

SBORNÍK
ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Veterinární
medicina

5

ROČNÍK 2 (XXX) PRAHA, KVĚTEN 1957

CENA 10 Kčs

Předseda redakční rady:
Председатель редакционного совета:
Head of the Editorial Board:

dopisující člen ČSAZV prof. MVDr Vincenc Jelínek

Redakční rada:
Редакционный совет:
Editorial Board:

*gen. MVDr Vladimír Chládek, MVDr Eduard Zach, MVDr František Nižňánský
člen korespondent SAV, MVDr Jiří Boháč, MVDr Jan Hiller, MVDr Antonín
Klauz, prof. MVDr Richard Harnach, MVDr Jaroslav Dražan, prof. Dr Karel
Šobra*

Vedoucí redaktor:
Старший редактор:
The Editor-in-Chief:
František Němec

Sborník ČSAZV, řada Veterinární medicína, vychází měsíčně. Uveřejňuje výsledky vědecko-výzkumných prací a kritické přehledy o pokroku zemědělské vědy z oboru veterinární medicíny. Celoroční předplatné 120 Kčs, jednotlivá čísla 10 Kčs. Vydavatel: Československá akademie zemědělských věd. Redakce a administrace: Praha XII, Slezská 7, telefon 575-41, 577-51-5.

Сборник ЧСАСХН, серия Ветеринарная медицина выходит ежемесячно. Публикует результаты научно-исследовательских работ и критические обзоры о прогрессе сельскохозяйственной науки в области ветеринарной медицины. Годовая подписка 120 крон, отдельный номер 10 крон. Издатель: Чехословацкая академия сельскохозяйственных наук. Редакция и администрация: Прага XII, Слезска 7, телефон 575-41, 577-51-5.

The Annals of the CAAS the Series Veterinary Science appear monthly. They publish the results of the scientific and research works and critical reviews of veterinary science. The annual subscription rate 120 Kčs, single copies 10 Kčs. Publisher: The Czechoslovak Academy of Agricultural Sciences. Editorial and executive offices: Praha XII. Slezská 7, tel. num. 575-41, 577-51-5. A-02414

Studie biologické devitalisace viru infekční obrny prasat v moči a hnoјívce

Изучение биологической девитализации вируса инфекционного энцефаломиелита
свиней в моче и навозной жиже

Study of Biological Devitalization of Virus of Infectious Paralysis of Hogs in Urine
and Liquid Manure

Eine Studie über biologische Devitalisation des Virus der ansteckenden Schweinelähme
im Harn und in der Jauche

MVDr. Jan ČERNOVSKÝ

*Ústav pro mikrobiologii a imunologii veterinární fakulty Vys. školy zemědělské
v Brně, přednosta prof. Dr R. Harnach*

Doslo dne 20. IX. 1956

Úvod

Úspěšný boj proti infekční obrně vepřů předpokládá v první řadě dokonalou znalost biologie viru této nebezpečné choroby. K těmto znalostem patří i prevence a zjištění pathogenity viru po projití biocenosou.

Tato okolnost byla podrobena na mikrobiologickém ústavu Vysoké školy veterinární důkladnému studiu a v rámci tohoto studia jsem byl pověřen prof. Dr. Harnachem dílčím úkolem, abych zjistil dobu a různé okolnosti, za kterých si obrnový virus uchovává vitalitu resp. zaniká v močůvce; jako důležitá okolnost bylo určení vlivu rozkladných a biothermických pochodů za teploty letního a zimního období.

Do hnoјného prostředí se virus dostane několikerým způsobem. Předně trusem a snad i slinami chorého vepře. Pak jakoukoliv demontáží s mrtvým obrnovým vepřem ve statku (černé porážky a pod.) a to zejména při manipulaci s mozkem, míchou resp. mozkomíšním mokem. Za života nemocného vepře se mnoho viru dostává do hnoје výkaly. V krvi ani moči nebyl virus dokázán (Klobouk 16, Fortner 9, Marcín 20, a j.); naproti tomu Andrejev (1) předpokládá, že vylučování viru z těla se děje slinami, močí, výkaly a sekrety z nosu nemocného vepře.

Moč a močůvka jsou možná vnější prostředí, do kterých se virus může dostat a podléhá pak proměnám jak po stránce chemické, tak i biologické; z jejich složek a proměn lze nabýti přibližnou představu o devitalizačním výsledku.

Základem močůvky je zkvašená moč našich domácích zvířat s příměsí fekálií, zředěných vodou.

Z ústrojných látek obsahuje moč: močovinu CH_4N_2O , hlavní dusíkatou součást moče ssavců, kreatinin $C_4H_7ON_3$ a kreatin $C_4H_9O_2N_3$. Dále purinové

látky chemicky odvozené od jádra $C_5H_4N_4$, soli kys. karbaminové, kys. močovou $C_5H_4N_4O_3$, kys. hipurovou $C_8H_5NO_3$, zásady purinové, produkty hnilobné a ještě mnohé jiné ústrojné látky (V a c e k 31).

Z neústrojných látek moč obsahuje: sodík a chlor jako $NaCl$, fosfor jako kyselý (60 %) a jako střední (40 %) fosforečnan vápenatý, síru jako sírany, železo v ústrojné vazbě, draslík jako fosforečnany K .

Po biologické stránce může moč a tím též močůvka obsahovat množství nejružnější mikrobiální flory. Někdy může být moč mikroby přímo zaplavena. V takovém případě se může močí vyloučit za jeden den až mnoho miliard mikrobů.

Literatura uvádí, že čerstvá a nesterilizovaná moč a močůvka má značný účinek baktericidní a též virosní (R o t h, S t e i n, H a r n a c h 10). Tento účinek je v prvé řadě podmíněn přítomností hojné bakteriální flory a jejích fermentů, které buď působí na pathogenní mikroby přímo nebo tak, že štěpením organických látek uvolňují teplo, které ve vlhkém prostředí zneškodňuje mikroby.

Nejvíce bakteriální flory se dostává do močůvky výkaly. Jako všechny živé organismy, tak i mikroby potřebují ke svému životu živné látky, které berou z prostředí, ve kterém jsou.

Fermenty jsou látky původu organického, jejichž vliv je katalytický, t. j. urychlují chemické přeměny; aniž se samy spotřebují.

Touto bakteriální fermentací, která je tím silnější, čím více aktivních mikrobů v močůvce je, nastává fermentační kvasný rozklad organických látek v močůvce.

Fermenty hnilobných bakterií uvolňují při tomto rozkladu teplotu upoutanou při asimilaci z paprsků slunečních. Tato teplota má velký význam při biologické sterilizaci hnoje i močůvky. Teplota, která vzniká při tomto t. zv. samozahřátí hnoje dosahuje během pěti dnů 70–80° C. Podle H a r n a c h a (10) tato teplota stačí na zničení převážné většiny mikrobů a virů. Rovněž i spory jsou touto teplotou ničeny, poněvadž při postupném zvyšování teploty vyklíčí v bacily a tyto jsou pak vyšší teplotou ničeny. Rovněž i vlhkost a ektotoxiny antagonistických mikrobů se zde silně uplatňují.

Z organických látek, které nejvíce podléhají fermentačnímu rozkladu, jsou nejdůležitější bílkoviny. Tyto se pomocí proteolytických ektoenzymů štěpí na složky jednodušší, často za tvorby zápachových látek, jako jsou amoniak, sirovodík, merkaptan a j. Konečným produktem rozkladu jsou pak základní stavební kameny bílkovin, aminokyseliny.

Z mikrobů, působících svými fermenty tento rozklad, jsou nejdůležitější: *Vibrio septique*, *bac. putrificus*, *Clostridium flegmonae emphysematosae*, *bakt. fluorescens liquefaciens*, *bakt. coli commune* a j. Rovněž organický dusík, nacházející se v močůvce, v močovině, kys. močové, a kys. hippurové, podléhá záhy fermentačnímu rozkladu kvašení, což způsobuje hlavně *mikrokokkus ureae* fermentem ureásou. Stejně *urobacillus Pasteuri*, *Ducloxi*, *Maddoxii*, *bakt. coli commune*, různé streptokoky a sarciny se tohoto rozkladu zúčastňují.

Z fermentů, působících přímo na bakterie, připisují G l a s s e r a P r i n z (34) hlavní účinek rostlinným oxydásám. Rovněž fermenty z endokrinních žláz působí baktericidně.

Že tato biologická sterilizace je výsledkem kvasného pochodu, který je vyvolán mikroflorou hnojnou nebo močůvkovou, potvrzují rovněž H a r n a c h o-

v y pokusy, jež ukázaly, že nemůže dojít ke sterilisaci spor a bacilů v močůvce a ve hnoji sterilisovaném, vyhnílém, vykvašeném neb zahřátém. Prostě všude tam, kde kvasná mikroflora byla již zničena. Tuto skutečnost jsme znovu potvrdili při našich pokusech s obrnovým virem ve sterilisované močůvce, jak je uvedeno dále.

Ve druhé řadě je baktericidní a částečně snad i virocidní účinek močůvky podporován působením bakteriálního antagonismu. O tom je známo, že mnohdy zcela nepochopitelné zárodky uplatňují energicky tlumivý vliv na velmi nebezpečné mikroby.

Skrjabin a Šapiro (26) uvádí antagonismus bakterií mléčného kvašení proti hnilobným bílkovinným bakteriím. Mohr a Werner (21) zjistili antagonistické vlastnosti mezi jednotlivými zárodky uvnitř skupiny paratyfu. Doskočil (8) zjišťuje antagonismus *bakt. coli* proti zárodkům tyfovým při různých teplotách. Tvrdí, že antagonistický účinek stoupá s teplotou prostředí. Optimální je teplota tělová.

To, co je známo o vitálním antagonismu mezi mikroby, lze částečně předpokládat také u virů. Jen Brauner (3) v práci provedené v našem ústavě má jisté údaje o tomto studijním úseku. Tak jako existují symbiotické vztahy mezi viry a bakteriemi, na př. virus chřipky vepřů a *haemophilus*, nebo virus moru vepřů a *sal. suispestifer* atd., tak jsou také jistě antagonistické protivy mezi mikroby saprofytickými a viry, o které projevil Harnach obzvláštní zájem a na které upozorňuje také Muromcev (22). Tak na př. u ultravirů rostlin byl skutečně potvrzen antagonismus v pracích M. S. Dulina a M. I. Goldina (citováno podle Muromceva). Není pochyby, že podrobnější studie by mohly přinést cenné nálezy. Prozatím se hodláme spokojit s výzkumem, který konstatuje komplexní výsledek účinku fermentace a bakt. antagonismu, projevil-li se také vůči virům tak jak je znám u některých bakterií.

V ústavě provedené úspěšné výzkumy o fermentaci, vyhánění a o devitalisaci, jež studoval Harnach u *bac. anthracis* a Borkovec (3), Lázníčka (19), Dvořáček (7), a Kříško u nejrůznějších salmonel, nabádají vyzkoušet tuto otázku biologické devitalisace také na viru infekční obrny vepřů a na jiných virech.

Fortner (9) udává, že při střední teplotě 15° C virus obrnový ztrácí svou vitalitu v močůvce mezi 6.—21. dnem a uvádí tedy značně široké časové rozmezí (15 dní). Nás zajímalo, jaké časové vlivy se uplatní za období vyšší teploty (letní období) a za chladna (v období podzimním až zimním), zvláště když tomuto důležitému faktoru nebyla v práci Fortnerově věnována pozornost.

Z citovaných literárních údajů plyne, že o osudu obrnového viru mimo tělo vepře je známo velmi málo. Zvláště pak chybí údaje o destrukčních činitelích biologické povahy.

Tyto biologické činitele zjišťovat a aplikovat o tom poznatky v praxi, je širším výzkumným úkolem prof. Dra Harnacha na mikrobiologickém ústavu veterinární fakulty. Úsekovým úkolem, který mně byl svěřen, bylo hlavně zjistiti:

1. za jakou asi dobu zaniká životnost viru infekční obrny vepřů v rozkládající a zahnívajícím moči a močůvce za letního tepla, která se pohybuje mezi 20—30° C,

2. v jaké asi době hyne tento virus za chladna, zvláště za zimního období, při průměrné teplotě kolem 9°C ,

3. analýsu virocidního účinku v moči po stránce thermostabilních a thermolabilních složek.

Pracovní technika

Abychom mohli sledovat jednotlivé úkoly, jež do sebe zapadají, zvolili jsme si dvě teploty, ve kterých byl virus infekční obrny udržován. Pak jsme do směsi moči a močůvky, kterou tvořila moč vepřová, kravská a zředěné fekálie, umístěné ve dvou kádinkách, vložili po 10 a 20 sáčcích z gázy, do kterých jsme zabalili 2 g virulentního mozkomíšního materiálu z vepře, u něhož byla klinicky a histologicky prokázána infekční obrna vepřů.

1. První řada pokusů s 10 vzorky virulentní tkáně byla chována 3–15 dní ponořená v moči v thermostatu, ustáleném na 25°C , což odpovídalo průměrné teplotě letní.

2. Druhou kádinku s 20 vzorky pozitivní mozkové tkáně (à 2 g) v moči jsme ponechali v chladu o 9°C , což jsme zvolili jako model průměrné teploty zimní. Materiál mozkomíšní virulentní tkáně byl zabalen do gázy a vložen upevněn na drátcích do moče, kterou byl zaplaven a ponechán v ní 5–30 dní.

Za účelem zkoumání doby devitalisace jsme jednotlivé vzorky, t. j. sáčky s mozkomíšní tkání, vyjmuly vždy po dvou vzorcích, a to:

z kádinky chované při teplotě 25°C z kádinky o průměrné teplotě 9°C

za 3 dny,

za 5 dnů,

za 6 dnů,

za 8 dnů,

za 8 dnů,

za 16 dnů,

za 10 dnů,

za 20 dnů,

za 15 dnů,

za 25 dnů,

za 30 dnů.

Dva vzorky jsme vyjímali vždy z kádinky proto, abychom si mohli připravit dvojnásobnou dávku k aplikaci. Tím jsme si zabezpečili plnou účinnost viru, kdyby snad jeho část byla na př. vepřem odstraněna vyfrknutím.

Obsah těchto pytlíčků byl opláchnut, rozetřen ve sterilním fyziologickém roztoku (1 g v 5 g fyziologického roztoku, takže vytvořil 20 % suspensi), a vpraven v dávce 5 ccm intranasálně selatům. Druhý den opakován pokus ještě s druhým vzorkem stejné výrobní charge, t. j. 5 ml 20 % suspense vpravené do druhého nosního otvoru téměř pokusnému selati. Tak nám vznikly po infekci 2 řady selat, nakažených obrnovým materiálem, fermentovaným za tepla po 3–15 dní (celkem 5 selat) a materiálem fermentovaným za chladna 5–30 dní (celkem 6 selat). Takto očkování běhouni pozorování po dobu 35 dnů a zaznamenány všechny klinické změny.

Pokusy kontrolní provedeny tak, že pro obě řady byly dodrženy stejné vzorky materiálu z infekční obrny vepřů v moči sterilisované za stejných podmínek jako v moči normální a zkoušky s nimi provedeny na dvou selatech za 15 a 30 dní. Z moče chované jak při 20°C , tak i při 9°C to byly doby, kdy virus chovaný v normální moči byl již prokázatelně devitalisován.

V přehledu proběhly vlastní pokusy takto:

I. pokusy s virem Kloboukovy nemoci (KN), fermentovaným při 25° C

- Pokus č. 1. Virusový materiál, fermentovaný po 3 dny, aplikován intranasálně vepři. Zvýšená teplota za 9 dní, první obrny za 12 dní.
 Pokus č. 2. Virusový materiál, fermentovaný po 6 dní, aplikován intranasálně vepři. Zvýšená teplota za 11 dní, první obrny za 13 dní.
 Pokus č. 3. Virusový materiál, fermentovaný po 8 dní, byl aplikován intranasálně vepři. Zvýšená teplota za 9 dní, první obrny za 11 dní.
 Pokus č. 4. Virusový materiál fermentovaný po 10 dní byl aplikován intranasálně vepři. Za více než 30 dní vepř bez teplot a beze známek klinického onemocnění.
 Pokus č. 5. Virusový materiál fermentovaný po 15 dní, a aplikován intranasálně vepři. Za více než 30 dní vepř bez teplot a beze známek klinického onemocnění.

Vlastní pokusy

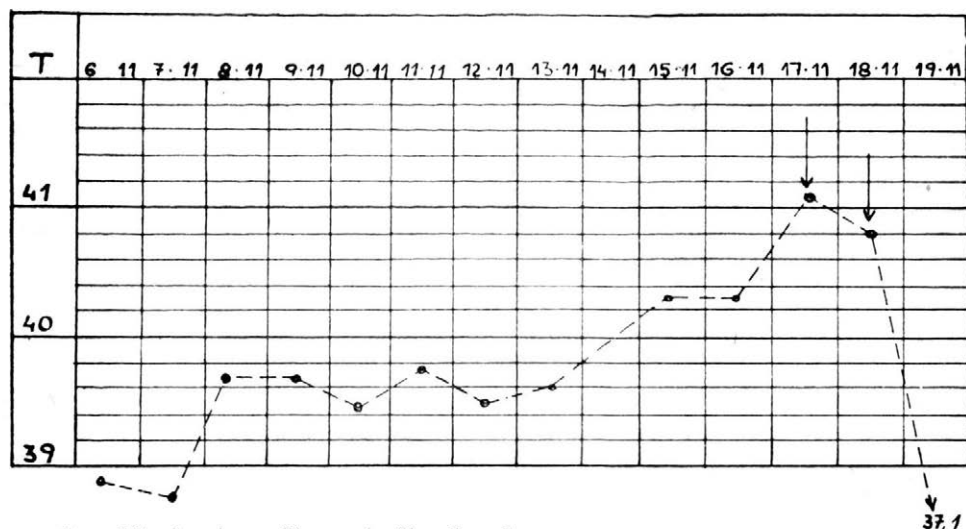
I. skupina pokusů

Pokusy s virem Kloboukovy nemoci, fermentovaným při 25° C.

