* pre testovanie kontaminácie biologických materiálov organofosfátmi a karbamátmi. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 695-700.

- NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J.: Vplyv niektorých pesticidov na prvoka *Tetrahymena pyriformis*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984, s. 699-704.
- NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J.: Vplyv dichlórvosu a metatationu na vybrané enzýmy prvoka *Tetrahymena pyriformis*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, s. 443-447.
- OBRŠÁL, J. — VYSKOČIL, A.: Naše zkušenosti s RIA testem Afla B₁. Acta Hyg., příloha 2, 1984, s. 176-179.
- OHTSUBO, K. — SAITO, M.: Cytotoxic effects of scirpene compounds, fusarenon-X, produced by *Fusarium nivale*, dihydronivalenol and dihydrofusarenon-X, on HeLa cells. Jap. J. med. Sci. Biol., 23, 1970, s. 217-225.
- PATHRE, S. V. — MIROCHA, C. J.: Assay methods for trichothecenes and review of their natural occurrence. In: Rodricks, J. V. — Hesseltine, C. W. — Mehlman, M. A. (eds.): Mycotoxins in human and animal health. Park Forest, South Ill., Pathotox Publ. 1977, s. 229-253.
- PISKAČ, A. — ZAPLETAL, O. — MALÁ, J.: Chemický průkaz aflatoxinu a sledování jeho účinku na metabolismus zvířat. [Závěrečná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975.
- POLSTER, M.: Toxigenní plísně a mykotoxiny v potravinách. Brno, ÚDVSP 1971. 84 s.
- UENO, Y.: Trichothecenes: Chemical, biological and toxicological aspects. Amsterdam — New York, Elsevier 1983.
- VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — SMOLOVÁ, A. — SEDLAČEK, L.: Chemické metody stanovení mykotoxinů. Studium producentů mykotoxinů vzhledem k možnosti přípravy mykotoxinů. [Závěrečná zpráva.] Olešnice v Orlických horách, ÚEM CSAV 1984. 96 s.

Došlo dňa 20. 9. 1985

НИШТИАР, Ф. — ГРУШОВСКИ, Й. — МОЙЖИШ, Я. — МИЖИК, П. — НИШТИАРОВА, А. (Военный ветеринарный доучивающий и научно-исследовательский институт, Кошице): Биологический метод определения микотоксинов — *Tetrahymena pyriformis*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 245-250.

Мы испытывали токсическое действие некоторых микотоксинов для биологического объекта простейшего *T. pyriformis*: токсина Т-2 в дозах от 1,52 мг до 100,0 мг. л⁻¹ среды; охратоксина А в дозах от 12,21 мг до 800,0 мг. л⁻¹ среды; рубратоксина Б в дозах от 12,21 мг до 800,0 мг. л⁻¹ среды. У токсина Т-2 определили LD₁₀₀ около 390,63 мг и LD₅₀ около 48,83 мг. л⁻¹ среды; у охратоксина А LD₁₀₀ около 25,0 мг и LD₅₀ около 3,13 мг. л⁻¹ среды; у рубратоксина Б LD₁₀₀ около 200,0 мг и LD₅₀ около 25,0 мг. л⁻¹ среды.

токсин Т-2; охратоксин А; рубратоксин Б; микотоксин; биологический метод

NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J. — MIŽIK, P. — NIŠTIAROVÁ, A. (Military Veterinary Extension and Research Institute, Košice): A Biological Method of the Determination of Mycotoxins: *Tetrahymena pyriformis*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 245-250.

The toxic action of selected mycotoxins on a biological subject was tested in the protozoan *Tetrahymena pyriformis*. The following toxins were tested: toxin T-2 at doses from 1.52 µg to 100.0 mg per litre of medium, ochratoxin A at doses from 12.21 µg to 800.0 mg per litre of medium, and rubratoxin B at doses from 12.21 µg to 800.0 mg per litre of medium. In toxin T-2 the LD₁₀₀ was found to be about 390.63 µg and LD₅₀ about 48.83 µg per litre of medium. In ochratoxin A the LD₁₀₀ was about 25.0 mg and LD₅₀ about 3.13 mg per litre of medium. In rubratoxin B the LD₁₀₀ was about 200.0 mg and LD₅₀ about 25.0 mg per litre of medium.

toxin T-2; ochratoxin A; rubratoxin B; mycotoxins; biological method

Adresy autorov:

