

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

9

VOLUME 42 (LXIX)
PRAHA
SEPTEMBER 1997
CS ISSN 0375-8427

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gescí České akademie zemědělských věd

An international journal published under the authorization by the Ministry of Agriculture and under the direction of the Czech Academy of Agricultural Sciences

Editorial Board – Redakční rada

Chairman – Předseda

Prof. MVDr. Karel Hruška, CSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Members – Členové

Doc. MVDr. ing. Jiří Brož, CSc., Reinfelden, Switzerland

Arnost Cepica, DVM., PhD., Associate Professor (Virology/Immunology), Atlantic Veterinary College, U.P.E.I., Charlottetown, Canada

Dr. Milan Fránek, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Ivan Herzig, CSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumír Hofírek, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MUDr. Drahomír Horký, DrSc., Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. RNDr. Petr Hořín, CSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. František Kovářů, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MUDr. M. V. Nermut, PhD., DSc. (h. c.), National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom

Prof. MUDr. MVD. h. c. Leopold Pospíšil, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Prof. RNDr. Václav Suchý, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc., BIOPHARM – Research Institute of Biopharmacy and Veterinary Drugs, a. s.,

Jílové u Prahy, Czech Republic

Prof. MVDr. Zdeněk Věžík, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Editor-in-Chief – Vedoucí redaktorka

Ing. Zdeňka Radošová

Cíl a odborná náplň: Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní vědecké práce a studie typu review ze všech oblastí veterinární medicíny v češtině, slovenštině a angličtině.

Časopis je citován v bibliografickém časopise Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, a abstrakty z časopisu jsou zahrnuty v těchto databázích: Agri, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicita: Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 42 vychází v roce 1997.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Zdeňka Radošová, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: fofo@uzpi.cz. Podrobné pokyny pro autory lze vyžádat v redakci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a zasílají se na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1997 je 564 Kč.

Aims and scope: The journal Veterinární medicína original publishes papers and reviews from all fields of veterinary medicine written in Czech, Slovak or English.

The journal is cited in the bibliographical journal Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, abstracts from the journal are comprised in the databases: Agri, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicity: The journal is published monthly (12 issues per year), Volume 42 appearing in 1997.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: Ing. Zdeňka Radošová, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: fofo@uzpi.cz. Applications for detailed instructions for authors should be sent to the editorial office.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 1997 is 132 USD (Europe), 138 USD (overseas).

NEW METHOD OF PREPARATION OF BOVINE COLOSTRAL IMMUNOGLOBULINS FOR PARENTERAL APPLICATION IN CALVES

NOVÁ METODA PŘÍPRAVY HOVĚZÍCH KOLOSTRÁLNÍCH IMUNOGLOBULINŮ K PARENTERÁLNÍ APLIKACI U TELAT

K. Semotán, D. Kaláb

Bioveta, a. s., Ivanovice na Hané, Czech Republic

ABSTRACT: A new simple method of preparation of bovine colostrum immunoglobulins was described using a single step precipitation of skimmed bovine colostrum with dimethylaurylbenzylammonium bromide (DMLBAB). This quaternary ammonium compound precipitated simultaneously nearly all colostrum proteins lacking antibody activity. Bovine colostrum was collected mostly during of the first 24 hours after calving, at the latest however until 48 hours. Isolation of bovine colostrum immunoglobulins proceeded as follows: one volume of skimmed colostrum containing 3–6% of immunoglobulins was slowly precipitated with the same volume of 2% water solution of DMLBAB at pH 7.9–8.1 along with continuous stirring. Turbid mixture was then heated to 43–45 °C and subsequently cooled to a room temperature standing overnight. Heavy precipitate sedimented down and supernatant fluid containing purified immunoglobulins was decanted and clarified by filtration. Residual DMLBAB occurring in the filtrate was removed by passage through a column of strongly acid catex, prepared in Na⁺ form. Purified colostrum immunoglobulins were thickened to the required protein concentration by ultrafiltration. Dense retentate was clear and became an amber colour. Average yield of purified colostrum immunoglobulins reached 18.8 g/litre of skimmed bovine colostrum (Tab. I). Electrophoretic purity of immunoglobulins fraction amounted to 90–95% (Fig. 1). For parenteral application in calves the above solution of immunoglobulins was subsequently adjusted to 9–11% content of protein, 0.9% of sodium chloride, pH 7.2, stabilized with 2% of aminoacetic acid and conserved with 0.015% of thiomersal. Finally, the preparation was sterilized by filtration, kept its content of immunoglobulins minimally 2 years at the temperature of storage between 2–8 °C and remained biologically harmless. Using the method described it was not necessary to remove casein from skimmed bovine colostrum prior to the purification of immunoglobulins. Hence the method provided a significant short cut especially in laboratory as well as pilot scale production of bovine colostrum immunoglobulins bringing about a marked economic benefit.

bovine colostrum; immunoglobulins; preparation; DMLBAB – dimethylaurylbenzylammonium bromide

ABSTRAKT: Je popsán nový jednoduchý způsob přípravy hovězích kolostrálních imunoglobulinů použitelný v laboratorním i provozním měřítku. Zpracovávalo bylo kolostrum sbírané od krav zpravidla během prvních 24 hodin, nejpozději však do 48 hodin po otelení. Postup přípravy spočívá v jednostupňovém oddělení imunoglobulinů odtučněného kravského kolostra od jeho ostatních bílkovinných složek dimethylaurylbenzylammonium bromidem (DMLBAB), který sráží současně téměř všechny protilátkově neaktivní bílkoviny a v následné koncentraci získaného roztoku imunoglobulinů jeho ultrafiltrací. Uvedeným metodickým postupem byly připraveny roztoky kolostrálních imunoglobulinů o koncentraci 9 až 11 % bílkoviny, s obsahem 0,8 až 1,0 % chloridu sodného a elektroforetické čistotě imunoglobulinové frakce 90 až 95 %. Průměrný výtěžek získaných imunoglobulinů byl 18,8 g z jednoho litru odtučněného kravského kolostra. K parenterální aplikaci u telat byl tento roztok kolostrálních imunoglobulinů ještě upraven na pH 7,2, stabilizován přidáním 2 % kyseliny aminooctové a konzervován 0,015 % merthiolátu. Přípravek byl sterilizován filtrací a uchoval si svůj obsah imunoglobulinů a biologickou neškodnost po dobu minimálně dvou let uložení při teplotách 2 až 8 °C (tab. II). Při použití popsané metody nebylo nutno odstraňovat kazein z odtučněného hovězího kolostra před purifikací imunoglobulinů. Tím dochází k podstatnému zkrácení procesu přípravy kolostrálních imunoglobulinů s pozitivním ekonomickým efektem.

hovězí kolostrum; imunoglobuliny; příprava; DMLBAB – dimethylaurylbenzylammonium bromid

Je známo, že k ochraně novorozených telat před enterálním onemocněním a septikemií je důležité dosažení určité hladiny kolostrálních imunoglobulinů (Boyd, 1972; McGuire aj., 1976; Robinson aj., 1988). Kolostrum tak představuje velmi hodnotný zdroj protilátek proti infekcím, jež působí citelné ztráty zejména u telat v raném postnatálním období jejich života a také u mladého skotu (Robert aj., 1991; Pirro aj., 1995). Tato skutečnost vedla m. j. k vývoji řady preparátů na bázi imunoglobulinů z kravského kolostra, které jsou úspěšně používány ve veterinární medicíně jak k preventivní pasivní imunizaci telat, tak i k jejich léčebnému ošetření, například Lactoplasmin v Bulharsku, Septival ve Francii, Kolostralin ve Spolkové republice Německo nebo Gammalin ve Švýcarsku.

K přípravě imunoglobulinů z kravského kolostra se používá řada metod. Jejich společným základem jsou však tři izolační stupně, a to: a) separace kolostrálního tuku, b) odstranění kazeinu z odtučněného kolostra, c) čištění (purifikace) imunoglobulinů.

Separace kolostrálního tuku se provádí zpravidla odstředováním. Kazein, který je z hlediska izolace imunoglobulinů hlavní balastní bílkovinnou složkou kolostra, se odstraní většinou jako sraženina vzniklá při snížení iontové síly a pH odtučněného kolostra. Účelem třetího stupně izolace imunoglobulinů je jejich purifikace, tj. oddělení od albuminu, alfa-laktalbuminu a beta-laktoglobulinu. Provádí se většinou klasickými metodami, jako například srážením imunoglobulinů alkoholem za minusových teplot (Gudošnik, 1976; Kaláb a Krupka, 1978) nebo vysolováním pomocí síranu sodného (Fey aj., 1976). Přehled frakčních metod používaných v poslední době k separaci hlavních mléčných proteinů s možností průmyslového využití podává Hausel aj. (1990).

V následujícím sdělení popisujeme novou metodu přípravy hovězích kolostrálních imunoglobulinů jednodušším srážením odtučněného kravského kolostra dimethylaurylbenzylamonium bromidem (DMLBAB). Tato kvartérní amoniová sloučenina sráží současně téměř všechny bílkoviny kolostra s výjimkou imunoglobulinů.

MATERIÁL A METODY

Kolostrum bylo sbíráno od krav zpravidla během prvních 24 hodin, nejpozději však do 48 hodin po oteplení. Bylo převáženo v uzavřených polyetylenových nádobách a po odtučnění centrifugací většinou ihned zpracováno. Pokud se získané kolostrum ihned nezpracovalo, bylo zamraženo.

Izolace kolostrálních imunoglobulinů probíhala takto: odtučněné kolostrum s obsahem imunoglobulinů 3 až 6 % bylo za pomalého míchání sráženo 2% roztokem DMLBAB při pH 7,9 až 8,1 v objemovém poměru 1 : 1. Zakalená směs pak byla zahřátá na teplotu 43 až

45 °C a po dosažení této hodnoty byla ponechána spontánně chladnout na teplotu prostředí do příštího dne. Vzniklá sraženina sedimentuje a supernatantní tekutina, obsahující purifikovanou frakci imunoglobulinů, byla oddělena dekantací a vyčištěna filtrací. Zbytek roztoku imunoglobulinů ze sraženiny byl získán promytím a filtrací. Oba číré filtráty byly smíchány a zbytky DMLBAB byly odstraněny pasázováním roztoku přes sloupec silně kyselého katexu v Na⁺ formě (Semotán a Kaláb, 1983).

Používali jsme silně kyselý katex Ostion KS, vyráběný v České republice (Chema, Rájec). Odstranění použitého detergentu DMLBAB bylo kontrolováno zákalovou reakcí eluátu z kolony s ferrikanidem draselným (Československý lékopis, 1987). Získaný roztok imunoglobulinů byl pak zahuštěn na požadovanou koncentraci bílkoviny ultrafiltrací. K tomuto účelu jsme použili poloprovodního zařízení Ultrapur I/1 od firmy Defensor A. G. (Curych, Švýcarsko) s ultrafiltrací membránou združující látku o molekulové hmotnosti větší než 100 000. Koncentrovaný roztok kolostrálních imunoglobulinů v retentátu byl čirý, žlutohnědé barvy.

Přípravek pro veterinární použití s parenterální aplikací byl získán úpravou obsahu bílkoviny, obsahu soli, pH, přidáním stabilizátoru a konzervačního činidla. Roztok byl sterilizován filtrací a tepelně inaktivován.

Obsah bílkovin byl určen spektrofotometricky na základě biuretové reakce, obsah chloridu sodného merkurimetrickou titrací, elektroforetická čistota elektroforézou v agaru na skleněných deskách 8 x 8 cm, za použití veronalového pufru o pH = 9, $\mu = 0,06$. Obsah merthiolátu byl stanoven spektrofotometricky na základě barevné reakce rtuť katalyticky rozloženého ferrokyanidu draselného s o-fenantrolinem. Zkouška na neškodnost přípravku byla prováděna laboratorními pokusy na myších a morčatech. V pokusech bylo použito pět bílých myší o ž. hm. 15 až 20 g a pět morčat o ž. hm. 300 až 400 g. Myším bylo aplikováno s.c. 0,5 ml/10 g ž. hm., morčatům 2,5 ml na zvíře. Během pozorovací doby (sedm dní) nesmělo dojít k onemocnění nebo úhynutí zvířat.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Uvedenými metodickými postupy jsme připravili kolostrální imunoglobuliny o koncentraci 9 až 11 % bílkoviny obsahující 0,8 až 1,0 % chloridu sodného a o elektroforetické čistotě imunoglobulinové frakce 90 až 95 %. Průměrný výtěžek kolostrálních imunoglobulinů získaných uvedeným postupem byl 18,8 g z jednoho litru odtučněného kravského kolostra (tab. I).

Elektroforetická analýza připravených kolostrálních imunoglobulinů ve srovnání s hovězími sérovými imunoglobuliny a celým hovězím krevním sérem je dokumentována obr. 1. Kolostrální imunoglobuliny jsou vysoce čistou frakcí s převážným obsahem subtídy IgG₁ charakteristické pro hovězí kolostrum.

Pro parenterální aplikaci telatům byl získaný roztok kolostrálních imunoglobulinů upraven ještě na pH 7,2,

I. Výtěžky kolostrálních imunoglobulinů z 10 stolitrových výrobních šarží kravského kolostra – Yields of colostral immunoglobulins from ten 100 l production batches of cow colostrum

Šarže číslo ¹	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Výtěžek ² (g/100 l)	1 971	1 785	1 700	1 940	1 921	1 820	2 000	2 295	1 910	1 940

¹batch no., ²yield

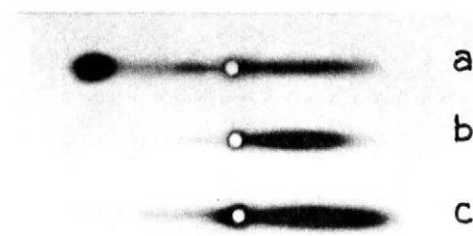
II. Ověření udržitelnosti kolostrálních imunoglobulinů – Tests of colostral immunoglobulin shelf-life

Výrobní šarže ¹	Datum zkoušek po výrobě ²	Datum finálních zkoušek ³	Výsledky ⁴							
			sterilita ⁵		neškodnost ⁶		obsah imunoglobulinů ⁷ (%)		elektroforetická čistota ⁸ (%)	
			a	b	a	b	a	b	a	b
V-510694	17. 6. 1994	22. 5. 1997	vyhovuje ⁹	vyhovuje	vyhovuje	vyhovuje	9,0	8,9	92	90
V-521294	16. 12. 1994	22. 5. 1997	vyhovuje	vyhovuje	vyhovuje	vyhovuje	9,4	9,4	94	95
535602	29. 6. 1995	22. 5. 1997	vyhovuje	vyhovuje	vyhovuje	vyhovuje	9,7	9,4	95	95

a = zkoušky po výrobě – tests after production

b = finální zkoušky – final tests

¹production batch, ²date of tests after production, ³date of final tests, ⁴results, ⁵sterility, ⁶harmlessness, ⁷immunoglobulin content, ⁸electrophoretic purity, ⁹satisfactory



I. Elektroforetická analýza vzorku kolostrálních imunoglobulinů (b) ve srovnání s normálním hovězím sérem (a) a hovězími sérovými imunoglobuliny (c) – Electrophoretic analysis of a sample of colostral immunoglobulins (b) in comparison with common bovine serum (a) and bovine serum immunoglobulins (c)

lostrálních imunoglobulinů s pozitivním ekonomickým efektem. Metoda není náročná na použitá technická zařízení ani energeticky. Rezidua DMLBAB se snadno odstraní pasážováním roztoku kolostrálních imunoglobulinů přes sloupec silně kyselého katexu v Na⁺ formě (Semotán a Kaláb, 1983). Jde o jednoduchý způsob, kterým se dokonale eliminují zbytky uvedeného detergentu z roztoku protilátek.

Zředěný roztok kolostrálních imunoglobulinů nevyžaduje další purifikaci, a proto se pouze koncentruje ultrafiltrací a sterilizuje se filtrací.

Popsaná metoda přípravy imunoglobulinů z kravského kolostra je vhodná jak pro laboratorní účely, tak i pro velkoobjemovou preparaci v poloprodučním nebo výrobním měřítku.

LITERATURA

stabilizován přidáním 2 % kyseliny aminoocetové, konzervován 0,015 % merthiolátu a sterilizován filtrací. Preparát vykazoval stabilitu po dobu minimálně dvou let uložení při teplotách 2 až 8 °C (tab. II).

V popsané metodě přípravy kolostrálních imunoglobulinů se využívá především schopnosti DMLBAB dělit selektivně imunoglobuliny od ostatních bílkovin kravského kolostra. Vhodnost DMLBAB pro izolaci sérových protilátek byla popsána již dříve (Libich, 1969; Semotán aj., 1981).

Použitá kvartérní amoniová sloučenina DMLBAB je poměrně levná a snadno dostupná. Ve Slovenské republice je vyráběna pod komerčním názvem Ajatin (Slovakofarma, a. s., Hlohovec). Při jejím použití není třeba provádět předem dekazeinaci odučněného kravského kolostra, neboť DMLBAB sráží kazein současně s ostatními neprotilátkovými bílkovinami kolostra. Tím dochází k podstatnému zkrácení procesu přípravy ko-

BOYD, J. W. (1987): The relationship between immune globulin deficiency and disease in calves. *Vet. Rec.*, 90, 645–649.

Československý lékopis. 1987, 2, 156.

FEY, H. – PFISTER, H. – MESSERLI, J. – STURZENEGGER, N. – GROLIMUND, F. (1976): Methods of isolation, purification and quantitation of bovine immunoglobulins-technical review. *Zbl. Vet. Med. B.*, 23, 269–300.

GUDOŠNIK, A. N. (1976): Protivobruzeloznyj laktoglobulin i izučenie jeho tšerapevtičeskogo dějstvija v eksperimentě. *Ž. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol.*, 10, 106–109.

HAUSEL, R. – LORENZEN, P. CH. – REIMERDES, E. H. – BRUECKNER, H. (1990): Fractionation of main whey proteins and potential industrial feasibility. *Eur. Dairy Magazine.*, 1, 4–11.

- KALÁB D. – KRUPKA, V. (1978): Vývoj kolostrálního imunoglobulinového přípravku k injekční aplikaci u telat. Veterinářství, 28, 393–394.
- LIBICH, M. (1969): Způsob přípravy sérových gamaglobulinů frakcionací krevního séra, plazmy nebo surových sérových frakcí. Patentový spis č. 132058.
- McGUIRE, T. O. – PFEIFER, N. E. – WEIKEL, J. M. – BARTSCH, R. C. (1976): Failure of colostrum immunoglobulin transfer in calves dying from infectious disease. J. Am. Vet. Med. Assoc., 169, 713–718.
- PIRRO, F. – WIELER, L. H. – FAILING, K. – BAUERFEIND, R. – BALJER, G. (1995): Neutralizing antibodies against Shiga-like toxins from *Escherichia coli* in colostrum and sera of cattle. Vet. Microbiol., 43, 131–141.
- ROBERT, B. – COLLARD, A. – COPPE, P. – GINTER, A. – ANTOINE, H. (1991): Epidémiologie de la cryptosporidiose bovine dans une ferme belge: essai de prévention à l'aide de colostrum. Ann. Méd. Vét., 135, 441–446.
- ROBINSON, J. D. – STOPP, G. H. – DE NISE, S. K. (1988): Effects passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. J. Dairy Sci., 71, 1283–1287.
- SEMOTÁN, K. – KALÁB D. (1983): Způsob odstraňování zbytků dimethylaurylbenzylamonium-bromidu z roztoku imunoglobulinů. Autorské osvědčení č. 206924.
- SEMOTÁN, K. – ŠTĚPÁNEK, V. – JIRAN, E. (1981): Imunitní-imunoglobulinový přípravek pro prevenci a léčbu respiračních onemocnění telat. Veterinářství, 34, 163–165.

Received: 96–10–18

Accepted after corrections: 97–06–26

Kontaktní adresa:

RNDr. Karel Semotán, Bioveta, a. s., středisko farmaceutik, Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Haně, Česká republika, Tel. 0507/36 33 21–4, fax 0507/36 32 94

RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS: PROPERTIES OF THE VIRUS AND EPIZOOTOLOGY OF THE DISEASE

RESPIRAČNÍ SYNCYTIÁLNÍ VIRUS: VLASTNOSTI VIRU A EPIZOOTOLOGIE ONEMOCNĚNÍ

K. Kovařík

Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Human respiratory syncytial virus (HRSV) is the major respiratory tract pathogen of infants and young children. Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) is recognized as an important cause of respiratory tract disease in calves. Both these viruses and their respective diseases share many similarities. After a description of the general properties of the virus, this review covers the epizootology of bovine respiratory syncytial virus infection.

respiratory tract pathogen; bovine respiratory syncytial virus (BRSV); epizootology

ABSTRAKT: Humánní respirační syncytiální virus (HRSV) je závažným patogenem respiračního traktu kojenců a dětí. Bovinní respirační syncytiální virus (BRSV) je uznáván jako významná příčina onemocnění respiračního traktu u skotu. Oba tyto viry, případně onemocnění, se uplatňují velmi podobně. Po popsání všeobecných vlastností viru zahrnuje tento přehled epizootologii bovinního respiračního syncytiálního viru.

patogen respiračního traktu; bovinní respirační syncytiální virus (BRSV); epizootologie

Seznam použitých zkratk: HRSV – humánní respirační syncytiální virus, BRSV – bovinní respirační syncytiální virus, RNA – ribonukleová kyselina, IBR – virus infekční bovinní rinotracheitidy, BVD – virus slizniční nemoci skotu, PVM – myší pneumonický virus, ORSV – ovčí respirační syncytiální virus, CRSV – koží respirační syncytiální virus.

CONTENTS

1. Introduction
2. The virus
 - 2.1. History
 - 2.2. Taxonomy
 - 2.3. Structure of the virus
 - 2.4. Physicochemical properties of the virus
 - 2.5. Viral polypeptides
 - 2.6. Viral nucleic acids
 - 2.7. Virus replication
 - 2.8. Antigenicity
 - 2.9. Viral target antigens
 - 2.10. Targets for T cells
3. Cultural characteristics of the virus
 - 3.1. Cell susceptibility
 - 3.2. Infectivity of the virus to laboratory animals
4. Epizootology
 - 4.1. Geographic distribution
 - 4.2. Incidence of the disease
 - 4.3. Seasonal distribution
 - 4.4. Effects of age and breed
 - 4.5. Transmission
5. References

OBSAH

1. Úvod
2. Virus
 - 2.1. Historie
 - 2.2. Taxonomie
 - 2.3. Struktura viru
 - 2.4. Fyzikálně-chemické vlastnosti viru
 - 2.5. Virové polypeptidy
 - 2.6. Virová nukleová kyselina
 - 2.7. Virová replikace
 - 2.8. Antigenní vlastnosti
 - 2.9. Virové cílové antigeny
 - 2.10. Cíle pro T buňky
3. Kultivační charakteristika viru
 - 3.1. Buněčná citlivost
 - 3.2. Vnímavost laboratorních zvířat
4. Epizootologie
 - 4.1. Geografické rozdělení
 - 4.2. Výskyt onemocnění
 - 4.3. Sezonní rozložení
 - 4.4. Vliv plemene
 - 4.5. Přenos
5. Literatura

1. ÚVOD

Komplex hromadných onemocnění dýchacího ústrojí označovaný jako respirační syndrom je příčinou značných ekonomických ztrát při odchovu telat a mladého skotu. Nedávný odhad ekonomických ztrát, které byly zapříčiněny respiračním syndromem v USA hovoří o ztrátách 250 až 750 milionů dolarů ročně. K tomu je nutno připočítat těžce vyčíslitelné nepřímé ztráty způsobené snížením hmotnostních přírůstků, zaostáváním ve vývinu, ztrátou chovné hodnoty apod.

Jednou z významných a u nás poměrně málo respektovaných příčin respiračního syndromu u telat a mladého skotu je bovinní respirační syncytiální virus (BRSV). V zahraničních studiích je BRSV nejčastěji spojován s enzootickou pneumonií mladého skotu. Například u mladého skotu na výkrmových farmách v Ontariu byl prokázán vyšší podíl telat se sérokonverzí proti BRSV (71,3 %) než proti jiným respiračním patogenům (virus infekční bovinní rinotracheitidy, virus parainfluenzy 3, virus slizniční nemoci – BVD).

Předběžná sérologická vyšetření v ČR prokázala poměrně častou přítomnost protilátek proti tomuto viru, což nepřímo naznačuje, že skot chovaný v našich podmínkách je BRSV běžně exponován.