Pokus č. 1. Virus fermentovaný po 3 dny (charge č. 1)

Dne 6. 11. 1951 dopoledne infikován vepřík č. 708-1 5 ml 20% suspence obrnového viru intranasálně do pravého nosního otvoru. (3 dny v teplotě 25° C.) Teplota vepřika před aplikací 38,8° C. Je čilý, přijímá potravu a nejeví příznaky žádného onemocnění.

Dne 7. 11. aplikována témuž vepříku další dávka 5 ml 20% suspence obrnového viru téže tří denní fermentace. Teplota vepřika 38,7° C. Teplotní křivka vepřika č. 708-1:



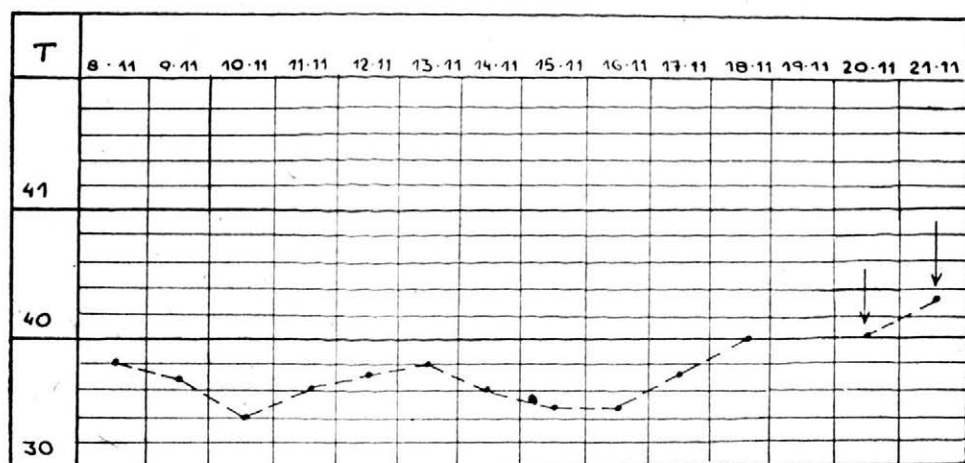
Průběh: Zvýšená teplota se dostavila za 9 dní po intranasálním vpravení fermentovaného obrnového viru. První obrny se objevily za 12 dní (dne 17. 11. 1951). Dne 19. 11. byl vepřík poražen a mozek a mícha byly histologicky vyšetřeny. Zjištěny četné perivaskulární lymfocytární infiltráty, typické pro nakažlivou obrnu vepřů.

Pathologicko-anatomicky zjištěno: *hepatitis interst. chronica*, dilatace pravého srdce, hyperemie nosní přepážky.

Pokus č. 2. Virus fermentovaný po 6 dní (charge č. 2)

Dne 8. 11. 1951 dopoledne jsme aplikovali klinicky zdravému vepříku č. 642-2 ž. v. 19 kg 5 ccm 20% suspense fermentovaného obrnového viru intranasálně do pravého nosního otvoru. Teplota vepřika před aplikací 39,8° C.

Dne 9. 11. 1951 vpraveno témuž vepři dalších 5 ccm 20% suspense ferm. obrnového viru č. 2 do druhého nosního otvoru. Teplota vepřika 39,7° C. Vepř je stále klinicky bez příznaků. Teplotní křivka pokusného vepře č. 642-2 během pokusu:



Zvýšená teplota se dostavila 11. den po vpravení viru č. 2. První obrny 13. den. Dne 21. 11. byl vepřík poražen. Histologicky prokázána infekční obrna vepřů.

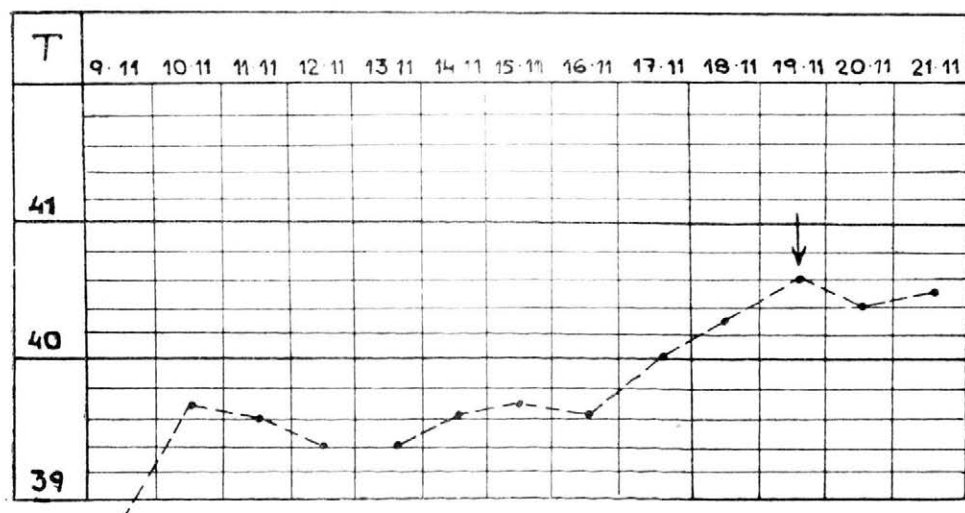
Pathologicko-anatomicky zjištěno: *hepatitis interst. chronica*, *bronchopneumonia katarrhalis*, hyperemie nosní přepážky.

Z pokusu plyne, že obrnový virus neztratil virulenci po 6denní fermentaci v moči při teplotě 25° C.

Pokus č. 3. Virus fermentovaný po 8 dní (charge č. 3)

Dne 9. 11. 1951 aplikováno vepři č. 682-3 ž. v. asi 22 kg 5 ccm 20% suspense obrnového viru do pravého nosního otvoru. Teplota vepřika před aplikací 38,5° C. Je čilý, přijímá potravu.

Dne 10. 11. aplikována témuž vepři další dávka 5 ccm 20% suspense obrnového viru téže fermentace do druhého nosního otvoru. Teplota vepřika 39,7° C. Teplotní křivka vepřika č. 682-3:

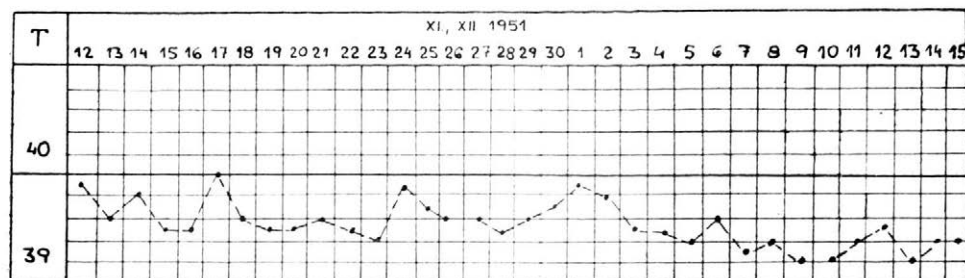


Zvýšená teplota se dostavila 9. den po infekci. První obrny vznikly 11. den. Dne 21. 11. 1951 byl vepřík poražen, mozek a mícha histologicky vyšetřeny a zjištěna nakažlivá obrna vepřů. Pokus ukazuje, že obrnový virus neztratil virulenci ani po 8denní fermentaci v moči při teplotě 25° C.

Pokus č. 4. Virus fermentovaný 10 dní (charge č. 4)

Dne 12. 11. 1951 aplikováno vepříku č. 713-4 ž. v. kolem 21 kg 5 ccm 20 % suspence obrnového viru intranasálně do pravého nosního otvoru (10 dní v teplotě 25° C). Tělesná teplota vepře před aplikací 39,9° C. Vepřík je čilý, přijímá potravu, nejeví příznaky žádného onemocnění.

Dne 13. 11. 1951 aplikováno témuž vepříku dalších 5 ml 20% suspence (těže 10denní fermentace) obrnového viru do druhého nosního otvoru. Teplota pokusného vepře 39,6° C. Vepřík je stále klinicky bez jakýchkoliv příznaků. Teplotní křivka vepře č. 713-4 během pokusu:



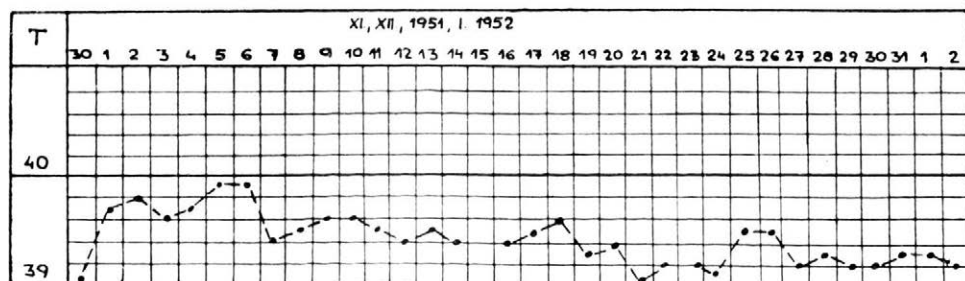
Do 16. 12. 1951 pokusný vepřík nejeví žádných příznaků onemocnění. Je i nadále čilý, přijímá potravu.

Pokus ukázal, že 10denní fermentací v urinu ztratil obrnový virus virulenci, t. j. prakticky byl zničen.

Pokus č. 5. Virus fermentovaný 15 dní (charge č. 5)

Dne 30. 11. 1951 dopoledne aplikováno pokusnému vepříku č. 258-5 5 ccm 20% suspence ferm. obrnového viru intranasálně do pravého nosního otvoru (15 dní v teplotě 25° C). Tělesná teplota vepříka před aplikací 39,1° C. Vepřík je čilý, přijímá potravu.

Dne 1. 12. 1951 dopoledne aplikováno témuž vepři dalších 5 ccm 20% suspence obrnového viru stejné fermentace do druhého nosního otvoru. Teplota vepře 39,7° C. Teplotní křivka pokusného vepříka č. 258-5 během pozorování:



Do 3. 1. 1952 nejeví vepřík nejmenších známek onemocnění. Je i nadále čilý. Také tento pokus ukázal, že při 15denní fermentaci podobně jako při desetidenní ztratil obrnový virus virulenci a není schopen vyvolat onemocnění.

Závěr z I. skupiny pokusů

Sledování postupné fermentace při 25° C ukázalo, že vzorky viru fermentované po 3, 6 a 8 dní si podržely virulenci a způsobily onemocnění pokusných vepřů. Teprve za 10 a 15 dní fermentace zůstávali vepříci zdraví, což byl důkaz, že virus je devitalisován. Lze tedy v kvasícím urinu pokládat teprve dobu asi 10 dnů za způsobitou zničit životnost a virulenci viru, jde-li o teplotu 25° C, která může sloužit za model průměrné teploty v teplém ročním období.

II. Pokusy s virem Kloboukovy nemoci, fermentovaným při teplotě 9° C

- Pokus č. 1. Virus fermentovaný po 5 dnů a aplikovaný intranasálně vepři. Zvýšená teplota 5. den, první obrny 12. den.
- Pokus č. 2. Virus fermentovaný po 8 dní a aplikovaný intranasálně vepři. Zvýšená teplota 5. den, první obrny 11. den.
- Pokus č. 3. Virus fermentovaný po 16 dní a aplikovaný intranasálně vepři. Zvýšená teplota 8. den, první obrny 11. den.
- Pokus č. 4. Virus fermentovaný po 20 dní a aplikovaný intranasálně vepři. Zvýšená teplota 8. den, první obrny 13. den.
- Pokus č. 5. Virus fermentovaný po 25 dní a aplikovaný intranasálně vepři. Za více než 30 dní vepř bez teplot a beze známek klinického onemocnění.
- Pokus č. 6. Virus fermentovaný po 30 dní a aplikovaný intranasálně vepři. Za více než 30 dní vepř bez teplot a beze známek klinického onemocnění.

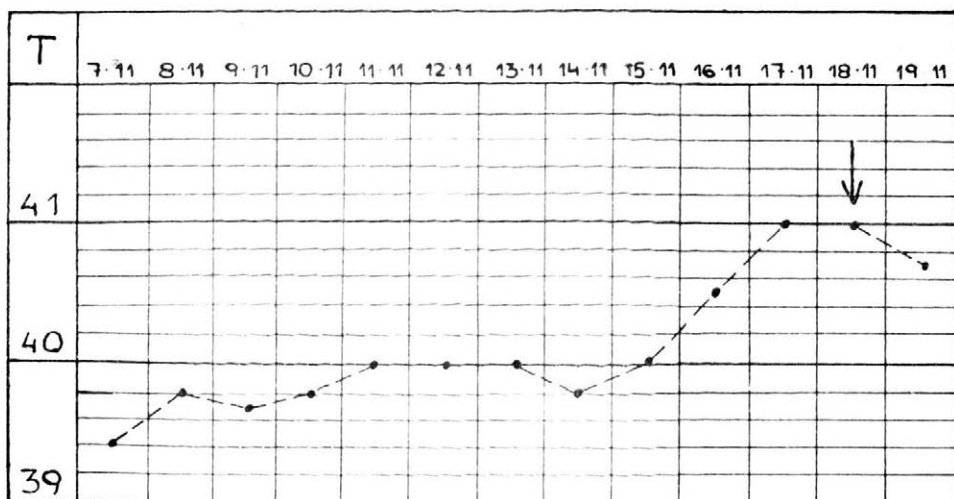
II. skupina pokusů

Pokusy s virem Kloboukovy nemoci, fermentovaným při teplotě asi 9° C.

Pokus č. 6. Virus fermentovaný 5 dnů (charge I)

Dne 7. 11. 1951 dopoledne aplikováno pokusnému vepří č. 683-6 5 ccm 20% suspence fermentovaného obrnového viru intrasálně do pravého nosního otvoru (t. j. obrnový virus fermentovaný 5 dnů v teplotě asi 9°C). Teplota vepřika před aplikací 39,4° C.

Dne 8. 11. 1951 dopoledne aplikováno opakovaně témuž vepříku dalších 5 ccm 20% suspence obrnového viru téže fermentace. Teplota vepřika při pokusu 39,8° C. Průběh teplotní křivky pokusného vepřika č. 683-6:



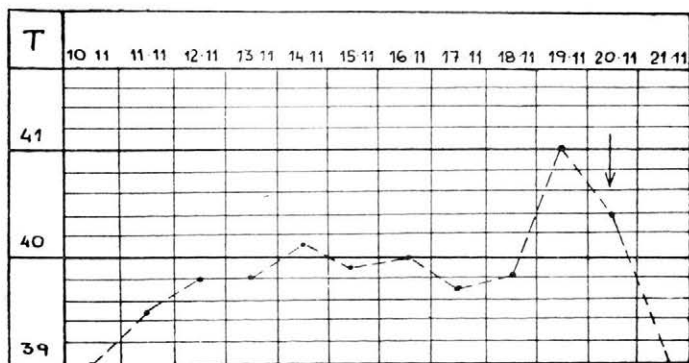
Zvýšená teplota se dostavila 5. den po infekci fermentovaným obrnovým virem. První obrny vznikly 12. den (dne 11. 11.). Dne 19. 11. 1951 byl vepřík poražen a v jeho mozku a míše byly opět zjištěny četné perivaskulární lymfocytární infiltráty, svědčící pro nakažlivou obrnu vepřů. Z toho plyne, že za chladna (9° C) zkvašovaný virus obrnový neztratil nic na virulenci, neboť způsobil již za 12 dní obrnu u naočkovaného běhouna.

Pokus č. 7. Virus fermentovaný 8 dní (charge II)

Dne 10. 11. 1951 aplikováno pokusnému vepříku č. 652-7 5 ccm 20% suspence obrnového viru intranasálně do pravého nosního otvoru (virus fermentovaný 8 dní v teplotě asi 9° C). Teplota vepřika před aplikací 39,0° C. Vepřík je čilý, nejeví příznaků žádného onemocnění.

Dne 11. 11. 1951 aplikováno témuž vepříku dalších 5 ccm 20% suspence obrnového viru stejné fermentace. Teplota vepře 39,5° C. Teplotní křivka vepře č. 652-7 na str. 106.

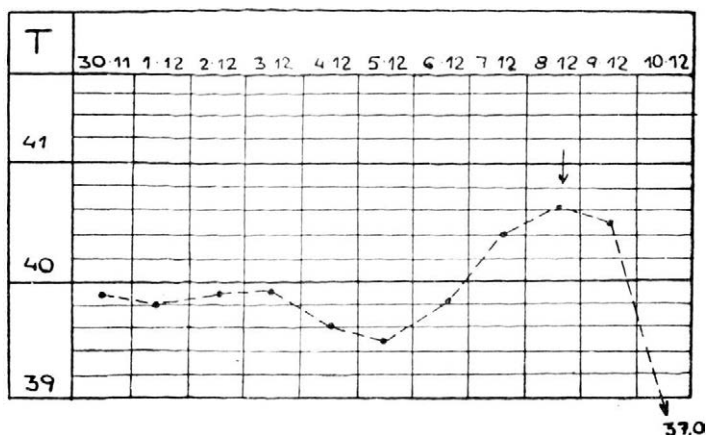
Zvýšená teplota vznikla 5. den po infekci obrnovým virem. První obrny se dostavily 11. den (dne 20. 11.). Dne 21. 11. 1951 vepřík uhynul. Mozek a mícha histologicky vyšetřeny. Prokázána infekční obrna vepřů. Pathologická pitva: *hepatitis interst. chronica*, dilatace pravého srdce, hyperemie nosní přepážky.



Pokus č. 8. Virus fermentovaný 16 dní (charge III)

Dne 30. 11. 1951 aplikováno pokusnému vepříku č. 262-8 5 ccm 20% suspenze obrnového viru intranasálně do pravého nosního otvoru. Teplota vepříka před aplikací 39,9° C. Je čilý, přijímá potravu, nejeví příznaků žádného onemocnění.