MVDr. František Ništiar, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., MVDr. Ján Mojžiš, ing. Peter Mižik, Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, pošt. priečinok B-35, 041 15 Košice
MVDr. Agnesa Ništiarová, Lekárska fakulta UPJŠ, trieda SNP 1, 040 00 Košice

VÝSKYT HERPESVIROVÉ HEPATITIDY PAPOUŠKŮ — PACHECO'S PARROT DISEASE — NA ÚZEMÍ ČSSR

M. Peršín, J. Bratršovský

PERŠÍN, M. — BRATRŠOVSKÝ, J. (Státní veterinární ústav, Liberec): *Výskyt herpesvirové hepatitidy papoušků — Pacheco's parrot disease — na území ČSSR*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 251-256.

Je popsáno vysoce fatální onemocnění papoušků v zoologické zahradě, charakterizované náhlými hromadnými úhyny. V játrech uhynulých papoušků byly zjištěny ložiskovité nekrotické změny s výskytem intranukleárních inkluzí typu Cowdry A. Virus byl izolován na kuřecích embryích a tkáňových kulturách z kuřecích embryonálních buněk. Biologický pokus byl proveden na andulcích vlnkovaných. Elektronová mikroskopie prokázala výskyt herpesvirových nukleokapsid a kompletních virionů v infikovaných tkáňových kulturách.

herpesvirová infekce; izolace viru; rtuť

V letech 1983 a 1984 jsme se několikrát setkali s onemocněním papoušků, charakterizovaným rychlým průběhem a vysokými ztrátami jak v soukromých chovech, tak v zoologických zahradách. Na základě klinických a patomorfologických změn a výskytu intranukleárních inkluzí v jaterní tkáni bylo vysloveno podezření na virovou etiologii — herpesvirovou hepatitidu papoušků. Epizootie uvedeného onemocnění v ZOO O. je předmětem předloženého sdělení.

U ptáků bylo popsáno 12 herpetických druhů, většinou specifických pro svého hostitele. Mimo intenzivně studovanou herpesvirovou onemocnění drůbeže byly herpesviry izolovány i z volně žijícího a okrasného ptactva.

První výskyt herpesvirové hepatitidy papoušků byl popsán v Jižní Americe (Pacheco a Bier, 1930). Onemocnění probíhalo akutně s vysokou morbiditou a mortalitou postižených papoušků. Rivers (1931) je na základě klinického a patomorfologického vyšetření odlišil od psitakózy a Findlay (1933) je nazval Pachecovou papouščí nemocí. Izolované etiologické agens bylo podle výskytu intranukleárních inkluzí v postižených buňkách (Rivers a Schwentker, 1932) prozatímne zařazeno do skupiny herpesvirů (Andrewes a Pereira, 1972). Simpson aj. (1975) poprvé detekovali virus pomocí elektronové mikroskopie a podle velikosti, morfologie, citlivosti k éteru a struktuře intranukleárních inkluzí jej identifikovali jako herpesvirus. Další zprávy o herpesvirovém onemocnění papoušků byly publikovány v Keni (Kalinier, 1975), na Novém Zélandě (Durham aj., 1977), v NSR (Winteroll, 1977), ve Velké Británii (Martin a Early, 1979), v Indonézii (Dharma a Sudana, 1983), ve Francii (Gilbert aj., 1984) a jinde.

MATERIÁL A METODY

V lednu roku 1984 došlo v ZOO O. k prudkému hynutí papoušků. První úhyn nastal 20 dnů po nákupu mláďete *Psittacus erithacus* ze ZOO J. a během 14 dnů uhynulo osm kusů *Psittacus erithacus*, dva kusy *Cacatua galerita*, pět kusů *Ara ararauna*, jeden kus *Ara maracana* a jeden kus *Ara macao*. Z původních 18 papoušků, kteří byli ve vlastnictví ZOO O. minimálně dva roky, přežily pouze dva kusy *Ara macao*. Poslední uhynul *Psittacus erithacus*, zakoupený v ZOO J. Onemocnění bylo pravděpodobně komplikováno zkrmováním přídatku mořeného ovsa.