Cílem tohoto přehledu je shrnout poslední poznatky o infekci BRSV a přispět tak k větší informovanosti co nejširší veterinární veřejnosti o významu tohoto u nás opomíjeného etiologického agens v komplexu respiračních patogenů.

Přehled zahrnuje všeobecné vlastnosti viru a epidemiologii.

2. VIRUS

2.1. Historie

Humánní respirační syncytiální virus (HRSV) byl izolován v roce 1956 z laboratorních šimpanzů v průběhu vypuknutí onemocnění, které se podobalo rýmě. Virus byl pojmenován jako šimpanzí rýmový agens. Brzy po izolaci šimpanzího viru byl izolován podobný virus od dětí postižených pneumonií a difterickými změnami ze oblasti Baltimoru v USA. Další výzkumy prokázaly, že HRSV byl spojován s onemocněním dolního respiračního traktu u lidí po celém světě. Virus je nyní uznáván jako nejvýznamější virová příčina onemocnění dolní části respiračního traktu kojenců a dětí, a byl tudíž přejmenován na humánní respirační syncytiální virus (HRSV). Pojmenování odráží jeho charakteristický efekt na infikovaných buňkách, tzn. tvorbu velkých mnohojaderných buněk (syncytií) jako výsledek buněčných fúzí (McIntosh a Chanock, 1990).

V roce 1968 vedl průkaz specifických neutralizačních protilátek proti RSV v bovinním séru ke spekulacím, že podobný virus se vyskytuje i u skotu (Doggel aj., 1968). Bovinní respirační syncytiální virus

(BRSV) byl izolován v roce 1970 od telat s onemocněním respiračního traktu ve Švýcarsku (Paccoud a Jacquier, 1970) a následně byl BRSV izolován ze skotu v Japonsku (Inaba aj., 1970a). BRSV byl poprvé izolován v USA v roce 1974 ze skotu ve státě Iowa a Missouri (Rosenquist, 1974; Smith aj., 1974). Virové izolace a sérologické studie podporují úvahy, že BRSV způsobuje vzplanutí akutních respiračních onemocnění u skotu celosvětově (Edington a Jacobs, 1970; Wellemans aj., 1970; Jacobs a Edington, 1971; Köves a Bartha, 1975; Köves a Bartha, 1976). Kozí respirační syncytiální virus (CRSV) byl izolován ze stáda miniaturních koz s akutním respiračním onemocněním v roce 1979 (Smith aj., 1979). V polovině roku 1970 sérologické studie odhalily, že BRSV nebo příbuzný virus infikoval ovce (Berthiaume aj., 1973; Smith aj., 1974). Izolace respiračního syncytiálního viru z dospělých ovcí byla popsána v roce 1983 (Leamaster aj., 1983). Protilátky proti respiračnímu syncytiálnímu viru byly prokázány také u koček, psů, koní a prasat (Baker a Frey, 1985).

2.2. Taxonomie

Struktura a způsob dozrávání BRSV je podobný jako u HRSV (Ito aj., 1973). Oběma virům byla také prokázána část společných antigenů (Paccoud a Jacquier, 1970; Smith aj., 1975). Tyto dva morfologicky podobné, ale antigenně rozdílné viry, pneumonický virus myši a virus krocení rinotracheitidy (Cavanagh a Barrett, 1988) nyní tvoří rod *Pneumovirus* z čeledi *Paramyxoviridae* (Fenner, 1976; Kingsbury aj., 1978). Celková charakteristika čeledi *Paramyxoviridae* byla shrnuta Kingsburym aj. (1978) a Mathewsem (1982). Na rozdíl od paramyxovirů nemají pneumoviry neuraminidázu a hemaglutinin, a dále se liší od paramyxovirů a morbillivirů v určitých dimenzích povrchových výběžků a průměrem virionové nukleokapsidy (Stott a Taylor, 1985).

2.3. Struktura viru

Morfologie BRSV je typická pro rod *Pneumovirus* (Ito aj., 1973; Al-Darraj aj., 1982b; Bélangier aj., 1988).

V negativně barveném preparátu se BRSV jeví jako obalený, vysoce pleomorfní virus, který měří v průměru 150 až 300 nm (McIntosh a Chanock, 1990). V intaktním viru je jedinou viditelnou strukturou zevní 7 až 15 nm tenká membrána s krátkými, hustě rozmístěnými výběžky. Tyto 7 až 19 nm dlouhé výběžky mají vzhled kyjovitých palic. Dvouvrstevná lipidová membrána obklopuje helikálně symetrickou nukleokapsidu, která obsahuje nesegmentovanou, jednovláknitou (–) RNA (McIntosh a Chanock, 1990). Rozrušené virové partikule odkrývají vnitřní strukturu sestávající většinou z krátkých, „rybí kosti“ připomínajících

vláken v průměru 11 až 15 nm dlouhých, které se pravidelně opakují ve vzdálenosti kolem 7 nm (Ito aj., 1973). Potomstvo virionů dozrává pučením z cytoplazmatické membrány (McIntosh a Chanock, 1990). V ultratenkém řezu jsou pozorovány především vláknité formy pučení z cytoplazmatické membrány infikovaných buněk (Ito aj., 1973; Bélanger aj., 1988). Tyto vláknité formy mají proměnlivou délku, ale relativně stálý průměr (100 až 130 nm). Některé řezy mohou prokázat zřetelné tečky s průměrem 11 až 15 nm. Tyto tečky představují vnitřní uspořádání nukleokapsidy v příčném řezu vláknitých forem (Ito aj., 1973; Al-Darraj aj., 1982b; Bélanger aj., 1988). V nedávné době Bélanger aj. (1988) prokázali přítomnost dobře definovaných můstků mezi virovými partikulemi v ultratenkém řezu buněk infikovaných *in vitro*.

2.4. Fyzikálně-chemické vlastnosti viru

Hustotní gradient BRSV je 1,23 g/ml v CsCl₂ (Inaba aj., 1973; Ito aj., 1973). BRSV je citlivý na nízké pH, eter, chloroform, deoxycholat a 0,25 % trypsin. Virus je inaktivován teplotou 56 °C za 30 min (Inaba aj., 1970b; 1973; Pacciaud a Jacquier, 1970). Virus adaptovaný na buněčné kultury přežije rychlé zmrazení na -70 °C, avšak bylo publikováno, že izolace jsou více obtížné ze zmrazeného než z čerstvého materiálu (Mohanty, 1978). Infekční titr BRSV suspenze klesá kolem 1 log za 24 h při teplotě 37 °C. Při skladování v tekutém dusíku zůstává virus infekční po dobu nejméně 10 let. Virus nemá hemadsorbční a hemaglutinační vlastnosti (Mohanty, 1978; Woods, 1974).

2.5. Virové polypeptidy

Většina molekulárních charakteristik pneumovirů byla dělána s HRSV. Detailní molekulární analýza cDNA klonů z HRSV mRNA vedla k identifikaci 10 virově specifických mRNA, které kódují 10 specifických polypeptidů (Collins aj., 1984). Nukleotidové sekvence jsou u 9 polypeptidů z 10 známých (Lerch aj., 1989). Na rozdíl od toho molekulární charakteristika bovinního (BRSV), koziho (CRSV) a ovčího (ORSV) respiračního syncytiálního viru je podstatně méně úplná.

Z 10 virových proteinů pouze 1B (11 k) a 1C (14 k) proteiny jsou nestrukturální. Nukleokapsida je složena z virové genomové RNA, nukleokapsidového proteinu (N, 42 k), fosfoproteinu (P, 34 k) a velkého proteinu (L, 200 k). N protein se poměrně hojně vyskytuje a slouží jako hlavní strukturální protein nukleokapsidy. Funkce P a L proteinů je neznámá, nicméně jsou pravděpodobně částmi polymerázového komplexu a fungují v transkripci a replikaci virové RNA (McIntosh a Chanock, 1990).

Glykoprotein (G, 84 k), fúzní protein (F), 1A (9,5 k) protein a 22K protein jsou spojeny s membránou

infikovaných buněk a virovým obalem (McIntosh a Chanock, 1990). G, F, a 1A proteiny jsou glykosilovány (Kimman a Westenbrink, 1990), zatímco 22K není glykosilován. F protein je syntetizován jako 68 kDa molekulární prekurzor (FO), který je enzymaticky štěpen buněčnou proteázou v disulfidových můstcích na dva fragmenty: 48 kDa (F₁) a 20 kDa (F₂).

Štěpení F proteinu způsobuje, že virový obal nebo membrána infikovaných hostitelských buněk se spojuje s membránou neinfikovaných buněk. Při fúzi buněk se tvoří syncytia (McIntosh a Chanock, 1990). G glykoprotein je nutný pro vazbu viru k hostitelským buňkám (Levine aj., 1987). Na rozdíl od vazebných proteinů morbillivirů a paramyxovirů nemá G glykoprotein hemaglutinínovou nebo neuraminidázovou aktivitu (Wertz aj., 1985). G glykoprotein je intenzivněji glykosilován (zejména O-vazba) než jiné virové glykoproteiny (Wertz aj., 1985). 1A a 22K proteiny jsou součástí virového obalu, avšak jejich funkce není známa (McIntosh a Chanock, 1990). 1A, integrální membránový protein se vkládá do vnější membrány infikovaných buněk svým karboxylovým koncem obráceným k extracelulárnímu prostředí (McIntosh a Chanock, 1990). 22K protein není glykosilován a jeho přesná lokalizace ve virionu není známa (McIntosh aj., 1978), avšak může být sekundárním matrixovým proteinem (M₂) (McIntosh a Chanock, 1990). Matrixový (M, 26 k) protein tvoří vnitřní vrstvu virového obalu a může být analogický k matrixovým proteinům jiných obalených RNA virů. Funkce nestrukturálních 1B a 1C proteinů nejsou známy (McIntosh a Chanock, 1990).

2.6. Virová nukleová kyselina

HRSV obsahuje jednovláknitou (-) RNA s přibližně 15 000 nukleotidy (Collins aj., 1987). Virová RNA má sedimentační hodnotu 50S a molekulární hmotnost přibližně 5,9 x 10⁶ daltonů (Huang a Wertz, 1982; Stott a Taylor, 1985). RNA má průměr okolo 4 až 5 nm (Ito aj., 1973). Obsahuje deset genů které jsou transkribovány jako specifické jednotky od promotoru na 3' konci genomu (Dickens aj., 1984). Každá z deseti specifických mRNA kóduje specifický protein (Huang aj., 1985). Pořadí genové transkripce z 3' konce je 1C, 1B, N, P, M, 1A, G, F, 22K a L (Collins aj., 1987). Elektroforetické schémata mRNA-z BRSV jsou podobná jako u HRSV (Lerch aj., 1989).

2.7. Virová replikace

Lokalizace a způsob maturace BRSV byl popsán podobně jako u HRSV (Ito aj., 1973). Několik prací studovalo kinetiku replikace HRSV v opičích a lidských buňkách (Bennett a Hamre, 1962; Levine a Hamilton, 1969; Richman a Tauraso, 1971). Virus se přichycuje k vnímavým buňkám přes velký glykoprotein (G protein), ovšem

specifické buněčné receptory nebyly identifikovány (Walsh aj., 1984; Levine aj., 1987). Při 37 °C se přibližně 60 % viru adsorbuje na vnímavé buňky v prvních 30 minutách, avšak úplná adsorbce vyžaduje 10 až 12 hodin (Levine a Hamilton, 1969). Proces penetrace je úplný za 45 minut po adsorbci. Replikace virů probíhá v cytoplasmě (Wunner aj., 1975; Lambert aj., 1980). Jeden virový produkční cyklus zahrnuje latentní (eklipsní) období 10 až 12 hodin. Tento cyklus je úplný za 20 až 30 hodin a výtěžnost je 45 až 150 plaky tvořících jednotek (PFU) na buňku, ale 90 % virů zůstává spojeno s buňkou. Virová syntéza RNA se objevuje pět hodin po infekci a snižuje se mezi 15. až 18. hodinou po infekci. Infikované buňky obsahují 11 druhů virové RNA (Collins aj., 1984).

Největší RNA obsahuje pozitivní a negativní řetězec. Pozitivní řetězec se zdá být templátem pro replikaci genomu negativního řetězce (Huang a Wertz, 1982). Zbývajících 10 RNA jsou polyadenyláty a představují virové mRNA (Huang a Wertz, 1982). Proteinová syntéza se objevuje po celý růstový cyklus a infikované buňky obsahují devět virových proteinů (Stott a Taylor, 1985). Lambert aj. (1988) prokázal, že N protein byl detekovatelný dvě hodiny po infekci, ale P, M a F proteiny byly poprvé detekovány 4 až 6 hodin po infekci. Viriony plně vyvinuté pučením ze specifických oblastí cytoplazmatické membrány jsou hustě pokryté 12 nm dlouhými výběžky (Levine a Hamilton, 1969; Stott a Taylor, 1985; Ito aj., 1973).

2.8. Antigenní vlastnosti

Několik studií srovnávalo strukturální proteiny BRSV, CRSV a pneumonického viru myši (PVM) se strukturálními proteiny HRSV (Cash aj., 1977; Anderson aj., 1985; Orvell aj., 1987; Mufson aj., 1988; Trudel aj., 1989) a strukturální proteiny ORSV nebyly charakterizovány. V současné době byly detailně zkoumány antigenní a genetické informace týkající se BRSV, které při srovnání kontrastovaly s informacemi o HRSV (Lerch aj., 1989, 1990). Tyto informace naznačují, že BRSV izoláty tvoří specifickou podskupinu (Lerch aj., 1989, 1990). Vzájemné vztahy mezi CRSV, ORSV, BRSV a HRSV jsou málo jasné, protože bylo provedeno málo srovnávacích studií.

Antigenní a genetické analýzy RSV izolátů umožnily zařazení pneumovirů do podskupin. Nejprve byly definovány dvě HRSV podskupiny (A a B), založené na reaktivitě monoklonálních protilátek s určitými strukturálními proteiny (Anderson aj., 1985; Orvell aj., 1987; Mufson aj., 1988). Toto rozdělení HRSV kmene je založeno zejména na velké antigenní rozdílnosti mezi G glykoproteiny, avšak malé rozdíly byly také prokázány mezi F, N, M a 22K proteiny. Tyto informace naznačují, že HRSV podskupiny se vyvinuly odděleně (Mufson aj., 1988). Podskupinové klasifikace BRSV, ORSV a CRSV jsou málo jasné. Většina monoklonálních protilátek proti strukturálním

proteinům podskupin A a B HRSV reagovala s třemi BRSV izoláty a CRSV, ale monoklonální protilátky proti HRSV G glykoproteinům nereagovaly s BRSV nebo CRSV kmeny (Orvell aj., 1987), což naznačuje, že i když BRSV, CRSV a HRSV kmeny mají mnoho společných epitopů, jejich G glykoproteiny jsou antigenně rozdílné.

Imunodetekční studie s polyklonálním antiserem naznačily, že proteinové části HRSV a BRSV jsou velmi podobné (Lerch aj., 1989; Trudel aj., 1989). Existují pouze malé rozdíly v molekulární hmotnosti mezi korespondujícími proteiny (Cash aj., 1977; Lerch aj., 1989; Trudel aj., 1989). Western blotové a imunoprecipitační srovnání mezi BRSV a HRSV prokázalo, že existují křížové sérologické reakce mezi jejich F, N, M a P proteiny, zatímco BRSV a HRSV G glykoproteiny jsou rozdílné (Lerch aj., 1989; Trudel aj., 1989). Kromě toho části mRNA kódující BRSV a HRSV G glykoproteiny měly podobnou elektroforetickou proměnlivost, avšak nebyly dobře hybridizovatelné jedna s druhou (Lerch aj., 1989). V jiných studiích, kdy byly HRSV, BRSV a CRSV srovnávány western blotovou analýzou, HRSV a BRSV G glykoproteiny reagovaly pouze s homologním antiserem (Trudel aj., 1989). Anti-BRSV sérum také reagovalo s G glykoproteinem CRSV, což naznačuje, že BRSV a CRSV glykoproteiny jsou příbuzné (Trudel aj., 1989).

V poslední době byly častěji srovnávány G glykoproteinové genové sekvence od HRSV A a B podskupiny a BRSV kmene 391-2 (Lerch aj., 1990). Všeobecně tyto informace posílily existenci dvou HRSV podskupin a zařazení BRSV do další RSV podskupiny. Není jasné zda BRSV kmeny tvoří více než jeden antigenní typ, poněvadž bylo analyzováno málo kmenů. Pro zajímavost, podle Lercha aj. (1989), G glykoprotein z BRSV kmene 391-2 reaguje s anti-BRSV kmenovým sérem 391-2, ale nereaguje s anti-BRSV kmenovým sérem 127 ve western blotu, což naznačuje, že existují dvě BRSV podskupiny. Analýzy zaměřené na G glykoproteinové geny několika RSV virů podporily koncepci, že BRSV kmeny nemají žádný vztah k HRSV podskupinám (Duncan aj., 1991). Nicméně všechny testované BRSV kmeny a kozí kmen (CRSV) měly úzce příbuzné G glykoproteinové sekvence. Z důvodu limitovaného množství BRSV a CRSV kmenů může BRSV patřit ke stejné specifické podskupině. Ovččí RSV (ORSV) izolát nebyl příbuzný s HRSV podskupinami ani s jinými izoláty od přežvýkavců.

Podskupiny A a B HRSV cirkulují v průběhu vzplanutí respiračního onemocnění mezi dětmi (Hendry aj., 1986; Mufson aj., 1988; Russi aj., 1989) a respirační onemocnění zapříčiněné těmito dvěma podskupinami nemohou být klinicky odlišitelné (Heilmann, 1990). Přesto existují určité náznaky, že infekce zapříčiněná podskupinou A HRSV má závažnější průběh než u virové podskupiny B (McConnochie aj., 1990). Prevalence podskupin HRSV se liší během vzplanutí a od vzplanutí k vzplanutí, avšak všeobecně

podskupina A HRSV převládá (Mufson aj., 1988; Russi aj., 1989; Heilman, 1990). Vzplanutí onemocnění, způsobené BRSV se liší v závažnosti (Kimman a Westenbrink, 1990), avšak vliv více než jedné BRSV podskupiny na klinickou závažnost nebo patogenezi onemocnění je nutno prozkoumat.

2.9. Virové cílové antigeny

Infekce lidí oběma HRSV podskupinami vyvolává tvorbu křížové reagujících a podskupinově specifických protilátek proti F a G glykoproteinům (Heilman, 1990). V jiné studii, protilátková odpověď proti HRSV byla u všech věkových skupin zaměřena proti F, N, P a M proteinům, avšak protilátky proti G glykoproteinu nebyly zjistitelné u uzdravujících se pacientů mladších než jeden rok (Popow-Kraupp aj., 1989). U skotu infikovaného BRSV se protilátky vyvinuly proti L, G, F, N, P, M, 22K a 1A proteinům (Westenbrink aj., 1989). Antigenicita 1B a 1C proteinů není známa (Kimman a Westenbrink, 1990).

Imunizace bavlíkových krys (cotton rats) rekombinantním virem vakcinie s purifikovanými G a F proteiny vyvolává tvorbu neutralizačních protilátek, které chrání proti závažnému viru (Olmsted aj., 1986; Brideau aj., 1989; Murphy aj., 1989; Wathen aj., 1989; Kimman a Westenbrink, 1990; Wathen aj., 1991). Na rozdíl od toho, krysy vakcinované rekombinantním virem vakcinie, který exprimoval N protein HRSV, nebyly tak dobře chráněny jako po imunizaci vakciniovým rekombinantem exprimujícím F nebo G glykoproteiny (Kimman a Westenbrink, 1990). Buňkami zprostředkovaná imunita se rozvíjí u myši po imunizaci s rekombinantem exprimujícím 22K protein (Connors aj., 1992). I když F a G proteiny vyvolají aktivní cytolytickou T lymfocytární odpověď, přítomnost T buněk u myši imunizovaných těmito proteiny není pro ochranu nutná. Imunita vyvolaná F nebo G proteiny vydrží déle než imunita, která je vyvolaná 22K nebo N proteiny (Connors aj., 1991). To naznačuje, že proteiny F a G mohou být hlavními antigeny, které vyvolávají imunitní odpověď zajišťující ochranu. Myši a bavlíkové krysy imunizované vakciniovým rekombinantem, který exprimuje G glykoprotein podskupiny A HRSV byly chráněny proti zátěži imunizací podskupinou A HRSV viru, ale ne proti podskupině B HRSV viru (Kimman a Westenbrink, 1990). Tato pozorování ukázala, že F protein jedné HRSV podskupiny vyvolal tvorbu protilátek, které chránily proti heterologní podskupině viru, zatímco G protein nechránil.

Bylo prokázáno čtyři až pět epitopů na F proteinu a tři až čtyři z těchto epitopů jsou důležité pro neutralizační protilátky. Monoklonální protilátky proti dvěma epitopům inhibují fúzi. G glykoprotein HRSV podskupiny A má tři antigenní místa, zatímco G glykoprotein HRSV podskupiny B má dvě antigenní místa. Interakce protilátek s dvěma A podskupinovými G glykoprotei-

novými antigenními místy a oběma antigenními místy B podskupiny má za následek virovou neutralizaci (Kimman a Westenbrink, 1990).

2.10. Cíle pro T buňky

N a F proteiny jsou hlavními antigeny RSV, které reagují s myšími T pomocnými buňkami (T-helper cells), což bylo zjištěno ve studii, kde se používaly viry vakcinie, které exprimovaly G, N, a F protein. 1A protein je také schopný reagovat s myšími T pomocnými buňkami (Kimman a Westenbrink, 1990).

3. KULTIVAČNÍ CHARAKTERISTIKA VIRU

3.1. Buněčná citlivost

BRSV byl poprvé izolován v buněčných kulturách boviních embryonálních ledvin a plic (Paccaud a Jacquier, 1970; Inaba aj., 1970a, b), ale virus se může replikovat v širokém rozmezí vnímavých hostitelských buněk. Replikuje ve všech typech buněčných kultur (ledvina, varle, thyroidea, thymus, duodenum, rectum) boviního původu, jakož i v buňkách prasečích (embryonální ledviny), křeččích (plic, ledvina), opičích (Vero) a humánních (embryonální plice a ledviny, Hela, Hep-2). Lepší množení je pozorováno na boviních než humánních buněčných kulturách (Matumoto aj., 1974) a v buněčných kulturách odvozených z dýchacího traktu (Fenner aj., 1987). Několik izolátů BRSV bylo také adaptováno k množení v primárních a sekundárních ovčích buněčných kulturách pocházejících z fetálních plic, ledvin, varlat a z *plexus choroideus* (Lehmkuhl a Cutlip, 1979; Al-Darraj aj., 1982a; Trigo aj., 1984; Sharma a Woldehiwet, 1990).

Větší množství viru je získáváno z buněčné kultury telecích ledvin a varlat, vyšší titry jsou docíleny spíše v sekundárních než primárních kulturách těchto buněk (Mohanthy, 1978; Wellemans, 1977).

BRSV se množí v boviní fetální tracheální orgánové kultuře explantované při 37 °C a pH 7.2. Tím se docílí maximální titr 10⁵ PFU/ml mezi 11 a 21 dny po inokulaci. Virový růst nezpůsobuje poškození cíliární aktivity buněčných kultur (Thomas aj., 1976; Rossi a Kiesel, 1977).

CYTOPATOGENITA

Hlavní cytopatický efekt (CPE) BRSV v infikovaných buňkách je charakterizován tvorbou velkých syncytií a eosinofilních cytoplazmatických inkluzních tělísek (Mohanthy, 1978; Woods, 1974). Tato syncytia jsou velké cytoplazmatické masy s tendencí shlukování jader směrem k centru. Syncytia mohou obsahovat denzní inkluze obklopené jasnou haló zónou. Při vývoji CPE dochází k smrštění cytoplazmy s pro-

dloužením cytoplazmatických vláken ze syncytia. Nakonec syncytia jeví slabé zbarvení cytoplazmy s krajovaným vzhledem a pyknotickými jádry (Smith aj., 1975).

3.2. Vnímavost laboratorních zvířat

Pokus izolovat virus z myši experimentálně infikovaných BRSV nemusí být úspěšný (Stott a Taylor, 1985).

Matumoto aj. (1974) byli schopni rozmnožit kmen BRSV v mozku jednodenních myši (DDY linie), avšak ne u dospělých myši. Infikované myši neprojevily klinické příznaky. Morče infikované BRSV nevykazovalo příznaky onemocnění, ale byly zjištěny nízké titry specifických neutralizačních protilátek (Matumoto aj., 1974). Na rozdíl od toho byl HRSV adaptován k infekci fretek, norků, činčil, morčat, AKR myši, kosmanů, šimpanzů, křečků, a bavlňových krys (Coates a Chanock, 1962; Wright aj., 1970; Belshe aj., 1977; Collier a Clyde, 1977; Prince aj., 1979, 1982; Taylor aj., 1984).