Dne 1. 12. 1951 aplikováno témuž pokusnému vepří další 5 ccm 20% suspenze obrnového viru téže fermentace do druhého nosního otvoru. Teplota vepře 39,8° C. Teplotní křivka vepře č. 262-8 po dobu pozorování:

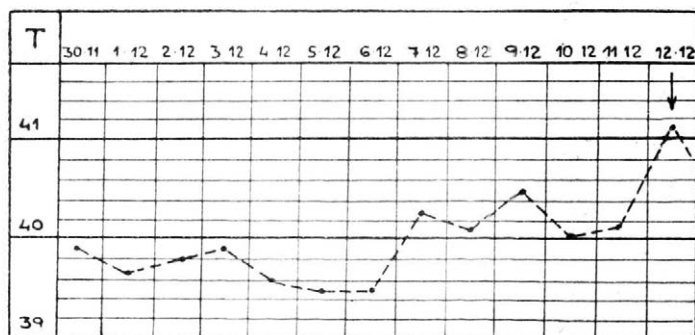


Zvýšená teplota se objevila 8. den po infekci, první obrny 11. den. Dne 10. 12. vepřík poražen, mozek a mícha histologicky vyšetřeny. Prokázána nakažlivá obrna vepřů. Pathologicko-anatomicky zjištěno: *hepatitis interst. chronica*, haemorrhagie na mozkových plenách, nosní přepážka silně hyperemická.

Pokus č. 9. Virus fermentovaný 20 dnů (charge IV)

Dne 30. 11. 1951 dopoledne aplikováno pokusnému vepříku č. 257-9 5 ccm 20% suspenze obrnového viru intranasálně do pravého nosního otvoru (virus fermentovaný 20 dní v teplotě asi 9° C). Teplota vepříka před aplikací 39,9° C. Je čilý, přijímá potravu.

Dne 1. 12. 1951 infikován tentýž vepřík dalšími 5 ccm 20% suspenze obrnového viru téže fermentace. Teplota vepříka 39,7° C. Teplotní křivka vepře č. 257-9:



Zvýšená teplota se dostavila 8. den po infekci obrnovým virem. První obrny vznikly 13. den. Dne 13. 12. byl vepřík poražen. Histologicky prokázána nakažlivá obrna vepřů. Pathologicko-anatomicky zjištěno: *cirrhosis hepatis chronica*, hemorrhagie na mozkových plenách.

Jak z pokusů č. 6, 7, 8 a 9 vyplývá, neztratil obrnový virus zkvašovaný za chladna asi 9°C po dobu pěti, osmi, šesnácti a dvaceti dnů nic na své virulenci, neboť způsobil u všech pokusných zvířat nakažlivou obrnu.

Další 2 pokusy (č. 10 a č. 11) s virem 25 a 30 dní fermentovaným ukázaly úplnou devitalisaci viru, neboť pokusné zvíře zůstalo zdravé a nejevilo žádných známek onemocnění. Podobně vepřík infikovaný virem po 30denní fermentaci zůstal zdravý, neboť virus byl inaktivován.

III. skupina pokusů. Kontroly

Pokusy s virem Kloboukovy nemoci fermentovaným ve sterilní moči.

Pokus č. 1. Virus uložený ve sterilní moči 15 dní za teploty 25°C a pak aplikován intranasálně vepři. Zvýšená teplota 9. den po infekci, první obrny 11. den.

Pokus č. 2. Virus fermentovaný ve sterilní moči po 30 dnů za teploty 9°C a pak aplikovaný intranasálně vepři. Zvýšená teplota 9. den a první příznaky obrny 11. den.

Výsledky z této skupiny pokusů ukazují, že virus i. o., chovaný ve sterilní moči za chladného období při asi 9°C po 30 dní a v teplotě 25°C po 15 dní si podržel virulenci a způsobil onemocnění pokusných vepříků. Naproti tomu v moči kvasící nesterilisované za tutéž dobu ztratil již virus svou virulenci, takže jím očkování vepřící zůstávali zdraví.

V kvasící močůvce lze teprve dobu 25 dní pokládat za způsobitou zničit životnost viru, probíhá-li fermentace při teplotě asi 9°C . Pokládáme tuto teplotu za průměrnou teplotu chladného období.

Přehled a diskuse

Za účelem zjištění doby devitalisace obrnového viru v zahnívající moči a močůvce za různých teplot jsme provedli dvě řady pokusů s obrnovým virem. První řada vzorků mozkové tkáně s virem KN, ponořených do močůvky, byla udržována při teplotě odpovídající průměru letního období, t. j. 25°C , druhá při teplotě chladného období, prům. 9°C . Zevní prostředí (vzorky v kvasící moči

a močůvce) se tudíž blížilo co nejvíce přirozeným průměrům potud, že pokusy byly prováděny za různých tepelných stavů, přicházejících v létě (25° C) a v zimě (9° C).

Po přesně stanovených dobách fermentace, a to v první řadě po 3, 6, 8, 10 a 15 dnech, ve druhé řadě po 5, 8, 16, 20, 25 a 30 dnech byly vzorky obrnového viru z močůvky vyjmuty a zpracovány ve 20% suspensi a aplikovány intranasálně vepříkům ve váze 15–30 kg. Tím vznikly postupně 2 řady zvířat infikovaných materiálem obrnovým různě ve virulenci pozměněným, a z výsledků biologických pokusů jsme vyvodili závěr o změně, resp. devitalisaci obrnového viru vlivem fermentace v moči.

Z výsledků našich pokusů je patrné, že obrnový virus ztratil vitalitu v močůvce, chované při vyšší teplotě (25° C), mezi 8. až 10. dnem, kdežto fermentací za teploty nižší, t. j. 9° C, se tato hranice posunula až na 20. a 25. den, kdy očkování vepřící zůstávali již zdraví. To znamená, že za letní teploty (prům. 25° C) hyne obrnový virus ve kvasící moči resp. močůvce asi během 10 dnů, zatím co v období chladném (teplota asi 9° C) zaniká teprve asi za 25 dnů, t. j. za dobu 2,5× delší. V době nižší než jsou tyto (10 a 25 dní) vyvolávaly virové vzorky ještě smrtelné onemocnění, které svědčilo o tom, že virus nebyl za kratší dobu ještě devitalisován.

Z našich pokusů je patrné, že právě stupeň teploty v močůvce hraje rozhodující úlohu při devitalisaci obrnového viru. Příčina 15denní difference tkví bezpochyby v tom, že při vyšší teplotě jsou podmínky pro množení mikrobiálních saprofitů daleko příznivější. Tyto mají jak svými fermenty, tak i účinkem předpokládaných antagonistů — jako to dokázal Braun er — tlumivý a přímo ničivý vliv na životnost obrnového viru.

Toto potvrzují především kontrolní pokusy naší práce, které byly provedeny ke každé skupině s virem chovaným ve sterilisované moči. V této močůvce, varem sterilisované, virus chovaný po dobu 15 dnů onemocnění vyvolal, zatím co v normální kvasící močůvce byl při téže teplotě za 15 dní již usmrcen. Rovněž v druhé řadě kontrolního pokusu vyvolal virus, chovaný ve sterilisované močůvce při teplotě 9° C po dobu 30 dnů, onemocnění obrnové, zatím co v normální, kvasící močůvce, byl při stejné teplotě a za tutéž dobu (20–25 dní) již usmrcen, neboť obranu nevyvolal. Z toho vyvozujeme, že hlavní devitalizační účinek na obrnový virus nutno přičítati fermentaci podmíněné četnou mikroflorou jakož i různým thermolabilním látkám, kterých ve sterilní moči není.

Souhrn

Studiem o době a podmínkách, za kterých dochází k zániku viru infekční obrny vepřů (Kloboukovy nemoci) v rozkládající se moči a hnojůvce za průměrné teploty letní (25° C) a za průměrné teploty zimní (9° C), jsme došli k těmto závěrům:

1. Devitalisace obrnového viru v kvasící močůvce za letní teploty (25° C) prokázána 10. den fermentačního pochodu.

2. V rozkládající se močůvce za chladného období (průměrně 9° C), zanikl virus za 25 dní.

3. Časové rozdíly jsou závislé na teplotě a jsou důkazem vyšší dynamiky mikrobiálních kvasných pochodů v urinu za vyšší (letní) teploty.

4. Že v kontrolní moči, sterilisované varem, nezahynul obrnový virus při teplotě 25° C ani za 15 dní a při teplotě 9° C ani za 30 dnů, je důkazem, že devitalisaci tohoto viru v kvasící močůvce podmiňují převážně její složky termolabilní, které jsou při běžném kvasném pochodu vždy přítomny.

Literatura

1. Andrejev P. N.: Nakažlivé nemoci prasat 1951, str. 244-55. — 2. Bauman R.: Auftreten der Encephalomyelitis enzootica suum in Österreich (Wiener tztl. Monatschr. 1939, str. 1). — Eine Beobachtung über die Schweinelähme (Wiener tztl. Monatschr. 1939, str. 641). — 3. Brauner P.: Studie bakteriálního antagonismu vůči viru infekční obrny prasat (dis. Brno 1953). — 4. Borkovec M.: K otázce zániku Salmonell ve hnoji a močůvce procesem biologickým (dis. Brno 1951). — 5. Cobej J.: Exper. štúdia serolog. reakcií pri infekčnej obrne ošipaných (dis. Brno 1947). — 6. Dobberstein J.: Histopathologie des Zentralnervensystems bei der Poliomyelitis des Schweines (Zeitschr. für Infektionskr. u. paras. Kr. u. Hyg. der Haustiere Bd. 59/1943, s. 54). — 7. Dvořáček L.: Problém infikovaných odpad. hmot z velko-družbežárén (dis. Brno 1952). — 8. Doskočil: Vliv teploty na vegetaci bakt. tyfových ve vodě za přítomnosti některých jiných bakterií (Čas. čs. lék. roč. 1931, str. 1731). — 9. Fortner J.: Experimentelle Untersuchungen über die ansteckende Schweinelähme (Zeitschr. f. Infektionskr. u. paras. Kr. u. Hyg. der Haustiere, Bd. 59/1943, s. 81-123). — 10. Harnach R.: Sterilisace zoopathogenních zárodků a zvláště spor anthraxových ve hnoji a urinu fermentací a samozahřátím (Spisy vys. šk. zvěr. r. 1937, sv. 14). — 11. Harnach R.: Zvěrolék. obzor č. 24, 1938, str. 445, Čas. čs. veterinářů 1950, č. 1. — 12. Harnach R.: Badania virusologiczne na grypa prosiat i choroba Klobouka (Medycina weterynaryna 1950, nr. 11, str. 653-6). — 13. Harnach R. - Černovský J.: Studie o zániku vřvy Kloboukovy nemoci v odpadních hmotách pochodem fermentačním (předneseno na VII. sjezdu čs. mikrobiologů v Brně, září 1952). — 14. Hruška K.: Nakažlivá obrna vepřů a fibrosní zánět seros a kloubů selat (Zvěrolék. rozpravy XII. 1938, str. 37-49). — Experimentální práce o aktivní imunisaci proti obrně vepřů adsorbátovou vakcínou a vakcínou krystalvioletovou (Čas. čs. vet. 1950, str. 239). — 15. Jahn E.: Ausscheidung von Bakterien durch den Harn und die bakterizide Wirkung desselben (Ztblt. f. Bakt., Orig. 1910, Bd. 55). — 16. Klobouk A.: Zvěrolék. obzor 1931, str. 436, 460, 477. Zvěrolék. rozpravy 1933, str. 85, 97, 121, 133, 145, 157, 169, 181, 205, 217, 229, 246, 252, 256). — 17. Kment A.: Zur Histopathologie des Zentralnervensystems bei der Teschener Schweinelähmung (Wiener tierärztl. Monatschr. 1940, str. 83, str. 102). — 18. Košťanský K.: Věstník II. sjezdu vet. čs. 1936, str. 163. Čas. čs. veterinářů 1948, č. 4. — 19. Lázníčka Fr.: Příspěvek k biologické sterilisaci vepř. hnoje při salmonell. enzootiích (dis. Brno 1952). — 20. Marcin J.: Štúdia o kolovaní a dokazu viru inf. obrny vepřov v svalstvu, krvi a perif. nervstvu (dis. Brno 1951). — 21. Mohr a Werner: Weitere Untersuchung über direkten Bakterienantagonismus innerhalb der gleichen Arten (Arch. f. Hygiene Nr. 111). — 22. Muromcev: Filtrovatelné formy mikroorganismů a ultraviry (Sovětská věda, biologie, 1951, č. 6). — 23. Pokorný V.: Čas. čs. veterinářů 1947, č. 13-14, č. 17. — 24. Pospíchal M.: Studie o experimentálním průkazu viru inf. obrny vepřů v krvi, moči a stolici nemocných vepřů (dis. Brno 19). — 25. Patočka F., Kubelka V., Slavík K., Boháč J.: O některých biologických vlastnostech viru Encephalomyelitis enzootica suis (Věstník čs. akademie zemědělské 1951, č. 10, str. 461). — 26. Skrjabin K. J. a Šapiro A.: Veterinarnyj encik. slovar (Moskva 1950). — 27. Šima O.: Srovnávací studie histopathologických změn mozko-míšních při nakažl. obrně a chřípce vepřů (dis. Brno 1950). — 28. Šubladzová. Gajdamovičová: Praktická virologie 1951. — 29. Trefný L.: Hromadné onemocnění vepřů na Těšínsku (Zvěrol. obzor 1930, str. 235). — 30. Traub E.: Die ansteckende Schweinelähme im Vergleich mit der Pseudowut und Schweinepest (Tierärztl. Rundschau 1941, Nr. 10). — 31. Vacek T.: Srovnávací fyziologie dom. zvířat (Brno 1937). — 32. Weidlich N.: Berliner und Münchner tierärztl. Wochenschrift (1939, I, str. 549). — 33. Wirth-Dierenhofer: Lehrbuch der inneren Krankheiten der Haustiere (Stuttgart 1943). — 34. Prinz a Glaser: Über bakteriefeindliche Wirksamkeit von Fermente (Ztblt. für Bakt., Ref. 102). — 35. Sven Gard: Archiv für die gesamte Virusforschung 1951, str. 249.

Изучение биологической девитализации вируса инфекционного энцефаломиелита свиней в моче и навозной жиже

В результате изучения сроков и условий, при которых погибает вирус инфекционного энцефаломиелита свиней (болезни Клобоука) в разлагающейся моче и навозной жиже при средней летней температуре (25 °C) и средней зимней температуре 9 °C, пришли к следующим заключениям:

1. Девитализация вируса инфекционного энцефаломиелита в квасящейся навозной жиже при летней температуре (25 °C) доказана на 10 день ферментационного процесса.

2. В разлагающейся навозной жиже в холодный период времени (средняя температура 9 °C) вирус погибал в течение 25 дней.

3. Различные сроки зависят от температуры и служат доказательством более высокой динамики микробных процессов квашения в урине при более высоких летних температурах.

4. То обстоятельство, что в контрольной моче, стерилизованной кипячением не погиб вирус инфекционного энцефаломиелита при температуре 25 °C в течение 15 дней, а при температуре 9 °C даже в течение 30 дней, является доказательством того, что девитализация этого вируса в квасящейся навозной жиже обуславливается главным образом ее термолabileльными составными частями, которые всегда присутствуют при нормальном процессе квашения.

Study of Biological Devitalization of Virus of Infectious Paralysis of Hogs in Urine and Liquid Manure

When studying the time and other conditions under which the virus of infectious paralysis of hogs (Klobouk's Disease) disappears in decomposing urine and liquid manure at average summer temperature (25° C) and average winter temperature (9° C), we came to the following conclusions:

1. Devitalization of the paralysis virus in fermenting liquid manure at summer temperature (25° C) appeared on the 10th day of the fermentation process.

2. In decomposing liquid manure in the cold period (average 9° C) the virus disappeared after 25 days.

3. The differences in time are dependent on the temperature and are evidence of the higher dynamics of microbial fermenting processes in the urine at higher summer temperatures.

4. The fact that in the control urine, sterilized by steam, the paralysis virus did not disappear at a temperature of 25° C even after 15 days, nor at a temperature of 9° C after 30 days proves that the devitalization of this virus in fermenting liquid manure is conditioned overwhelmingly by the thermolabile elements in it, which are always present during ordinary fermenting processes.

Eine Studie über biologische Devitalisation des Virus der ansteckenden Schweinelähme im Harn und in der Jauche

Ein Studium über die Zeit und Bedingungen, unter welchen der Virus der ansteckenden Schweinelähme (Klobouk's Krankheit) in dem sich zersetzenden Harn und Jauche verfällt, u. zw. bei einer durchschnittlichen Sommertemperatur (25° C) und einer durchschnittlichen Wintertemperatur (9° C), zeigte folgende Ergebnisse:

1. Die Devitalisation des Schweinelähmavirus in gärender Jauche bei Sommertemperatur (25° C) wurde am 10. Tag des Fermentationsprozesses bewiesen.

2. In der sich zersetzenden Jauche zur kühlen Jahreszeit (Durchschnitt 9° C) verfiel der Virus in 25 Tagen.

3. Die Zeitunterschiede sind von der Temperatur abhängig und sind ein Beweis höherer Dynamik der mikrobiellen Gärungsprozesse im Urin bei höherer Sommertemperatur.

4. Die Tatsache, daß in dem durch Abkochen sterilisierten Kontrollharn der Schweinelähmavirus bei einer Temperatur von 25° C nicht einmal nach 15 Tagen und bei 9° C nicht einmal nach 30 Tagen verfiel, ist ein Beweis davon, daß die Devitalisation dieses Virus vorwiegend die thermolabilen Bestandteile der gärenden Jauche (die beim geläufigen Gärungsprozess immer anwesend sind) bedingen.