K laboratornímu vyšetření na SVÚ Liberec byly dodány dva kusy *Ara ararauna*, jeden kus *Psittacus erithacus* a jeden kus *Cacatua galerita*. Vzorky jater, sleziny, ledviny, srdce a střeva, získané pitvou z uhynulých papoušků, játra z andulek vlnkovaných uhynulých v biologickém pokusu a játra kuřecích embryí jsme fixovali v 10% formalínu a zpracovávali běžnou parafinovou technikou. Histologické řezy jsme barvili hematoxylinem a eozinem. Z jater a sleziny uhynulých papoušků byla provedena aerobní kultivace na krevní, Endovu a Christensenovu živnou půdu a ze střevního obsahu flotační parazitologické vyšetření. Krevní nátěry a otiskové preparáty z jater, sleziny a vzdušných vaků k vyloučení krevních parazitů a chlamydií byly barveny metodou podle Giemsy. Hladina rtuti v opakovaně zaslaných vzorcích ovsy a v játrech uhynulých papoušků byla stanovena metodou AAS.

Z jater uhynulých papoušků, andulek vlnkovaných uhynulých v biologickém pokusu a uhynulých kuřecích embryí jsme připravili 10% suspenze ošetřené antibiotiky (penicilin, streptomycin). Po odstředění byla provedena bakteriologická kultivace na sterilitu. Množství 0,2 ml získaného supernatantu jsme inokulovali do žloutkového vaku 15 sedmidenních kuřecích embryonovaných vajec pocházejících z izolovaného soukromého chovu a sledovali jsme mortalitu a patologicomorfologické změny na uhynulých kuřecích embryích. Z jater uhynulých kuřecích embryí byla provedena další subpasáž. Pět kuřecích embryí bylo inokulováno sterilním fyziologickým roztokem. Běžnou trypsinační metodou jsme připravili z devítidenních kuřecích embryí embryonální buňky, které jsme kultivovali v živném médiu s 10% telecího séra pro tkáňové kultury. 24hodinové kultury byly infikovány 0,1 ml supernatantu připraveného z jater uhynulých papoušků, andulek vlnkovaných uhynulých v biologickém pokusu a kuřecích embryí a prohlíženy ve 24hodinových intervalech na přítomnost cytopatického efektu. Současně byly založeny kontrolní tkáňové kultury. Po 72 až 96 hodinách kultivace byly ze změněných tkáňových kultur provedeny další čtyři pasáže.

V biologickém pokusu na andulkách vlnkovaných byly vždy dvěma kusům aplikovány intramuskulárně do prsní svaloviny 0,2 ml supernatantu ze suspenze jater uhynulých papoušků, 0,2 ml supernatantu ze suspenze jater uhynulých kuřecích embryí v primokultivaci a 0,2 ml sterilního fyziologického roztoku. Všechny tři skupiny byly chovány odděleně a krmeny nezávadným standardním krmivem. Jejich zdravotní stav byl sledován dvakrát denně.

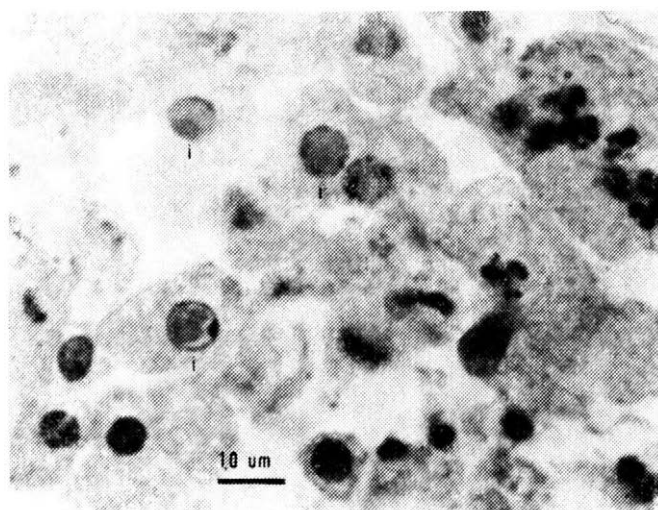
K elektronové mikroskopickému vyšetření bylo použito suspenze jater uhynulých papoušků, andulek vlnkovaných uhynulých v biologickém pokusu a uhynulých kuřecích embryí, pomnožené na tkáňových kulturách z kuřecích embryonálních buněk. Kapka suspenze nanesená na elektronové mikroskopickou sítku potaženou formvarovou blankou a pouhlikovanou byla po několika sekundách odsáta filtračním papírkem. Potom byla na sítku nanesená kapka 2% vodného roztoku molybdenanu amonného o pH 7,0, která byla asi po deseti sekundách odsáta, a takto připravený vzorek byl ihned použit k vyšetření a fotografování v elektronovém mikroskopu BS 513.