4. EPIZOOTOLOGIE

Výskyt bovinních respiračních onemocnění spojené s BRSV není dobře prokázán, avšak vysoký výskyt protilátek naznačuje, že infekce BRSV je běžným případem (Baker a Frey, 1985). Vzhledem k obtížnosti vyvolání experimentální infekce u telat bylo prováděno málo experimentálních studií k objasnění epidemiologie viru.

4.1. Geografické rozdělení

BRSV je pravděpodobně rozšířen po celém světě (Stott a Taylor, 1985). Virus byl izolován ze skotu ve Švýcarsku (Paccoud a Jacquier, 1970), Anglii (Jacobs a Edington, 1971; Stott aj., 1978), Belgii (Wellemans aj., 1970), Kanadě (Elazhary aj., 1982; Lynch aj., 1985), USA (Rosenquist, 1974; Mohanty aj., 1975; Smith aj., 1975) a Japonsku (Inaba aj., 1970a).

Protilátky proti RSV byly zaznamenány u ovcí v Kanadě (Berthiaume aj., 1973; Elazhary aj., 1984; Lamontagne aj., 1985), USA (Trigo aj., 1984; Brako aj., 1984; Lehmkühl aj., 1985; Spraker aj., 1985; Goyal aj., 1988), Severním Irsku (Adair aj., 1984) a na Novém Zélandě (Davies a Jones, 1985). V několika zprávách až 81% ovcí mělo protilátky proti BRSV. Sérové protilátky proti RSV byly zaznamenány také u koz (Elazhary aj., 1984; Fulton aj., 1982; Dunbar aj., 1986; Lamontagne aj., 1985; Richardson-Wyatt aj., 1981), prasat (Dogget aj., 1968; Woods, 1974) a koní (Berthiaume aj., 1973).

Možná role ovcí, koz, prasat, koní a jiných zvířat v epidemiologii BRSV není známá, avšak virus byl

izolován z přirozeně infikovaných ovcí a koz v USA (Smith aj., 1979; Leamaster aj., 1983; Evermann aj., 1985; Spraker aj., 1985).

4.2. Výskyt onemocnění

Vysoké rozšíření sérových protilátek ukazuje, že skot je běžně exponován BRSV (Baker a Frey, 1985). Avšak množství případů či epidemických hlášení, které byly vyvolány BRSV neodráží skutečný výskyt, protože virus je labilní a mnoho laboratoří není dobře vybaveno pro jeho izolaci (Martin, 1983; Baker aj., 1986; Kimman aj., 1986). Kromě toho respirační onemocnění vyvolané BRSV může být docela dobře spojováno s jinými příčinami, jako jsou podobné případy vyvolané virem parainfluenza-3 a virem BVD (Lehmkühl a Gough, 1977; Bryson aj., 1979; Martin, 1983).

Respirační onemocnění spojené s BRSV se často vyskytuje jako sporadické vzplanutí, ale bylo popsáno několik epidemických vzplanutí respiračního onemocnění způsobené BRSV, které se týkaly i tisíce kusů skotu v Japonsku (Inaba aj., 1970a, b), Norsku (Baker a Frey, 1985), Maďarsku (Köves a Bartha, 1975), Belgii (Wellemans a Leunen, 1975), Nizozemsku (Holzhauer a van Nieuwstadt, 1976) a Maroku (Mahin a Wellemans, 1982).

Podíl mortality v průběhu vzplanutí respiračních onemocnění spojené s BRSV kolísá od 1 do 30 % (Inaba aj., 1972; Wellemans, 1977; Holzhauer, 1979; Pirie aj., 1981; Baker a Frey, 1985), avšak tento podíl může být podstatně vyšší (Baker a Frey, 1985).

4.3. Sezonní rozložení

Většina vzplanutí způsobená BRSV se objevuje od října do ledna (Van Bekkum aj., 1977; Wellemans, 1977), ale v poslední době byla popsána vzplanutí BRSV také na jaře a v létě. Tudíž onemocnění způsobené BRSV můžeme očekávat během celého roku, jako v případě IBR. Počasí, zejména pokles atmosférického tlaku, hraje významnou roli ve vzplanutí tohoto onemocnění (Wellemans, 1982).

4.4. Vliv plemene a věku

Existuje mnoho záznamů o vlivu věku a plemene na vnímavost k bovinnímu RSV (Jacobs a Edington, 1971; Köves a Bartha, 1975; Wellemans a Leunen, 1975; Stott aj., 1978; Bryson aj., 1979; Pirie aj., 1981; Zygraich a Wellemans, 1981; Bohlender aj., 1982; Baker a Frey, 1985). Například červený skot a belgické Blue-White plemeno, jsou více vnímavější než ostatní plemena (Zygraich a Wellemans, 1981; Bohlender aj., 1982). Baker a Frey (1985) pozorovali těžké klinické onemocnění u křížen-

ců telat plemene holštýn-anguského ve srovnání s plemenem holštýnským.

Vzplanutí akutního respiračního onemocnění spojené s BRSV jsou obvykle zaznamenány u skotu ve věku méně než 18 měsíců (Jacobs a Edington, 1971; Köves a Bartha, 1975; Wellemans a Leunen, 1975; Stott aj., 1978; Bryson aj., 1979; Pirie aj., 1981), ale dospělý skot může být také postižen (Paccard a Jacquier, 1970; Inaba aj., 1972; Odegaard a Krogsrud, 1977). Epidemiologické studie ve 21 mléčných farmách v Holandsku odhalily, že těžká onemocnění se objevují hlavně u telat ve věku jednoho až tří měsíců. Toto onemocnění se prakticky nevyskytovalo u telat mladších než tři týdny (Kimman aj., 1988).

4.5. Přenos

Způsob přenosu u přirozené infekce není dobře prokázán, ale experimentální údaje naznačují, že je možný přenos aerosolem (Baker a Frey, 1985). V několika pracích byla telata experimentálně infikována po expozici aerosolem BRSV (Inaba aj., 1972; Smith aj., 1975; Elazhary aj., 1980).

Virus se začíná vylučovat druhý den po infekci a vylučuje se až do 11. dne (Inaba aj., 1972; Elazhary aj., 1980). Bylo prokázáno, že přenos HRSV vyžaduje úzký kontakt s infikovanými pacienty nebo jejich sekrety (Hall aj., 1976, 1980, 1981), u skotu se onemocnění obvykle objeví u ustájených telat v zimním období (Verhoeff, 1983; Ploeger aj., 1986).

Onemocnění se objevuje obvykle po nákupu infikovaných zvířat, i když úloha virových přenašečů nebyla ještě prokázána (pravděpodobně pro obtížnou izolaci viru). Možná role lidí a různých druhů zvířat jako zdroje infekce skotu není známa. Vzhledem k úspěšné infekci telete HRSV (Jacobs a Edington, 1975) a dále z důvodu podobnosti mezi HRSV a BRSV, se tato možnost nedá vyloučit (Berthiaume aj., 1973). Onemocnění člověka nebylo dosud spojováno s BRSV (Baker a Frey, 1985), avšak telata experimentálně infikovaná HRSV projevila mírné klinické příznaky onemocnění (Smith aj., 1975). RSV izolovaný od ovcí (ORSV) může být příčinou experimentálního onemocnění u skotu (Bryson aj., 1988). Jedno postižené stádo v regionu je příčinou rychlého šíření onemocnění z farmy na farmu. V již infikovaném regionu se onemocnění stává endemické s postižením stále stejných stád téměř každý rok. Rozdílnosti v ustájení a organizaci stád mohou mít také určitý vliv. V některých stádech je virus přítomen bez toho, aby způsobil nějaké onemocnění, jak ukazují příležitostně širokonverze, a v jiných stádech probíhají jedno i dvě vzplanutí každý rok (Van Bekkum aj., 1977). Přesto závažné onemocnění může být pozorováno také u zvířat na pastvě. Není známo, zda-li se může vyskytnout kongenitální přenos BRSV, avšak protilátky proti BRSV byly prokázány ve vzorku bovinního fetálního séra získaného z jatek (Gould aj., 1978). Úloha latentně nebo

perzistentně infikovaných telat jako rezervoáru infekce nebyla zkoumána, ale některé práce spekulovaly, že nízká hladina viru u uzdravujících se telat může být příčinou vzplanutí onemocnění u ustájených vlnavých telat (Verhoeff, 1983; Baker a Frey, 1985; Kimman, 1989).

5. LITERATURA

- ADAI, B. M. – MCFERRAN, J. B. – MCKILLOP, E. R. – MCCULLOUGH, S. J. (1984): Survey for antibodies to respiratory viruses in two groups of sheep in Northern Ireland. *Vet. Rec.*, 115, 403–406.
- AL-DARRAJI, A. M. – CUTLIP, R. C. – LEHMKUHL, H. D. – GRAHAM, D. L. – KLUGE, J. P. – FRANK, G. H. (1982a): Experimental infection of lambs with bovine respiratory syncytial virus and *Pasteurella haemolytica*: clinical and microbiologic studies. *Am. J. Vet. Res.*, 42, 236–240.
- AL-DARRAJI, A. M. – CUTLIP, R. C. – LEHMKUHL, H. D. (1982b): Experimental infection of lambs with bovine respiratory syncytial virus and *Pasteurella haemolytica*: immunofluorescent and electron microscopic studies. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 230–235.
- ANDERSON, L. J. – HIERHOLZER, J. C. – TSOU, C. – HENDRY, M. – FERNIE, R. M. – STONE, Y. – MCINTOSH, K. (1985): Antigenic characterization of respiratory syncytial virus strains with monoclonal antibodies. *J. Infect. Dis.*, 151, 626–633.
- BAKER, J. C. – FREY, M. L. (1985): Bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.*, 1, 259–275.
- BAKER, J. C. – WERDIN, R. E. – AMES, T. R. – MARKHAM, R. J. F. – LARSON, V. L. (1986): Study on the etiologic role of bovine respiratory syncytial virus in pneumonia of dairy calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 189, 66–70.
- BÉLANGER, F. – BERTHIAUME, L. – ALAIN, R. – LUSIER, G. – TRUDEL, M. (1988): Electron microscopic evidence for bridges between bovine respiratory syncytial virus particles. *J. Gen. Virol.*, 69, 1421–1424.
- BELSHE, R. B. – RICHARDSON, L. S. – LONDON, W. T. – SLY, D. L. – LORFELD, J. H. – CAMARGO, E. – PREVAR, D. A. – CHANOCK, R. M. (1977): Experimental respiratory syncytial virus infection of four species of primates. *J. Med. Virol.*, 1, 157–162.
- BENNET, C. R. – HAMRE, D. (1962): Growth and serological characteristics of respiratory syncytial virus. *J. Infect. Dis.*, 110, 8–16.
- BERTHIAUME, L. – JONCAS, J. – BOULAY, G. – PAVILANIS, V. (1973): Serological evidence of respiratory syncytial virus infection in sheep. *Vet. Rec.*, 93, 337–338.
- BOHLENDER, R. E. – MCCUNE, M. W. – FREY, M. L. (1982): Bovine respiratory syncytial virus infection. *Modern Vet. Pract.*, 63, 613–618.
- BRAGO, E. E. – FULTON, R. W. – NICHOLSON, S. S. – AMBORSKI, G. F. (1984): Prevalence of bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhoea, parainfluenza-3, goat respiratory syncytial, bovine leukaemia and bluetongue viral antibodies in sheep. *Am. J. Vet. Res.*, 45, 813–816.

- BRIDEAU, R. J. – WALTERS, R. R. – STIER, M. A. – WATHEN, M. W. (1989): Protection of cotton rats against human respiratory syncytial virus by vaccination with a novel chimeric FG glycoprotein. *J. Gen. Virol.*, **70**, 2637–2644.
- BRYSON, D. G. – MCFERRAN, J. B. – BALL, H. J. – NEILL, S. D. (1979): Observations on outbreaks of respiratory disease in calves association with parainfluenza type 3 virus and respiratory syncytial virus infection. *Vet. Rec.*, **104**, 45–49.
- BRYSON, D. G. – EVERMANN, J. F. – LIGGIT, H. D. – FOREYT, W. J. – BREEZE, R. G. (1988): Studies on the pathogenesis and interspecies transmission of respiratory syncytial virus isolated from sheep. *Am. J. Vet. Res.*, **49**, 1424–1430.
- CASH, P. – WUNNER, W. H. – PRINGLE, C. R. (1977): A comparison of the polypeptides of human and bovine respiratory syncytial viruses and murine pneumonia virus. *Virology*, **82**, 369–379.
- CAVANAGH, D. – BARRETT, T. (1988): Pneumovirus-like characteristics of the mRNA and proteins of turkey rhinotracheitis virus. *Virus Res.*, **11**, 241–256.
- COATES, H. V. – CHANOCK, R. M. (1962): Experimental infection with respiratory syncytial virus in several species of animals. *Am. J. Hyg.*, **76**, 302–312.
- COLLIER, A. M. – CLYDE, W. A. (1977): Model systems for studying the pathogenesis of infections causing bronchiolitis in man. *Pediatric Res.*, **11**, 243–246.
- COLLINS, P. L. – HUANG, Y. T. – WERTZ, G. W. (1984): Identification of a tenth mRNA of respiratory syncytial virus and assignment of polypeptides to the 10 viral genes. *J. Virol.*, **49**, 572–578.
- COLLINS, P. L. – OLMSTED, E. A. – SPRIGGS, M. K. (1987): Gene overlap and site-specific attenuation of transcription of the viral polymerase L gene of human respiratory syncytial virus. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **84**, 5134–5138.
- CONNORS, M. – COLLINS, P. L. – FIRESTONE, C. Y. – MURPHY, B. R. (1991): Respiratory syncytial virus (RSV) F, G, M2 (22K), and N proteins each induce resistance to RSV challenge, but resistance induced by M2 and N proteins is relatively short-lived. *J. Virol.*, **65**, 1634–1637.
- CONNORS, M. – KULKARNI, A. B. – COLLINS, P. L. – FIRESTONE, C. Y. – HOLMES, K. L. – MORSE, H. C. (1992): Resistance to respiratory syncytial virus (RSV) challenge induced by infection with a vaccinia virus recombinant expressing the RSV M2 protein (Vac-M2) is mediated by CD8+ T cells, while that induced by Vac-F or Vac-G recombinants is mediated by antibodies. *J. Virol.*, **66**, 1277–1281.
- DAVIES, D. H. – JONES, S. (1985): Serological evidence of respiratory syncytial virus infection in lambs. *N. Z. Vet. J.*, **33**, 155–156.
- DICKENS, L. E. – COLLINS, P. L. – WERTZ, G. W. (1984): Transcriptional mapping of human respiratory syncytial virus. *J. Virol.*, **52**, 364–369.
- DOGGET, J. E. – TAYLOR-ROBINSON, D. – GALLOP, R. G. C. (1968): A study of an inhibitor in bovine serum active against respiratory syncytial virus. *Arch. Ges. Virusforsch.*, **23**, 126–137.
- DUNBAR, M. R. – FOREYT, W. J. – EVERMANN, J. F. (1986): Serologic evidence of respiratory syncytial virus infection in free-ranging mountain goats (*Oreamnos americanus*). *J. Wild. Dis.*, **22**, 415–416.
- DUNCAN, R. B., JR. – BREIDER, M. A. – WILKINSON, J. E. – LEHMKUHL, H. D. – BROCK, K. V. – POTGIETER, L. N. D. (1991): Analysis of respiratory syncytial virus (RSV) G glycoprotein genes by RNase a mismatch cleavage. In: *Proc. Conf. Res. Workers Anim. Dis.*, **72**, 47.
- EDINGTON, N. – JACOBS, J. W. (1970): Respiratory syncytial virus in cattle. *Vet. Rec.*, **87**, 762.
- ELAZHARY, M. A. S. Y. – GALINA, M. – ROY, R. S. – FONTAINE, M. – LAMOTHE, P. (1980): Experimental infection of calves with bovine respiratory syncytial virus (Quebec strain). *Can. J. Compar. Med.*, **44**, 390–395.
- ELAZHARY, M. A. S. Y. – SILIM, A. – MORIN, M. A. (1982): A natural outbreak of bovine respiratory disease caused by the bovine respiratory syncytial virus. *Cornell Vet.*, **72**, 325–333.
- ELAZHARY, M. A. S. Y. – SILIM, A. – DEA, S. (1984): Prevalence of antibodies to bovine respiratory syncytial virus, bovine viral diarrhoea virus, bovine herpesvirus-1, and bovine parainfluenza-3 virus in sheep and goats in Quebec. *Am. J. Vet. Res.*, **45**, 1660–1662.
- EVERMANN, J. F. – LIGGIT, H. D. – PARISH, S. M. – WARD, A. C. S. – LEA MASTER, B. R. (1985): Properties of a respiratory syncytial virus isolated from a sheep with rhinitis. *Am. J. Vet. Res.*, **46**, 947–951.
- FENNER, F. (1976): Classification and nomenclature of viruses. Second report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses. *Interviol.*, **7**, 1–115.
- FENNER, F. – BACHMAN, P. A. – GIBBS, E. P. J. – MURPHY, F. A. – STUDDERT, M. J. – WHITE, D. O. (1987): In: *Veterinary Virology*, London, Academic Press, p. 619.
- FULTON, R. W. – DOWNING, M. M. – HAGSTAD, H. V. (1982): Prevalence of bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhoea virus, parainfluenza-3, bovine adenoviruses-3 and -7, and goat respiratory syncytial viral antibodies in goats. *Am. J. Vet. Res.*, **43**, 1454–1457.
- GOULD, E. A. – ALLAN, G. M. – LOGAN, E. F. – MCFERRAN, J. B. (1978): Detection of antibody to bovine syncytial virus and respiratory syncytial virus in bovine fetal serum. *J. Clin. Microbiol.*, **8**, 233–237.
- GOYAL, S. M. – KHAN, M. A. – McPHERSON, S. W. – ROBINSON, R. A. – BOYLAN, W. J. (1988): Prevalence of antibodies to seven viruses in a flock of ewes in Minnesota. *Am. J. Vet. Res.*, **49**, 464–467.
- HALL, C. B. – DOUGLAS, R. G. – GEIMAN, J. M. (1976): Respiratory syncytial virus infections in infants: quantitation and duration of shedding. *J. Pediatr.*, **89**, 11–15.
- HALL, C. B. – DOUGLAS, R. G. – GEIMAN, J. M. (1980): Possible transmission by fomites of respiratory syncytial virus. *J. Infect. Dis.*, **141**, 98–102.
- HALL, C. B. – DOUGLAS, R. G. – SCHNABEL, K. C. – GEIMAN, J. M. (1981): Infectivity of respiratory syncytial virus by various routes of inoculation. *Infect. Immun.*, **33**, 779–783.
- HEILMAN, C. A. (1990): Respiratory syncytial and parainfluenza viruses. *J. Infect. Dis.*, **161**, 402–406.

- HENDRY, R. M. – TALIS, A. L. – GODFREY, E. – ANDERSON, L. J. – FERNIE, B. F. – McINTOSH, K. (1986): Concurrent circulation of antigenically distinct strains of respiratory syncytial virus during community outbreaks. *J. Infect. Dis.*, **153**, 291–297.
- HOLZHAUER, C. – VAN NIEUWSTADT, A. P. K. M. I. (1976): De etiologische rol van het bovine respiratory syncytial virus bij pinkengriep. [Aetiological role of bovine respiratory syncytial virus in bronchopneumonia of yearlings.] *Tijdschr. Diergeneesk.*, **101**, 1023–1031.
- HOLZHAUER, C. (1979): Pinkengriep. Het bovine respiratory syncytial virus als oorzaak van een atypische interstitiële pneumonie bij jonge runderen. [Bronchopneumonia of yearlings (Pinkengriep). Bovine respiratory syncytial virus as a cause of atypical interstitial pneumonia in young cattle.] *Tijdschr. Diergeneesk.*, **104**, 679–684.
- HUANG, Y. T. – WERTZ, G. W. (1982): The genome of respiratory syncytial virus is a negative stranded RNA that codes for at least seven mRNA species. *J. Virol.*, **43**, 150–157.
- HUANG, Y. T. – COLLINS, P. L. – WERTZ, G. W. (1985): Characterization of the 10 proteins of human respiratory syncytial virus: identification of a fourth envelope-associated protein. *Virus Res.*, **2**, 157–173.
- INABA, Y. – TANAKA, Y. – OMORI, T. – MATUMOTO, M. (1970a): Isolation of bovine respiratory syncytial virus. *Jap. J. Exp. Med.*, **40**, 473–474.
- INABA, Y. – TANAKA, Y. – SATO, K. – ITO, H. – OMORI, T. – MATUMOTO, M. (1970b): Nomi virus, a virus isolated from an apparently new epizootic respiratory disease of cattle. *Jap. J. Microbiol.*, **14**, 246–248.
- INABA, Y. – TANAKA, Y. – SATO, K. – OMORI, T. – MATUMOTO, M. (1972): Bovine respiratory syncytial virus. Studies on an outbreak in Japan, 1968–1969. *Jap. J. Microbiol.*, **16**, 373–383.
- INABA, Y. – TANAKA, Y. – OMORI, T. – MATUMOTO, M. (1973): Physicochemical properties of bovine respiratory syncytial virus. *Jap. J. Microbiol.*, **17**, 211–216.
- ITO, Y. – TANAKA, Y. – INABA, Y. – OMORI, T. (1973): Structure of bovine respiratory syncytial virus. *Arch. Ges. Virusforsch.*, **40**, 198–204.
- JACOBS, J. W. – EDINGTON, N. (1971): Isolation of respiratory syncytial virus from cattle in Britain. *Vet. Rec.*, **88**, 694.
- JACOBS, J. W. – EDINGTON, N. (1975): Experimental infection of calves with respiratory syncytial virus. *Res. Vet. Sci.*, **18**, 299–306.
- KIMMAN, T. G. – ZIMMER, G. M. – STRAVER, P. J. – LEEUW, P. W. DE (1986): Diagnosis of bovine respiratory syncytial virus infections improved by virus detection in lung lavage samples. *Am. J. Vet. Res.*, **47**, 143–147.
- KIMMAN, T. G. – ZIMMER, G. M. – WESTENBRINK, F. – MARS, J. – LEEUWEN, E. VAN (1988): Epidemiological study of bovine respiratory syncytial virus infections in calves: influence of maternal antibodies on the outcome of disease. *Vet. Rec.*, **123**, 104–109.
- KIMMAN, T. G. (1989): Antibodies in bovine respiratory syncytial virus infections. [Doctoral Thesis.] University of Utrecht, Netherlands.
- KIMMAN, T. G. – WESTENBRINK, F. (1990): Immunity to human and bovine respiratory syncytial virus. *Arch. Virol.*, **112**, 1–25.
- KINGSBURY, D. W. – BRATT, M. A. – CHOPPIN, P. W. – HANSON, R. P. – HOSAKA, Y. – TER MEULEN, V. – NORRY, E. – PLOWRIGHT, W. – ROTT, R. – WUNNER, W. H. (1978): *Paramyxoviridae*. *Intervirology*, **10**, 137–152.
- KÖVES, B. – BARTHA, A. (1975): Isolation of respiratory syncytial (RS) virus from cattle diseased with respiratory symptoms. *Acta Vet. Acad. Scient. Hung.*, **25**, 357–362.
- KÖVES, B. – BARTHA, A. (1976): [Isolation of respiratory syncytial virus from cattle with respiratory disease]. *Magy. Allatrov. Lapja*, **31**, 99–102.
- LAMBERT, D. M. – PONS, M. W. – MBUY, G. N. – DORSCH-HASLER, K. (1980): Nucleic acid of respiratory syncytial virus. *J. Virol.*, **36**, 837–846.
- LAMBERT, D. M. – HAMBOR, J. – DIEBOLD, M. – GALINSKI, B. (1988): Kinetics of synthesis and phosphorylation of respiratory syncytial virus polypeptides. *J. Gen. Virol.*, **69**, 313–323.
- LAMONTAGNE, L. – DESCÔTEAUX, J. P. – ROY, R. (1985): Epizootological survey of parainfluenza-3, reovirus-3, respiratory syncytial and infectious bovine rhinotracheitis viral antibodies in sheep and goat flocks in Quebec. *Can. J. Comp. Med.*, **49**, 424–428.
- LEAMASTER, B. R. – EVERMANN, J. F. – MUELLER, G. M. – PRIEUR, M. K. – VANDER SCHALIE, J. (1983): Serologic and virologic studies on naturally occurring respiratory syncytial virus and *Haemophilus somnus* infections in sheep. *Proc. A. Meet. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnostic.*, **26**, 265–276.
- LEHMKUHL, H. D. – GOUGH, P. M. (1977): Investigation of causative agents of bovine respiratory tract disease in a beef cow-calf herd with an early weaning program. *Am. J. Vet. Res.*, **38**, 1717–1720.
- LEHMKUHL, H. D. – CUTLIP, R. C. (1979): Experimentally induced respiratory syncytial viral infection in lambs. *Am. J. Vet. Res.*, **40**, 512–514.
- LEHMKUHL, H. D. – CUTLIP, R. C. – BOLIN, S. R. – BROGDEN, K. A. (1985): Seropidemiologic survey for antibodies to selected viruses in the respiratory tract of lambs. *Am. J. Vet. Res.*, **46**, 2601–2604.
- LERCH, R. A. – STOTT, E. J. – WERTZ, G. W. (1989): Characterization of bovine respiratory syncytial virus proteins and mRNAs and generation of cDNA clones to the viral mRNAs. *J. Virol.*, **63**, 833–840.
- LERCH, R. A. – ANDERSON, K. – WERTZ, G. W. (1990): Nucleotide sequence analysis and expression from recombinant vectors demonstrate that the attachment protein G of bovine respiratory syncytial virus is distinct from that of human respiratory syncytial virus. *J. Virol.*, **64**, 5559–5569.
- LEVINE, S. – HAMILTON, R. (1969): Kinetics of the respiratory syncytial virus growth cycle in HeLa cells. *Arch. Ges. Virus Forsch.*, **28**, 122–132.
- LEVINE, S. – KLAIBER-FRANCO, R. – PARADISO, P. R. (1987): Demonstration that glycoprotein G is the attachment protein of respiratory syncytial virus. *J. Gen. Virol.*, **68**, 2521–2524.