Příspěvek k jaterním zkouškám u koní

К вопросу об исследовании печени у лошадей

Notes on Liver Tests for Horses

Ein Beitrag zu den Leberprüfungen bei den Pferden

Lubomír ŠLESINGR

I. interní klinika veterinární fakulty v Brně, přednosta prof. MVDr K. Šobra

Došlo dne 15. 9. 1956

I. Úvod

Jedním z důležitých ukazatelů zdravotního stavu zvířat je krevní vyšetření. Morfologické vyšetření krve, jak je známo, bylo zavedeno do veterinární medicíny společně s krevní sedimentací před několika desetiletími. Průkopníkem v rozboru krevního sera u koní se stal v 30. letech svou rozsáhlou prací L u y (1). Postupem času byly zjištěny úchyly ve složení lidského sera krevního od ser některých domácích zvířat. Tak bylo zjištěno, že poměr krevních bílkovin se liší na př. u koně v porovnání s člověkem ve vyšším % globulinů (J a n s s e n cit. P a l o u n e k, 2), (Z i c h a, O p p l t, 3). Další některé rozdíly ve složení mezi koňským a lidským serem vysvětlují z prací L u y e (1), O p p l t a Z i c h y (3), na které pro rozsáhlost odkazujeme.

II. Část literární

A. Všeobecný přehled údajů o krevních bílkovinách se zaměřením k poměrům u koně

Poměr albuminů a globulinů se velmi mění za chorobných stavů v organismu, ovšem nelze přehlížeti rovněž fyziologické výkyvy uvedených bílkovin.

Nežli však přejdeme k fyziologickým a patologickým vlivům, které působí na poměr a změny bílkovin krevních, je nutné si uvědomit rovněž jejich vznik v organismu, z čehož již vyplývá složitost při odhalování chorob pomocí zkoušek založených na bílkovinných reakcích v seru krevním.

Pokud jde o vznik albuminů uvádějí W u h r m a n n a W u n d e r l y (3), že se tyto tvoří převážně v játrech. Globulinům je určováno místo vzniku vedle

jater rovněž v dřeni kostní a v retikuloendotheliu. Za východiště gama-globulinů se považuje retikuloendoteliální tkáň a dále tkáň lymfoidní. Rovněž nezralé lymfocyty a plasmocyty mohou uvolnit beta- a gama-globulin. Dále pak může být na př. ovlivněno snížení albuminů jednak sníženou jaterní tvorbou nebo ztrátou ledvinami, přeputováním do ascitu a jiných tělních transudátů.

Pro informaci uvedu hned na začátku normální hodnoty albuminů, globulinů a jejich frakcí, jak je dosud zjistili někteří autoři u zdravých koní.

Jméno	% bílkovin	album.	Globuliny		
			alfa	beta	gama
<i>Janssen</i>	7,5	38	10	14	38 asc.
		41	10	15	34 desc.
<i>Luy</i>	8,1	50	celkové globul. 35		
<i>Zicha, Oppl</i>	6,24—8,8	40,5	19,6	19,4	20,5
<i>Neumann—Piskač</i>	7,58	37,4	18,2	18,4	25,8

Z tabulky jsou patrné rozdíly ve zjištění hodnot některých bílkovinných frakcí.

Stöckl (13) uvádí následující poměry bílkovin některých autorů u koně:

Autor	Serum Plasma	Metoda	Album.	Globuliny					
				alfa	alfa	beta	beta	gama	gama
				1	2	1	2	1	2
<i>Wunderly</i>	serum	M. E.	40,9	15,0		15,9	6,4	21,8	
<i>Eggers</i>	serum	P. E.	37,6	4,7	9,3	12,7	6,5	29,0	
<i>Deutsch</i>	plasma	M. E.	29,8	8,2	12,3	21,9		27,0	
<i>Boguth</i>	serum	P. E.	39,4	4,1	12,1	13,3	9,8	21,3	
<i>Edsall</i>	serum	M. E.	32,1	13,8		24,2		29,9	
<i>Witmer</i>	serum	P. E.	38,3	7,5	12,2	22,1		19,8	
<i>Janssen</i>	serum	M. E.	41,0	10,1		15,0		34,0	

M. E. makroelektroforesa. P. E. papírová elektroforesa.

Nestejně hodnoty bílkovin, jak je patrné z tabulek, nespočívají v rozličnosti použitých metod, nýbrž v tom, že průměry jsou vypočítány z malého počtu ser koní a dále rovněž proto, poněvadž nebyl brán zřetel na ošetřování, rasu a stáří jednotlivých koní, kteréžto prvky podmiňují biologické kolísání hladin jednotlivých krevních bílkovin. Podle Stöckla kolísají hladiny albuminů

v seru koně od 36,4 až 41,6, alfa-globulinů od 14,1 do 16,5, beta-globulinů od 19,3 do 21,0, gama-globulinů od 24,2 do 28,0.

Ke změnám poměrů bílkovin může dojít za fyziologického stavu při jednostranném krmení, obzvláště chudém na bílkoviny. Chopard (4) na př. uvádí, že při zkrmování krmiva po delší dobu chudého na bílkoviny klesá % albuminů. Nelze však tvrdit, že by potrava a nápoj pokud se podávají v obvyklých dávkách nějak valně ovlivňovaly krevní bílkoviny co do jejich poměru a množství. Chopard (4), Netoušek (5). Avšak nadměrný příjem tekutin nebo nadměrná ztráta pak může ovlivnit množství bílkovin, neboť jde v důsledku zhoustnutí nebo zředění o změnu množství bílkovin v objemové jednotce.

Z dalších fyziologických vlivů na poměr krevních bílkovin nelze přehlížeti stáří. Garner (cit. Palounek, 2) prokázal u mladých lidí nižší % bílkovin. Podle našeho vyšetření ser 3 hřibat, jednoho 18 hod., druhého 3 hod. a třetího 10 hod. starého, byl zjištěn chemickým ústavem vet. fak. tento bílkovinný poměr:

	I.	II.	III.
Celkové ‰ bílkovin	4,16	5,03	5,25
Proteinový index	8,6	5,4	4,5
Albuminy	53,8	64,7	48,6
Globuliny alfa	15,4	17,9	18,6
beta	11,0	19,3	20,0
gama	19,8	stopy	12,8

Nález tedy potvrzuje snížení hlavně globulinových frakcí u narozených hřibat.

Pokud jde o pohlaví a poměr bílkovin v seru krevním, jsou literární údaje velmi skromné. Pouze Garner (cit. Palounek, 2) uvádí, že hladina celkového proteinu u skotu je stejná u obou pohlaví. U člověka je o něco vyšší procento globulinů u žen nežli u mužů. U koní podobné práce nejsou známy.

Ke změnám v poměru bílkovin sera krevního dochází hlavně za stavů patologických. Dlouhou dobu se přisuzovala hlavní úloha ve změně poměru bílkovin v seru krevním změnám jaterním. Dnes víme, že v tomto směru hrají vedle jater důležitou úlohu rovněž ledviny a tkáň retikuloendotheliální. Tak na př. při nefrosách klesá albumin, mění se obsah globulinů a zmnožuje se fibrinogen (Hořejší, 6). Globulin a fibrinogen se ovšem tvoří vedle jater v dřeni kostní a v retikuloendothelu (Wuhrmann, Wunderly, 7). Při jaterních cirrhosách nastává zmnožení beta a gama-globulinů. Hepatosy, jak prokázal Wiedermann (8) jsou charakterisovány sice zmnožením gama-globulinů, tyto však nejsou imunitní povahy, nýbrž příčinou jejich zmnožení je neschopnost jater odbourávat gama-globulin. K vážným změnám bílkovin krevních dochází rovněž při gastrointestinálních poruchách, jak uvádí Wuhrmann, Wunderly (7) a jak vyplývá z našeho pozorování. Albuminy hrají důležitou úlohu ve vodním hospodářství organismu a dále chrání erythrocyty před haemolysou.

Přihlédneme-li proto k těmto dosud známým údajům o krevních proteinech, vyplývá z nich složitost jejich úkolů ve zdravém organismu a dále změny jejich poměrů za patologických stavů jsou výsledkem dysfunkce ne pouze jater, nýbrž lze říci, celého organismu.

B. Přehled údajů o zkouškách jaterních se zaměřením ke koni

Z několika desítek jaterních zkoušek, které má k dispozici humánní medicína, vyplývá, že doposud nebyla nalezena zkouška, která by bezpečně prokázala jaterní změny. Pro objasnění je nutné přihlédnout k fyziologii jater samých a dále k těm orgánům mimo játra, které se zúčastní na tvorbě a přeměnách krevních bílkovin, jak již bylo nahoře uvedeno.

Z fyziologie jater je třeba podoitknouti, že se všechny jaterní buňky nezúčastní současně své funkce. Jaterní buňky pracují úsekově v tom smyslu, že jedna část na př. v centru lalůčku odpočívá, kdežto buňky na periferii pracují. Velmi důležitá a závažná pro veškeré zkoušky opírající svoje výsledky o změny jaterní je ta okolnost, že pro zachování fyziologického stavu organismu postačí činnost pouze malého úseku, aniž by tím jaterní funkce utrpěla. Odstranění tří čtvrtin nebo dokonce sedmi osmin jaterní tkáně u zvířat je dobře snášeno a rovněž regenerace tkáně jaterní je rychlá a značná (U h e r, 9). Vycházíme-li proto z těchto zásad, lehce pochopíme, že je přímo nemožné najít vhodnou funkční nebo na jiném principu založenou jaterní zkoušku, ve které by se změny tohoto složitého orgánu vhodně odrazily. Na základě těchto poznatků je třeba ustoupit ve veterinární medicíně od důrazu kladeného doposud právě na jaterní testy.

Funkční zkoušky jater lze rozdělití přehledně na zkoušky metabolismu uhlovdanů a bílkovin, testy zjišťující odchýlné složení krevních bílkovin, zkoušky na přeměnu tuků a lipidů, detoxikační zkoušky jaterní funkce, zkoušky na metabolismus vodní, metabolismus vitaminů, určování fermentů, určování fyzikálních a fyzikálně chemických faktorů, vyšetřování zevní sekrece jater, vyšetřování žlučových barviv a kyselin, vyšetřování moče a stolice.

Z uvedených zkoušek se většina autorů zaměřila na testy zjišťující odchýlné složení krevních bílkovin. V tomto směru je nutno citovati ve veterinární medicíně práci D o m a n s k é h o (10), která řeší některé zákalové reakce použité u koní.

Autor použil především modifikace zkoušky G r o s o v y. Podářilo se mu zařadit výsledky podle počtu kapek H a y e m o v a roztoku do 3 pásem. Do pásma prvního, to jest od 1—10 kapek, počítá koně s těžkými zánětlivými změnami. Do druhého pásma o 30—60 kapkách řadí koně zdravé. Do třetího pásma zahrnuje koně s chronickými chorobami i koně zdravé. Reakce není specifická. Autor přezkoušel rovněž reakci T a k a t a - A r a, ovšem s negativním výsledkem pro použití této zkoušky u koní. Dále prokázal, že reakce F u l t o n o v a neprobíhá závisle na zkoušce Grosově.

Bílkovinnými zkouškami se dále zabýval u koní Z i c h a a O p p l t (3). Přezkoušeli reakci Takatovu v úpravě M a n c k e - S o m m e r o v ě s výsledkem vždy kladným u zdravých koní. Reakce kadmiová vyšla autorům vždy negativně, rovněž jako zkouška Grosova. W e l l m a n n o v a reakce měla roz-

pětí od 0,3—0,6 a od 5—8,75. Zkouška thymolová v rozpětí 1,0—2,3. Zkouška kefalin-cholesterová byla vždy pozitivní. Zkouška Hejdoва, jakož i zkouška na euglobulin a formol-gel test byla vždy negativní. Rovněž acid-alkali test byl negativní u všech 25 koní. Reakce Brdičkova probíhala ve vyšších hodnotách, u šesti koní však bez hodnot. Této zkoušky použil rovněž Bártík (11) u koně s rakovinou a hodnotí ji jako cennou zkoušku k průkazu rakoviny u domácích zvířat.

III. Část experimentální

Naše pokusy s některými flokulačními zkouškami v seru koní

V poslední době jsme přezkoušeli některé flokulační reakce se serem koní zdravých, koní hladových, koní po nakrmení a napojení, koní s interními chorobami a koní s chorobami chirurgickými. Volili jsme zkoušky jednoduché a rychlé s účelem zavedení těchto k běžné klinické potřebě. Za tímto účelem jsme provedli šetření zkouškou Grosovou, zkouškou Domanského, reakci kadmiovou, dále jsme zavedli současně reakci s 0,4 ccm sera a Hayemovým roztokem po kapkách a konečně ředění sera destilovanou vodou aritmetickou řadou v 10 zkumavkách s přidáním Lugolova roztoku. Uvedené zkoušky byly sledovány souběžně u 75 koní. Z toho bylo 19 zdravých, 36 nemocných vnitřními chorobami, 12 nemocných chirurgickými chorobami, 4 po 16hodinové hladovce a 4 koně, u nichž byla krev odebrána za dvě hodiny po nakrmení a napojení.

Metodika

Krev byla vždy odebrána za běžných kautel z *vena jugularis* do 40 ccm zkumavky a ponechána v chladnější místnosti k vytlačení sera. Serum bylo druhý den slito a ihned použito k provedení uvedených reakcí.

Ke zkoušce Grosově jsme použili 1 ccm sera, k němuž jsme přikapávali ve stejných časových intervalech a vždy stejnou pipetou Hayemův roztok s 0,5 % obsahem $NaCl$. U většiny ser jsme nepozorovali reversibilní zákal při reakci. Proto všechny uvedené hodnoty udávají počátečný mírný zákal, ale irreversibilní. Tento způsob jsme volili proto, poněvadž většina ser jevila zákal po jednorázovém přidání 2,5 ccm Hayemova roztoku a dále proto, poněvadž jsme jí chtěli využít jako současné kontroly ostatních zkoušek.

Zkoušku Domanského jsme prováděli podle autora jak ji zveřejnil ve Sborníku VŠZ v roce 1952. To jest do zkumavky jsme napipetovali 0,4 ccm sera a 0,6 destilované vody a k takto zředěnému seru jsme přikapávali H. R. v přesných časových intervalech.

Zkouška kadmiová byla provedena s $CdSO_4$ v 0,4 % roztoku. Čtyři kapky roztoku síranu kademnatého byly rychle po sobě vkápnuty do zkumavky s 0,4 ccm sera. Výsledek byl odečítán po 10 minutách.

Dále jsme si zvolili dvě zkoušky dosud nepopsané, a to s 0,4 ccm sera a Hayemovým roztokem vkapávaným ve stejných časových odstupech po kapkách, podobně jako u zkoušky Domanského.

Poslední zkouška spočívala v ředění sera v množství 0,2 ccm s destilovanou vodou v deseti zkumavkách, do nichž bylo předem napipetováno 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1 ccm H_2O . Po protřepání bylo přidáno do každé zkumavky po dvou kapkách Lugolova roztoku.

Výsledky všech těchto popsanych zkoušek jsou patrný v následujících přehledných tabulkách.

Tab. 1. Zdraví koně — pokusní

Табл. 1. Здоровые лошади — подопытные

Table 1. Healthy horses — experimental group

Tab. 1. Gesunde Versuchspferde

Č. p.	Stáří r.	Gros	Domanský	0,4 sera, H. R.	Kadmium
		Hayemův roztok po kapkách			
1	4	45	18	19	posit.
2	9	61	38	39	posit.
3	11	62	37	37	posit.
4	7	47	19	21	posit.
5	3	44	18	19	posit.
6	hřibě 3 hod. staré	negat.	negat.	negat.	negat.
7	1	62	30	31	posit.
8	10	49	19	24	posit.
9	9	59	27	26	posit.
10	11	52	21	22	posit.
11	6	36	10	12	posit.
12	8	45	14	15	posit.
13	12	27	11	11	posit.
14	10	37	13	14	posit.
15	hřibě 18 h. staré	negat.	negat.	negat.	negat.
16	1	89	43	49	posit.
17	1	69	26	33	posit.
18	9	47	14	12	posit. (opalesc.)
19	3	40	18	20	posit.

Tab. 2. Koně zdraví — hladoví a žíznicí

Табл. 2. Лошади здоровые — голодные и страдающие от жажды

Table 2. Healthy horses — hungry and thirsty

Tab. 2. Gesunde hungernde und durstige Pferde

Č. p.	Stáří r.	Gros	Domanský	0,4 sera, H. R.	Kadmium
		Hayemův roztok po kapkách			
95	1	43	17	20	posit.
172	9	44	16	12	opalesc. do 10 min.
319	3	41	18	21	posit.
597	1	69	26	33	opalesc. do 3 min.

Tab. 3. Koně zdraví — 2 hod. po nakrmení a napojení
 Табл. 3. Лошади здоровые — 2 часа после кормления и напоявания
 Table 3. Healthy horses — two hours after feeding and watering
 Tab. 3. Gesunde Pferde — 2 Stunden nach dem Füttern und Tränken

Č. p.	Stáří r.	Gros	Domanský	0,4 sera, H. R.	Kadmium
		Hayemův roztok po kapkách			
95	1	41	16	19	posit.
172	9	47	14	12	opalesc. do 8 min.
319	3	40	18	20	posit.
597	1	69	24	33	opalesc. do 30 vteř.