VÝSLEDKY

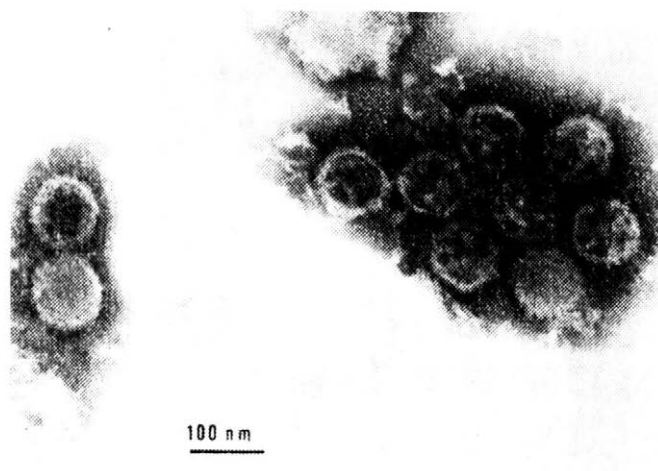
Klinický průběh choroby byl nevýrazný, postižený jedinec seděl ve skupině nebo se částečně stranil okolí, měl spuštěná křídla a nepřijímal potravu. Během 24 hodin hynul v křečích. Pitvou bylo zjištěno u všech vyšetřovaných papoušků zvětšení jater a sleziny, v jaterním parenchymu se objevovala ojedinělá bělavá miliární ložiska. Duodenální sliznice byla zarudlá, vzdušné vaky zesílené. Perikard jednoho kusu obsahoval slámově zbarvenou tekutinu. Mikroskopicky byly v játrech a slezině zjištěny ložiskové koagulační nekrózy, zánětlivá kulatobuněčná infiltrace a proliferace retikuloendotelových buněk. U tří kusů byl v játrech zaznamenán výskyt intranukleárních inkluzí typu Cowdry A (obr. 1). U ledvin se projevovala kongesce a hyalinní dystrofie epitelu proximálních tubulů, na plicích, srdci a střevu nebyly patologické změny prokázány.

Bakteriologické a parazitologické vyšetření a vyšetření na chlamydie bylo vesměs negativní.

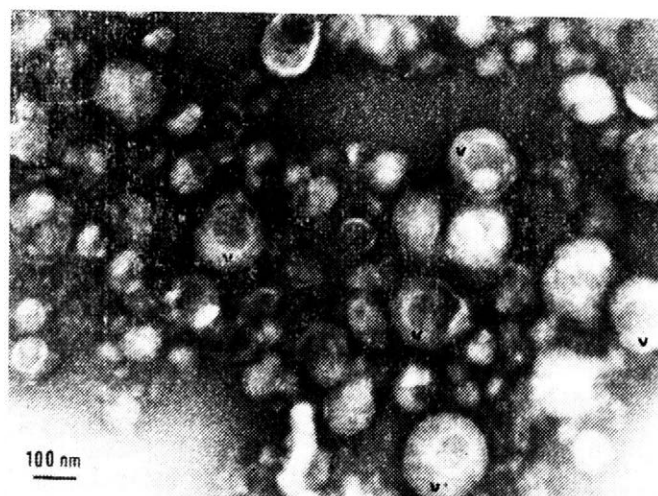
1. Intranukleární inkluze (i) v játrech přirozeně infikovaného papouška (hematoxylin-eosin) — Intranuclear inclusions (i) in the liver of a naturally infected parrot (haematoxylin-eosine)



2. Nukleokapsidy herpesviru papoušků z infikované tkáňové kultury (negativní barvení) — Nucleocapsids of Pacheco's parrot disease virus taken from an infected tissue culture (negative staining)



3. Viriony (v) herpesviru papoušků z infikované tkáňové kultury (negativní barvení) — Virions (v) of Pacheco's parrot disease virus taken from an infected tissue culture (negative staining)



Obsah rtuti v játrech uhynulých papoušků se pohyboval v rozmezí od 0,02 do 0,05 mg na 1 kg tkáně. V prvním dodaném vzorku ova jsme zjistili 5,12 mg rtuti na 1 kg. V dalších opakovaných odběrech byla hladina rtuti 0,02 až 0,08 mg na kg.