- LYNCH, J. A. – MAXIE, M. G. – KEY, D. W. – HANCEY, J. B. (1985): Bovine respiratory syncytial virus infection in an Ontario cattle herd. *Can. Vet. J.*, 26, 90–91.
- MAHIN, L. – WELLEMANS, G. (1982): Serological evidence for the intervention of bovine respiratory syncytial virus in a respiratory disease outbreak in Moroccan cattle. *Zbl. Vet.-Med., B*, 29, 76–79.
- MARTIN, H. T. (1983): Indirect haemagglutination test for the detection and assay of antibody to bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Rec.*, 113, 290–293.
- MATTHEWS, R. E. F. (1982): Classification and nomenclature of viruses. *Intervirology*, 17, 104–105.
- MATUMOTO, M. – INABA, Y. – KUROGI, H. – SATO, K. – OMORI, T. – GOTO, Y. – HIROSE, O. (1974): Bovine respiratory syncytial virus: Host range in laboratory animals and cell cultures. *Arch. Ges. Virus Forsch.*, 44, 280–290.
- McCONNOCHIE, K. M. – HALL, C. B. – WALSH, E. E. – ROGHMANN, K. J. (1990): Variation in severity of respiratory syncytial virus infections with subtype. *J. Pediatr.*, 117, 52–62.
- McINTOSH, K. – MASTERS, H. B. – ORR, I. – CHAO, R. K. – BARKIN, R. M. (1978): The immunological response to infection with respiratory syncytial virus in infants. *J. Infect. Dis.*, 138, 24–32.
- McINTOSH, K. – CHANOCK, R. M. (1990): Respiratory syncytial virus. In: KNIPE, D. M. (ed.), *Virology*. Raven New York, Press Ltd., pp. 1045–1072.
- MOHANTY, S. B. – INGLING, A. L. – LILLIE, M. G. (1975): Experimentally induced respiratory syncytial viral infection in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 36, 417–419.
- MOHANTY, S. B. (1978): Bovine respiratory viruses. *Adv. Vet. Sci. Compar. Med.*, 22, 83–109.
- MUFSON, M. A. – BELSHE, R. B. – ORVELL, C. – NORRBY, E. (1988): Respiratory syncytial virus epidemics: variable dominance of subgroups A and B among children, 1981–1986. *J. Infect. Dis.*, 157, 143–148.
- MURPHY, B. R. – SOTNIKOV, A. – PARADISO, P. R. – HILDRETH, S. W. – JENSON, A. B. – BAGGS, R. B. – LAWRENCE, L. – ZUBAK, J. J. – CHANOCK, R. M. – BEELER, J. A. – PRINCE, G. A. (1989): Immunization of cotton rats with the fusion (F) and large (G) glycoproteins of respiratory syncytial virus (RSV) protects against RSV challenge without potentiating RSV disease. *Vaccine*, 7, 533–540.
- ODEGAARD, O. A. – KROGSRUD, J. (1977): A field outbreak caused by bovine respiratory syncytial virus. *Acta Vet. Scand.*, 18, 429–431.
- OLMSTED, R. A. – ELANGO, N. – PRICE, G. A. – MURPHY, B. R. – JOHNSON, P. R. – MOSS, B. – CHANOCK, R. M. – COLLINS, P. L. (1986): Expression of the F glycoprotein of respiratory syncytial virus by a recombinant vaccinia virus: comparison of the individual contributions of the F and G glycoproteins to host immunity. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 83, 7462–7466.
- ORVELL, C. – NORRBY, E. – MUFSON, M. A. (1987): Preparation and characterization of monoclonal antibodies directed against five structural components of human respiratory syncytial virus subgroup B. *J. Gen. Virol.*, 68, 3125–3135.
- PACCAUD, M. F. – JACQUIER, C. (1970): A respiratory syncytial virus of bovine origin. *Arch. Ges. Virus Forsch.*, 30, 327–342.
- PIRIE, H. M. – PETRIE, L. – PRINGLE, C. R. – ALLAN, E. M. – KENNEDY, G. J. (1981): Acute fatal pneumonia in calves due to respiratory syncytial virus. *Vet. Rec.*, 108, 411–416.
- PLOEGER, H. W. – BOON, J. H. – KLAASSEN, C. H. L. – FLORENT, G. VAN (1986): A sero-epidemiological survey of infections with the respiratory syncytial virus in first-season grazing calves. *J. Vet. Med.*, B 33, 311–318.
- POPOW-KRAUPP, T. – LAKITS, E. – KELLNER, G. – KUNZ, C. (1989): Immunoglobulin-class-specific immune response to respiratory syncytial virus structural proteins in infants, children, and adults. *J. Med. Virol.*, 27, 215–223.
- PRINCE, G. A. – HORSWOOD, R. L. – BERNDT, J. – SUFFIN, S. C. – CHANOCK, R. M. (1979): Respiratory syncytial virus infection in inbred mice. *Infect. Immun.*, 26, 764–766.
- RICHARDSON-WYATT, L. S. – BELSHE, R. B. – LONDON, W. T. – SLY, D. L. – CAMARGO, E. – CHANOCK, R. M. (1981): Respiratory syncytial virus antibodies in non-human primates and domestic animals. *Lab. Anim. Sci.*, 31, 413–415.
- RICHMAN, A. V. – TAURASO, N. M. (1971): Growth of respiratory syncytial virus in suspension cell culture. *Appl. Microbiol.*, 22, 1123–1125.
- ROSENQUIST, B. D. (1974): Isolation of respiratory syncytial virus from calves with acute respiratory disease. *J. Infect. Dis.*, 130, 177–182.
- ROSSI, C. R. – KIESEL, G. K. (1977): Susceptibility of bovine macrophage and tracheal-ring cultures to bovine viruses. *Am. J. Vet. Res.*, 38, 1705–1708.
- RUSSI, J. C. – DELFRARO, A. – ARBIZA, J. R. – CHIPARELLI, H. – ORVELL, C. – GRANDIEN, M. – HORTAL, M. (1989): Antigenic characterization of respiratory syncytial virus associated with acute respiratory infections in Uruguayan children from 1985–1987. *J. Clin. Microbiol.*, 27, 1464–1466.
- SHARMA, R. – WOLDEHIWET, Z. (1990): Pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus in experimentally infected lambs. *Vet. Microbiol.*, 23, 267–272.
- SMITH, M. H. – FREY, M. L. – DIERKS, R. E. (1974): Isolation and characterization of a bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Rec.*, 94, 599–601.
- SMITH, M. H. – FREY, M. L. – DIERKS, R. E. (1975): Isolation, characterization and pathogenicity studies of a bovine respiratory syncytial virus. *Arch. Virol.*, 47, 237–247.
- SMITH, M. H. – LEHMKUHL, H. D. – PHILIPS, S. M. (1979): Isolation and characterization of a respiratory syncytial virus from goats. *Proc. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnostic.*, 22, 259–268.
- SPRAKER, T. R. – COLLINS, J. K. – ADRIAN, W. J. – OLTERMAN, J. H. (1985): Isolation and serologic evidence of a respiratory syncytial virus in bighorn sheep from Colorado. *J. Wildl. Dis.*, 22, 416–418.
- STOTT, E. J. – THOMAS, L. H. – COLLINS, A. P. – HAMILTON, S. – JEBBETT, J. – LUTHER, P. D. (1978): The role of viruses in acute respiratory disease of cattle. In:

- MARTIN, W. B. (ed.): Respiratory Diseases in Cattle. Hague, Netherlands, Martinus Nijhoff Publishers, pp. 230–240.
- STOTT, E. J. – TAYLOR, G. (1985): Respiratory syncytial virus: brief review. *Arch. Virol.*, **84**, 1–52.
- TAYLOR, G. – STOTT, E. J. – HUGHES, M. – COLLINS, A. P. (1984): Respiratory syncytial virus infection in mice. *Infect. Immun.*, **43**, 649–655.
- THOMAS, L. H. – STOTT, E. J. – JEBBETT, J. – HAMILTON, S. (1976): The growth of respiratory syncytial virus in organ cultures of bovine foetal trachea. *Arch. Virol.*, **52**, 251–258.
- TRIGO, F. J. – BREEZE, R. G. – EVERMANN, J. F. – GAL-LINA, A. M. (1984): Pathogenesis of experimental bovine respiratory syncytial virus infection in sheep. *Am. J. Vet. Res.*, **45**, 1663–1670.
- TRUDEL, M. – NANDON, F. – SINNARD, C. – BÉLANGER, F. – ALAN, R. – SÉGUIN, C. – LUSSIER, G. (1989): Comparison of caprine, human and bovine strains of respiratory syncytial virus. *Arch. Virol.*, **107**, 141–149.
- VAN BEKKUM, J. C. – HOLZHAUER, C. – STRAVER, P. J. – VAN NIEUWSTADT, A. (1977): Viral infections of the respiratory tract in cattle in the Netherlands. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, **88**, 69–79.
- VERHOEFF, J. (1983): Some aspect of respiratory viral infections in dairy cattle. [Doctoral Thesis.] Netherlands, University of Utrecht.
- WALSH, E. E. – SCHLESINGER, J. J. – BRANDISS, M. V. (1984): Protection from respiratory syncytial virus infection in cotton rats by passive transfer of monoclonal antibodies. *Infect. Immun.*, **43**, 756–758.
- WATHEN, M. W. – BRIDEAU, R. J. – THOMSEN, D. R. (1989): Immunization of cotton rats with the human respiratory syncytial virus F glycoprotein produced using a baculovirus vector. *J. Infect. Dis.*, **159**, 255–264.
- WATHEN, M. W. – KAKUK, T. J. – BRIDEAU, R. J. – HAUSKNECHT, E. C. – COLE, S. L. – ZAYA, R. M. (1991): Vaccination of cotton rats with chimeric FG glycoprotein of human respiratory syncytial virus induces minimal pulmonary pathology on challenge. *J. Infect. Dis.*, **163**, 477–482.
- WELLEMANS, G. – LEUNEN, J. – LUCHSINGER, E. (1970): Isolement d'un virus (220/69) sérologiquement semblable au virus respiratoire syncytial (RS) humain. [Isolation of a virus (220/69) serologically resembling human respiratory syncytial virus.] *Ann. Méd. Vétér.*, **114**, 89–93.
- WELLEMANS, G. – LEUNEN, J. (1975): Le virus respiratoire syncytial et les troubles respiratoires des bovins. [Respiratory syncytial virus and respiratory disorders in cattle.] *Ann. Méd. Vétér.*, **119**, 359–369.
- WELLEMANS, G. (1977): Laboratory diagnosis methods for bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Sci. Commun.*, **1**, 179–189.
- WELLEMANS, G. (1982): Evaluation du programme de vaccination anti-virus respiratoire syncytial bovin en Belgique. In: *Proc. XII. World Congr. Diseases of Cattle*. Amsterdam, September 1982, pp. 146–152.
- WERTZ, G. W. – COLLINS, P. L. – HUANG, Y. T. (1985): Nucleotide sequence of the G protein gene of human respiratory syncytial virus reveals an unusual type of viral membrane protein. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **82**, 4075–4079.
- WESTENBRINK, F. – KIMMAN, T. G. – BRINKHOF, J. M. A. (1989): Analysis of the antibody response to bovine respiratory syncytial virus proteins in calves. *J. Gen. Virol.*, **70**, 591–601.
- WOODS, G. T. (1974): Bovine parvovirus I, bovine syncytial virus and bovine respiratory syncytial virus and their infections. *Adv. Vet. Sci. Compar. Med.*, **18**, 273–286.
- WRIGHT, P. F. – WOODEN, W. G. – CHANOCK, R. M. (1970): Temperature-sensitive mutants of respiratory syncytial virus: in-vivo studies in hamsters. *J. Infect. Dis.*, **122**, 501–512.
- WUNNER, W. E. – FALKNER, C. P. – PRINGLE, C. R. (1975): Respiratory syncytial virus: some biological and biochemical properties. In: MAHY, B. J. – BARRY, R. (eds.): *Negative strand viruses*. New York, Academic Press, pp. 193–203.
- ZYGRAICH, N. – WELLEMANS, G. (1981): Immunologic markers of an attenuated bovine respiratory syncytial (BRSV) virus vaccine. *Zbl. Vet.-Med.*, **B**, **28**, 355–362.

Received: 97–06–10

Accepted after corrections: 97–06–19

Kontaktní adresa:

MVDr. Kamil K o v a ř č í k, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudecova 70, 621 32 Brno, Česká republika
Tel. 05/41 32 12 41, fax 05/41 21 12 29, e-mail: olma@vuvet.anet.cz

THIRD GOOD NEWS

The most important bibliographic database, MEDLINE, covering the fields of medicine, nursing, dentistry, veterinary medicine, the health care system, and the preclinical sciences, has been opened by Vice President Gore in the National Library of Medicine, Bethesda, for the users of INTERNET, on 26th of June, 1997. MEDLINE contains nearly 9 million bibliographic citations (e.g. authors, title and journal references) and author abstracts from about 3 800 biomedical journals published since 1966. The updating brings 350 000 to 400 000 new records yearly. The parameters of computer and searching software used and the transfer velocity are so impressive that the searched results are available within few seconds. This message is very

important for the authors of the journal "Veterinární medicína", as this journal is covered by the MEDLINE, and citations of 2 148 papers published until May 1997 are available in MEDLINE database. Therefore the importance of publishing in English and the preparation of good abstracts has been increased. The decision of the National Library of Medicine is extremely important for countries suffering for years from political and economical reasons from limited access to professional information. Although the libraries in these countries are without important journals and monographs, we have now scientific information at our fingertips. Thus we can feel as a part of the global scientific community. Thank you very much, NLM.

TŘETÍ DOBRÁ ZPRÁVA

Nejdůležitější bibliografická databáze z oboru lékařských věd, ošetrovatelství, zubního lékařství, veterinárního lékařství, systémů zdravotní péče a preklinických lékařských oborů MEDLINE byla 26. června 1997 zpřístupněna uživatelům INTERNETU. Tato databáze obsahuje 8 800 000 záznamů o publikacích, uveřejněných od roku 1966 ve 3 800 časopisech a je doplňována neuvěřitelným tempem 33 000 záznamů měsíčně, t. j. 350 až 400 tisíc ročně. Obdivuhodný je nejen rozsah publikací, ale i výkon počítače, programu pro vyhledávání a rychlost přenosu údajů. Výsledek rešerše se objeví na obrazovce uživatele INTERNETU během několika sekund i při vyhledávání v celé databázi. Program však umožňuje rozsah vyhledávání omezit na posledních 30, 60, 90, 180 dnů, nebo na 1, 2, 5 a 10 let. Kromě autorů, názvu práce a zdroje lze u většiny citací získat také abstrakt a články s podobnou tematikou. K vyhledávání lze zadat jméno jednoho z autorů nebo klíčová slova. Pro formu výstupů lze zvolit několik formátů a výsledky vytisknout nebo uložit do paměti vlastního počítače. Pro autory časopisu Veterinární medicína je tato zpráva důležitá i proto, že tento časopis

je zahrnut do databáze MEDLINE, která nabízí 2 148 citací článků uveřejněných do května 1997. Součástí bibliografického záznamu je i adresa autorů a údaj, v jakém jazyce je práce uveřejněna. Proto opět vzrůstá význam uveřejňování publikací ve Veterinární medicíně v angličtině a potřeba věnovat velkou pozornost souhrnům. Rozšiřování možností přístupu k databázím tohoto typu vyvolává potřebu prohloubení výuky základů informatiky v řádném i postgraduálním vysokoškolském studiu a doplnění těchto znalostí u všech pracovníků výzkumu. Proto otevíráme náš výkladový slovník informatiky stručnými údaji o některých základních pojmech a jejich používání při práci s databází MEDLINE. Rozhodnutí Národní knihovny lékařských věd USA o zpřístupnění databáze MEDLINE má ohromný význam pro země, které z politických nebo ekonomických důvodů měly desítky let omezený přístup k odborným informacím a jejich knihovny postrádají důležité časopisy i monografie. Výsledky lékařského výzkumu jsou teď i pro nás na dosah ruky, spočívající na klávesnici počítače. Díky za toto rozhodnutí, díky za to, že se můžeme cítit součástí moderní vědecké komunity.

Prof. MVDr. Karel Hruška, CSc.

RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS: PATHOGENESIS, IMMUNOLOGY AND PROPHYLAXIS OF THE DISEASE

RESPIRAČNÍ SYNCYTIÁLNÍ VIRUS: PATOGENEZE, IMUNOLOGIE A PROFYLAXE ONEMOCNĚNÍ

K. Kovařík

Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Immunopathologic mechanism has been proposed to be involved in the pathogenesis of respiratory syncytial virus infections. This review examines the current understanding of the role of immunopathologic mechanisms in RSV infections. The role of vaccines in inducing hypersensitivity is also discussed.

respiratory tract pathogen; pathogenesis; immunology; prophylaxis

ABSTRAKT: V patogenezi infekcí respiračního syncytiálního viru byl zahrnut imunopatologický mechanismus. Přehled prozkoumává současně znalosti úlohy imunopatologických mechanismů u infekcí RSV. Je zde také diskutována úloha vakcín ve vyvolání hypersenzitivity.

patogen respiračního traktu; patologie; imunologie; profylaxe

Seznam použitých zkratk: BRSV – boviní respirační syncytiální virus, HRSV – humánní respirační syncytiální virus, BVD – virus slizniční nemoci skotu, PI-3 – virus parainfluenzy 3, IBR – virus infekční boviní rinotracheitidy, CPE – cytopatický efekt.

CONTENTS

1. Pathogenesis
2. Clinical disease
3. Pathology
 - 3.1. Macroscopic lesions
 - 3.2. Microscopic lesions
4. Immunology
 - 4.1. The role of antibodies
 - 4.2. The role of maternal antibodies
 - 4.3. The role of mucosal antibodies
 - 4.4. The role of T cells
5. Laboratory diagnosis
6. Prophylaxis
7. Summary and conclusions
8. References

OBSAH

1. Patogeneze onemocnění
2. Klinické onemocnění
3. Patologie
 - 3.1. Makroskopické léze
 - 3.2. Mikroskopické léze
4. Imunologie
 - 4.1. Úloha protilátek
 - 4.2. Úloha mateřských protilátek
 - 4.3. Úloha slizničních protilátek
 - 4.4. Úloha T buněk
5. Laboratorní diagnostika
6. Profylaxe
7. Souhrn a závěr
8. Literatura

1. PATOGENEZE ONEMOCNĚNÍ

Příznaky onemocnění pozorované po experimentální infekci boviním RSV nejsou tak závažné (Inaba aj., 1972; Jacobs a Edington, 1975; Smith aj., 1975; Mohanty, 1978; Elazhary aj., 1980; Thomas aj., 1984a) a její průběh na rozdíl od přiro-

zené infekce je často inaparentní. Stott (1985) naznačil, že virus nepasážovaný v tkáňových kulturách může mít větší virulenci pro přirozeného hostitele.

Po experimentální infekci telat respirační cestou se BRSV replikoval v buňkách nosní sliznice a dále v buňkách pharyngeálních, tracheálních a plicních (McNulty aj., 1983; Thomas aj., 1984a; Cast-

Le man aj., 1985a). Virus byl poprvé prokázán v nasopharynxu druhý den po experimentální infekci (Castleman aj., 1985a), ale McNulty aj. (1983) prokázali virus v tracheální orgánové kultuře pocházející od infikovaných telat 24 hodin po infekci. Virus se objevuje v epitelálních buňkách plic 4 až 10 dnů po infekci (McNulty aj., 1983; Thomas aj., 1984a; Castleman aj., 1985a). Virus je lokalizován nejprve v buňkách bronchiálního epitelu a později v buňkách alveolů (Thomas aj., 1984a; Castleman aj., 1985a). U experimentálně infikovaných jehňat Al-Darraj aj. (1982b) prokázali virus druhý den po infekci v epitelálních buňkách nosních, tracheálních, bronchiálních a bronchiolárních, ale ne v epitelálních buňkách alveolů. Naproti tomu Trigo aj. (1984) detekovali virus v epitelálních buňkách bronchiolů jakož i alveolů druhý den po infekci, avšak nebyli schopni prokázat virové antigeny v buňkách nosních, tracheálních a bronchiolárních. Virus byl prokázán také v alveolárních makrofázích (Castleman aj., 1985a). Izolace viru z přirozeně nebo experimentálně infikovaných telat je obtížná. Vyžaduje obvykle několikanásobné pasáže před projevem cytopatického efektu (Jacobs a Edington, 1971; Inaba aj., 1972; Rosenquist, 1974; Köves a Bartha, 1975; Smith aj., 1975; Mohanty aj., 1976). Z experimentálně infikovaných telat byl virus izolován již 24 hodin po infekci (Elazhary aj., 1980), avšak vrchol vylučování se objevil čtvrtý až sedmý den po infekci (Elazhary aj., 1980; Thomas aj., 1984a). Vylučování viru trvalo až do 10. až 12. dne po infekci (Jacobs a Edington, 1975; Elazhary aj., 1980; Thomas aj., 1984a). Virus byl izolován z plic již třetí den po infekci (Castleman aj., 1985a) a perzistoval až do devátého dne po infekci (Mohanty aj., 1975; Thomas aj., 1984a). Z tracheální tkáně byl virus izolován čtvrtý den po experimentální infekci (Castleman aj., 1985a) a nepřetržitě byl detekován až do 10. dne po infekci (Jacobs a Edington, 1975). U experimentálně infikovaných jehňat bylo vylučování viru z nosní dutiny poprvé prokázáno druhý den po infekci (Trigo aj., 1984) a nepřetržitě byl detekován do šestého dne po infekci (Al-Darraj aj., 1982a; Trigo aj., 1984). Sharma a Woldehiwet (1990) izolovali virus častěji z trachey než z nosní dutiny.

Ošetření zvířat dexamethasonem zvětšuje plicní poškození vyvolané BRSV, prodlužuje dobu vylučování viru a zvyšuje hladiny titrů (Thomas aj., 1984b). Původní přítomnost viru slizniční nemoci skotu (BVD-boviní virová diarrhea) jakož i náhlý pokles atmosférického tlaku nebo pokles minimální teploty patrně zhoršují onemocnění (Verhoeff a van Nieuwstadt, 1984).

Bylo prokázáno, že infekce BRSV může probíhat v přítomnosti cirkulujících protilátek (Mohanty, 1978; McNulty aj., 1983). Ochranný efekt nosních neutralizačních protilátek proti BRSV infekci byl prokázán Mohantym (1978). Tento autor zjistil, že

mladá telata se zjistitelnými neutralizačními protilátkami v nosních sekretech zůstala plně imunní proti zátěži. BRSV není schopen potlačit ciliární aktivitu, i když se virus replikuje *in vitro* v ciliárních epitelálních buňkách tracheálních prstenců. Z tohoto důvodu se dá předpokládat, že tracheální epitel nehraje významnou úlohu v patogenезi BRSV infekci (Thomas aj., 1976; Rossi a Kiesel, 1977).