Tab. 4. Koně nemocní vnitř. chorobami
 Табл. 4. Лошади страдающие внутренними болезнями
 Table 4. Horses ill with internal diseases
 Tab. 4. Durch innere Krankheiten betroffene Pferde

Č. p.	Diagnosa	Gros	Domanský	0,4 sera, H. R.	Kadmium
		Hayemův roztok po kapkách			
118	Hepatitis susp.	53	12	14	+
129	Intoxikace	28	8	10	+
129	Intoxikace 3. den choroby	72	24	26	+
130	Hepatitis	42	14	15	+
186	Obstipatio colon. min.	7	2	3	+
95	Pneumonia ex asp.				
	4. den choroby	22	8	8	+
185	Myasthenia	46	17	19	+
177	Pneumonia ex asp.	18	8	9	+
P	Retentio sec.	55	28	30	+
130	Dilatatio ventr.	58	16	16	+
122	Pleuritis exudat.	12	5	6	+
79	Myoglobinuria	32	13	14	+
152	Jankovitost	53	24	24	+
P	Indigesce	44	15	16	+
785	Hepatitis	45	15	16	+
768	Obstipace	53	13	15	+
568	I. A.	35	8	9	+
781	Enteritis ac.	30	8	8	+
48	Emphysema pulm.	49	15	15	+
711	Myasthenia	35	12	12	+
846	Tetanus	61	18	19	+
703	Hepatitis	32	11	12	+
792	Hepatitis	53	17	17	+
P	Enteritis ac.	23	10	11	+
P	Enteritis ac.	31	10	12	+
5	Hepatitis susp.	45	14	15	+
1	Hepatitis	64	18	19	±
39	Indigesce	55	13	15	+
605	Emphysema p.	33	12	13	+
19	Bronchitis chr.	39	13	14	+
710	Hepatitis susp.	40	12	13	+
CH	Enteritis ac.	33	10	11	+
95	Pneumonia ex asp.				
	10. den	14	6	6	+
130	Hepatitis rekonval.	33	15	15	+
196	Tetanus	41	13	17	+
199	Anaemie	26	8	10	+

Tab. 5. Koně s chirurgickými změnami
 Табл. 5. Лошади с хирургическими изменениями
 Table 5. Horses with surgical changes
 Tab. 5. Pferde mit chirurgischen Veränderungen

Č. p.	Diagnosa	Gros	Doman.	0,4 sera, H. R.	Kadmium
		Hayemův roztok po kapkách			
148	<i>Arthritis purul.</i>	43	11	13	posit.
224/144	<i>Pišťel. chr. k.</i>	29	10	11	posit.
68/35	<i>Zhmoždění mtt.</i>	31	11	13	posit.
161/107	<i>Vulnus clopet.</i>	24	7	8	posit.
163	<i>Kastrát</i>	40	13	13	posit.
210/132	<i>Absces</i>	22	5	5	posit.
239/153	<i>Kopná rána</i>	65	24	26	posit.
164/109	<i>Rána kl. ram.</i>	34	11	12	posit.
195/127	<i>Arthr. purul.</i>	29	10	11	posit.
165/110	<i>Plastika</i>	49	21	26	posit.
227/143	<i>Tenotomie</i>	29	12	15	posit.
275/174	<i>Rakovina kopytní</i>	68	31	36	posit.

Tab. 6. Zkouška s Lugolovým roztokem
 Табл. 6. Испытание с раствором Люголя
 Table 6. Test with Lugol solution
 Tab. 6. Prüfung mit Lugols Jodlösung

Č. p.	Diagnosa	Zkumavka se zákaem	Zbarvení	Poznámka
146	<i>Zdráv</i>	4	bezbarvá	slabá reakce
149	<i>Zdráv</i>	4	bezbarvá	slabá reakce
319	<i>Zdráv</i>	4	nažloutlá	slabá reakce
6	<i>Hřibě 3 hod. po narození</i>	—	nažloutlá	žádná reakce
195	<i>Arthritis purul.</i>	5	nažloutlá	slabá reakce
164	<i>Rána kloubu ramenního</i>	4	bezbarvá	slabá reakce
239	<i>Kopná rána</i>	3	nažloutlá	silná reakce
210	<i>Arthritis absced.</i>	5	nažloutlá	slabá reakce
163	<i>Kastrát</i>	2	nažloutlá	silná reakce
161	<i>Vulnus clopet.</i>	4	bezbarvá	slabá reakce
62	<i>Zhmoždění</i>	3	bezbarvá	silná reakce
224	<i>Pišťel chr. kopyt.</i>	3	bezbarvá	silná reakce
148	<i>Arthritis purul.</i>	3	nažloutlá	silná reakce
130	<i>Obstipace</i>	4	nažloutlá	silná reakce
95	<i>Pneumonia</i>	3	nažloutlá	silná reakce
710	<i>Hepatitis</i>	4	nažloutlá	slabá reakce
605	<i>Emphysema alv. chr.</i>	4	bezbarvá	slabá reakce
19	<i>Bronchitis chron.</i>	3	nažloutlá	slabá reakce
48	<i>Emphysema pulm.</i>	4	nažloutlá	silná reakce
152	<i>Ňankovitost</i>	3	nažloutlá	silná reakce
79	<i>Myoglobinuurie</i>	4	nažloutlá	slabá reakce
122	<i>Pleuritis exud.</i>	4	nažloutlá	silná reakce
185	<i>Myasthenia</i>	3	nažloutlá	silná reakce
130	<i>Hepatitis</i>	4	nažloutlá	slabá reakce

Zkouška, kterou zavádíme, se od zkoušky Domanského liší ve výsledku pouze o několik málo kapek. Je velmi rychlá, neboť odpadá jedno pipetování. Podle dosavadních našich zkušeností hodnotíme zkoušku Domanského pro rychlou orientaci velmi kladně a lze tuto se zkouškou naší vhodně využít v laboratorii klinik nebo nemocnic.

Flokulačními zkouškami se nám nepodařilo dosáhnout zákalů u ser hříbat, u nichž byly hodnoty globulinů nižší nežli u starších zdravých koní. Pro nedostatek literárních údajů nelze tyto hodnoty porovnat.

Souhrn

Jaterní zkoušky u koní ve veterinární medicíně jsou dodnes kapitolou málo zpracovanou. Poněvadž jde o jiné poměry bílkovin a ostatní doposud známé faktory nežli v seru člověka, je nutné, aby jaterní testy z humánní medicíny nebyly pouze přejímány, ale aby byly modifikovány, po př. zcela nově vybudovány. V tomto směru lze pokládati zkoušku Domanského za velmi platnou.

V práci jsme porovnali 5 flokulačních zkoušek celkem na 75 koních, mezi nimiž jsou zahrnuty koně zdraví, nemocní a hladoví. Celkem bylo provedeno 324 souběžných reakcí. Bylo zjištěno, že zkoušky s Hayemovým roztokem jsou na sobě do určité míry závislé. Nejsou však specifické. Zkouška kadmiová vycházela u našich koní vždy pozitivně a nelze ji doporučit pro sera koní. Výsledky se zkouškou Domanského až na menší úchytky odpovídají výsledkům autora této zkoušky. Touto prací zavádíme zcela jednoduchou zkoušku upotřebitelnou při flokulaci koňského sera Hayemovým roztokem. Její výsledky jsou přibližně stejné jako u zkoušky Domanského. Výsledky této zkoušky jsou následovné: Rozpětí spotřebovaných kapek H. R. u zdravých koní činí 11–49 kapek. Koně s těžkými zánětlivými změnami reagovali při třech až devíti kapkách (č. p. 186, 95, 177, 122, 568, 781, 95b, 161/107, 210/132). Ostatní pacienti jak vyplývá z tabulek od 10–26 kapek. Je tudíž zřejmé, že pásmem nemocných koní se prolíná pásmo koní zdravých až po počet kapek 26. Tyto rozdíly v pásmech mezi našimi výsledky a výsledky Domanského, jehož pásmo zdravých koní sahá od 30–60, lze vysvětlit zhoršením kondice zdravých koní, neboť tito jinak žádných úchylek na zdravotním stavu nejevili. Rozdíly ve výsledcích zkoušky Domanského a zkoušky naší jsou pouze nepatrné a proto věc neobjasní.

Zkouška s Lugolovým roztokem je zdlouhavá a méně výrazná. Nelze ji proto pro koňská sera k flokulaci upotřebit. U 2 ser velmi mladých tříbat vyzněly uvedené zkoušky negativně.

Jak je patrné z tabulek neovlivňuje nijak krmení a napájení v obvyklých dávkách uvedené reakce. Z tabulek nemocných koní pak odpovídá nízký počet kapek H. R. vážnosti choroby pacientů. Poměrně vyšší počet kapek H. R. při dystrofických změnách jaterních je možno vysvětliti přítomností většího procenta bilirubinu, který je vázán na albumin (Wuhrmann, Wunderly) a tím je ovlivněno procento globulinů, nebo také tím, že žlučová barviva brzdí flokulaci.

IV. Hodnocení a diskuse

A. Posouzení jednotlivých zkoušek

Zkouška kadmiová byla u všech našich koní, ať zdravých (nejevili žádných klinických úchylek ve zdravotním stavu) nebo nemocných, vždy pozitivní. Zákal, který nastal ihned nebo do 10 minut, byl různého stupně. Tato zkouška se podle našich zkušeností nehodí pro koňská sera. Zkouška vyžaduje naprosté čistoty sera. Výjimku tvoří mladá hříbata a ikterické stavy.

Zředovací zkouška s Lugolovým roztokem nebyla dosti výrazná. Většinou se zastavovala na 3. až 5. zkumavce s rozmanitým množstvím sražených bílkovin, posuzováno vždy po 12 hodinách. Pro málo výrazné výsledky se tato zkouška k diagnostice nehodí.

Zkouška Grosova, Domanského a zkouška s 0,4 ccm sera a H. R. jsou do určité míry na sobě závislé, pokud se týká spotřebovaného počtu kapek H. R. Nejvíce kapek bylo třeba u zkoušky Grosovy. D o m a n s k ý (10) přizpůsobením zredukoval počet kapek na možné minimum a tím celý proces zkoušky urychlil. Obě poslední zkoušky, t. j. Domanského a naše velmi jednoduchá zkouška se liší jen nepatrně od sebe co do výsledku v počtu kapek použitého H. R. Spotřebují minimální množství sera, které se však nezakalí po přidání jedné kapky H. R. i u chorob koní s velmi vážnými poruchami celkového stavu.

Obě zkoušky lze hodnotit jako velmi cenné, neboť vedle naprosté jednoduchosti informují o zmnožení hrubě dispersních beta- a gama- globulinech, které v přítomnosti sublimátu ztrácejí svůj náboj a precipitují. Na základě dnešních poznatků o tvorbě bílkovinných frakcí a jaterní funkce, nejsou tyto zkoušky specifické. Ovšem lze předpokládat, že srovnávací materiál by umožnil specifikaci některých chorob koní těmito zkouškami.

B. Zhodnocení zkoušek vzhledem k našim výsledkům a literárním údajům

Hodnotíme-li kadmiovou zkoušku s výsledky Z i c h o v ý m i a O p p l t o v ý m i (3) rozcházejí se tyto zcela, neboť u našich zdravých koní (šlo o koně klinické a koně z terénu, většina z nich byla špatného výživného stavu) vyzněla tato zkouška vždy pozitivně až na dvě v tabulkách uvedená hříbata, u nichž byla negativní. W u n d e r l y a L e e m a n n (12) uvádějí, že k vytvoření zákalu u zdravých koní bylo třeba 8–10 kapek Cd-reagens, u nemocných 3–6, u rekonvalescentů 7–9.

Pokud jde o zkoušku Domanského, vycházela nám tato u zdravých koní v nižších hodnotách nežli autor uvádí. Víme však, jak z uvedeného vyplývá, že bílkoviny v seru krevním jsou závislé na mnoha faktorech. Tudíž lze tyto velké rozdíly připustit. Přesto však koně č. p. 11, 13, 14, 12, 18 se blíží co do počtu spotřebovaných kapek Hayemova roztoku hranici koní s vážnými zdravotními změnami. Dva z nich č. p. 11 a 13 jsou pokusní koně kliničtí, kteří však nejeví jako ostatní 3 žádných zjištělých úchylek zdravotního stavu.

Využití práce pro praxi

Zkouška Domanského a zkouška s 0,4 ccm sera a H. R. jsou snadno proveditelné v laboratorních klinik, nemocnic, vet. ošetřoven i v běžné praxi veterinářů v terénu. Zkoušky informují o změnách bílkovin v seru krevním a jsou důležitou pomůckou pro posouzení vážnosti zdravotního stavu koní.

Závěr

V práci jsou zhodnoceny dosavadní výsledky flokulačních zkoušek v seru koní. V přehledných tabulkách podává autor vlastní výsledky, poukazuje na platnost zkoušky Domanského a zavádí jednoduchou zkoušku s Hayemovým roztokem pro použití k flokulaci se sery koní.

Literatura

1. Luy: Chemische u. pathol. Untersuchungen des Blutes des Pferdes. 1930. —
2. Palounek: Použití thymolové zákalové reakce a Grosovy zkoušky při klinickém zhodnocení u skotu. Dipl. Brno 1955. —
3. Zicha, Oppl: Hodnoty klinicko-biochemických důležitých látek v seru krevním u koní. Veterinářský č. 4, 1954. —
4. Chopard: Schw. A. f. Thk., H5, 1954. —
5. Netoušek: Nauka o krvi, Praha 1951. —
6. Hořejší: Choroby jater, Praha 1947. —
7. Wuhrmann, Wunderly: Die Bluteiweißkörper des Menschen. Basel 1947. —
8. Wiedermann: Klinický význam elektroforesy na filtračním papíře. Lékař. listy, r. VII, 1952. —
9. Uher: Funkční pathologie, Brno 1948. —
10. Domanský: Zákalové reakce ve vet. med., Sborník VŠZ 1952. —
11. Bártík: Možnost využití polarografie vo veterinárnej, klinickej a laboratornej diagnostike. Veterinárství č. 2, 1955. —
12. Wunderly, Leemann: Über neue klinisch-chemische Untersuchungsergebnisse an Pferdeblut. Schw. A. f. Thk., s. 181, 1946. —
13. Stöckl: Elektrophoretische Serumuntersuchungen bei Haustieren unter normalen Bedingungen und nach Antigenzufuhr. W. t. M., No. 4, s. 226, 1956.

К вопросу об исследовании печени у лошадей

В работе приводится оценка результатов до сих пор произведенных флокуляционных исследований в сыворотке лошадей. В хорошо составленных, ясных таблицах автор представляет результаты собственных исследований, обращая внимание на положительные результаты испытаний по системе Доманского и предлагает простое исследование с раствором Гаема для флокуляции с сыворотками лошадей.

Notes on Liver Tests for Horses

The study evaluates the results to date of flocculation tests in serum of horses. The summary tables give the author's results, show the validity of the Domanský test and introduce a simple test with Hayem solution for use in flocculation with serum of horses.

Ein Beitrag zu den Leberprüfungen bei den Pferden

In der Arbeit sind die bisherigen Resultate der Flokulations-Reaktion im Serum der Pferde ausgewertet. Auf übersichtlichen Tabellen führt der Autor eigene Resultate an, weist auf die Gültigkeit der Domansky-Reaktion hin und führt eine einfache Reaktion mit der Hayemschen Lösung für den Gebrauch zur Flokulation mit dem Pferdeserum ein.

Výzkum některých hygienických závad a mikrobijské nálezy v pitných vodách zemědělských podniků

Исследование некоторых санитарных недостатков и микробиологические
результаты анализов питьевой воды в сельскохозяйственных предприятиях

Research of some Hygienical Defects, and the Microbial Findings in Potable Waters
of the Agricultural Enterprises

Durchforschung einiger hygienischer Beanstandigungen und Mikrobenfunde in den
Trinkwässern landwirtschaftlicher Betriebe

MVDr L. BORKOVEC

*Z ústavu mikrobiologie a imunologie Veterinární fakulty Vys. školy zemědělství a les-
nictví v Brně, přednosta prof. dr. R. Harnach*

Došlo dne 20. IX. 1956

Úvod

S vědeckým posuzováním pitných vod se počalo asi před 60 lety. Byla stanovena t. zv. hraniční čísla přípustného množství různých součástí v pitné vodě (Schulze, Almén, Reichardt), které později zdokonalil Tiemann a Gärtner. Brzy na to pak Koch a Flügge (7) obrátili pozornost k bakteriologickému stavu vody a k počtu zárodků v pitné vodě. Byly vypracovány metody bakteriologického vyšetřování vody ke stanovení počtu zárodků v 1 *ccm* vody a mikrobiologové připisovali bakteriologickému rozboru hlavní význam, označující chemický rozbor za podřízený a dokonce bezvýznamný. Dnes však víme, že ke správnému posouzení vody nestačí pouze rozbor bakteriologický, ani jen fyzikálně chemický, nýbrž že se mají oba nálezy navzájem doplňovat.

Čistá spodní voda studniční nebo pramenitá je nejlepší pitnou vodou a není-li nijak znečištěna, nevyžaduje s hlediska hygienického žádné zlepšování. Půda, kterou voda do spodiny prosakuje, účinkuje totiž jako filtr a zadržuje nejen rozptýlené látky, ale i bakterie. Při prostupu půdou rozpouští voda různé rozpustné látky a podle vrstev, kterými prosakuje, vykazuje pak různé chemické složení.

Nejčistší voda, obsahující nejméně rozpuštěných látek, přichází z vrstev prahorních, nejtvrďší voda, obsahující mnoho rozpuštěných látek vápenatých, se nalézá ve vrstvách útvaru silurského a křídového.