Při virologickém vyšetření z 15 infikovaných kuřecích embryí uhynula třetí den po infekci dvě embrya, pátý den deset embryí. Zbývající embrya byla utracena osmý den po infekci. Uhynulá embrya byla silně překrvená, zakrslá a edematózní. Jejich játra byla hnědozelená s četnými miliárními nekrózami. V další subpasáži z 15 infikovaných kuřecích embryí uhynulo čtvrtý den po infekci devět embryí a pátý den po infekci šest embryí. Patologickomorfologický nález byl u většiny embryí shodný s nálezem v primokultivaci. Histologickým vyšetřením jater byly prokázány intranukleární inkluze typu Cowdry A. U kontrolních a přežilých utracených embryí vyšetřených stejným způsobem nebyly patologické změny zjištěny.

V infikovaných tkáňových kulturách se za 72 hodiny po infekci projevoval cytopatický efekt, charakterizovaný zakulacováním buněk, tvorbou syncytií a shlukováním buněk do ostrůvků. Cytopatický efekt byl detekován i v dalších čtyřech pasážích. Kontrolní tkáňové kultury byly beze změny.

Andulky vlnkované, infikované supernatantem suspenze jater uhynulých papoušků a uhynulých kuřecích embryí v primokultivaci, uhynuly čtvrtý den po inokulaci po předchozí krátkodobé somnolenci. Patologickomorfologickým vyšetřením byla prokázána nekrotická hepatitida s výskytem intranukleárních inkluzí. U kontrolních andulek nebyly klinické příznaky onemocnění pozorovány.

Elektronově mikroskopickým vyšetřením byly ve zhotovených preparátech prokazovány jak herpesvirové nukleokapsidy (obr. 2), tak i kompletní viriony (obr. 3). Velikost nukleokapsid byla v průměru 100 nm, u virionů kolísala v rozmezí 150 až 200 nm.

DISKUSE

Na základě epizootologické situace, klinického průběhu, patologickomorfologických změn a izolace a identifikace viru bylo prokázáno, že epizootie proběhla v ZOO O. odpovídá onemocnění papoušků popsanému jako Pachecova choroba (Rivers, 1931; Simpson a Hanley, 1975; Gilbert aj., 1984 a další).

Nejvýraznější patologickomorfologické změny byly ve shodě s většinou autorů zjištěny v játrech v podobě proliferativně nekrotických lézí s hojným výskytem intranukleárních inkluzí, které jsou patognomické pro všechna herpesvirová onemocnění (Andrewes a Pereira, 1972).

Izolace viru na tkáňových kulturách a kuřecích embryích a jeho typizace elektronovou mikroskopií prokázaly jednoznačně herpesvirovou etiologii onemocnění. Podle Gilberta aj. (1984) mohou herpesviry izolované z psitacidů náležet k více skupinám, charakterizovaným svou antigenní strukturou. Je však pravděpodobné, že herpesvirus izolovaný z jihoamerických papoušků je patogenní pouze pro psitacidy, zatímco ostatní druhy herpesvirů, např. herpesvirus holubů izolovaný z psitacidů (Vindeogel aj., 1980), jsou pro psitacidy nepatogenní nebo pouze příležitostně patogenní. O vysoké patogenitě námi izolovaného viru svědčí i výsledek biologického pokusu na andulkách vlnkovaných.

Otázka, zda se v našem případě jednalo o exacerbaci latentní infekce nebo o zavlečení infekce dovozem, zůstává nejasná. Vzhledem k výskytu herpesvirové infekce psitacidů v Evropě [Winteroll, 1977; Ehersam aj., 1978; Meulemans aj., 1978; Martin a Early, 1979; Kaleta 1983; Gilbert aj., 1984], dlouhodobé perzistenci viru v organismu a možným inaparentním infekcím [Kaleta, 1983] je nutné předpokládat větší rozšíření Pachecovy choroby na území ČSSR. Je proto pravděpodobné, že v ZOO O. vzplanula latentní infekce buď v důsledku dovozu mláděte *Psittacus erithacus* ze ZOO J., nebo zatížením organismu místních papoušků zkrmováním mořeného ovsu. Chemicky ošetřené obilí jako predispoziční faktor uvádějí např. Martin a Early [1979] při epizootii Pachecovy choroby ve Velké Británii.