Hromadění buněčného detritu a podpora bakteriální proliferace může vést k rozsáhlé purulentní pneumonii hlavně u mladých telat. Niemeně náhlý začátek pulmonálního emfyzému není vysvětlitelný BRSV infekci (Gardner aj., 1970).

Diskuse o možné imunopatogenезi bude naznačena v části imunologie.

2. KLINICKÉ ONEMOCNĚNÍ

V několika pracích byl popsán klinický obraz respiračního onemocnění spojeného s BRSV (Inaba aj., 1972; Wellemans a Leunen, 1975; Holzhauer a van Nieuwstadt, 1976; Holzhauer, 1978; Pirie aj., 1981; Bohlender aj., 1982; Baker a Frey, 1985). Inkubační doba může být v rozmezí od dvou do sedmi dnů (Holzhauer, 1978; Mohanty, 1978). U přirozeně infikovaného skotu zahrnují hlavní klinické příznaky anorexii, mírné deprese, mukózní nosní výtok, salivaci, horečku, zrychlené dýchání a kašel (Inaba aj., 1972; Wellemans a Leunen, 1975; Holzhauer a van Nieuwstadt, 1976; Holzhauer, 1978; Pirie aj., 1981; Bohlender aj., 1982; Baker a Frey, 1985). To je doprovázeno auskultačním nálezem charakterizovaným zosířeným bronchiálním a bronchovezikulárním dýcháním s jemnými šelesty, které odpovídají plicnímu emfyzému (Bryson aj., 1978, 1979; Verhoeff a van Nieuwstadt, 1984). V mnoha případech je také přítomno abdominální dýchání (Inaba aj., 1972; Verhoeff a van Nieuwstadt, 1984).

V typických vzplanutích se onemocnění rozvíjí ve dvou rozdílných fázích (Holzhauer a van Nieuwstadt, 1976; Wellemans aj., 1978; Frey, 1982; Baker a Frey, 1985). Onemocnění vzniká náhle a obvykle se u 80 až 90 % zvířat určité věkové skupiny projeví příznaky onemocnění. Postižená telata jsou ve věku tři až devět, někdy až 15 měsíců. První fáze je mírná s projevem připomínajícím přepravní horečku (shipping fever). Zvířata kašlou, někdy je přítomen nosní výtok a konjunktivitida se slzením. Tělesná teplota je okolo 40 °C.

O dva až tři dny později, kdy se zdá, že se vše vrací k normálu, začíná druhá fáze onemocnění s příznaky těžké dyspnoe v důsledku plicního emfyzému. Některá zvířata mají potíže s dýcháním, doprovázené záchvaty suchého kašle. Tělesná teplota v době prvního projevu těchto příznaků je těsně nad normálem. Telata ztrácejí hmotnost a mají zjevnou srst. Dýchání nemocných

zvířat se stává výrazně zrychlené a povrchní, stav je dále zhoršován záchvaty kašle. Je zde malý nebo také žádný výtok z nosu. Často je přítomná pěna v komisuře pisků. Nemocná telata stojí s nataženým krkem a nataženými hrudními končetinami. Často jsou rozvinuté příznaky abdominálního dýchání. Zvířata nemožnou ležet ani žrát a je pozorováno zoufalé úsilí při dýchání s otevřenou tlamou. Obstipace a úplná ztráta chuti je běžným příznakem. Sliznice se stávají cyanotické. U některých vzplanutí BRSV jsou v této fázi občas zaznamenány podkožní emfyzémy (Köves a Bartha, 1975; Odegaard a Krogsrud, 1977). U mléčného skotu se může projevit drastický pokles mléčné produkce (Inaba aj., 1972; Odegaard a Krogsrud, 1977).

Ve stádě může být až 20% mortalita. Farmy specializované na „baby-beef“ mají vyšší ztráty. K uhynutí dojde často během několika hodin. Telata, která přežila se uzdraví po několika dnech; dýchání se stává snadnější a vrací se chuť k přijímání krmiva (Holzhauer a van Nieuwstadt, 1976; van Bakkum aj., 1977; Wellemans, 1977; Verhoeff a van Nieuwstadt, 1984).

Poněkud odlišná symptomatologie může být pozorována u šest týdnů starých telat, zejména na výkrmových farmách. Setkáváme se zde pouze s malými nebo žádnými emfyzematickými lézemi, avšak často nacházíme bakteriální superinfekce. Kašel, vysoká teplota a serózní až mukopurulentní nosní výtok jsou nejobecnějšími příznaky.

Navzdory projevu těžkých klinických příznaků u přirozené infekce BRSV, bylo obtížné reprodukovat klinické onemocnění u experimentálně infikovaných telat (Smith aj., 1975; Jacobs a Edington, 1975; Mohanty aj., 1975). U experimentálně infikovaných telat se klinické příznaky lišily od mírných respiračních potíží (Mohanty aj., 1975; Bryson aj., 1983) až k negativní reakci (Thomas aj., 1984a).

Je poměrně málo doložených materiálů o přirozeném klinickém onemocnění u jiných přežvýkavců. Lehmkühl a Smith (1980) popsali respirační onemocnění u koz charakterizované těžkým kašlem, mukopurulentním nosním výtokem, slzením, horečkou, anorexií a apatií. Evermann aj. (1985) izoloval RSV z ovcí se slabou rinitidou. Experimentálně infikovaná jehňata projevila mírné klinické příznaky (Lehmkühl a Cutlip, 1979; AL-Darraj aj., 1982a; Trigo aj., 1984; Sharma a Woldehiwet, 1990). Tato jehňata jsou však více vnímavá k superinfekci pasterelami (*P. haemolytica*).

3. PATOLOGIE

U zvířat, která uhynula v důsledku onemocnění jsou patologické změny omezeny na respirační trakt; postmortální léze nejsou fakticky patogenní – podobné změny mohou být nalezeny u infekci způsobených BVD a PI-3 viry.

3.1. Makroskopické léze

Typická intersticiální pneumonie je konstantním postmortálním nálezem u přirozené infekce způsobené BRSV (Inaba aj., 1972; Köves a Bartha, 1975; Odegaard a Krogsrud, 1977; Holzhauer a van Nieuwstadt, 1976; Holzhauer, 1978; Kiester, 1981; Pirie aj., 1981; Elazhary aj., 1982; van den Ingh aj., 1982; Castleman aj., 1985b). Plic jsou objemově zvětšené a emfyzematózní. Apikální a kraniální laloky vykazují lobulární bronchopneumonii. Četné velké ekchymózní hemoragie jsou přítomné v emfyzematózních změnách a pod pleurou; zpěněný exudát často pokrývá nastříklou sliznicí bronchů. Diafragmatické laloky jsou edematózní a interlobulární septa jsou rozšířená. Subpleurální emfyzém je přítomen ve všech lalocích, avšak nejtěžší je u diafragmatického laloku, kde je často mnoho velkých rozdělených hemoragických bul. V některých případech může dojít k protržení pleurální stěny, následkem čehož vzniká pneumotorax. U většiny případů dochází k vývoji výrazného mediastinálního emfyzému a u některých telat se může emfyzém rozšířit i do subkutánní tkáně plece, hřbetu a krku. Zvířata pak v těchto místech vykazují krepitaci a asymetrický otok. Častým nálezem jsou petechie, zejména v larynxu a na myokardu (Holzhauer a van Nieuwstadt, 1976; Wellemans, 1977; Bryson aj., 1983).

U mladších telat obvykle nedochází k vývoji emfyzematických změn.

3.2. Mikroskopické léze

Histologické léze, zejména mononukleární infiltrace v hyperplastických alveolárních stěnách, bronchiolitidy nebo lobulární intersticiální pneumonie s edémem nejsou patogenní pro BRSV infekci. Přesto jsou v některých případech, hlavně u mladých telat, pozorovány v alveolech syncytia s eosinofilními inkluzemi (Mohanty, 1978; Bryson aj., 1983). S pomocí fluorescein isothiokyanátu konjugovaného s anti-BRSV sérem mohou být nalezeny dva typy lézí v histologických řezech z apikálních laloků plic. Léze se rozděluje na typ A a B. U A typu lézí je antigen rozložen v cytoplazmě buněk homogenně. Tyto buňky se jeví jako nepoškozené a často jsou vidět syncytiální útvary. Tento typ lézí nacházíme u telat několik týdnů starých a někdy i u starších zvířat plemene Charolais nebo Blonde-Aquitaine (Wellemans, 1982). U B typu lézí je antigen shlukován. Buňky jsou rozrušeny a antigenní masa se šíří do alveolárního nebo bronchiálního lumenu. Výjimečně jsou v těchto lézích nalezeny obrovské buňky (Wellemans, 1977). S B typem se setkáváme u emfyzematózních plic starších telat belgického Blue-White plemene.

U jehňat experimentálně infikovaných BRSV je možno pozorovat zvýšení počtu pneumocytů typu II a nekrozu epitelálních buněk bronchů a bronchiolů

(Al-Darraj aj., 1982b). Ciliární a neciliární epitelální buňky bronchů, bronchiolů a alveolů obsahovaly četné shluky virových nukleoproteinů a pučících nebo volných virových partikul (Cutlip a Lehmkuhl, 1979; Al-Darraj aj., 1982b; Trigo aj., 1984).

4. IMUNOLOGIE

Poněvadž onemocnění vyvolané HRSV je nejběžnější u dětí mladších než šest měsíců, v době kdy pravděpodobně mají protilátky, byly nastoleny hypotézy, že onemocnění vyvolává imunopatogenetický mechanismus. Také nepříznivé závěry klinických zkoušek, při kterých byly u dětí používány formalínem inaktivované vakcíny proti HRSV naznačily, že mateřské protilátky silně predisponují infikované děti k rozvoji bronchiolitis (McIntosh a Chanock, 1990). Opakující se infekce HRSV se snadno projevují v přítomnosti pasivně i aktivně získaných protilátek (Kimman a Westenbrink, 1990). Pro vypuknutí opakované infekce jsou důležité antigenní rozdíly G proteinů mezi podskupinami HRSV (Sullender aj., 1991). Malými antigenními rozdíly u G proteinu uvnitř skupiny můžeme také vysvětlit schopnost viru k reinfekci jedinců (Sullender aj., 1991). Rezistence k reinfekci je zajištěna humorálními F a G protilátkami, ale ochrana není zdaleka úplná a často krátkodobá (Hall aj., 1991). U dětí se mohou vyvinout těžké klinické příznaky onemocnění po reinfekci, ale při dalších infekcích se závažnost klinického projevu snižuje (Kimman a Westenbrink, 1990). Tato částečná protekce může být větší proti virům ze stejné podskupiny (Kimman a Westenbrink, 1990). Aktivní imunita proti infekci BRSV chrání telata proti rozvoji klinického onemocnění, ale ne od reinfekce (Kimman a Westenbrink, 1990).

V současné době je otázka úlohy mateřských protilátek intenzivně diskutována, poněvadž někteří autoři na základě následujících faktů úlohu mateřských protilátek v patogenezi vylučují. Bronchiolitis je nejběžnější u dětí ve věku šest týdnů až šest měsíců, ale děti mladší než šest týdnů jsou poměrně rezistentní (McIntosh a Chanock, 1990). Mateřské protilátky proti HRSV jsou u dětí často přítomné a nejvyšších titrů dosahují kolem třetího týdne věku (McIntosh a Chanock, 1990). Dále u dětí bez zjištěných neutralizačních protilátek se také může rozvinout bronchiolitis po infekci HRSV, což naznačuje, že neplatí korelace mezi hladinou neutralizačních protilátek a závažností onemocnění u dětí (McIntosh a Chanock, 1990). Nakonec, souvislost mezi nízkou koncentrací protilátek proti HRSV v krvi pupeční šňůry u novorozenců a následný časný rozvoj závažného onemocnění dolního respiračního traktu podpořila více ochrannou než imunopatogenickou úlohu specifických protilátek (McIntosh a Chanock, 1990).

4.1. Úloha protilátek

Ke studiu získané imunity a ochranného efektu sérových protilátek u infekcí HRSV byla použita laboratorní zvířata. Imunizace bavlíkových krys F proteinem HRSV nebo neobvyklým FG chimérovým proteinem, který byl exprimován rekombinantním bakulovirem stimulovala sérové neutralizační protilátky, které chránily krysy proti zátěži HRSV (Wathen aj., 1989; Wathen aj., 1991). Purifikované F a G proteiny aplikované bavlíkovým krysám byly vysoce imunogenní a po zátěži očkováním nebyly zjištěny patologické změny v plicích u imunizovaných krys (Murphy aj., 1989). Rekombinantní virus vakcínie exprimující F nebo G proteiny HRSV také vyvolává vysoké hladiny specifických sérových neutralizačních protilátek a téměř úplnou inhibici replikace HRSV v dolní části respiračního traktu (Olmsted aj., 1986; Kimman a Westenbrink, 1990). Bylo nastíněno několik úloh protilátek v imunopatogenezi infekce HRSV. U dětí s infekcemi HRSV se může rozvinout hypersenzitivita typu I (Welliver aj., 1984; Kimman a Westenbrink, 1990). U kojenců a mladších dětí s akutní infekcí HRSV, zejména u pacientů s bronchiolitis byly zjištěny IgE vázané na odloupané nasofaryngeální epitelální buňky (Welliver aj., 1980). HRSV-specifické IgE a koncentrace histaminu byly zvýšeny v respiračních sekretech pacientů s bronchiolitis a stíženým dýcháním (Welliver aj., 1981). Mnoho autorů pozorovalo spojení mezi počáteční koncentrací anti-HRSV IgE protilátek v sekretech nebo v séru a závažností onemocnění dolní části respiračního traktu (Welliver aj., 1984; Bui aj., 1987; Welliver, 1988; Kimman a Westenbrink, 1990). Avšak ne u všech dětí hospitalizovaných pro HRSV infekci byly prokázány HRSV-specifické IgE (Welliver aj., 1984; Welliver aj., 1989; Kimman a Westenbrink, 1990), zejména během počáteční fáze primární infekce.

V jedné studii nebyla zřejmá jasná korelace mezi koncentrací BRSV-specifickými IgE a klinickými příznaky onemocnění, které následovaly po experimentální infekci telat BRSV (Steward a Gershwin, 1989b). Přesto závěry jiných studií ukázaly, že koncentrace sérových IgE mají vliv na závažnost onemocnění (Steward a Gershwin, 1989a). Použitím BRSV-specifického nepřímého imunoenzymatického testu (ELISA) bylo zjištěno, že BRSV-specifické IgE jsou často vytvářeny u telat v reakci na infekci BRSV a vysoké koncentrace sérových IgE korelovaly s klinickou závažností (Steward a Gershwin, 1989a). Tito autoři také zjistili, že existovala malá korelace mezi klinickou závažností BRSV infekce a koncentrací IgE v plicní lavážní tekutině a byla zřejmá i významná korelace mezi klinickou závažností a obsahem histaminu v nasofaryngeálním exudátu (Steward a Gershwin, 1989b). Naznačili také, že tyto informace podporují významnou úlohu IgE v patogenezi onemocnění BRSV. IgE reakce nebyly prozkoumány u telat se závažnou přirozenou infekcí.

Případy dětí imunizovaných formalinem inaktivovanou vakcínou proti HRSV a poté vystavených přirozené infekci vedly k závažným komplikacím. Formalin totiž skutečně může zničit epitopy, které vyvolávají tvorbu neutralizačních a fúzo-inhibičních protilátek proti G nebo F proteinům (Murphy aj., 1986c; Prince aj., 1986; Murphy a Walsh, 1988; Kimman a Westenbrink, 1990). Formalinem inaktivované vakcíny také mohou vyvolávat tvorbu převážně „nefunkčních“ protilátek, které se vážou na virus, ale nedokážou neutralizovat infekčnost nebo inhibovat buněčnou fúzi. Existují úvahy, že přítomnost těchto ne-neutralizujících protilátek v době infekce nebo jejich produkce ve zvýšeném množství po infekci, může vést k zhoršení onemocnění způsoběné Arthrusovou reakcí (hypersenzitivita III. typu) – Kimman a Westenbrink (1990). Zejména F protein je pravděpodobně schopný indukovat tvorbu těchto „nefunkčních“ protilátek (Routledge aj., 1988; Beeler a van Wyke Coeling, 1989; Kimman a Westenbrink, 1990). Úloha těchto protilátek v aktivaci komplementu nebyla studována. Určité monoklonální protilátky přímo proti F proteinu neutralizují některé HRSV kmeny, ale jiné kmeny pouze vážou a nedokážou je neutralizovat (Beeler a van Wyke Coeling, 1989). Po aplikaci formalinem inaktivované vakcíny bavlíkovým krysám bylo pozorováno zhoršení průběhu onemocnění po následující zátěži (Prince aj., 1986). Dodatečný, histologický průkaz Arthrusovy reakce byl pozorován 24 hodin po zátěži krys a následný influx neutrofilů a lymfocytů čtyři dny poté naznačuje, že se může rozvinout opožděný typ hypersenzitivity (hypersenzitivita typu IV).

Protilátky mohou tvořit komplexy antigen-protilátka a vyvolávat poškození během RSV onemocnění. I v nepřítomnosti protilátek buňky infikované BRSV a HRSV aktivují komplement (Smith aj., 1981; Edwards aj., 1986; Kimman a Westenbrink, 1990). Protilátky zvyšují aktivitu komplementu a součinnost protilátek a komplementu je nutná pro komplementem zprostředkovanou lýzu (Kimman aj., 1989a; Kimman a Westenbrink, 1990). Aktivita komplementu byla zvyšována BRSV-specifickými IgG1 a IgM, ale ne IgG2 a IgA, a způsobila buněčnou lýzu (Kimman aj., 1989a; Kimman a Westenbrink, 1990). Myši monoklonální protilátky zaměřené proti neutralizačním a ne-neutralizačním epitopům na F proteinu mohou také zvýšit aktivitu komplementu. Monoklonální IgG1 zaměřené proti ne-neutralizačním epitopům na F proteinu zvýšily vazbu C3 na infikované buňky, avšak nevyvolaly komplementem zprostředkovanou lýzu (Kimman aj., 1989a; Kimman a Westenbrink, 1990). Tedy, IgG1 a IgM protilátky zaměřené proti těmto epitopům se případně mohly podílet na aktivaci komplementové kaskády a zprostředkovat pasivně zánětlivé účinky, a již nebyly schopné vyvolat buněčnou lýzu nebo neutralizaci viru (Kimman a Westenbrink, 1990).

In vivo studie přirozených onemocnění BRSV u skotu naznačily úlohu komplementu a následného uvolnění mediátorů žírných buněk v patogenezi (Kimman aj., 1989b). Telata přirozeně infikovaná BRSV měla virový antigen a komplement pouze v kranioventrálních částech plic. Avšak nižší densita žírných buněk, žírných buněčných granulí a množství histaminu byla zřejmě v kranioventrálních i kaudodorzálních oblastech plic. To naznačuje, že virus v kranioventrálních částech plic aktivuje komplement a výsledkem této aktivace je následná aktivace žírných buněk a uvolnění anafylatoxinu ve všech oblastech plic. Tento mechanismus může vysvětlit podstatu šíření plicních lézí u BRSV, navzdory kranioventrální lokalizaci viru v plicích.

Protilátky také mohou zhoršovat onemocnění HRSV usnadněním virové infekce monocytů a makrofágů. Úloha mononukleárního fagocytárního systému u infekci RSV není jasná, jelikož informace týkající se tolerantnosti buněk monocytů/makrofágového původu k infekci RSV jsou rozporuplné. Humánní alveolární makrofágy, monocyty, makrofágy a buněčné linie makrofágového původu jsou většinou tolerantní k RSV replikaci (Domurat aj., 1985; Gimenez aj., 1989; Krilov aj., 1989; Midulla aj., 1989; Panuska aj., 1990) zejména v přítomnosti RSV-specifických protilátek (Gimenez aj., 1989). Přesný mechanismus virové replikace zvýšené protilátkami není jasný, avšak ne-neutralizační nebo subneutralizační koncentrace protilátek mohou tvořit komplex s virovou partikulí a podpořit kontakt virového komplexu s buněčnými povrchovými Fc receptory a usnadnění průniku viru do buněk (Krilov aj., 1989). Buňky nesoucí Fc receptory se mohou nainfikovat nebo vzájemně reagovat s virem a uvolnit leukotrieny a krevní destičky aktivující faktor a tím vyvolat bronchokonstrikci, jak je často pozorováno u tohoto onemocnění (Kimman a Westenbrink, 1990).

Trigo aj. (1985) ve studii o účinku BRSV na vybrané funkce bovinních pulmonálních makrofágů pozorovali, že neúspěšně BRSV infekce bovinních plicních makrofágů byly neobvyklé. To naznačuje, že bovinní alveolární makrofágy nemohou být vysoce tolerantní pro BRSV replikaci. Schopnost alveolárních makrofágů infikovaných BRSV zničit fagocytózou *Staphylococcus epidermidis* nebo latexové kuličky byla podobná jako u neinfikovaných alveolárních makrofágů, ale infikované makrofágy měli významně sníženou schopnost fagocytovat protilátkami potažené ovčí erythrocyty navzdory normální Fc receptorové funkci. Autoři naznačili, že BRSV infekce alveolárních makrofágů vyvolává defektní Fc receptory zprostředkovanou fagocytózu, ale ne celkovou depresi fagocytárního procesu.

4.2. Úloha mateřských protilátek

Rekurentní infekce RSV skotu a lidí jsou zcela běžné, a proto jsou často předávány telatům i dětem anti-RSV

mateřské protilátky (Kimman a Westenbrink, 1990). Anti-HRSV mateřské protilátky u dětí jsou typu IgG1 (Hornsleth aj., 1985) a jsou obvykle zaměřené proti F a G proteinům (Murphy aj., 1986a; Murphy aj., 1986b; Levine aj., 1988). U telat jsou pasivně získané anti-BRSV protilátky také zastoupeny třídou IgG1 a jsou zaměřené zejména proti F a N proteinům, i když některá telata mají mateřské protilátky proti G proteinu (Kimman aj., 1987a, b; Westenbrink aj., 1989; Kimman a Westenbrink, 1990). Telata na rozdíl od dětí získávají mateřské protilátky pouze napitím kolostra (Kimman a Westenbrink, 1990).

I když humorální protilátky mohou hrát určitou roli v patogenetice infekce RSV, existují důkazy, že mateřské protilátky mohou zajistit určitou, avšak neúplnou protekci. Mateřské protilátky snižují vylučování viru infikovanými jedinci a byla nalezena korelace mezi úrovní hladiny neutralizačních mateřských protilátek při narození a věkem, ve kterém vzplane infekce (Chanock aj., 1970; Lamprecht aj., 1976; Hall aj., 1979; Glezen aj., 1981; Ogilvie aj., 1981; Ward aj., 1983; Kimman a Westenbrink, 1990). Závažnost onemocnění je maximální v druhém měsíci života u dětí hospitalizovaných pro onemocnění v období, kdy jsou ještě přítomné mateřské protilátky (Parrot aj., 1973; Kimman a Westenbrink, 1990). Nicméně neexistuje korelace mezi hladinou sérových protilátek a klinickým průběhem onemocnění (Parrot aj., 1973; Bruhn a Yeager, 1977; Kimman a Westenbrink, 1990). Kromě toho, děti mladší než tři týdny, které mají nejvyšší koncentrace mateřských protilátek, jsou k onemocnění nejodolnější (Kimman a Westenbrink, 1990). Přesto nejvíce případů závažného onemocnění se vyskytuje u telat ve věku jednoho až tří měsíců, i když většina těchto telat má mateřské protilátky (Kimman aj., 1988; Kimman a Westenbrink, 1990).

Pasivním přenosem anti-HRSV protilátek laboratorním zvířatům byla prokázána protekce bez exacerbace onemocnění vyvolané následnou zátěží viru. Pasivní přenos monoklonálních protilátek proti F a G proteinům snížilo replikaci HRSV v plicích myši a bavlíkových krys, když byly aplikovány před zátěží (Walsh aj., 1983; Taylor aj., 1984a; Kimman a Westenbrink, 1990). U bavlíkových krys pasivně přenesené sérum od uzdravujících se krys téměř úplně inhibuje následující HRSV replikaci v plicích, avšak vylučování viru z nosu bylo pouze nepatrně sníženo (Prince aj., 1982, 1983). Intravaskulární aplikace humánního hyperimunního séra s vysokou koncentrací anti-HRSV neutralizačních protilátek snížilo množství HRSV znovu získaného z plic a nosu sovích opic po následné zátěži HRSV (Hemming aj., 1985). Pasivní imunita získaná z kolostra také snižuje závažnost infekcí BRSV u telat (Belknap aj., 1991). Tato pozorování podpořila spíše ochrannou než imunopatogenní úlohu mateřských protilátek.