Voda pitná má vykazovat přiměřenou tvrdost a většina autorů udává průměrnou tvrdost pro zvířata i lidi, pohybující se mezi 10–20° něm. [Harnach (11), Van Es (38), Šíma (35), Suckling (34), Clark]. Pou-

ze zcela málo autorů připouští tvrdost nad 30° něm. Správná tvrdost dodává vodě plnou, dobrou chuť. Vedle toho se dostává tělu v přiměřeně tvrdé vodě vápno, potřebné k vývinu kostí. Podle Berghemia podporuje tvrdá voda zažívání. Voda nad 25° něm. vykazuje již nepříjemnou vápenitou příchutí a nejvyšší přípustné hranice tvrdosti pitné vody se udává 50° něm. Voda o vyšší tvrdosti než 50° něm. má tak ostrou vápenitou příchutí, že se k pití nehodí. Spíše však snáší organismus vodu o vysoké tvrdosti uhličitánové, nežli velmi tvrdou vodu, bohatou na síran vápenatý a hořečnatý. Hořečnatá součást totiž snadno vyvolává u dětí a slabších organismů průjem, pokud si ovšem organismus stálým pitím stejné vody na ni nenavykl. Jinou hygienickou závadou bývá nález amoniaku, který podle Šímy (35) svědčí o špatné filtraci v povrchových vrstvách, takže vlivem této špatné absorpční schopnosti mohl proniknout do spodní vody. Přítomnost čpavku pocházejícího z organických látek dusíkatých nasvědčuje tedy závadnému znečištění vody fekáliemi a zde se pak vyskytuje obyčejně spolu s kyslíkem dusitým, který z něho vzniká při bakteriálním rozkladu dusíkatých látek.

Mezi nejdůležitější rozborů patří rozbor vod po stránce bakteriologické. Bakterie samy vodu nezbytně potřebují, tak jako jiné organismy. Harnach (11), Leprince a Lecoq (20), Klimmer (18) a Procházka (25) při posuzování množství všech bakterií v 1 ml udávají tuto stupnici:

- 0— 20 nezávadná,
- 20— 200 podezřelá,
- 200—5000 pro zdraví povážlivá,
- 5000 a více zdraví škodlivá.

Leprince a Lecoq (20) udávají tyto posudky o množství bakterií coli v 1 l vody:

- velmi dobrá 0— 10,
- dobrá 10— 50,
- obstojná 50— 100,
- podezřelá 100— 1000,
- špatná 1000—10000,
- velmi znečištěná 10000 a více.

Roubal (28) rozdělil studny podle nálezu bakterií na 4 stupně:

1. pitná voda — žádné bakterie,
2. voda méně vhodná k pití — nález saprofytů bez nálezu coli,
3. voda závadná, nevhodná k pití — coli, paracoli v malém množství (revise vodního zdroje),
4. voda nebezpečná k pití (bact. coli ve značném množství — návrh k zasypaní studny).

Hökl (13) klade na vodu přísné požadavky zejména proto, že se může lehce stát donátorem mikrobů a látek, které pak ohrožují mléko a výrobky z něho.

Van Es (38) považuje přítomnost bakt. coli communis za průkaz znečištění fekáliemi. Windraht (40) ve svém pojednání popisuje lidskou bronchopneumonii z pitné vody po předchozích gastrointestinálních poruchách. Ve zvráceném obsahu žaludečním bylo nalezeno vysoce pathogenní bact. coli. Znečištění nastalo špatnou izolací od hnojiště a záchodu, dostalo se do vody, cestou žaludeční do krve a do plic a zároveň s pneumokokky vyvolalo afekce na plících.

R o č e k při svém vyšetřování zjistil u nás 93 % závadných vodních zdrojů, 6 % podezřelých a jen 3 % nezávadných, kdežto F r o m m e tvrdí, že studny jsou ze dvou třetin bez zárodků, ohrožujících zdraví.

G a l l i a (10) uvádí, že vsakováním a pronikáním hnojivky do spodní vody jsou způsobovány hlavní zdravotní závady studní. Nápravu vidí v řádné výstavbě hnojišť a močůvkových jímek.

H a r n a c h (11) uvádí v souvislosti s možností znečištění vody půdními bakteriemi, že půda na povrchu vlivem slunečních paprsků jest skoro sterilní, v hloubce 10–20 cm pod povrchem dosahují bakterie největšího počtu a pak jich s postupující hloubkou rychle ubývá, až ve hloubce 2 m je téměř bez bakterií.

Z dosud uvedeného literárního přehledu vysvítá, že bakteriální stav vody velmi závisí na spádu od studny a na vzdálenosti od nečistých zdrojů, jako na příklad kanálů, záchodů, hnojišť, močůvkových jímek, sklepů a podobně, které představují vlastně semeníště mikrobů a které mají být v určité minimální vzdálenosti od studny.

Počet zdravotně závadných nebo podezřelých vod v pěti námi vyšetřovaných okresech je značný. Ale také G a b r i e l (9) zjistil, že v okrese píseckém nevyhovuje 64 % vodních zdrojů. V Blatné 75 %, Dobřichovicích 57 %, Kralupech 51 %, Letách 52 %, v Řevnicích 26 %, v Sezimově Ústí 49 %, ve Vimperku 75 % a nápravu vidí ve výstavbě řádných vodovodů, což je však z důvodů finančních v dohledné době většinou nesnadné. K dosažení okamžité nápravy bude tedy nutno podle něho provést úpravu dosavadního zdroje, a to metodou opakované desinfekce tak, jak je vypracovalo hydrologické oddělení SZÚ ve spolupráci se zdravotním referátem ZNV. Navrhuje tedy tyto tři body:

1. Upravit odtok tekoucích nečistot tak, aby neprosakovaly zpět do vodního zdroje.

2. Zvednout okraj zdroje asi 30 cm na povrch terénu a povrch vodního zdroje opatřit řádným krytem.

3. Opakovanou desinfekcí v 7–14denních intervalech (nejlépe koloidním stříbrem) vyloučit dosavadní mikrobiální znečištění vody.

- I. desinfekce 1 : 50.000,

- II. desinfekce 1 : 100.000,

- III. desinfekce 1 : 200.000.

Autor doufá, že tímto laciným zásahem, který si nevyžádá větší náklad nežli asi 100 Kčs, může dojít ke značnému hygienickému zlepšení pitných vod.

Z dosud uvedeného je zřejmé, že hygiena pitných vod v zemědělských podnicích a na ČSSS i JZD vyžaduje značné zlepšení, a to tím spíše, že je lze uskutečnit většinou jen s nepatrným nákladem.

Pracovní program

Vzhledem k tomu, že pitná voda hraje v živočišné produkci důležitou roli, protože může být zdrojem různých chorob domácích zvířat jak vlivem mikrobiálního znečištění, tak i jinými vlivy, na příklad nesprávnou tvrdostí, byl jsem pověřen s. prof. Dr. R. H a r n a c h e m, abych prováděl rozbor pitných vod v zemědělských podnicích. K tomu byly zvoleny okresy tišnovský, brněnský,

slavkovský a židlochovický, jejichž fyzikálně chemický rozbor prováděl kol. Dr. Vítkovič. Mým úkolem bylo zkoumat tytéž vzorky vody podle tohoto programu:

1. Určovat tvrdost (celkovou, přechodnou, stálou) a její vliv na některé choroby, které jí mohou být ovlivňovány,
2. zjišťovat amoniak jako indikátor rozkladných procesů,
3. provádět mikrobiologický rozbor vod na obsah coli a ostatních saprofytů, případně též salmonel,
4. posoudit hygienické poměry ve vyšetřovaných zemědělských podnicích vzhledem k vodním zdrojům a situaci studny, jako vzdálenost od znečišťujících zdrojů, hloubku, kryt, spád od studny, roubení, čerpací zařízení a podobně a vyvodit z toho příslušné doporučení pro uživatele závadných vodních zdrojů.

Pracovní metodika

1. Vyšetřovaný materiál

K odběru bylo používáno jednolitrových lahví, sterilisovaných přehřátou parou v autoklávu. Po pětiminutovém čerpání byly láhve naplněny a sterilně uzavřeny, načež byly zjišťovány všechny průvodní údaje, potřebné k řádnému označení vzorků vzhledem k souvislosti s možnými hygienickými závadami.

V laboratořích pak byly vzorky vod vyšetřovány bakteriologicky a pak chemicky.

2. Bakteriologické vyšetření

Při bakteriologickém rozboru bylo postupováno tak, že ihned po příjezdu bylo na diferenciální živnou půdu Gassnerovu naočkováno sterilními pipetami množství 1 ccm, 0,5 ccm a 0,1 ccm vody jednak na ztuhlý povrch půdy a jednak na zchlazený, ale ještě tekutý agar asi 40° C teplý, tím způsobem, že voda v sešupných množstvích byla nejprve sterilně odpipetována do Petriho misek a pak chladnoucím agarem rychle zalita, dobře promíchána a ponechána několik minut v misce, aby ztuhla. Nato byly založené kultury ponechány při pokojové teplotě 20–22° C po dobu 3–5 dnů, aby mohly narůst bakterie.

Pro určení jiných mikrobů bylo použito kultivace na obyčejném agaru v množství 1 ml, 0,5 ml a 0,1 ml. Kolonie podobné salmonelám rostly na Gassnerově agaru žlutě, kolonie *Escherichia coli* a *aerogenes* modrozeleně. Sčítání se provádělo na celé Petriho misce, jen v případě velkého množství bylo použito Lafarovy sčítací ploténky. Další diferencování žlutě rostoucích kolonií bylo určeno jejich naočkováním na pestrá řada cukrů. Průměrem vypočteným z pěti různých naočkovaných množství byl pak stanoven počet všech bakterií a počet coli, ostatní, rozlišené pestrá řada cukrů, byly uvedeny zvlášť.

V hodnocení celkového počtu mikrobů jsme se řídili tabulkami Harnachovými, Klimmerovými, Leprince-Loquovými a Procházkovými. Dále jsme se opírali o údaj Houstonův (13a): „Je-li typické *B. coli* prokázáno v 1 ccm a méně, musí se voda posuzovat jako nevhodná k pití.“ Zvláště však se nám zdála v tomto směru názorná a směrodatná státní norma GOST 5216-20 (Standartgiz z r. 1950) uvedená u Rozanova, která hodnotí Colititr vody podezřelé (v 1 ml), závadné (v 0,1 ml) a coli titr zdravé vody (v 10 ml) a nezávadné vody (ve 100 ml). Podle této lze vyjít z 1 ml a 0,1 ml vody a jeji přepočítat i na 10 ml, protože jsme použili 1 ml metody vyšetřování, jednak k zjištění všech bakterií, jednak k stanovení počtu coli v 1 ml.

Zdravotní hodnocení vody se podle „Standartgiz“ provádí podle tohoto schématu:

Coli titr 100	ml	a vyšší	— nezávadná voda,
coli titr 10	ml		— zdravá voda,
coli titr 1	ml		— podezřelá voda,
coli titr 0,1	ml		— závadná voda.

Bylo-li tudíž v našich vyšetřováních zjištěno alespoň 1 coli v 0,1 ml vody, označili jsme ji za zdravotně „závadnou“, je-li nejméně 1 coli v 1 ml vody, označili jsme vodu za „podezřelou“, případně také vody bez coli, avšak s vyšším obsahem všech mikrobů. Jako „zdravou“ vodu označujeme vodu bez coli a s počtem všech mikrobů menším než 20 v 1 ml vody.

V hodnocení náleží jsme používali kultivace z 1 ml vody proto, že již podle orientačních výsledků v 1 ml a 0,1 ml jsme museli předpokládat vesměs silné znečištění bakteriemi a *E. coli*.

3. Určování tvrdosti

Po rozboru bakteriologickém bylo pak prováděno stanovení tvrdosti titrační metodou Clarkovou modifikovanou podle B e č k y.

100 ml vody, odměřené do 200 ml kalibrovaného válečku, bylo titrováno mýdlovým roztokem, připraveným podle B e č k y tím způsobem, že se po malých dávkách přikapával do válce z byrety mýdlový roztok a po každém přidání se válcem třepalo, aby se dostavilo pění. Jakmile se objevilo, bylo opatrně přidáváno již v menších množstvích mýdlového roztoku, až se objevila hustá pěna, trvající 5 min. při vodorovné poloze válečku, což značilo konec titrace. Z počtu ccm spotřebovaného mýdlového roztoku pak byla podle tabulek určena tvrdost v něm. stupních. Stejný výsledek lze dosáhnout výpočtem podle vzorce:

$$\frac{a}{3,6} - 0,5 = x \text{ něm. stupňů tvrdosti}$$

1 něm. stupeň = 10 mg CaO v 1 litru vody,
a = spotřeba ccm mýdlového roztoku.

Přepočtem pak můžeme určit tvrdost v jiných stupních, při čemž
1^o něm. = 1,78^o franc. = 1,25^o angl. = 1,04^o amer.

Mýdlový roztok byl před každou další skupinou vzorků přesně vytitrován pomocí dusičnanu barnatého. U velmi tvrdých vod pak bylo ke zředění použito destilované vody, a to na polovinu nebo i více, při čemž pak počet spotřebovaných ccm mýdlového roztoku se musel násobit dvěma nebo více.

Po tomto zjišťování celkové tvrdosti byla stanovena alkalita titrováním 100 ccm vody s 0,2 % vodního roztoku metyloranže n/10 kyselinou solnou do slabě červeného zabarvení. Počet spotřebovaných ccm HCl udává alkalitu vody. Přesáhla-li alkalita hodnotu 10, roztok se zahřívá do žlutého zabarvení a pak se znovu titroval do slabě červeného zabarvení. Násobením hodnoty alkality číslem 2,8 vypočteme tvrdost přechodnou (karbonátovou) a jejím odečtením od celkové určíme pak tvrdost trvalou (stálou, permanentní). Pro posudek celkové tvrdosti byly vybrány hodnoty, stanovené A n d r l í k e m (2) v něm. stupních:

0—4 ^o něm. — velmi měkká,	12—18 ^o něm. — dosti tvrdá,
4—8 ^o něm. — měkká,	18—30 ^o něm. — tvrdá,
8—12 ^o něm. — středně tvrdá,	30 ^o něm. a více — velmi tvrdá.

4. Průkaz amoniaku

Jako doplněk k bakteriologickému vyšetřování byl též kvalitativně prokazován amoniak jako jeden z konečných produktů mineralisace bílkovin. K 10 ml zkoumané vody bylo přidáno několik kapek Seignettovy soli a 1–2 kapky Nesslerova činidla, připraveného podle Tomíčka. Žluté zabarvení ukazuje velmi citlivě přítomnost amoniaku, byť i ve stopách.

U silnějšího žlutohnědého zabarvení bylo provedeno také kvantitativní stanovení amoniaku kolorimetrickou metodou pomocí Helligeho komparátoru. Bylo-li však zbarvení slabší nežli barevně nejslabší okénko v kotouči komparátoru, t. j. méně než 0,01 mg v 1 litru, nebylo již možno použít číselných údajů na kotouči a proto byla taková přítomnost amoniaku označena jako „stopy“ amoniaku. To znamená, že toto množství amoniaku se pohybovalo v rozmezí od 0,0–0,009 mg v 1 litru vody.

Celkové hodnocení nálezů amoniaku bylo provedeno tím způsobem, že u vod kopaných a artézských byly považovány stopy amoniaku za nezávadné; u ostatních pak ukazoval amoniak i ve stopách na znečištění odpadními organickými látkami.

Ke konečnému posouzení vody byly brány v úvahu tyto body, podle nichž se v ústavě bakteriologické hodnotí situace studny vzhledem k mikrobiálnímu a jinému znečištění:

1. Hloubka studny,
2. hloubka hladiny vody pod povrchem země,
3. způsob roubení studny a celková konstrukce čerpacího zařízení (kryt),
4. možnost záplav dešťovou nebo jinou vodou,
5. blízkost znečišťujících zdrojů (záchody, hnojiště, odpadové jímky, chlévy, hřbitovy, sklepy, silnice a podobně),
6. spád od studny,
7. sousedství rybníka, řeky, potoku a podobně (zřetel na tvrdost),
8. teplota vody a vzduchu při odběru,
9. umístění případného reservoiru.

Podle všech nálezů byly pak jednotlivé pitné vody zhodnoceny a v případech zdraví ohrožujících pitných vod byly majitelům nálezy oznámeny a doporučena příslušná opatření na zlepšení nebo případně i na zasypání studny.

Vlastní výzkum

V několika případech jsme byli informováni o častých průjmech u nově přikoupených zvířat. Chemický rozbor ukázal vysoký obsah síranů a vysokou tvrdost vody. Zřídka byla zjišťována voda měkká. Zvláště v okrese slavkovském a židlochovickém byly vody velmi tvrdé s vysokým obsahem vápenatých a hořečnatých solí.

Amoniak byl prokázán ve stopách jen v několika málo vzorcích, které byly znečišťovány povrchovou vodou smíšenou s hnojůvkou, což svědčilo o tom, že půdní vrstvy neměly účasti ve filtraci, tak že mohla hnojůvka pronikat až do studny. Samotný nález čpavku však vždy nesvědčí o přítomnosti choroboplodných zárodků, neboť mikroby pronikají do spodních vrstev obtížněji než látky ve vodě rozpuštěné. V takových nejasných případech je nutno stanovit filtrační efekt půdních vrstev, což jsme v několika případech provedli fluorescencí, kterého jsme použili k obarvení vody v jednom sklepe a třech chlévech.

Voda ze sklepa prosakovala špatným špatným zdivem do blízké studánky, kde způsobovala jasnou zelenožlutou fluorescenci. (Fluorescein se k této zkoušce dobře hodí, neboť je prokazatelný podle Š í m y ještě ve zředění 1 : 200,000.000, podle A n d e r l í k a a ostatních ještě ve zředění 1 : 40,000.000.) Je ovšem důležité zjistit také směr toku nebo prosakování, aby zkouška nebyla klamná. Vysoká tvrdost nebo znečištěná voda však fluorescein odbarvuje, takže u těchto vod by pokus mohl dopadnout negativně.

Hlavní průkaz znečištění však podává bakteriologický nález, jehož účelem je zjistit:

1. fekální znečištění,
2. vliv deště nebo záplav na množství mikrobů,
3. účinnost filtračních systémů,
4. příčinu nějaké změny, pozorované na vodě buď už při prameni nebo až v případném reservoiru,
5. účinnost desinfekce vodního zdroje.