V současné době je důležité věnovat zvýšenou pozornost dovozu psitacidů do ČSSR, neboť původce onemocnění může pravděpodobně přežívat v organismu v latentní formě, jako je tomu při jiných herpesvirových infekcích. Zatím nebyla vypracována metoda pro odhalení těchto nosičů a Gilbert aj. [1984] uvádějí jako jediné opatření přísnou izolaci podezřelých druhů a navrhuji eutanazii všech nemocných a kontaminovaných jedinců. Do popředí zájmu se také dostává otázka aktivní imunizace [Hitchner aj., 1980]. Zdařilá izolace herpetického kmeny Pachecovy choroby a jeho replikace na tkáňových kulturách dává předpoklad pro eventuální přípravu inaktivované vakcíny k imunizaci ohrožených chovů.

Poděkování

Za spolupráci na úseku elektronové mikroskopie děkujeme MVDr. B. Šmídovi, CSc., a MVDr. L. Valíčkovi, CSc., z Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně.

Literatura

- ANDREWES, C. H. — PEREIRA, H. G.: Viruses of vertebrates. London, Bailliere Tindall 1972, s. 233-260.
- DHARMA, N. D. — SUDANA, I. G.: Hepatic intranuclear inclusion bodies in Cockatoo bird. Avian Diseases, 27, 1983, s. 301-303.
- DURHAM, P. J. K. — GUMBRELL, R. C. — CLARCK, R. G.: Herpesvirus infection in parrots. N. Z. veter. J., 25, 1977, s. 168.
- EHRSAM, H. — HAUSSE, B. — METZIER, A.: An acute outbreak of Pacheco's parrot disease in domestic flock of parrots. Schweiz. Arch. Tierheilkde, 120, 1978, s. 23-28.
- FINDLAY, G. M.: Pacheco's parrot disease. Veter. J., 89, 1933, s. 12.
- GILBERT, Y. — CHANTAL, J. — JOUGLAR, J. Y. — GERARD, H. — LACHERTZ, A. — PICVET, D.: Une virose meurtrière des psittacides analogue à la maladie de Pacheco — un foyer en haute — garonne. Rev. Méd. vétér., 135, 1984, s. 303-306.
- HITCHNER, S. B. — CALNEK, B. W.: Inactivated vaccine for parrot herpesvirus infection (Pacheco's disease). Amer. J. veter. Res., 41, 1980, s. 1280-1282.
- KALETA, E. F.: Herpesvirus induzierte Infektionen und Krankheiten des Vögels. Tierärztl. Prax., 11, 1983, s. 67-75.
- KALINER, G.: Intranuclear hepatic inclusion bodies in an African gray parrots. Avian Diseases, 19, 1975, s. 640-642.
- MARTIN, H. T. — EARLY, J. L.: The isolation of herpesvirus from psittacine birds. Veter. Rec., 105, 1979, s. 256-258.
- MEULEMANS, G. — DEKEGEL, D. — PEETERS, J. — HALEN, P.: Isolation and characterisation of an herpesvirus from parrots. Vlaams diergeneesk. Tijdschr., 6, 1978, s. 455-461.
- PACHECO, G. — BIER, O.: Epizootie chez les perroquets du Brasil. Relations avec le psittacose. C. R. Soc. Biol., 105, 1930, s. 109-111.

RIVERS, T. M.: A recently described disease of parrots and parrakeets differing from psittacosis. J. exp. Med., 29, 1931, s. 155-156.
 RIVERS, T. M. — SCHWENTKER, F. F.: A virus disease of parrots and parrakeets differing from psittacosis. J. exp. Med., 55, 1932, s. 911-924.
 SIMPSON, C. F. — HANLEY, J. E. — GASKIN, J. M.: Psittacine herpesvirus infection resembling Pacheco's parrot disease. J. infect. Disease, 131, 1975, s. 390-396.
 VINDEVOGEL, H. — PASTORET, P. P. — LEROY, P. — COIGNOUL, F.: Comparaison de tris souches de virus herpetique isolees de psittacides avec le virus herpes de pigeon. Avian Path., 9, 1980, s. 385-394.
 WINTEROLL, G.: Herpesvirus Infection bei Psittaciden. Prakt. Tierarzt, 58, 1977, s. 321-322.

Došlo dne 3. 4. 1985

ПЕРШИН, М. — БРАТШОВСКИ, Й. (Государственный ветеринарный институт, Либерец): Распространение герпесвирусного гепатита попугаев — *Pacheco's parrot disease* — на территории ЧССР. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 251-256.