Některé studie však naznačily, že mateřské anti-RSV protilátky u dětí a telat potlačují aktivní sérovou a slizniční odpověď všech izotypů, navzdory rozsáhlé replikaci viru. Anti-HRSV mateřské protilátky mohou způsobit slabou imunitní reakci proti F a G proteinům i u dětí ve věku až osm měsíců (Murphy aj., 1986a; Kimman a Westenbrink, 1990). U skotu je IgM odpověď asi nejméně citlivá k protilátkami zprostředkované imunosupresi (Kimman aj., 1987a; Westenbrink a Kimman, 1987; Kimman a Westenbrink, 1990). I když jsou protilátkové odpovědi značně inhibovány mateřskými protilátkami, může být někdy prokázána u jedinců s mateřskými protilátkami získaná odpověď k určitým proteinům, zejména F a P proteinům (Levine aj., 1988; Kimman aj., 1989c; Westenbrink aj., 1989). Protilátková odpověď u bavlíkových krys proti rekombinantnímu viru vakcinie, který exprimoval F a G proteiny byla pasivním přenesením anti-HRSV imunního séra potlačena, aniž by proběhla protilátková odpověď proti vakciniovým virovým antigenům (Murphy aj., 1988; Kimman a Westenbrink, 1990).

Poměr mezi protilátkami, které jsou zaměřené proti protektivním a neprotektivním virovým epitopům u zvířat se získanou imunitou může být významným určujícím činitelem závažnosti onemocnění po následné infekci (Kimman a Westenbrink, 1990). Protilátková odpověď u bavlíkových krys, které dostaly hyperimunní sérum před zátěží, byla potlačena u stejného proteinu na neutralizačních epitopech více, než odpověď na ne-neutralizačních epitopech (Murphy aj., 1988; Kimman a Westenbrink, 1990). Bavlíkové krysy, jejichž imunitní odpověď byla potlačena pasivním přenosem protilátek, byly více citlivé na HRSV infekci než kontrolní zvířata (Murphy aj., 1988; Kimman a Westenbrink, 1990).

Specifické mateřské protilátky mohou také potlačit RSV T buněčnou odpověď. Bylo prokázáno, že pasivně získané RSV protilátky u novorozenech myši narušily protilátkovou odpověď a tvorbu specifických RSV cytotoxických T buněčných prekurzorů (Bangham, 1986; Kimman a Westenbrink, 1990).

4.3. Úloha slizničních protilátek

Slizniční IgA hrají důležitou úlohu u HRSV infekci lidí, protože výskyt specifických IgA se shoduje s eliminací viru v průběhu rekonvalescence (McIntosh aj., 1978, 1979). U dospělých lidí koreluje rezistence proti infekci HRSV a onemocnění s vysokou hladinou neutralizačních protilátek v nosní dutině v době infekce, ale ne s hladinou neutralizačních protilátek v séru (Mills aj., 1971). Avšak děti, které mají nedostatečnou sekretorickou protilátkovou odpověď jako výsledek imunosuprese mateřskými protilátkami se mohou také normálně uzdravit z infekce HRSV bez komplikací. Podobně telata s potlačenou IgA reakcí za-

příčiněnou mateřskými protilátkami nevylučují virus o nic dříve, než telata bez mateřských protilátek (McIntosh aj., 1978, 1990; Kimman aj., 1987a). Nicméně intranasální imunizace má za následek u bavičkových krys lepší plicní imunitu, než po parenterální nebo enterální imunizaci (Kanesake aj., 1991).

Devátý až desátý den po primární BRSV infekci telat byly v séru a vzorcích odebraných z očí, nosu, plic a střeva prokázány specifické IgM (a brzy poté IgA) (Kimman aj., 1987a). BRSV-specifické IgG1 a IgG2 byly prokázány později, a to pouze v séru. U telat s mateřskými protilátkami nebyla protilátková odpověď prokázána nebo byla prokázána pouze po krátkou dobu, a to v nízkých titrech. Všechna telata v této studii vylučovala stejné množství viru po stejnou dobu trvání bez ohledu na koncentraci sérové mateřské imunity. Když byla tato telata za tři až čtyři měsíce reinfikována byla prokázána u všech telat BRSV-specifická paměťová protilátková odpověď (memory antibody responses) bez ohledu na stupeň předchozí mateřské imunity. Paměťová protilátková odpověď byla charakterizována výrazným zvýšením slizničních IgA a IgM a dále sérových IgA, IgG1 a IgG2. Paměťová protilátková odpověď byla rovněž prokázána u telat, u kterých se nerozvinula prokazatelná primární protilátková odpověď. Mateřské protilátky v době antigenního vrcholu nepříznivě působí na maximální protilátkové titry po zátěži inokulací buď proto, že vrchol byl nedostatečný, nebo protože imunitní odpověď byla těmito protilátkami potlačována. Po reinfekci žádná z telat nevylučovala virus bez ohledu na přítomnost mateřských protilátek v době maximálního titru viru. Tyto informace naznačují, že lokální zátěže respiračního systému telat senzibilizují lokální a systémovou protilátkovou odpověď a inhibují vylučování viru po následné infekci, i když telata mají mateřské protilátky při primární infekci.

4.4. Úloha T buněk

Je poměrně málo známo o úloze T buněk v rekonvalescenci a ochraně proti infekci HRSV. Byla však prokázána proliferativní T buněčná odpověď po infekci RSV u telat a dětí (Scott aj., 1978; Schauf aj., 1979; Cranage a Gardner, 1980; Scott aj., 1984; Taylor aj., 1987). U myši a lidí byly prokázány virově specifické MHC-restrikční cytotoxické buňky (Bingham aj., 1985; Kimman a Westenbrink, 1990; Openshaw aj., 1990). U myši byly také prokázány virově specifické T pomocné buňky (Kimman a Westenbrink, 1990). U bavičkových krys nebyla prokázána žádná MHC-restrikční virově specifická přirozená cytotoxicita (Kimman a Westenbrink, 1990). T buňkami zprostředkovaná imunita (CMI – cell mediated immunity) se může rozvinout u myši v reakci na 22 k protein na rozdíl od imunity vyvolané F a G proteiny, která může být nezávislá na přítomnosti T buněk (Connors aj., 1992).

Virově specifické T buňky mohou zajistit ochranu proti RSV infekci a jejich přítomnost byla prokázána

u telat po experimentální infekci BRSV (Taylor aj., 1987). U telat, která byla vakcinována inaktivovanou vakcínou byla prokázána virově specifická transformační lymfocytární reakce. Ta korelovala se zvýšenou rezistencí k BRSV infekcím, ale nekorelovala s exacerbací BRSV onemocnění následující po experimentální inokulaci (Taylor aj., 1987). Děti a myši s defektní, buňkami zprostředkovanou imunitní reakcí nejsou schopné eliminovat HRSV infekci, což dále podporuje prospěšnou úlohu T buněk ve virové rezistenci (Kimman a Westenbrink, 1990). Kromě toho přenos RSV-senzibilizovaných T buněk odstranil perzistentní infekci u imunodeficientních myši (Kimman a Westenbrink, 1990). Přestože přenos HRSV-specifických cytotoxických T buněk infikovaným myším měl za následek odstranění viru, byl také spojen s fatálním onemocněním respiračního traktu charakterizovaným pulmonálními hemoragiemi a neutrofilním influxem což naznačuje, že cytotoxické lymfocyty mohly mít také určitou roli v patogenezi RSV onemocnění (Kimman a Westenbrink, 1990; McIntosh a Chanock, 1990).

Možná úloha buňkami zprostředkované imunity (CMI) v onemocnění byla naznačena také značně vysokou transformační lymfocytární reakcí u dětí se závažnou RSV infekcí a u dětí, které byly předtím vakcinovány inaktivovanou HRSV vakcínou (Scott aj., 1984). Někteří autoři zjistili významně vyšší HRSV-specifickou transformační lymfocytární reakci u hospitalizovaných dětí mladších než šest měsíců, než u starších dětí (Scott aj., 1978). Bylo zjištěno dočasné spojení zvýšené transformační lymfocytární reakce s věkovou skupinou, která typicky prodělává nejzávažnější RSV infekce. Odporující zjištění jiných autorů naznačovala, že mezi pacienty s infekcí RSV se lymfocytární reaktivita vyskytuje signifikantně méně často u dětí do věku šesti měsíců, než u pacientů starších než šest měsíců (Schau f aj., 1979). RSV-specifická lymfocytární reaktivita je obvykle maximální v prvním týdnu po infekci a může být závislá na věku, protože 65 % dětí ve věku šest až 24 měsíců a pouze 35 až 38 % dětí mladších než pět měsíců má buněčnou cytotoxicitu k RSV po infekci (Chiba aj., 1989). Protičůdné důkazy zanechaly nejasnou úlohu buňkami zprostředkované imunity v patogenezi RSV.

5. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Klinická diagnostika založená na symptomatologii je nemožná. Pouze laboratoř může pomoci praktickému lékaři, který se domnívá, že vzplanutí onemocnění na farmě je způsobeno BRSV. Laboratorní diagnostika bude založena na průkazu virového antigenu v suspektních orgánech nebo na prokázání sérokonverze u nemocných zvířat.

Pro laboratorní diagnostiku se odebírá sterilním tampónem nosní výtok v průběhu iniciální fáze onemocnění (serózní výtok, horečka, konjunktivitida). Tampóny

jsou poté uloženy do tuby s proteinově bohatým médiem (udržovací médium pro buněčné kultury) a velmi rychle přepraveny v chladicím boxu do laboratoře. Na rozdíl od jiných virů, například IBR, přítomnost viru v nosním slizu je krátkého trvání a je limitována na první fázi onemocnění, která často přechází bez povšimnutí.

Isolace viru v buněčných kulturách je obtížná, protože CPE se objevuje se zpožděním; doba inkubace může být extrémě dlouhá: 20 dní (Inaba aj., 1970a), 30 dní (Paccaud a Jaecquier, 1970), 45 dní (Wellmans aj., 1970) nebo až 50 dní (Smith aj., 1975). Nejvíce citlivé jsou sekundární telecí ledviny nebo buňky varlat. Růst viru závisí na stáří buněčné kultury a médium musí být často vyměňováno.

První pozorovatelné změny jsou malé plochy, kde čtyři nebo pět buněk se balónovitě nafouknou a mají smrštenou cytoplazmu. V následujících dnech se v této kultuře rozvíjejí syncytia. Při smršťování cytoplazmy se buňky stávají neprůhledné, v buněčném monolayeru se objevují díry. Vzhled se stává více a více granulovaný, připomínající podobou mykoplasmaty infikované buněčné kultury.

V preparátech fixovaných Bouinovým roztokem a barvených hematoxilin-eosinem jsou pozorována v cytoplazmě syncytiálních buněk homogenní eosinofilní inkluzní tělíska. Tyto inkluze jsou méně polymorfní než v buňkách infikovaných virem PI-3.

Infikované buňky narostlé na skleněné ploše Leightonových zkumavek mohou být fixovány acetonem (-20°C) a dále inkubovány s antisérem nebo hyperimunním sérem proti BRSV konjugovaným fluorescein isothiokyanátem. Plaky fluoreskujících buněk potvrzují přítomnost viru.

Isolace BRSV je obtížná a dlouhodobá; není doporučena jako rutinní procedura.

Virový antigen může být zjištěn v nosním výtoku a v plicní tkáni. I když nejcharakterističtější emfyzematické léze jsou situovány v mediastinálních lalocích plic, antigen má být hledán hlavně v apikálním a kardiálním laloku. Vzorky musí být doručeny do laboratoře rychle a podchlazené. Pro přímý IF-test je vyžadováno monospecifické hyperimunní sérum.

Typické malé kruhové buňky, u kterých je fluorescence omezena na cytoplazmu jsou zjišťovány v nasofaryngeálním vzorku (McNulty aj., 1983). Fluorescence není vidět v ciliárních sloupcovitých epitelálních buňkách, i když jsou často přítomné ve většině vzorcích (Thomas a Stott, 1981). Je možno setkat se s nespecifickou fluorescencí v metodě s nasofaryngeálním materiálem, ale ne při vyšetřování plicního materiálu (Thomas a Stott, 1981). Ke snížení nespecifické fluorescence může být použita Evansová modř (1 : 10 000).

Rezy plicních fragmentů, nejlépe z apikálních a kardiálních laloků, jsou nejvhodnějším materiálem pro diagnostiku BRSV. V tomto materiálu bývá prokázán fluoreskující antigen až do 48 hodin po poražení zvířete. Je pozoruhodné, že se virový antigen ztrácí po delší

době i když je zmražen při nižší teplotě (-100°C). U většiny plicních vzorků je antigen lokalizován v alveolech a někdy i v bronchiiolech.

Pro průkaz virových antigenů je stále více aplikován ELISA test. Hornslet aj. (1981) popsal její použití v diagnostice RSV a potvrdili její spolehlivost.

Zvýšení hladiny anti-BRSV protilátek může být prokázáno v párových sérech odebraných od stejných zvířat v akutní fázi a o 15 dnů až tři týdny později. Po přirozené infekci BRSV se objevují neutralizační protilátky. Virus neutralizační (VN) titry uzdravujících se zvířat zřídka překročí titry 4 až 16 (Bartha, 1976), zatímco Rosenquist (1974) a Inaba aj. (1970b) popsali titry 256. Navzdory zdokonalení mikrometod zůstal VN-test časově náročnou technikou s obtížným hodnocením výsledků a proto je používán spíše ve výzkumných pracích než v rutinní diagnostice.

Mnoho autorů používalo komplement fixační (CF) test (například Takahashi aj., 1975; Holzhauer, 1978). Stejně vhodný antigen pro tento test je získáván z neupravené tekutiny infikované buněčné kultury, nebo tato tekutina může být upravena fluorokarbonem, anebo může být tento materiál zpracován etérem. Humánní RSV antigen je komerčně dostupný. Nejlepší specifické reakce jsou dosaženy s 5% čerstvým normálním telecím sérem, přidaným do ředění komplementu (Wellmans aj., 1970; Takahashi aj., 1975). Neutralizační a komplement fixační protilátkové titry jsou úzce spjaté. CF-test je velmi spolehlivý pro diagnostiku BRSV infekce (Takahashi aj., 1975).

Sérokonverze může být prokázána agar-gelovou imunodifuzí. Po přirozené infekci mohou být u více než 50 % zvířat prokázány protilátky imunodifuzní technikou (Zygraich a Wellmans, 1981). Nicméně tento test se používá pouze zřídka, protože je obtížné získat precipitující antigen a dále je nevýhodou třídenní zpoždění, než mohou být vyhodnoceny výsledky.

Espinasse aj. (1978) přizpůsobil pasivní hemaglutinaci k detekci BRSV protilátek. Předběžné výsledky jsou povzbudivé a tento test se jeví být rovnocenným k VN titru.

Anti-BRSV protilátky mohou být prokázány v séru, nosním slizu a orgánových extraktech použitím rychlého a specifického IF-testu (Wellmans, 1977; Potgieter a Aldridge, 1977).

Po experimentální inokulaci se protilátky objevují většinou od sedmého dne a titry stoupají až k maximum na konci druhého týdne. V některých případech jsou však pozorovány velmi nízké ředící titry i když BRSV infekce byla prokázána při postmortálním vyšetření plic.

Sérologické vyšetření je výhodné, avšak z párových vzorků sér může být získána také nesprávná diagnóza v důsledku atypické sérokonverze. Velmi vysoké CF nebo nepřímé IF hladiny protilátek u jednotlivých vzorků jsou příznačné pro BRSV infekci u závažného respiračního postižení. Nápadná sérokonverze může být pozorována u zvířat vakcinovaných dva až tři měsíce předem, i když nebylo prokázáno žádné respirační postižení (Wellmans, 1982).

6. PROFYLAXE

Předpokládá se, že se virus udržuje v populaci prostřednictvím přirozeně infikovaných zvířat, podobně jako bylo prokázáno u jiných bovinních patogenů, například IBRV (Bitsch, 1973), koronaviru (van Opdenbosch aj., 1979) a BVDV (Coria a McCurkin, 1978). Fakt, že se onemocnění stává enzootické po zavlečení do oblasti prosté BRSV tuto hypotézu podporuje. Z tohoto důvodu se doporučuje zabránit zavlečení nemocných zvířat do chovu a regionu prostého BRSV. Měla by být věnována pozornost zlepšení úrovně chovu (vnější prostředí, výživa), i když zkušenosti ukazují, že tento faktor v mnoha případech neplatí.

Vakcinace malých dětí inaktivovanou vakcínou zapříčinila vážné hypersenzitivní reakce (Kim aj., 1969). U telat Mohanty aj. (1981) používali formalinem inaktivovanou vakcínu s Freudovým adjuvans a neprokázali, že vakcinační sérové protilátky zapříčinily exacerbaci onemocnění u mladých telat. Vakcína nevyvolala nosní protilátkovou odpověď. Celkem však pouze jedno z pěti vakcinovaných telat bylo chráněné proti onemocnění po zátěži. Stott aj. (1984) používali vakcínu obsahující perzistentně infikované buňky BRSV, které fixovali glutaraldehydem, aby udrželi virové antigeny na buněčném povrchu. Glutaraldehydem fixované buňky byly kombinovány s inkompletním Freudovým adjuvans nebo saponinem Quil-A. Po čtení byl virus znovu získán ze všech kontrolních nevakcinovaných zvířat, avšak pouze od jednoho z dvanácti vakcinovaných telat.

BRSV kmen (Poum 2) z 94. pasáže na BFK buněčné kultuře je nyní používán v Belgii (Wellmans, 1982) a Holandsku (Holzhauer, 1982) pro imunizaci mladých telat. Zvířata (přinejmenším ve věku tří měsíců) jsou vakcinována intramuskulárně v období srpen až září a revakcinováni o tři týdny později. Byly však popsány některé vakcinační problémy, které nejsou přisuzovány účinku vakcinačního virového kmene. Tento kmen byl prokázán jako bezpečný u více než miliónu vakcinovaných zvířat a výsledky protekce byly uspokojivé (Wellmans, 1982; Holzhauer, 1982).

7. SOUHRN A ZÁVĚR

Bovinní respirační syncytiální virus (BRSV) je významným patogenem skotu. BRSV se celosvětově podílí významnou měrou na výskytu onemocnění respiračního traktu telat.

Genom RSV kóduje 10 proteinů. Jedná se o G, F, 1A a 22K proteiny, které jsou součástí virového obalu. Nukleokapsida obsahuje N, P a L proteiny. M protein tvoří vrstvu mezi obalem a nukleokapsidou. IB a IC proteiny jsou nestrukturální. U rekonvalescentních telat se tvoří protilátky proti všem strukturním proteinům, avšak imunitní odpověď se rozvíjí zejména jako výsledek antigenní stimulace G a F glykoproteinů.

Na základě antigenní rozdílnosti G glykoproteinů byly ustanoveny tři podskupiny RSV: humánní A, humánní B a bovinní. Nepřímé důkazy naznačují přítomnost i druhé podskupiny bovinního RSV. Dále některé údaje naznačují, že kozí (CRSV) je úzce příbuzný s BRSV, zatímco ovčí RSV (ORSV) se liší od izolátů jiných přežvýkavců. Z těchto důvodů je možné, že později budou stanoveny ještě jiné podskupiny RSV.

Onemocnění vyvolané BRSV je charakterizováno vysokou morbiditou a kolísavou mortalitou. Klinické příznaky jsou doprovázeny horečkou, nechutenstvím, zrychleným a ztíženým dýcháním. Toto postižení je důsledkem těžké difúzní interstiální pneumonie se subpleurální a interstiální emfyzémem a plicním edémem. Na základě těchto změn byly do patogenese infekce RSV zahrnuty hypotézy o možné úloze imunopatologického mechanismu.

Postižení skotu BRSV je možné diagnostikovat pouze na základě laboratorního vyšetření, které je zaměřeno na přímý průkaz viru a průkaz protilátek. Přesto existuje málo laboratorí schopných tento virus prokázat. Z důvodu velmi nesnadné izolace viru není diagnostika BRSV doporučována jako rutinní procedura.

I když byl udělán značný pokrok v objasnění mechanismu této infekce, zbývá vykonat ještě mnoho práce v zajištění optimální ochrany skotu proti BRSV. Především je nutno prokázat, zda existují i další podskupiny RSV. Získané údaje totiž naznačují, že ochrana imunizovaných zvířat je vyšší proti homologní podskupině RSV než proti podskupině heterologní. Tyto informace mohou prokázat, zda jsou nebo nejsou nutné multivalentní vakcíny pro vyšší ochranu proti tomuto agens. Dále je nutno potvrdit skutečný princip imunopatologického mechanismu, poněvadž vakcíny obsahující imunogenní komponenty viru (zejména G a F proteiny) se mohou jevit účinnějšími než konvekční vakcíny.

Poděkování

Děkuji svému školiteli MVDr. Václavu Rozkošnému, CSc., za připomínky při zpracování této publikace.

8. LITERATURA

- AL-DARRAJI, A. M. – CUTLIP, R. C. – LEHMKUHL, H. D. – GRAHAM, D. L. – KLUGE, J. P. – FRANK, G. H. (1982a): Experimental infection of lambs with bovine respiratory syncytial virus and *Pasteurella haemolytica*: clinical and microbiologic studies. *Am. J. Vet. Res.*, 42, 236–240.
- AL-DARRAJI, A. M. – CUTLIP, R. C. – LEHMKUHL, H. D. (1982b): Experimental infection of lambs with bovine respiratory syncytial virus and *Pasteurella haemolytica*: immunofluorescent and electron microscopic studies. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 230–235.