Při pronikání *Escherichia coli* do vody můžeme usuzovat, že tatáž voda může být zdrojem i jiných zárodků, způsobujících nebezpečné nákazy u domácích zvířat i lidí. Mohou to být především pathogenní zárodky ze skupiny salmonel, jako *Salm. typhi murium*, *Salm. enteritidis*, *Salm. paratyphi B.*, leptospiry, pasteurelly, bac. anthrakové tuberkulose, záškrtu a četné filtrabilní viry, jako virus chřipky selat, moru vepřů, slintavky a kulhavky a podobně.

Z důvodu stanovení speciálních mikrobiálních druhů bylo použito Gassnerova agaru, na kterém rostlo coli modře, salmonely a některé enterobakterie žlutě. Jejich další rozlišení bylo prováděno podle sacharolytického účinku a tvorby indolu na pestré řadě cukrů.

Samotný nález *Esch. coli* bez přítomnosti čpavku a kyslíčniku dusitého ovšem k nepříznivému posouzení vody nestačí, neboť *Esch. coli* je v přírodě značně rozšířeno; v takovém případě by teprve místní vyšetření situace studny a filtračního efektu půdních vrstev muselo podat důkaz, že přítomnost *Esch. coli* souvisí se znečištěním vody fekaliemi.

Nepřítomnost choroboplodných zárodků však nenasvědčuje ještě tomu, že by tyto bakterie neměly přístup do studny vůbec. Mohou-li totiž do spodní vody proniknout bakterie hnilobné, mohou tam vniknout po čase i bakterie choroboplodné; není tedy jen jediný bakteriologický rozbor směrodatný, neboť je nutno provádět takové rozborů častěji a v určitých intervalech, neboť i filtrační kapacita půdy se může časem měnit a propouštět více zárodků do vodního zdroje.

Jednotlivé nálezy při stanovení alkality a tvrdosti (v něm. stupních, celkové, přechodné a stálé), mikrobiálního rozboru a situace vodního zdroje vzhledem ke všem znečišťujícím a jiným okolnostem jsme vyjádřili tabelárně a podle zjištěných skutečností všechny vzorky co do jakosti pak náležitě ohodnotili.

Připojená tabulka ukazuje jako vzor výsledky šetření na 26 vzorcích vodních zdrojů z jednoho okresu (Tišnov); takových zdrojů jsme vyšetřili 180 v pěti okresech a tabulky, grafy a celkové výsledky šetření možno si blíže prohlédnout v práci in extenso, nacházející se v Ústavu mikrobiologie a imunologie Vet. fakulty VŠZL v Brně.

Čís. vzorku	P ů v o d	S i t u a c e s t u d n y						Datum odběru vzorku	zprac. za hod.
		hloubka st.	vzdál. od povrchu	vzdálenost od nečistých zdrojů	způsob konstrukce	čerpací zařízení	vzdál. od povrch. vody		
1.	Říkonín č. 9	23 m	20 m	15 m hnoj.	tesaná ve skále	dřevěné čerpadlo	pod střechou	19. 9. 1949	6
2.	Říkonín 12	10 m	8 m	žm chlív	beton krytá	železné čerpadlo	—	16. 9. 1949	6
3.	Říkonín 3	2 m	1 m	8 m chlív	beton krytá	železné čerpadlo	2 m potok	16. 9. 1949	6
4.	Říkonín 1	14 m	10 m	15 m hnoj. 1 m cesta	kámen krytá	dřevěné čerpadlo	—	16. 9.	6
5.	Říkonín 1	—	—	—	vodovod	spád od pramene	jen silný déšť	16. 9. 1949	6
6.	Říkonín 13	3 m	2 m	—	kámen nekrytá	rumpál	5 m potok	16. 9. 1949	6
7.	Říkonín 15	3 m	2 m	zahrada	beton nekrytá	hák	10 m potok	16. 9. 1949	6
8.	Kuřimská Nová Ves 23	1 m	—	1 m chlív 1 m sklep	kámen nekrytá	studánka	—	16. 9. 1949	6
9.	Kuřimská Nová Ves 23	—	—	30 m od mostu	mlýnská strouha	—	—	16. 9. 1949	6
10.	Říkonín 10	16 m	10 m	10 m hnoj.	kámen krytá	dřevěné čerpadlo	—	16. 9. 1949	6
11.	Říkonín 10	—	—	—	vodovod	spád od pramene	—	16. 9. 1949	6
12.	Tišnovská Nová Ves 1	10 m	4 m	pod obyt. stavením	tesaná ve skále	elektr. čerpadlo	—	16. 9. 1949	5
13.	Tišnovská Nová Ves 5	14 m	5 m	—	kámen krytá	dřevěné čerpadlo	—	16. 9. 1949	4
14.	Tišnovská Nová Ves 21	4 m	2 m	5 m silnice 4 m hnojiště	beton krytá	dřevěné čerpadlo	—	16. 9. 1949	3
15.	Tišnovská Nová Ves 13	14 m	13 m	15 m hnoj.	tesaná ve skále	dřevěné čerpadlo	možnost přívalů	16. 9. 1949	3
16.	Tišnovská Nová Ves 12	8 m	2 m	zahrada	kámen krytá	dřevěné čerpadlo	—	16. 9. 1949	2
17.	Tišnovská Nová Ves 2	14 m	10 m	20 m hnoj. 15 m záchod	kámen krytá	dřevěné čerpadlo	—	16. 9. 1949	2
18.	Tišnovská Nová Ves 3	8 m	4 m	3 m hnoj. 1 m chlív	kámen krytá	elektr. čerpadlo	za velkých dešťů	16. 9. 1949	4
19.	Tišnovská Nová Ves 4	10 m	8 m	15 m hnoj.	z cihel krytá	dřevěné čerpadlo	za velkých dešťů	16. 9. 1949	4
20.	Tišnovská Nová Ves 29	2 m	0 m	na zaplav. louce	betonové skruže	—	1 m od potoka	16. 9. 1949	2
21.	Čebín 35	5 m	3 m	6 m bazén	kámen krytá	železné čerpadlo	jen po deštích	17. 4. 1950	2
22.	Čebín 152	5 m	4 m	4 m obytné stavení	kámen krytá	železné čerpadlo	—	17. 4. 1950	2
23.	Hradčany 52	5 m	4 m	15 m hnoj.	beton krytá	dřevěné čerpadlo	—	20. 4. 1950	2
24.	Hradčany 42	17 m	15 m	20 m hnoj.	tesaná ve skále	dřevěné čerpadlo	—	20. 4. 1950	1
25.	Hradčany 19	14 m	10 m	zahrada	tesaná skále	železné čerpadlo	záplavy po dešti	20. 4. 1950	1
26.	Hradčany 51	5 m	4 m	15 m hnoj.	beton krytá	dřevěné čerpadlo	záplavy po dešti	20. 4. 1950	1

Teplota ve stup. C		Bakteriologické vyš. poč. bakterií v 1 ml.			pH	Tvrdość				Amoniak	Posudek o vodě
vody	vzduchu	všech bakterií	coli	salmonel		alkalita	celková	pře- chodná	stálá		
7	18	54	20	0	7,4	3	22	8	14	—	závadná
9	18	50	18	0	7,5	4	20	11	9	—	závadná
8	18	6	6	0	7,7	2	18	6	12	—	závadná
8,5	18	58	25	0	7,7	2	23	6	17	—	závadná
11	18	132	30	0	7,1	3,5	19	10	9	—	závadná
9	18	117	109	0	7,2	6,8	23	19	4	—	závadná
8	18	57	44	0	7,2	6	23	16	7	—	závadná
9	18	400	124	3	6,8	3	26	8	18	0,04	(doporučeno zasy- pat) závadná
16	18	230	165	—	7,2	2	6	5	1	—	závadná
8	18	16	13	—	7,7	3	28	8	20	—	závadná
14	18	22	6	—	6,9	2	9	5	4	—	podezřelá
9	17	7	4	—	7,1	2	21	6	15	—	podezřelá
8	17	35	21	—	6,9	6	28	16	12	—	závadná
13	18	160	37	—	6,8	4	19	11	8	0,03 mg/l	závadná
18	18	155	124	—	7,3	7	24	20	4	—	závadná
10	18	68	39	—	7,1	3	22	8	14	—	závadná
8	18	60	48	—	7,3	3	15	8	7	—	závadná
9	17	34	42	—	7,2	3	13	8	5	—	závadná
8	17	116	96	—	7,0	4	15	11	5	—	závadná
10	18	120	120	—	6,8	3	11	8	3	—	závadná
9	7	—	—	—	7,2	3	10	8	2	—	zdravá
9	7	—	—	—	7,5	5	20	14	6	—	zdravá
10	7	1	2	—	7,3	4	20	11	9	—	podezřelá
9	7	—	—	—	7,2	3	20	8	12	—	zdravá
10	8	—	—	—	7,0	3	17	8	9	—	zdravá
8	8	—	—	—	6,9	5	18	14	4	—	zdravá

Bylo celkem vyšetřeno 180 zdrojů vodních z pěti okresů: Tišnov, Brno, Slavkov, Židlochovice a Moravský Krumlov. Z bakteriologického vyšetřování uvedených vzorků vyšlo najevo, že z celkového tohoto počtu vyšetřovaných 180 zdrojů pitných vod bylo nutno 130, t. j. 72,3 % označit jako závadné pro nález salmonel, pro nadměrný počet *B. coli*, *aerogenes* nebo ostatních mikrobů, pro nedostatečnou nebo přílišnou tvrdost a nebo pro nález amoniaku.

Podezřelých a méně vhodných zdrojů bylo 30, t. j. 16,7 %; to je zaviněno převážně nedostatečnou péčí o vodu jinak dobrou, avšak obsahující coli nebo ostatní mikroby ve větším počtu. Všechny vady a nedostatky těchto studní posuzujeme jako poměrně snadno odstranitelné.

Jako zdrojů zdravých bylo posouzeno 19, t. j. 11,1 %, to je poměrně malý počet; z nich bez zárodku sterilních byly shledány vody pouze 6 studen, t. j. 3,3 %.

Pro konečné posouzení by bylo nutné brát v úvahu i výsledky chemického vyšetřování, které prováděl na týchž vzorcích současně můj spolupracovník Dr. Vít k o v í č, na jehož práci odkazuji a jen co nejstručněji uvádím, že jeho nálezy se co do závad kolísaly proti mým v rozmezí asi 5 %.

Dále by bylo nutno vzít na zřetel i výsledky vyšetřování Dr. K o ř í n k a, který se zabýval bakteriálním znečištěním vod na Miroslavsku vzhledem ke zvláštním chorobám a jehož některé údaje byly též v tabulkách uvedeny.

V tišnovském okrese je zajímavé, že studny zcela blízko potoků nevykazují nadměrný počet mikrobů, patrně proto, že i potoky tohoto podhoráckého kraje, které většinou protékají lesnatými údolími, obsahují vlivem dokonalého samočištění jen málo zárodků (průměrně 230 v 1 ml).

Mezi závady, které zde většinou přicházejí v úvahu, patří především nedostatečná péče o čerpadla, která jsou převážně dřevěná, stará a prohníla, takže je nutno dlouhou dobu čerpat, než teče čistá voda bez hrubých a pouhým okem viditelných částic. Nemohla být do práce pojata jiná kritéria nezávadnosti vod, jako $BSK_5(O_2)$, organické látky a MgO .

Pro nález salmonel (*Salm. paratyphica*) a pro vysoce nehygienické umístění bylo doporučeno zasypat studnu v Kuřimské Nové Vsi č. 8, což také majitel učinil. Dále bylo doporučeno zasypat obecní studnu v Hradčanech u hlavní silnice, kam se s prachem dostávala přes nedostatečný kryt spousta mikrobů, mezi nimiž byly rovněž nalezeny salmonely.

Těchto závadných zdrojů bylo 72,3 % a ostatní zdroje podezřelé 16,7 %, zdravých 11,1 %, proto jsme upozornili majitele na příslušné závady a nutnost úpravy okolí studny.

V okrese brněnském jsme většinou neprokázali v pitných vodách mnoho zárodků, takže 25 % vod mohlo být označeno jako nezávadné.

Tvrdost se pohybuje celkem v normálních mezích průměrně mezi 12–18° něm.

Podle A n d r l í k o v y stupnice jsem zařadil vody jak v tišnovském, tak v brněnském okrese do čtvrté skupiny vod dosti tvrdých.

V okrese slavkovském jsme zjistili procentuálně největší množství závad, především s hlediska přílišné trvalé tvrdosti, která se patrně vlivem geologického složení půdy pohybovala průměrně kolem 26° něm.

Podobné poměry jsou i v okrese židlochovickém, kde spodní voda pochází

pravděpodobně ze stejných vrstev jako v okrese slavkovském. Tvrdost těchto vod byla v průměru naměřena ještě vyšší (31° něm.) a v jednom případě až 75° něm. Jednalo se o vodu, která se k pití vůbec nehodila, ježto byla i silně mikrobiálně znečištěna.

Okres mor. krumlovský vykazuje 2 % nezávadných vod, 13 % různě podezřelých a méně vhodných (vyžaduje úpravu) a 12 % závadných. Jejich celková tvrdost se pohybuje v normálních mezích mezi 10–20 něm. stupni. Podle obsahu coli bylo jen 5 % studen nezávadných.

Pro hrubé srovnání zdravotního stavu vyšetřovaných vodních zdrojů v zemědělských podnicích v jednotlivých okresech jsem sestavil tento přehled, bera v úvahu především mikrobiální znečištění, tvrdost, průkaz amoniaku a situaci studny vzhledem k znečišťujícím okolnostem:

Označení hodnocení	Počet vzorků	Vyjádření v %
Zdravotně nezávadných	19	11,0
Podezřelých	30	16,7
Závadných	131	72,3
Celkem	180	100,0

Ke konečnému posouzení třeba vzít v úvahu i výsledky rozborů fyzikálně chemických, kterými byl pověřen kol. Dr. Vítkovič, jenž určoval barvu, čirost, chuť, zápach a stanovil obsah chloridů, síranů, dusitanů, dusičnanů, železa, manganu, *pH* a podobně. Na tuto práci odkazují toho, kdo si chce získat celkový přehled o závadách námi vyšetřovaných vod.

Tyto málo příznivé poměry, jevíci se 72,3 % závadných zdrojů, jsou jen částečně lepší než dřívější nálezy, však podobné R o č k o v ý m (27) s 93 % závadných vodních zdrojů.

Souhrn a diskuse

Podle výsledků mikrobiálních a jiných nálezů je zřejmé, že stav zásobování pitnou vodou ve vyšetřovaných zemědělských podnicích není na té výši, jaká by se u něho v dnešní době předpokládala. Závady jsou způsobovány ve většině případů chybami z minulosti, to je z doby, kdy byly studny stavěny.

K ilustraci extrémní závady lze uvést jeden z vyšetřovaných případů, který zasluhuje zvláštní pozornosti. Tak v Kuřimské Nové Vsi č. 23 je používána k domácí spotřebě i k napájení zvířat studna 1 m hluboká, umístěná ve zdi chléva, která je z druhé strany vzdálena 1 m od sklepa, vestavěného ve svahu, kde byla hnízda potkanů. Studna není kryta a její hladina je ve stejné úrovni jako náspí, ze které se voda nabírá. Za dešťů stéká do studny i voda ze sklepa, která do něho druhou stranou může prosakovat. Při chřipkové epidemii, která ve vesnici řádila, onemocněl syn i dcera v uvedeném stavení a po tomto primárním oslabení oba onemocněli později tyfem. S největší pravděpodobností se tu jednalo o sekundární infekci salmonelami ze znečištěné studny. Po pro-

vedeném bakteriologickém vyšetření jsme v dotyčné vodě skutečně zjistili salmonely a doporučili studnu zasypat, což majitel ihned učinil.

Podobný, avšak mnohem horší případ popisuje Tomášek, kdy z infikovaného vodovodu v Rájci nad Svitavou onemocnělo 314 lidí tyfem. Úmrtnost byla 10 %. Po uzdravení někteří bacilonosiči infikovali společnou studnu a dalších 17 lidí, kteří z ní pili, onemocnělo tyfem.

Mezi nejčastější závady však patří blízkost hnojiště, což jsme našli v 80 % případů. Vlivem špatné kanalisace zůstávají kalužiny močůvky na dvoře a při velkých záplavách se může moč, smíšená se znečištěnou povrchovou vodou snadno dostávat do studen. Proto má být zdivo studny zvednuto alespoň o 30 cm nad úroveň země a půda kolem studny má být obložena nepropustným materiálem v síle asi 0,5 m, nejlépe dusaným jílem. Rovněž spád vody vytékající z čerpadla musí být upraven tak, aby vyčerpaná voda se nemohla nijak vracet zpět do studny. Jímky na moč i záchody mají být rovněž vzdáleny minimálně 15–30 m a není-li to možné, tedy alespoň často vybírány, aby neprosakovaly do okolní půdy, jelikož filtrační kapacita půdy se může časem unavit.

Bylo by vůbec nejlepší i na dvorech nasít kolem studny trávu a v určitém obvodu ji oplotit, aby domácí zvířata a drůbež neměli přístup ke studni. To by bylo vhodné i na zahradách, kde se často pase dobytek a znečišťuje bezprostředí okolí studny.

Pro zvířata má být postaráno rovněž o dobrou vodu. K tomu účelu byla konstruována různá hygienická napájecí zařízení jak pro velká, tak i pro malá zvířata. Napájecí zařízení se nesmí zanedbávat ani na pastvinách, neboť zvláště zde mohou být různé nehygienické zdroje semenišť parazitárních vajíček, nehledíc k tomu, že i na jeden díl suché potravy je třeba u dojnic pětkrát tolik vody. Stálý přístup k dostatečnému množství pitné vody odstraňuje u zvířat nezdravé náhlé hltání a poruchy tím způsobované. Avšak opatřit zvířatům dosti vody neznamená, že by nemusela mít všechny náležitosti. Naopak, i zvířata potřebují zdravou plnou vodu, mikrobiálně i parazitárně neznečištěnou, i o dostatečné tvrdosti, která se u nich zvláště často zanedbává.