Описано смертельное заболевание попугаев в зоопарке, характеризующееся внезапной массовой смертностью. В их печени обнаружены очаговые некротические изменения с наличием внутриклеточных инклюзий типа Cowdry A. Вирус изолирован у куриных эмбрионов и тканевых культур из куриных эмбриональных клеток. Биологический опыт проводили на волнистых попугайчиках. Электронмикроскопия показала наличие герпесвирусных нуклеокапсидов и комплектных вирионов в зараженных тканевых культурах.

герпесвирусная инфекция; изоляция вируса; ртуть

PERSÍN, M. — BRATRŠOVSKÝ, J. (State Veterinary Institute, Liberec): *The Occurrence of Pacheco's Parrot Disease in the Territory of Czechoslovakia*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 251-256.

A highly fatal disease of parrots kept in zoological garden is described; it manifests itself as abrupt mass death of the birds. Deposits of necrotic changes with the occurrence of intranuclear inclusions of the Cowdry A type were found in the liver of dead parrots. The virus was isolated on chick embryos and tissue cultures of chick embryo cells. The bioassay was performed on *Psittacus undulatus*. The occurrence of herpesvirus nucleocapsids and complete virions in the infected tissue cultures was detected by means of electron microscopy.

herpes virus disease infection; virus isolation; mercury

PERSÍN, M. — BRATRŠOVSKÝ, J. (Staatliches Veterinärinstitut, Liberec): *Vorkommen der Herpesvirus-Hepatitis der Papagaien — Pacheco's Parrot Disease — auf dem Territorium der ČSSR*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (4) : 251-256.

Es wird eine verhängnisvolle Erkrankung von Papagaien im Zoopark beschrieben, die durch plötzliche massenhafte Verendungen charakterisiert war. In der Leber der verendeten Vögel wurden herdenhafte nekrotische Veränderungen, mit einem Auftreten intranuklearer Inklusionen vom Typ Cowdry A, gefunden. Das Virus wurde auf Kükenembryonen und Gewebekulturen aus Kükenembryonalzellen isoliert. Der biologische Versuch wurde mit Wellensittichen vorgenommen. Mittels Elektronenmikroskopie wurde das Vorkommen von Herpesvirus-Nucleokapsiden und kompletten Virionen in infizierten Gewebekulturen nachgewiesen.

Herpesvirusinfektion; Virusisolierung; Quecksilber

Adresa autorů:

MVDr. Miroslav Peršín, MVDr. Jiří Bratršovský, Státní veterinární ústav, Liberec 30, 463 11 Vratislavice n. Nisou

Dvořák R., Jagoš P., Skřivánek M.: Dynamika vybraných biochemických ukazatelů energetického metabolismu u telat při dvou odlišných způsobech mléčné výživy	193
Zajíček D., Dvořáčková A., Haisl K.: Výskyt kokcií rodu <i>Cryptosporidium</i> (<i>Cryptosporidiidae</i>) při průjemových onemocněních telat	201
Žuffa A., Zajac J., Žuffa T.: Porovnanie imunizačnej účinnosti subjednotkovej a vírusovej inaktivovanej olejovej vakcíny proti infekčnej rinotracheitide hovädzieho dobytku	209
Rybníkář A., Chumela J., Vrzal V.: Ověřování protekčních schopností avirulentní vakcíny proti trichofytóze skotu	219
Kozumplik J., Martinek J.: Vliv Oestrophanu Spofa (syntetického analogu prostaglandinu F ₂ alfa) přidaného do inseminační dávky na březost a plodnost prasnic	227
Raszyk J. a kol.: Fyzikální, chemické a biologické vyšetření prachu z velkovýkrmů prasat	233
Ništiar F., Hrušovský J., Mojžiš J., Mižik P., Ništiarová A.: Biologická metoda na stanovenie mykotoxínů — <i>Tetrahymena pyriformis</i>	245
Peršín M., Bratršovský J.: Výskyt herpesviróvé hepatitidy papoušků — Pacheco's parrot disease — na území ČSSR	251