- BAKER, J. C. – FREY, M. L. (1985): Bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.*, **1**, 259–275.
- BANGHAM, C. R. M. – CANNON, M. J. – KARZON, D. T. – ASKONAS, B. A. (1985): Cytotoxic T-cell response to respiratory syncytial virus in mice. *J. Virol.*, **56**, 55–59.
- BANGHAM, C. R. M. (1986): Passively acquired antibodies to respiratory syncytial virus impair the secondary cytotoxic T-cell response in the neonatal mouse. *Immunology*, **59**, 37–41.
- BARTHA, A. (1976): Isolation of respiratory syncytial virus from cattle with respiratory disease. *Magy. Allatv. Lap.*, **31**, 99–102.
- BEELER, J. A. – VAN WYKE COELING, K. (1989): Neutralization epitopes of the F glycoprotein of respiratory syncytial virus: effect of mutation upon fusion function. *J. Virol.*, **63**, 2941–2950.
- BELKNAP, E. B. – BAKER, J. C. – PATTERSON, J. S. – WALKER, R. D. – HAINES, D. M. – CLARK, E. G. (1991): The role of passive immunity in bovine respiratory syncytial virus-infected calves. *J. Infect. Dis.*, **163**, 470–476.
- BITSCH, V. (1973): Infectious bovine rhinotracheitis virus in bulls, with special reference to preputial infection. *Appl. Microbiol.*, **26**, 337–343.
- BOHLENDER, R. E. – MCCUNE, M. W. – FREY, M. L. (1982): Bovine respiratory syncytial virus infection. *Modern Vet. Pract.*, **63**, 613–618.
- BRUHN, F. W. – YAGER, A. S. (1977): Respiratory syncytial virus in early infancy. Circulating antibody and the severity of infection. *Am. J. Dis. Child.*, **131b**, 145–148.
- BRYSON, D. G. – MCFERRAN, J. B. – BALL, H. J. – NEILL, S. D. (1978): Observations on outbreaks of respiratory disease in housed calves. II. Pathological and microbiological findings. *Vet. Rec.*, **103**, 503–509.
- BRYSON, D. G. – MCFERRAN, J. B. – BALL, H. J. – NEILL, S. D. (1979): Observations on outbreaks of respiratory disease in calves association with parainfluenza type 3 virus and respiratory syncytial virus infection. *Vet. Rec.*, **104**, 45–49.
- BRYSON, D. G. – MCNULTY, M. S. – LOGAN, E. F. – CUSH, P. F. (1983): Respiratory syncytial virus pneumonia in young calves: clinical and pathologic findings. *Am. J. Vet. Res.*, **44**, 1648–1655.
- BUI, R. H. D. – MOLINARO, G. A. – KETTERING, J. D. – HEINER, D. C. – IMAGAWA, D. T. – GEME, J. W. S. (1987): Virus-specific IgE and IgG antibodies in serum of children infected with respiratory syncytial virus. *J. Pediatr.*, **110**, 87–90.
- CASTLEMAN, W. L. – LAY, J. C. – DUBOVI, E. J. – SLAUSON, D. O. (1985a): Experimental bovine respiratory syncytial virus infection in conventional calves: light microscopic lesions, microbiology, and studies on lavaged lung cells. *Am. J. Vet. Res.*, **46**, 547–553.
- CASTLEMAN, W. L. – TORRES-MEDINA, A. – HAWKINS, K. L. – DUBOVI, E. J. – ATZ, J. M. (1985b): Severe respiratory disease in dairy cattle in New York State associated with bovine respiratory syncytial virus infection. *Corn. Vet.*, **75**, 473–483.
- CHANOCK, R. M. – KAPIKIAN, A. Z. – MILLS, J. – KIM, H. W. – PARROTT, R. H. (1970): Influence of immunological factors in respiratory syncytial virus disease. *Arch. Environ. Health*, **21**, 347–356.
- CHIBA, Y. – HIGASHIDATE, Y. – SUGA, K. – HONJO, K. – TSUTSUMI, H. – OGRA, P. L. (1989): Development of cell-mediated cytotoxic immunity to respiratory syncytial virus in human infants following naturally acquired infection. *J. Med. Virol.*, **28**, 133–139.
- CONNORS, M. – KULKARNI, A. B. – COLLINS, P. L. – FIRESTONE, C. Y. – HOLMES, K. L. – MORSE, H. C. (1992): Resistance to respiratory syncytial virus (RSV) challenge induced by infection with a vaccinia virus recombinant expressing the RSV M2 protein (Vac-M2) is mediated by CD8+ T cells, while that induced by Vac-F or Vac-G recombinants is mediated by antibodies. *J. Virol.*, **66**, 1277–1281.
- CORIA, M. F. – MCCLURKIN, A. W. (1978): Specific immune tolerance in an apparently healthy bull persistently infected with bovine viral diarrhea virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **172**, 449–451.
- CRANAGE, M. P. – GARDNER, P. S. (1980): Systemic cell-mediated and antibody responses in infants with respiratory syncytial virus infections. *J. Med. Virol.*, **5**, 161–170.
- CUTLIP, R. C. – LEHMKUHL, H. D. (1979): Lesions in lambs experimentally infected with bovine respiratory syncytial virus. *Am. J. Virol. Res.*, **40**, 1479–1482.
- DOMURAT, F. – ROBERTS, N. J., Jr. – WALSH, E. E. – DAGAN, R. (1985): Respiratory syncytial virus infection of human mononuclear leucocytes *in vitro* and *in vivo*. *J. Infect. Dis.*, **152**, 895–902.
- EDWARDS, K. M. – SNYDER, P. N. – WRIGHT, P. F. (1986): Complement activation by respiratory syncytial virus-infected cells. *Arch. Virol.*, **88**, 49–56.
- ELAZHARY, M. A. S. Y. – GALINA, M. – ROY, R. S. – FONTAINE, M. – LAMOTHE, P. (1980): Experimental infection of calves with bovine respiratory syncytial virus (Quebec strain). *Can. J. Comparat. Med.*, **44**, 390–395.
- ELAZHARY, M. A. S. Y. – SILIM, A. – MORIN, M. A. (1982): A natural outbreak of bovine respiratory disease caused by the bovine respiratory syncytial virus. *Cornell Vet.*, **72**, 325–333.
- ESPINASSE, J. – LE LAYEC, C. – FAYE, P. (1978): Hemagglutination passive: application de la méthode au diagnostic sérologique des affections respiratoires virales des jeunes bovins. *Rec. Méd. Vét.*, **154**, 227–232.
- EVERMANN, J. F. – LIGGIT, H. D. – PARISH, S. M. – WARD, A. C. S. – LEA MASTER, B. R. (1985): Properties of a respiratory syncytial virus isolated from a sheep with rhinitis. *Am. J. Vet. Res.*, **46**, 947–951.
- FREY, M. L. (1982): The clinical significance of bovine respiratory syncytial virus. In: *Proc. Fall Conference for Veterinarians*. University of Minnesota, pp. 31–41.
- GARDNER, P. S. – McQUILLIN, J. – COURT, S. D. M. (1970): Speculation on pathogenesis in death from respiratory syncytial virus infection. *Brit. Med. J.*, **1**, 327–330.
- GIMENEZ, H. B. – KEIR, H. M. – CASH, P. (1989): *In vitro* enhancement of respiratory syncytial virus infection of U 937 cells by human sera. *J. Gen. Virol.*, **70**, 89–96.

- GLEZEN, W. P. – PAREDES, A. – ALLISON, J. E. – TABER, L. H. – FRANK, A. L. (1981): Risk of respiratory syncytial virus infection for infants from low income families in relationship to age, sex, ethnic group, and maternal antibody level. *J. Pediatr.*, **98**, 708–715.
- HALL, C. B. – KOPELMAN, A. E. – DOUGLAS, R. G. – GEIMAN, J. M. – MEAGHER, M. P. (1979): Neonatal respiratory syncytial virus infection. *N. Engl. J. Med.*, **300**, 393–396.
- HALL, C. B. – WALSH, E. E. – LONG, C. E. – SCHNABEL, K. C. (1991): Immunity to and frequency of reinfection with respiratory syncytial virus. *J. Infect. Dis.*, **163**, 693–698.
- HEMMING, V. G. – PRINCE, G. A. – HORSWOOD, R. L. – LONDON, W. T. – MURPHY, B. R. – WALSH, E. E. G. W. – FISCHER, L. E. – WEISMAN, P. A. – BARON-CHANOCK, R. M. (1985): Studies of passive immunotherapy for infections of respiratory syncytial virus in the respiratory tract of a primate model. *J. Infect. Dis.*, **152**, 1083–1087.
- HOLZHAUER, C. – VAN NIEUWSTADT, A. P. K. M. I. (1976): De etiologische rol van het bovine respiratory syncytial virus bij pinkengriep. [Aetiological role of bovine respiratory syncytial virus in bronchopneumonia of yearlings.] *Tijdschr. Diergeneesk.*, **101**, 1023–1031.
- HOLZHAUER, C. (1978): Bovine respiratory syncytial virus infection and symptoms of atypical interstitial pneumonia. In: MARTIN, W. B. (ed.): *Respiratory Diseases in Cattle*. Martinus Nijhoff Publishers. Hague, Netherlands, pp. 216–224.
- HOLZHAUER, C. (1982): Prevention of pinkengriep by vaccination, a field trial. In: *Proc. XII Congr. Diseases of Cattle*. September 1982, Amsterdam, pp. 166–170.
- HORNSLETH, A. – BRENOE, E. – FRIIS, B. – KNUDSEN, F. U. – ULDALL, P. (1981): Detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal secretions by inhibition of enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, **14**, 510–515.
- HORNSLETH, A. – BECH-THOMSEN, N. – FRIIS, B. (1985): Detection of RS-virus IgG-subclass-specific antibodies: variation according to age in infants and small children and diagnostic value in RS-virus-infected small infants. *J. Med. Virol.*, **16**, 329–335.
- INABA, Y. – TANAKA, Y. – OMORI, T. – MATUMOTO, M. (1970a): Isolation of bovine respiratory syncytial virus. *Jap. J. Exp. Med.*, **40**, 473–474.
- INABA, Y. – TANAKA, Y. – SATO, K. – ITO, H. – OMORI, T. – MATUMOTO, M. (1970b): Nomi virus, a virus isolated from an apparently new epizootic respiratory disease of cattle. *Jap. J. Microbiol.*, **14**, 246–248.
- INABA, Y. – TANAKA, Y. – SATO, K. – OMORI, T. – MATUMOTO, M. (1972): Bovine respiratory syncytial virus. Studies on an outbreak in Japan, 1968–1969. *Jap. J. Microbiol.*, **16**, 373–383.
- JACOBS, J. W. – EDINGTON, N. (1971): Isolation of respiratory syncytial virus from cattle in Britain. *Vet. Rec.*, **88**, 694.
- JACOBS, J. W. – EDINGTON, N. (1975): Experimental infection of calves with respiratory syncytial virus. *Res. Vet. Sci.*, **18**, 299–306.
- KANESAKE, T. – MURPHY, B. R. – COLLINS, P. L. – OGRA, P. L. (1991): Effectiveness of enteric immunization in the development of secretory immunoglobulin A response and the outcome of infection with respiratory syncytial virus. *J. Virol.*, **65**, 657–663.
- KIESTER, D. M. (1981): Outbreak of respiratory disease in feedlot in eastern Kansas. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, **76**, 1039–1042.
- KIM, H. W. – CANCHOLA, J. G. – BRANDT, C. D. – PYLES, G. – CHANOCK, R. M. – JENSEN, K. – PARROT, R. H. (1969): Respiratory syncytial virus disease in infants despite prior administration of antigenic inactivated vaccine. *Am. J. Epidemiol.*, **89**, 422–434.
- KIMMAN, T. G. – WESTENBRINK, F. – SCHREUDER, B. E. C. – STRAVER, P. J. (1987a): Local and systemic antibody response to bovine respiratory syncytial virus infection and reinfection in calves with and without maternal antibodies. *J. Clin. Microbiol.*, **25**, 1097–1106.
- KIMMAN, T. G. – WESTENBRINK, F. – STRAVER, P. J. – ZANNE, D. VAN – SCHREUDER, B. E. C. (1987b): Isotype-specific ELISAs for detection of antibodies to bovine respiratory syncytial virus. *Res. Vet. Sci.*, **43**, 180–187.
- KIMMAN, T. G. – ZIMMER, G. M. – WESTENBRINK, F. – MARS, J. – LEEUWEN, E. VAN (1988): Epidemiological study of bovine respiratory syncytial virus infections in calves: influence of maternal antibodies on the outcome of disease. *Vet. Rec.*, **123**, 104–109.
- KIMMAN, T. G. – DAHA, M. R. – BRINKHOF, J. M. A. – WESTENBRINK, F. (1989a): Activation of complement by bovine respiratory syncytial virus-infected cells. *Vet. Immunol. Immunopath.*, **21**, 311–325.
- KIMMAN, T. G. – TERPSTRA, G. K. – DAHA, M. R. – WESTENBRINK, F. (1989b): Pathogenesis of naturally acquired bovine respiratory syncytial virus infection in calves: evidence for the involvement of complement and mast cell mediators. *Am. J. Vet. Res.*, **50**, 694–700.
- KIMMAN, T. G. – WESTENBRINK, F. – STRAVER, P. J. (1989c): Priming for local and systemic antibody memory responses to bovine respiratory syncytial virus: effect of amount of virus, virus replication, route of administration and maternal antibodies. *Vet. Immunol. Immunopath.*, **22**, 145–160.
- KIMMAN, T. G. – WESTENBRINK, F. (1990): Immunity to human and bovine respiratory syncytial virus. *Arch. Virol.*, **112**, 1–25.
- KÖVES, B. – BARTHA, A. (1975): Isolation of respiratory syncytial (RS) virus from cattle diseased with respiratory symptoms. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, **25**, 357–362.
- KRILOV, L. R. – ANDERSON, L. J. – MARCOUX, L. – BONAGURA, V. R. – WEDGWOOD, J. F. (1989): Antibody-mediated enhancement of respiratory syncytial virus infection in two monocyte/macrophage cell lines. *J. Infect. Dis.*, **160**, 777–782.
- LAMPRECHT, C. L. – KRAUSE, H. E. – MUFSON, M. A. (1976): Role of maternal antibody in pneumonia and bronchiolitis due to respiratory syncytial virus infections. *J. Infect. Dis.*, **134**, 211–217.
- LEHMKUHL, H. D. – CUTLIP, R. C. (1979): Experimentally induced respiratory syncytial viral infection in lambs. *Am. J. Vet. Res.*, **40**, 512–514.
- LEHMKUHL, H. D. – SMITH, M. H. (1980): Isolation, characterization, and identification of a respiratory syncytial vi-

- rus from goats. In: Proc. 2nd Int. Symp. Veterinary Laboratory Diagnosticians, June 24–26, 1980, Lucerne, Switzerland, pp. 264–267.
- LEVINE, S. – DAJANI, A. – KLAIBER-FRANCO, R. (1988): The response of infants with bronchiolitis to the proteins of respiratory syncytial virus. *J. Gen. Virol.*, **69**, 1229–1239.
- MCINTOSH, K. – MASTERS, H. B. – ORR, I. – CHAO, R. K. – BARKIN, R. M. (1978): The immunological response to infection with respiratory syncytial virus in infants. *J. Infect. Dis.*, **138**, 24–32.
- McINTOSH, K. – McQUILLIN, J. – GARDNER, P. S. (1979): Cell-free and cell-bound antibody in nasal secretions from infants due to respiratory syncytial virus infection. *Infect. Immun.*, **23**, 276–281.
- McINTOSH, K. – CHANOCK, R. M. (1990): Respiratory syncytial virus. In: KNIPE, D. M. (ed.): *Virology*. New York, Raven Press Ltd, pp. 1045–1072.
- McNULTY, M. S. – BRYSON, D. G. – ALLAN, G. M. (1983): Experimental respiratory syncytial virus pneumonia in young calves: microbiologic and immunofluorescent findings. *Am. J. Vet. Res.*, **44**, 1656–1659.
- MIDULLA, F. – HUANG, Y. T. – GILBERT, I. A. – CIRINO, N. M. – MCFADDEN, E. R. – PANUSKA, J. R. (1989): Respiratory syncytial virus infection of human cord and adult blood monocytes and alveolar macrophages. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **140**, 771–777.
- MILLS, J. – VAN KIRK, J. E. – WRIGHT, P. F. – CHANOCK, R. M. (1971): Experimental respiratory syncytial virus infection of adults. Possible mechanisms of resistance to infection and illness. *J. Immunol.*, **107**, 123–130.
- MOHANTY, S. B. – INGLING, A. L. – LILLIE, M. G. (1975): Experimentally induced respiratory syncytial viral infection in calves. *Am. J. Vet. Res.*, **36**, 417–419.
- MOHANTY, S. B. – LILLIE, M. G. – INGLING, A. L. (1976): Effect of serum and nasal neutralizing antibodies on bovine respiratory syncytial virus infection in calves. *J. Infect. Dis.*, **134**, 409–413.
- MOHANTY, S. B. (1978): Bovine respiratory viruses. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, **22**, 83–109.
- MOHANTY, S. B. – ROCKEMANN, D. D. – DAVIDSON, J. P. – SHARABRIN, O. I. – FORST, S. M. (1981): Effect of vaccinal serum antibodies on bovine respiratory syncytial viral infection in calves. *Am. J. Vet. Res.*, **42**, 881–883.
- MURPHY, B. R. – ALLING, D. W. – SNYDER, M. H. – WALSH, E. E. – PRINCE, G. A. – CHANOCK, R. M. – HEMMING, V. G. – RODRIGUEZ, V. G. – KIM, H. W. – GRAHAM, B. S. – WRIGHT, P. F. (1986a): Effect of age and preexisting antibody on serum antibody response of infants and children to the F and G glycoproteins during respiratory syncytial virus infection. *J. Clin. Microbiol.*, **24**, 894–898.
- MURPHY, B. R. – GRAHAM, B. S. – PRINCE, G. A. – WALSH, E. E. – CHANOCK, R. M. – KARZON, D. T. – WRIGHT, P. F. (1986b): Serum and nasal-wash immunoglobulin G and A antibody response of infants and children to respiratory syncytial virus F and G glycoproteins following primary infection. *J. Clin. Microbiol.*, **23**, 1009–1014.
- MURPHY, B. R. – PRINCE, G. A. – WALSH, E. E. – KIM, H. W. – PARROTT, R. H. – HEMMING, V. G. – RODRIGUEZ, W. J. – CHANOCK, R. M. (1986c): Dissociation between serum neutralizing and glycoprotein antibody responses of infants and children who received inactivated respiratory syncytial virus vaccine. *J. Clin. Microbiol.*, **24**, 197–202.
- MURPHY, B. R. – OLMSTED, R. A. – COLLINS, P. L. – CHANOCK, R. M. – PRINCE, G. A. (1988): Passive transfer of respiratory syncytial (RSV) antiserum suppresses the immune response to RSV fusion (F) and large (G) glycoproteins expressed by recombinant vaccinia viruses. *J. Virol.*, **62**, 3907–3910.
- MURPHY, B. R. – SOTNIKOV, A. – PARADISO, P. R. – HILDRETH, S. W. – JENSON, A. B. – BAGGS, R. B. – LAWRENCE, L. – ZUBAK, J. J. – CHANOCK, R. M. – BEELER, J. A. – PRINCE, G. A. (1989): Immunization of cotton rats with the fusion (F) and large (G) glycoproteins of respiratory syncytial virus (RSV) protects against RSV challenge without potentiating RSV disease. *Vaccine*, **7**, 533–540.
- MURPHY, B. R. – WALSH, E. E. (1988): Formalin-inactivated respiratory syncytial virus vaccine induces antibodies to the fusion glycoprotein that are deficient in fusion-inhibiting activity. *J. Clin. Microbiol.*, **26**, 1595–1597.
- ODEGAARD, O. A. – KROGSRUD, J. (1977): A field outbreak caused by bovine respiratory syncytial virus. [Norway] *Acta Vet. Scand.*, **18**, 429–431.
- OGILVIE, M. M. – VATHENEN, A. S. – RADFORD, M. – CODD, J. – KEY, S. (1981): Maternal antibody and respiratory syncytial virus infection in infancy. *J. Med. Virol.*, **7**, 263–271.
- OLMSTED, R. A. – ELANGO, N. – PRICE, G. A. – MURPHY, B. R. – JOHNSON, P. R. – MOSS, B. – CHANOCK, R. M. – COLLINS, P. L. (1986): Expression of the F glycoprotein of respiratory syncytial virus by a recombinant vaccinia virus: comparison of the individual contributions of the F and G glycoproteins to host immunity. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **83**, 7462–7466.
- OPENSHAW, P. J. M. – ANDERSON, K. – WERTZ, G. W. – ASKONAS, B. A. (1990): The 22 000-kilodalton protein of respiratory syncytial virus is a major target for Kd-restricted cytotoxic T lymphocytes from mice primed by infection. *J. Virol.*, **64**, 1683–1689.
- PACCAUD, M. F. – JACQUIER, C. (1970): A respiratory syncytial virus of bovine origin. *Arch. Ges. Virus Forsch.*, **30**, 327–342.
- PANUSKA, J. R. – CIRINO, N. M. – MIDULLA, F. – DESPOT, J. E. – MCFADDEN, E. R., Jr. – HUANG, Z. T. (1990): Productive infection of isolated human alveolar macrophages by respiratory syncytial virus. *J. Clin. Invest.*, **86**, 113–119.
- PARROTT, R. H. – KIM, H. W. – ARROBIO, J. O. – HODES, D. S. – MURPHY, B. R. – BRANDT, C. D. – CAMARGO, E. – CHANOCK, R. M. (1973): Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. II. Infection and disease with respect to age, immunologic status, race and sex. *Am. J. Epidemiol.*, **98**, 289–300.
- PIRIE, H. M. – PETRIE, L. – PRINGLE, C. R. – ALLAN, E. M. – KENNEDY, G. J. (1981): Acute fatal pneumonia in calves due to respiratory syncytial virus. *Vet. Rec.*, **108**, 411–416.

- POTGIETER, L. N. D. – ALDRIDGE, R. L. (1977): Use of indirect fluorescent antibody test in the detection of bovine respiratory syncytial virus antibodies in bovine serum. *Am. J. Vet. Res.*, **38**, 1341–1343.
- PRINCE, G. A. – HORSWOOD, R. L. – CAMARGO, E. – SUFFIN, S. C. – CHANOCK, R. M. (1982): Parenteral immunization with live respiratory syncytial virus is blocked in sero-positive cotton rats. *Infect. Immun.*, **37**, 1074–1078.
- PRINCE, G. A. – HORSWOOD, R. L. – CAMARGO, E. (1983): Mechanisms of immunity to respiratory syncytial virus cotton rats. *Infect. Immun.*, **42**, 81–87.
- PRINCE, G. A. – JENSON, A. B. – HEMMING, V. G. – MURPHY, B. R. – WALSH, B. R. – HORSWOOD, R. L. – CHANOCK, R. M. (1986): Enhancement of respiratory syncytial virus pulmonary pathology in cotton rats by prior intramuscular inoculation of formalin-inactivated virus. *J. Virol.*, **57**, 721–728.
- ROSENQUIST, B. D. (1974): Isolation of respiratory syncytial virus from calves with acute respiratory disease. *J. Infect. Dis.*, **130**, 177–182.
- ROSSI, C. R. – KIESEL, G. K. (1977): Susceptibility of bovine macrophage and tracheal-ring cultures to bovine viruses. *Am. J. Vet. Res.*, **38**, 1705–1708.
- ROUTLEDGE, E. G. – WILLCOCKS, M. M. – SAMSON, A. C. R. – MORGAN, L. – SCOTT, R. – ANDERSON, J. J. – TOMS, G. L. (1988): The purification of four respiratory syncytial virus proteins and their evaluation as protective agents against experimental infection in BABL/c mice. *J. Gen. Virol.*, **69**, 293–303.
- SCOTT, R. – KAUL, A. – SCOTT, M. – CHIBA, Y. – OGRA, P. L. (1978): Development of *in vitro* correlates of cell-mediated immunity to respiratory syncytial virus infection in humans. *J. Infect. Dis.*, **137**, 810–817.
- SCOTT, R. – PULLAN, C. R. – SCOTT, M. – McQUILLIN, J. (1984): Cell-mediated immunity in respiratory syncytial virus disease. *J. Med. Virol.*, **13**, 105–114.
- SCHAUF, V. – PURCELL, C. – MIZEN, M. – MIZEN, S. (1979): Lymphocyte transformation in response to antigens of respiratory syncytial virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **161**, 564–569.
- SHARMA, R. – WOLDEHIWET, Z. (1990): Pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus in experimentally infected lambs. *Veter. Microbiol.*, **23**, 267–272.
- SMITH, M. H. – FREY, M. L. – DIERKS, R. E. (1975): Isolation, characterization and pathogenicity studies of a bovine respiratory syncytial virus. *Arch. Virol.*, **47**, 237–247.
- SMITH, T. F. – MCINTOSH, K. – FISHAUT, M. – HENSON, P. M. (1981): Activation of complement by cells infected with respiratory syncytial virus. *Infect. Immun.*, **33**, 43–48.
- STEWART, R. S. – GERSHWIN, L. J. (1989a): Detection of IgE antibodies to bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Immun. Immunopath.*, **20**, 313–323.
- STEWART, R. S. – GERSHWIN, L. J. (1989b): Role of IgE in the pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus in sequential infection in vaccinated and nonvaccinated calves. *Am. J. Vet. Res.*, **50**, 349–355.
- STOTT, E. J. – THOMAS, L. H. – TAYLOR, G. – COLLINS, A. P. – JEBBETT, J. – CROUCH, S. (1984): A comparison of three vaccines against respiratory syncytial virus in calves. *J. Hyg.*, **93**, 251–261.
- STOTT, E. J. – TAYLOR, G. (1985): Respiratory syncytial virus: brief review. *Arch. Virol.*, **84**, 1–52.
- SULLENDER, W. M. – MUFSON, M. A. – ANDERSON, L. J. – WERTZ, G. W. (1991): Genetic diversity of the attachment protein of subgroup B respiratory syncytial viruses. *J. Virol.*, **65**, 5425–5434.
- TAKAHASHI, E. – INABA, Y. – KUROI, H. – SATO, K. – GOTO, Y. – OMORI, T. (1975): Diagnosis of bovine respiratory syncytial virus infection by complement fixation test. *Nat. Inst. Anim. Hlth Quart.*, **15**, 179–185.
- TAYLOR, G. – STOTT, E. J. – BEW, M. – FERNIE, B. F. – COTE, P. J. – COLLINS, A. P. – HUGHES, M. – JEBBETT, J. (1984b): Monoclonal antibodies protect against respiratory syncytial virus infection in mice. *Immunology*, **52**, 137–142.
- TAYLOR, G. – STOTT, E. J. – THOMAS, L. H. (1987): Lymphocyte transformation response of calves to respiratory syncytial virus. *J. Med. Virol.*, **22**, 333–344.
- THOMAS, L. H. – STOTT, E. J. – JEBBETT, J. – HAMILTON, S. (1976): The growth of respiratory syncytial virus in organ cultures of bovine foetal trachea. *Arch. Virol.*, **52**, 251–258.
- THOMAS, L. H. – STOTT, E. J. (1981): Diagnosis of respiratory syncytial virus infection in the bovine respiratory tract by immunofluorescence. *Vet. Rec.*, **108**, 432–435.
- THOMAS, L. H. – STOTT, E. J. – COLLINS, A. P. – JEBBETT, J. (1984a): Experimental pneumonia in gnotobiotic calves produced by respiratory syncytial virus. *Brit. J. Exp. Path.*, **65**, 19–28.
- THOMAS, L. H. – STOTT, E. J. – COLLINS, A. P. – CROUCH, S. – JEBBETT, J. (1984b): Infection of gnotobiotic calves with a bovine and human isolate of respiratory syncytial virus. Modification of the response by dexamethasone. *Arch. Virol.*, **79**, 67–77.
- TRIGO, F. J. – BREEZE, R. G. – EVERMANN, J. F. – GALLINA, A. M. (1984): Pathogenesis of experimental bovine respiratory syncytial virus infection in sheep. *Am. J. Vet. Res.*, **45**, 1663–1670.
- TRIGO, F. J. – LIGGITT, H. D. – EVERMANN, J. F. – BREEZE, R. G. – HUSTON, L. Y. – SILFLOW, R. (1985): Effect of *in vitro* inoculation of bovine respiratory syncytial virus on bovine pulmonary alveolar macrophage function. *Am. J. Vet. Res.*, **46**, 1098–1103.
- VAN BEKKUM, J. C. – HOLZHAUER, C. – STRAVER, P. J. – VAN NIEUWSTADT, A. (1977): Viral infections of the respiratory tract in cattle in the Netherlands. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, **88**, 69–79.
- VAN DEN INGH, T. S. G. A. M. – VERHOEFF, J. – VAN NIEUWSTADT, A. P. K. M. I. (1982): Clinical and pathological observations on spontaneous bovine respiratory syncytial virus infections in calves. *Res. Vet. Sci.*, **33**, 152–158.
- VAN OPDENBOSCH, E. – WELLEMAN, G. – DEKEGEL, D. – STROBBE, R. (1979): Neonatal calf diarrhoea: complex viral etiology. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.*, **48**, 512–526.
- VERHOEFF, J. – VAN NIEUWSTADT, A. (1984): BRS-virus, PI3 virus and BHV 1 infection of young stock on self-