СОДЕРЖАНИЕ

Дворжак Р., Ягош П., Скрживанек М.: Динамика избранных биохимических показателей энергетического метаболизма у телят в условиях двух разных способов молочного питания	193
Зайичек Д., Дворжакова А., Гайсл К.: Наличие кокцидий сем. <i>Cryptosporidium</i> (<i>Cryptosporidiidae</i>) во время поносов телят	201
Жуффа А., Заяц Я., Жуффа Т.: Сравнение иммунного действия подединичной и вирусной инактивированной масляной вакцины против заразного ринотрахеита крупного рогатого скота	209
Рыбникарь А., Хумела Й., Врзал В.: Испытание защитных свойств авирулентной вакцины против трихофитоза крупного рогатого скота	219
Козумплик Я., Мартинек Й.: Влияние Эстрофана Споба (синтетического аналога простагландина F ₂ альфа), добавляемого в осеменительную дозу, на супоросность и плодовитость свиноматок	227
Рашик Й. и колл.: Физическое, химическое и биологическое исследование пыли из крупных свиноматок-кормиц	233
Ништиар Ф., Грушовски Й., Мойжиш Я., Мижик П., Ништиарова А.: Биологический метод определения микотоксинов — <i>Tetrahymena pyriformis</i>	245
Першин М., Братшовски Й.: Распространение герпесвирусного гепатита попугаев — Pacheco's parrot disease — на территории ЧССР	251

CONTENTS

Dvořák R., Jagoš P., Skřivánek M.: The Changes in Selected Biochemical Parameters of Energy Metabolism in Calves Kept on Two Milk Diets	193
Zajíček D., Dvořáčková A., Haisl K.: The Occurrence of the Coccidia of the <i>Cryptosporidium</i> Genus (<i>Cryptosporidiidae</i>) in Calves Suffering from Diarrhoeas	201
Žuffa A., Zajac J., Žuffa T.: Comparison of the Immunizing Effectiveness of the Subunit Vaccine and Virus-Inactivated Oil Vaccine against Infectious Bovine Rhinotracheitis	209

Rybníkář A., Chumela J., Vrzal V.: Testing the Protection Effect of Avirulent Vaccine against Bovine Trichophytosis	219
Kozumplík J., Martinek J.: The Effect of Oestrophan Spofa (Synthetic Analogue of Prostaglandin F ₂ alpha) in an Insemination Dose on the Pregnancy Rate of Sows and their Litter Size	227
Raszyk J. a kol.: Physical, Chemical and Biological Examination of Dust Deposition in Large Pig-Fattening Houses	233
Ništiar F., Hrušovský J., Mojžiš J., Mižik P., Ništiarová A.: A Biological Method of the Determination of Mycotoxins: <i>Tetrahymena pyriformis</i>	245
Peršín M., Bratršovský J.: The Occurrence of Pacheco's Parrot Disease in the Territory of Czechoslovakia	251

INHALT

Dvořák R., Jagoš P., Skřivánek M.: Dynamik ausgewählter biochemischer Kennwerte des Energiestoffwechsels bei Kälber bei zwei unterschiedlichen Methoden der Milchnahrung	193
Zajíček D., Dvořáčková A., Haisl K.: Vorkommen von Kokzidien der Gattung <i>Cryptosporidium</i> (<i>Cryptosporidiidae</i>) bei Durchfallerkrankungen der Kälber	201
Žuffa A., Zajac J., Žuffa T.: Vergleich der Immunisierungswirksamkeit der subeinheits- und der virusinaktivierten Ölvakzine gegen die infektiöse Rhinotracheitis der Rinder	209
Rybníkář A., Chumela J., Vrzal V.: Testung von Schutzfähigkeiten der avirulenten Vakzine gegen Trichophytose der Rinder	219
Kozumplík J., Martinek J.: Einwirkung von zur Inseminationsportion beigefügtem Oestrophan Spofa (synthetisches Analogon des Prostaglandins F ₂ Alpha) auf das Trächtigerwerden und die Fruchtbarkeit von Sauen	227
Raszyk J. a kol.: Physikalische, chemische und biologische Untersuchung von Staub aus industriemäßigen Schweinemastanlagen	233
Ništiar F., Hrušovský J., Mojžiš J., Mižik P., Ništiarová A.: Biologische Methode zur Ermittlung von Mykotoxinen — <i>Tetrahymena pyriformis</i>	247
Peršín M., Bratršovský J.: Vorkommen der Herpesvirus-Hepatitis der Papagaien — Pacheco's Parrot Disease — auf dem Territorium der ČSSR	251

Rukopisy odevzdány k tisku 3. 1. 1986 — Podepsáno k tisku 28. 2. 1986

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Kubánská 1539, 708 72 Ostrava-Poruba. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6. Vytiskl MİR, novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2.