- contained dairy farms: epidemiological and clinical findings. *Vet. Rec.*, **114**, 288–293.
- WALSH, E. E. – HRUSKA, J. (1983): Monoclonal antibodies to respiratory syncytial virus proteins: identification of the fusion protein. *J. Virol.*, **47**, 171–177.
- WARD, K. A. – LAMBDEN, P. R. – OGILVIE, M. M. – WATT, P. J. (1983): Antibodies to respiratory syncytial virus polypeptides and their significance in human infection. *J. Gen. Virol.*, **64**, 1867–1876.
- WATHEN, M. W. – BRIDEAU, R. J. – THOMSEN, D. R. (1989): Immunization of cotton rats with the human respiratory syncytial virus F glycoprotein produced using a baculovirus vector. *J. Infect. Dis.*, **159**, 255–264.
- WATHEN, M. W. – KAKUK, T. J. – BRIDEAU, R. J. – HAUSKNECHT, E. C. – COLE, S. L. – ZAYA, R. M. (1991): Vaccination of cotton rats with chimeric FG glycoprotein of human respiratory syncytial virus induces minimal pulmonary pathology on challenge. *J. Infect. Dis.*, **163**, 477–482.
- WELLEMANS, G. – LEUNEN, J. – LUCHSINGER, E. (1970): Isolement d'un virus (220/69) sérologiquement semblable au virus respiratoire syncytial (RS) humain. [Isolation of a virus (220/69) serologically resembling human respiratory syncytial virus.] *Ann. Méd. Vét.*, **114**, 89–93.
- WELLEMANS, G. – LEUNEN, J. (1975): Le virus respiratoire syncytial et les troubles respiratoires des bovins. [Respiratory syncytial virus and respiratory disorders in cattle.] *Ann. Méd. Vét.*, **119**, 359–369.
- WELLEMANS, G. (1977): Laboratory diagnosis methods for bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Sci. Commun.*, **1**, 179–189.
- WELLEMANS, G. – STROBBE, R. – VAN OPDEN-BOSCH, E. (1978): The respiratory troubles of cattle in Belgium. In: MARTINI, W. B. (ed.): *Respiratory Diseases in Cattle*. Martinus Nijhoff Publishers, Netherlands, Hague, pp. 248–256.
- WELLEMANS, G. (1982): Evaluation du programme de vaccination anti-virus respiratoire syncytial bovin en Belgique. In: *Proc. XII World Congr. Diseases of Cattle*, September 1982, Amsterdam, pp. 146–152.
- WELLIVER, R. C. – KAUL, T. N. – OGRA, P. L. (1980): The appearance of cell-bound IgE in respiratory-tract epithelium and respiratory-syncytial-virus infection. *N. Engl. J. Med.*, **303**, 1198–1201.
- WELLIVER, R. C. – WONG, D. T. – SUN, M. (1981): The development of respiratory syncytial virus specific IgE and the release after infection. *N. Engl. J. Med.*, **305**, 841–846.
- WELLIVER, R. C. – KAUL, T. N. – SUN, M. – OGRA, P. L. (1984): Defective regulation of immune responses in respiratory syncytial virus infection. *J. Immunol.*, **133**, 1925–1930.
- WELLIVER, R. C. (1988): Detection, pathogenesis, and therapy of respiratory syncytial virus infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, **1**, 27–39.
- WELLIVER, R. C. – SUN, M. – HILDRETH, S. W. – ARUMUGHAM, R. – OGRA, P. L. (1989): Respiratory syncytial virus-specific antibody responses in immunoglobulin A and E isotypes to the F and G proteins and to intact virus after natural infection. *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 295–299.
- WESTENBRINK, F. – KIMMAN, T. G. (1987): Immunoglobulin M-specific enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of bovine respiratory syncytial virus infections. *Am. J. Vet. Res.*, **48**, 1132–1137.
- WESTENBRINK, F. – KIMMAN, T. G. – BRINKHOF, J. M. A. (1989): Analysis of the antibody response to bovine respiratory syncytial virus proteins in calves. *J. Gen. Virol.*, **70**, 591–601.
- ZYGRAICH, N. – WELLEMANS, G. (1981): Immunologic markers of an attenuated bovine respiratory syncytial (BRS) virus vaccine. *Zbl. Vet.-Med., B*, **28**, 355–362.

Received: 97–06–10

Accepted after corrections: 97–06–19

Kontaktní adresa:

MVDr. Kamil Kovařík, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno, Česká republika
Tel. 05/41 32 12 41, fax 05/41 21 12 29, e-mail: olma@vuvel.anet.cz

Prof. MVDr. Jozef Vodrážka, DrSc., has attained 75 years of age

Prof. MVDr. Jozef Vodrážka, DrSc., sa dožil 75 rokov

Prof. Vodrážka sa narodil 5. 2. 1922 v osade Hámorec obce Málinec. Gymnázium navštevoval najprv v Lučenci a po okupovaní južného Slovenska v Banskej Bystrici. Tu v roku 1941 maturoval. Veterinárnu medicínu študoval ako štipendista Ministerstva poľnohospodárstva vo Viedni a po oslobodení v Brne. Diplomovú prácu robil na farmakologickom ústave. Promoval v júli 1946. V konkurznom pokračovaní získal v roku 1947 viacs mesačné štipendium na postgraduálne štúdium vo Veľkej Británii. Po návrate pracoval v Štátnom veterinárnom diagnostickom ústave v Bratislave. Na farmakologické pracovisko novozaloženej Vysokej školy veterinárskej v Košiciach nastúpil 1. 8. 1950. Patril do poltucta jej zakladateľov. Musel teda budovať farmakologický ústav od základov.

V oblasti *výskumnej činnosti* hlavným zameraním jubilanta boli antihelmintiká. V tomto smere začal publikovať v roku 1952. Okrem tohto primárneho záujmu spolupracoval s kožným lekárstvom na vtedy rozšírenej dermatomykóze zvierat, prenosnej na človeka. V závere výskumu sa výsledky prezentovali aj v brožúre. Svojimi pokusmi na psoch sa neskôr podieľal na výskume liečiv pôsobiacich na CNS.

Farmakologické pracovisko bolo po celý čas nedostatočne vybavené prístrojmi. Hľadal preto možnosť, ako aj napriek týmto ťažkostiam získať originálne poznatky. Výsledkom snažení bolo vypracovanie dvoch kritických testov. Sú to metódy objektívneho hodnotenia antihelmintík proti niektorým pneumohelminantom a pečeňovým parazitom. Postupy spĺňali obidve základné podmienky vo výskume: originalita a uplatnenie doma i v zahraničí. Za tejto situácie mohol jubilant predložiť svoju doktorskú prácu na obhajobu už v roku 1965.

Prvou bola metóda totálnej tracheotómie u oviec s pneumohelminami. Základný článok o problematike publikoval v časopise *Veterinary Record* (72, 1960: 104). Postup vylepšil a používal aj uznávaný odborník prof. Eniké z Hannoveru.

Kolaterálna metóda (hadičková) umožnila stanoviť účinnosť antifasciolík od 7. až 8. týždňa vývoja v pečeni. Predbežné oznámenie prijali bez výhrad v renomovanom medzinárodnom časopise *Nature* (39, 1963: 96). Toto ocenenie možno považovať za prvý a hlavný vrchol vedeckej práce jubilanta. O metóde prednášal, resp. demonštroval ju na viacerých fakultách a vo výskumných ústavoch. Najviac ju vyžiaril uznávaný odborník vo výskume antihelmintík Dr. Dietel Duwel v laboratóriách fy Hoechst vo Frankfurte nad Mohanom. Metódu používal vyše 10 rokov (od roku 1964)

s minimálnymi stratami zvierat. Skúšané látky, ich kombinácie, ako aj novosyntetizované zlúčeniny overovali na veľkom počte oviec a teliat. V rozpore s týmito údajmi je negatívne hodnotenie kolaterálnej metódy domácimi autormi v časopise *Biofarm* (3, 1963: 103). V laboratóriách britskej fy Imperial Chemical Industries (ICI) princíp metódy využívali aj na sledovanie farmakokinetiky nových zlúčenín. Obidve metódy pozitívne hodnotili traja odborníci v tomto smere (Boray, Duwel a Lienert) v zborníku zo sympózia *The Evaluation of Anthelmintic* v Hannoveri v roku 1963. Tam sa však autor metód, žiaľ, nedostal.

Niektoré svetové farmaceutické firmy požiadali o spoluprácu vo výskume (Bayer, Hoechts, ICI, Wellcome). Výsledky potom jubilant prednášal na kongresoch, konferenciách, resp. sympóziách na viacerých miestach (Washington, Mexiko, Paríž, Wageningen, Berlín, Frankfurt, Soluň, Sarajevo, Wuppertal, Tokio).

Aktívnu účasť na významných pracoviskách a konferenciách umožňovala prof. Vodrážkovi nielen jeho vysoká erudícia v danej problematike, ale aj dobrá znalosť svetových jazykov (angličtina, nemčina, francúzština, ruština).

Katedru farmakológie zrušili v období tzv. normalizácie v roku 1969. Pracovisko dostalo názov oddelenie, čím veľa stratilo na samostatnosti v rozhodovaní a riadení. Prof. Vodrážka prestal byť vedúcim katedry a členom vedeckej rady fakulty. Bola to škoda, lebo vo svete získané názory, podnety a skúsenosti nemohol bezprostredne prenášať na domáce školské prostredie. V dôsledku takto pozmenených pomerov a personálneho obsadenia sa už na oddelení nedalo vo výskume uspokojivo pokračovať. Našťastie zostala ešte možnosť venovať sa príprave kníh.

Druhým vrcholom jubilantovho snaženia je *pedagogická činnosť*. Ponajprv sa staral o študijnú literatúru. Pre prvé desaťročie sa dohodlo používať brnianske skriptá. Počínajúc rokom 1961 napísal štyri dočasné učebnice (skriptá) pre VŠ a jednu pre Farmakologickú fakultu. Potom sa venoval príprave kníh. Prvou bola *Veterinárska medicína pre farmaceutov* (1974, 666 s.). Z nej takmer polovica zaberá farmakológia. Zvyšok doplnili spoluautori. Nasledovala učebnica *Veterinárska farmakológia* (1980, 430 s.). Viac ako polovica textu patrí jubilantovi, zvyšok dvom spoluautorom. Bol odvolaný z miesta vedeckého redaktora pre nesúhlas s koncepciou zahraničného autora z Moskvy. Funkciou poverili profesora patologickej fyziológie. Nakoniec sa kniha po zákroku Ministerstva školstva SR, ale aj po strate času, dokončila podľa pôvodného návrhu. Práve

naopak to bolo s postgraduálnou príručkou a učebnicou Veterinárna medicína a farmakológia (1982, 806 s.). Polovicu napísal jubilant sám a v druhej bol vedeckým redaktorom. Publikácia sa rýchlo vypredala a to si vyžiadalo druhé, upravené a rozšírené vydanie v roku 1986. Za prvé vydanie mu Slovenský literárny fond v Bratislave udelil prémii v roku 1983. Z obidvoch kníh študovali aj brnianski študenti. Učebnice svoju úlohu zohrali tiež v praxi. Ak sa odborná knižná literatúra pripravuje z najnovších časopisov, môže po doplnení medzičasom získanými poznatkami slúžiť ešte aj po viacerých rokoch. Tak je tomu aj v tomto prípade.

Počas 80. rokov zhromažďoval jubilant materiál pre ďalšiu učebnicu farmakológie bez spoluautorov. Keďže podmienky na pracovisku sa nezlepšovali, ba naopak, stali sa až nedostojnými a neprijateľnými, dal prof. Vodrážka k l. 4. 1989 zo zamestnania na VŠV v Košiciach výpoveď a odišiel do dôchodku. V trojriadkovom uvoľňovacom liste nebolo ani slova poďakovania ani ospravedlnenia. Za uvedených okolností napoly rozpracovaná učebnica sa nemohla dokončiť. Pri troche dobrej vôle a taktu mohlo vedenie školy na dokončenie učebnice ponúknuť prof. Vodrážkovi jednorozhodnú funkciu profesora-konzultanta aj mimo oddelenia farmakológie. Táto príležitosť sa však nevyužila a tak bohatý materiál možno dajú potomkovia do zberu.

Pri hodnotení pedagogickej činnosti treba ešte spomenúť už v roku 1966 zavedené písomné skúšanie študentov. Po stručnom zodpovedaní polovice z 30 otázok nasledoval krátky pohovor. Postup sa osvedčil. Anonymné listy a pochybovania o výsledkoch skúšok prestali.

Za tretí vrchol práce jubilanta považujem jeho činnosť vo funkcii *prodekan pre výskum* (1966 až 1969). Jeho nabádanie k dokončovaniu doktorských, kandidátskych a habilitačných prác viedlo ku zvýšeniu ich obhajob. Viac ako predtým sa podarilo zvýšiť i počet zahraničných ciest. Vďaka vtedajšiemu „otepleniu“ politických pomerov sa podarilo vypracovať a do života školy presadiť hodnotiaci bodovací systém pracovných výsledkov i finančných odmien výskumnej, publikačnej i pedagogickej činnosti jednotlivcov a katedier. Zavedený bodovací systém prispel výraznou mierou k vtedajšiemu zreteľnému oživeniu užitočnej práce katedier a ústavov. Objektívne hodnotenie činnosti, zväčša na politickú prácu orientovaných funkcionárov, však nevyhovovalo a v nasledujúcom období „normalizácie“ bolo zrušené.

Z ďalšieho angažovania sa jubilanta spomienam aspoň niektoré činnosti:

Externý prednášateľ veterinárnej farmakológie na Farmaceutickej fakulte UK v Bratislave, externý spolupracovník Ústavu experimentálnej farmakológie SAV, prednášky na univerzitách v Káhire a v Havane, predseda skúšobnej komisie na univerzite v Ugande, pred-

nášky na Klinike pracovného lekárstva v Košiciach aj pre odborníkov v praxi, podpredseda Slovenskej farmakologickej spoločnosti v Bratislave. Navrhol vytvoriť veterinárne pracovisko pri SPOFA – z neho vznikol známy Výskumný ústav pre biofaktory a veterinárne liečivá v Prahe. Tu bol členom vedeckej rady. V bývalej ČSSR sa podstatne pričinil o skoré riešenie problémov s reziduami liečiv v potravinách živočíšneho pôvodu. Skúšal liečivá pred zavedením pripravkov do používania (Slovakofarma a iné podniky). Bol členom komisie pre 2. až 4. vydanie Československého liekopisu. Najdlhšie pracoval v komisii pre liečivá pri štátnych správach, a to od roku 1947. Napísal state do terajších vydaní Vademeca, vypracoval expertízy, oponentúry a podnety v rámci školstva a veterinárstva. S aktuálnou veterinárnou problematikou oboznamoval v dennej tlači, rozhlas a v televízii. Viedol troch zahraničných a troch domácich aspirantov.

Hlavne v smere základného výskumu uverejnil vyše 150 publikácií v podobe článkov a monografií. Cenný je aj posledný článok venovaný najmä veterinárnej farmakologickej terminológii a nomenklatúre (Biol. Chem. Vet. Praha, 23, 1987: 197). Výťah z článku uverejnili v Zborníku veterinárnej farmakológie po Európskej konferencii v Budapešti v roku 1989.

Získanie pedagogických a vedeckých hodností: roku 1957 zástupca docenta, v roku 1967 docent, v roku 1966 doktor vied (ako prvý na VŠV) a v roku 1967 riadny profesor (vtedy jeden z najmladších na Slovensku).

Zo skrvodlivostí, ktoré sa ho najviac dotkli, uvediem aspoň tieto: tri razy zamietnutie pozvania na jednorozhodnú funkciu hosťujúceho profesora v USA, nesúhlas s ročným pôsobením v Alžíri a vyloženie z vlaku v Prahe pred cestou na prednášku do Berlína.

Prof. Vodrážka svoje celoživotné snaženia a schopnosť venovať do výstavby a rozkvetu Farmakologického ústavu košickej Univerzity veterinárskeho lekárstva. Je zakladateľom a pionierom veterinárnej farmakológie na Slovensku, ako aj autorom prvých vysokoškolských celoštátnych učebníc z tejto disciplíny. Jeho originálne metódy, vyvinuté pre skúmanie účinnosti látok a liečiv proti pneumohelminthom zvierat, dozneli v odborných kruhoch najvyšších medzinárodných uznávaní a ocenení. Jubilant nič nedostal zadarmo. Úspechy a mimoriadne ocenenia sa dostavili len na základe mnohoročnej poctivej práce. Prof. Vodrážka je aj veľkým rodolubom. Z početných zahraničných ciest a aj lákavých ponúk sa domov vždy rád vracal.

Milý jubilant, ďakujem Ti za seba a verím, že aj za mnohých kolegov a známych, za všetko, čo si vykonal. Na svoju prácu môžeš byť právom hrdý. V iných podmienkach žatva mohla byť ešte bohatšia. Do ďalších rokov Ti želim dobré zdravie, Tebe vlastnú vyrovnanosť, zaslúžený oddych, pokoj a plnú radosť z vykonanej práce.

Prof. MVDr. Michal Bartík, DrSc.

POKYNY PRO AUTORY

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem. Časopis zveřejňuje i názory, postřehy a připomínky čtenářů ve formě kurziv, glosy, dopisu redakci, diskusního příspěvku, kritiky zásadního článku apod., ale i zkušenosti z cest do zahraničí, z porad a konferencí.

Autoři jsou plně odpovědní za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce. Redakce přijímá práce imprimitované vedoucím pracoviště nebo práce s prohlášením všech autorů, že se zveřejněním souhlasí.

Rozsah původních prací nemá přesáhnout 10 stran psaných na stroji včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI.

Rukopis má být napsán na papíře formátu A4 (30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojité mezery). K rukopisu je vhodné přiložit disketu s textem práce, popř. s grafickou dokumentací pořízenou na PC s uvedením použitého programu. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

Pokud autor používá v práci zkratky jakéhokoliv druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vysvětleny (vypsány), aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratky nepoužívat.

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů a musí dát přesnou představu o obsahu práce. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

Krátký souhrn (Abstract) musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo v práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě.

Rozšířený souhrn prací v češtině nebo slovenštině je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 1–2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je vhodné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

Literární přehled má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému. Tato úvodní část přináší také informaci, proč byla práce provedena.

Metoda se popisuje pouze tehdy, je-li původní, jinak postačuje citovat autora metody a uvádět jen případné odchylky. Ve stejné kapitole se popisuje také pokusný materiál a způsob hodnocení výsledků.

Výsledky tvoří hlavní část práce a při jejich popisu se k vyjádření kvantitativních hodnot dává přednost grafům před tabulkami. V tabulkách je třeba shrnout statistické hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostacích a výsledky se konfrontují s údaji publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, jejichž práce mají k publikované práci bližší vztah). Je přípustné spojení v jednu kapitolu spolu s výsledky.

Literatura citovaná v textu práce se uvádí jménem autora a rokem vydání. Do seznamu se zařadí jen publikace citované v textu. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů.

Klíčová slova mají umožnit vyhledání práce podle sledovaných druhů zvířat, charakteristik jejich zdravotního stavu, podmínek jejich chovu, látek použitých k jejich ovlivnění apod. Jako klíčová slova není vhodné používat termíny uvedené v nadpisu práce.

Na zvláštním listě uvádí autor plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSČ, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

Podrobné pokyny pro autory lze vyžádat v redakci.

Applications for detailed instructions for authors should be sent to the editorial office.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short or a longer summary. The journal also publishes readers' views, remarks and comments in form of a text in italics, gloss, letter to the editor, short contribution, review of a major article, etc., and also experience of stays in foreign countries, meetings and conferences.

The authors are fully responsible for the originality of their papers, for its subject and formal correctness. The authors shall make a written declaration that their papers have not been published in any other information source.

The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper. The editors accept papers approved to print by the head of the workplace or papers with all the authors' statement they approve it to print.

The extent of original papers shall not exceed ten typescript pages, including tables, figures and graphs.

Manuscript should be typed on standard paper (quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript). A PC diskette with the paper text or graphical documentation should be provided with the paper manuscript, indicating the used editor program. Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

The title of the paper shall not exceed 85 strokes and it should provide a clear-cut idea of the paper subject. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract. It must present information selection of the contents and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes and comprise base numerical data including statistical data.

Introduction has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form. This introductory section also provides information why the study has been undertaken.

Review of literature should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem.

Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material and the method of result evaluation.

In the section **Results**, which is the core of the paper, figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

Discussion contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited). The sections Results and Discussion may be presented as one section only.

References in the manuscript are given in form of citations of the author's name and year of publication. A list of references should contain publications cited in the manuscript only. References are listed alphabetically by the first author's name.

Key words should make it possible to retrieve the paper on the basis of the animal species investigated, characteristics of their health, husbandry conditions, applied substances, etc. The terms used in the paper title should not be used as keywords.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code, telephone and fax number, or e-mail.

VETERINARY MEDICINE – CZECH

Volume 42, No. 9, September 1997

CONTENTS

Semotán K., Kaláb D.: New method of preparation of bovine colostral immunoglobulins for parenteral application in calves.....	249
REVIEW ARTICLE	
Kovařík K.: Respiratory syncytial virus: properties of the virus and epizootology of the disease.....	253
Kovařík K.: Respiratory syncytial virus: pathogenesis, immunology and prophylaxis of the disease	265
INFORMATION	
Hruška K.: Third good news	264
Bartík M.: Prof MVDr. Jozef Vodrážka, DrSc., has attained 75 years of age.....	279

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Ročník 42, č. 9, Září 1997

OBSAH

Semotán K., Kaláb D.: Nová metoda přípravy hovězích kolostrálních imunoglobulinů k parenterální aplikaci u telat	249
PŘEHLED	
Kovařík K.: Respirační syncytiální virus: vlastnosti viru a epizootologie onemocnění.....	253
Kovařík K.: Respirační syncytiální virus: patogeneze, imunologie a profylaxe onemocnění	265
INFORMACE	
Hruška K.: Třetí dobrá zpráva.....	264
Bartík M.: Prof MVDr. Jozef Vodrážka, DrSc. sa dožil 75 rokov	279