Mikroby fekálního znečištění se dají ze studen poměrně lehce odstranit desinfekcí koloidním stříbrem ve vhodném zředění. Nejlépe třikrát za sebou ve čtrnáctidenních intervalech, při čemž dávky se postupně zvyšují.

Velmi dobrý je též československý preparát Movidyn, který na stěnách a celém zařízení studny vytváří koloidní membránu s desinfekčním účinkem, trvajícím několik měsíců. Je účinný i ve velkých zředěních a manipulace s ním je zcela jednoduchá. Nedostaví-li se účinek po první aplikaci, je třeba desinfekci opakovat. Movidyn nahradí i drahé aparáty elektrokatadynové, které se sice velmi osvědčily, ale nejsou toho času k dostání.

I když tedy procento mikrobů nebo jinak znečištěných pitných vod je vysoké, neznamená to, že by odstraněním jen jedné závady byla voda již neškodná. Na jejím znečišťování se podílí — jak nám naše výzkumy ukázaly — obvykle více faktorů, které je nutno všechny postupně odstraňovat nebo alespoň zneškodňovat.

Při debatách se zemědělci jsme se snažili četnými přednáškami a radami přimět majitele k odstranění těch nebo oněch závad; zatím byla jen malá část našich doporučení skutečně provedena, jako na příklad zasypání dvou studní, zřízení řádného krytu, v mnoha případech oplocení, včasné odstraňování blízkých hnojišť, vzdálení kurníků a podobně. Doufám však, že i tato část přispěje ke zlepšení hygieny při zásobování pitnou vodou v našich zemědělských podnicích.

Souhrn

Bylo odebráno 180 vzorků pitných vod z 5 moravských okresů, které byly takto vyšetřeny:

1. Po stránce celkového mikrobiálního znečištění a speciálně na obsah *E. coli* a salmonel. Výsledky z jednotlivých okresů jsou různé, avšak průměrně 11 % vod bylo posouzeno jako zdraví nezávadné, 16,7 % podezřelé a 72,3 % jako závadné. Vody z nížin jižně od Brna jsou více závadné než z pahorkatého kraje severně a severozápadně od Brna.

2. S hlediska celkové tvrdosti jsme shledali, že se pohybuje průměrně mezi 10–20 něm. stupni; jen ojediněle byla zjištěna tvrdost nad 40 něm. stupňů. Dále byla určena alkalita, tvrdost karbonátová a stálá.

3. Amoniak byl prokázán pouze ve 12 % zkoumaných vzorků, a to jen ve stopách nebo v nízkých hodnotách.

4. Byla posouzena situace studny vzhledem k jakýmkoliv znečišťujícím zdrojům, při čemž byl zkoumán i filtrační efekt půdních vrstev v okolí studny. Bylo zjištěno, že tento bod je téměř ve všech zemědělských podnicích nejvíce zanedbáván, což se projevilo v první řadě bohatým obsahem coli v bakteriologických nálezech.

5. Podle dosahu a závažnosti zjištěných závad byla doporučena opatření na zlepšení hygienických podmínek závadných vodních zdrojů, jako desinfekce vody, zlepšení krytu, oplocení studny a pod. a ve dvou případech vůbec zrušení vodního zdroje, což také bylo provedeno.

Literatura

1. American Public Health Association: Standard Methods for the Examination of Water and Sewage (New York 1933).
2. Andrlík: Přehled chemie (Praha 1950).
3. Baucher: Analyse chimique et bactériologique des eaux potables et minérales (Paris 1904).
4. Bulíček: Jakost a úprava vody (1946).
5. Dahmen: Lehrbuch der Veterinärhygiene (1941).
6. Dorner-Demont-Chavannes: Microbiologie laitière (Lausanne 1945).
7. Flüggé: Grundriß der Hygiene (Leipzig 1908).
8. Fromme: Bakteriologische Trinkwasseruntersuchung und Colibazillen (Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten (Bd 74).
9. Gabriel: Zlepšení zásobování vodou z malých jednotlivých zdrojů (ref. pro XIII. konferenci preventivního lékařství v Mar. Lázních 1948).
10. Gallia: Hnojště a hnojení se zřetelem ke zdravotním poměrům venkova (Časopis čsl. veterinářů, III. roč., č. 8, 1948).
11. Harnach: Veterinární hygiena (Brno 1948).
12. O významu půdních bakterií (Praktický chovatel, II. roč., č. 3, 1925).
13. Handbuch der Lebensmittelchemie (8 Band - Wasser u. Luft, Berlin 1939).
- 13a. Houston (z Mackie-Mc Cartney, Handbook of Practical Bacteriology, Edinburgh, 1950).
14. Klimmer: Gesundheitspflege u. allgemeine Seuchenlehre der landwirtschaftlichen Nutztiere (Berlin 1921).
15. Hunter a Harrison: Food control (New York-London 1946).
16. Jůva: Studny v obcích, jejich stavba, úprava, udržování a zdravotní kontrola (Brno 1941).
17. Klepetář: Nové pokusy čištění pitné vody chemickou cestou (Voj. zdrav. listy č. 2, roč. V.).
18. Klimmer: Gesundheitspflege u. allgemeine Seuchenlehre der landwirtschaftlichen Nutztiere (Berlin 1921).
19. Kredba: Znečištění Vltavy a Labe pod Prahou (1932).
20. Leprince-Lecoq: Guide pratique

d'analyses alimentaires (Paris 1930). — 21. Mencl (citováno dle prof. Tomáška). — 22. Metropolitan Water Board: Report of the Director of Water Examination (London 1944). — 23. Piérot: Pitná voda největší neznáma (Časopis čsl. veterinářů, č. 20-21, 1950). — 24. Portier: Microorganismes des fonds (1936). — 25. Procházka: Voda základ života (1941). — 26. Rochais-Tepernoux: Hygiène des milieux ruraux (Paris-Lyon). — 27. Roček: Hygienu obecná, část druhá: Voda - zásobování vodou (Brno 1933). — 28. Roubal: (citováno dle Jůvy). — 28a. Rozanov: Mikrobiologičeskaja diagnostika zaboľevanij selskox životnyx, (Moskva 1952, str. 458/9). — 29. Rychník: Hygienu venkova (Prakt. příručky, svazek III., 1947). — 30. Schardinger: Über das Vorkommen Gärung erregender Spaltpilze im Trinkwasser und ihre Bedeutung für die hygienische Beurteilung derselben (Wiener Klinische Wochenschrift, Jahrg. V). — 31. Seeman-Varel: Über der Einfluß der Gewitterregens auf die Zahl der Keime in abgeschlossenen Gewässern (Bericht der Pharmazeutischen Gesellschaft 1893). — 32. Schrader: Food control, its public health aspects (New York-London 1946). — 33. Smith: A Manual of Veterinary Hygiene (London 1905). — 34. Suckling: Examination of Waters and Water Supplies (London 1944). — 35. Šima: Pitná voda (Praha 1922). — 36. Tiemann-Gärtner: Handbuch der Untersuchung u. Beurteilung der Wässer (Braunschweig 1895). — 37. Tomášek: Dnešní stav zásobování pitnou vodou na moravském venkově s hlediska lékařského (ref. pro XIII. konferenci prevent. lékařství v Mar. Lázních - dodatek k I. a II. dílu sborníků 1948). — 38. Van Es: The Principles of Animal Hygiene and Preventive Veterinary Medicine (New York 1932). 39. Viehl: Der Einfluß der Temperatur auf die Selbstreinigung des Wassers unter besonderer Berücksichtigung der bakteriologischen Verhältnisse (Zeitschrift für Hygiene, 122, 1939). — 40. Windrath: Zentralblatt für Bakteriologie (Med. Klinik 1916). — 41. Zavadil: Dálkové zásobení vodou a odvodnění sídlišť (referát na XIII. konferenci prevent. lékařství v Mar. Lázních 1948).

Исследование некоторых санитарных недостатков и микробиологические результаты анализов питьевой воды в сельскохозяйственных предприятиях

Было взято 180 образцов питьевой воды в 5 районах Моравии, которые были исследованы следующим образом:

1. В отношении заражения микробами устанавливалось в особенности количество микробов *E. coli* и *salmonella*. Результаты исследований в отдельных районах были различны, но было установлено что в среднем 11 % взятых образцов воды безвредны для здоровья, 33 % менее пригодны для употребления, 16 % подозрительны и 16 неудовлетворительны. Воды из низменностей южнее г. Брно чаще неудовлетворительны, воды же из холмистых местностей на север и северо-запад г. Брно лишь реже неудовлетворительны.

2. При исследовании общей твердости было установлено, что она колеблется между 10 и 20 нем. градусами и только в единичных случаях была установлена твердость более 40 нем. градусов. Далее были установлены щелочность, твердость карбонатная и постоянная.

3. Аммиак был установлен только у 12 % подопытных вод и то лишь в весьма малом количестве.

4. Было исследовано местоположение колодцев по отношению к очагам загрязнения, причем была исследована и фильтровальная способность почвенных слоев около колодцев. Было установлено, что в этом отношении почти во всех сельскохозяйственных предприятиях допущено больше всего недостатков, которые

при бактериальном исследовании проявились в первую очередь в большем количестве бактерий коли.

5. В зависимости от значительности установленных недостатков были предложены меры к улучшению гигиенических условий у неудовлетворительных источников воды, напр. дезинфекция воды, улучшение перекрытия, обнесение колодца плетнем и т. д.; в двух случаях предложено совсем закрыть источник, что и было выполнено.

Research of some Hygienical Defects, and the Microbial Findings in Potable Waters of the Agricultural Enterprises

180 samples of the potable waters from 5 Moravian districts were examined in the following manner:

1. From the point of view of the general bacterial pollution, especially on the contents of *Esch. coli* and *Salmonella*. The results of different districts are not the same, but on an average 11 % of waters were judged as good potable waters, 16,7 % as suspicious and 72,3 % as harmful. The waters from the lowlands south of Brno are more defective than the waters from the hilly sector north and northwest of Brno.

2. From the respect of the total hardness we have ascertained the usual average between 10—20 German degrees. The hardness over 40 German degrees was determined only very rarely. The alkality and the temporary and permanent hardness were also determined.

3. Ammonia has been found generally in the unappreciable quantities only in 12 % or in low values.

4. The situation of the well has been criticised with the respect to all sources of pollution and to the filtrative effect of the ground in the surroundings of the well. It has been found that this point is nearly in all farms mostly neglected as showed the high count of coliform bacteria in the bacteriological examination.

5. According to the importance of the impurities found, many measures have been recommended, as for instance the disinfection of water, better covering of wells, their fencing against domestic animals etc., and in two cases the filling up of the wells was performed on our advice.

Durchforschung einiger hygienischer Beanständigungen und Mikrobenfunde in der Trinkwässer landwirtschaftlicher Betriebe

Es wurden 180 Trinkwasserproben aus 5 mährischen Bezirken entnommen, welche der nachstehenden Untersuchung unterworfen wurden:

1. Auf allgemeine Verunreinigung durch Mikroben, speziell betr. Inhalt von *E. coli* und *Salmonellen*. Die Ergebnisse aus den einzelnen Bezirken sind verschieden, jedoch wurden durchschnittlich 11 % der Wässer gesundheitlich als einwandfrei, 16,7 % als verdächtig und 72,3 % als mangelhaft beurteilt. Wässer aus den Niederungen südlich von Brno weisen mehr Mängel auf als die aus dem Hügelland nördlich und nordwestlich von Brno.

2. Vom Gesichtspunkt der Gesamthärte stellten wir fest, daß sich dieselbe durchschnittlich zwischen 10—20 dtsch. Graden bewegt; nur vereinzelt konnte eine Härte von über 40 dtsch. Grad festgestellt werden. Ferner wurde die Alkalität, Karbonat- und Permanent Härte bestimmt.

3. Ammoniak wurde nur in 12 % der geprüften Proben, u. zw. nur in Spuren oder in niedrigen Werten festgestellt.

4. Es wurde die Situation des Brunnens mit Rücksticht auf alle verunreinigenden Ursachen beurteilt, wobei auch der Filtrationseffekt der Bodenschichten in der Brunnenumgebung untersucht wurde. Man stellte fest, daß dieser Punkt fast in allen landwirtschaftlichen Unternehmungen am meisten vernachlässigt wird, was auch in erster Reihe im reichen Coligehalt bei den bakteriologischen Befunden zum Ausdruck kam.

5. Nach der Reichweite und Erheblichkeit der festgestellten Mängel wurden Maßnahmen für eine Besserung der hygienischen Bedingungen mangelhafter Wasserquellen, wie Desinfektion, Verbesserung der Brunnendecke, Umzäunung des Brunnens usw. empfohlen. In zwei Fällen wurde die Sperrung der Wasserquelle beantragt, was auch ausgeführt wurde.

Nová modifikace kapkové vazby komplementu

Новая модификация реакции капельного связывания комплемента

A New Modification of Drop Complement Fixation Text

Eine neue Modifikation der Komplementbindungsreaktion mit der Tropfenmethode

MVDr M. POTOČEK

Veterinární výzkumné středisko, Praha

Došlo dne 5. XII. 1956

Úvod

Vazba komplementu je serologická reakce používaná při laboratorní diagnostice infekcí bakteriálních i virových a má své použití i při některých infekcích parazitárních. Princip komplementfixačních reakcí, používaných jak v bakteriologii, tak i ve virologii, je stejný.

V diagnostice virových i rickettsiových chorob je vazba komplementu hodnocena jako reakce specifická a proto ve virologii nabývá stále většího použití. Její význam roste nejen v běžné diagnostice, ale i ve výzkumu a jakmile dojde ke standardní výrobě antigenů a diagnostických ser, můžeme v budoucnu od této reakce při běžné bakteriologické a virologické diagnostice očekávat ještě více.

Proti některým jiným serologickým reakcím, na př. agglutinaci nebo precipitaci, má vazba komplementu výhodu širšího použití, t. j. lze ji použít v běžném provádění při diagnostice většího počtu infekčních chorob ať bakteriálních, virových či parazitárních. Zvláště ve virologii, kde laboratorní serologická diagnostika je prováděna velmi přesnými reakcemi, na př. neutralizačním testem, agglutinací, precipitací, nabývá vazba komplementu stále většího použití, a to z toho důvodu, že vazbu komplementu lze provádět u všech virových infekcí. Dostí značným problémem je však dosud příprava antigenu pro vazbu komplementu.

To, že vazbu komplementu lze použít při diagnostice infekcí, způsobených různými choroboplodnými zárodky (bakteriálními, virovými, parazitárními), má při běžné serologické diagnostice velký význam, neboť provedením vazby komplementu s několika antigeny infekcí různého druhu lze snadno uskutečnit v jedné reakci vyšetření sera, kde podle klinického průběhu jde o podezření z několika infekcí. Mohli bychom říci, že vazbou komplementu můžeme provádět serologickou diferenciální diagnostiku. Předpokládá to ovšem zpracování vazby komplementu při diagnostice některých infekčních chorob, u nichž vazba komplementu není dosud běžně prováděna.

Uvádím na př. onemocnění psa, u něhož je vysloveno podezření z psinky. Podle klinického průběhu však nutno počítat na př. též s infekcí tlakové choroby, infekční hepatitidy, toxoplasmosy, leptospirosy, salmonellosy, případně též pasteurelosy. Kdybychom při laboratorním vyšetření použili vazby komplementu, bylo by možno v tomto případě jednou serologickou metodou provést orientační vyšetření podezřelého sera. Jinak bychom museli provádět vyšetření sera několika serologickými reakcemi (agglutinací na leptospirosu a salmonellosu, Sabin-Feldmannovým testem na toxoplasmosu, vazbou komplementu na psinku), což by ovšem znamenalo nejen značné zdržení ve vyšetřování, ale při běžné diagnostice by to naráželo i na technické potíže.

Je nesporné, že vazba komplementu, konečně jako každá jiná serologická reakce, má nejen své výhody, ale též nevýhody.

Proti metodické jednoduchosti agglutinace či precipitace je nevýhodou vazby komplementu její poměrná složitost.

U vazby komplementu je třeba zajistit výsledek spolehlivými kontrolami jednotlivých složek, avšak větší množství kontrol u vazby komplementu není nikterak na závadu, naopak, zajišťuje nám správnost provedení reakce.

Předností vazby komplementu je snadné a hlavně *objektivní* posuzování výsledku reakce, pravý to opak při posuzování na př. výsledku agglutinace, u níž při vyšetření téhož sera různými laboratořemi jsou velmi často rozdíly v posuzování výše titru, případně též i pozitivnosti reakce. Příčinou rozdílnosti posuzování výsledku je mimo jiné i *subjektivnost* posuzování výsledků reakce tím nebo oním pracovníkem.

Vazba komplementu má jisté vlastnosti, které někdy jsou výhodné, jindy jsou na závadu. Víme, že vazba komplementu je reakce méně specifická než na př. agglutinace, seroneutralizační test či test haemagglutinačně inhibiční. Vazba komplementu nezachycuje menší antigenní rozdíly mezi jednotlivými typy nebo kmeny bakterií či parazitů jistého druhu, je jen druhově specifická, méně však typově nebo kmenově, což je nevýhoda při podrobném studiu antigenní struktury, naopak však je to výhoda při běžné diagnostice. Tuto skutečnost si můžeme dobře ověřit na př. při vyšetřování sera na leptospirosu. Agglutinací můžeme zjistit přesný typ leptospiry, kdežto vazbou komplementu jen druh. Tam, kde laboratoř nemá případně k dispozici všechny typy leptospir, může se lehce stát, že serum při vyšetření agglutinací je negativní, kdežto při vyšetření vazbou komplementu je pozitivní.

U vazby komplementu je poněkud nepříjemné zdlouhavé provádění reakce, pracné plnění zkumavek několika složkami. Jelikož jednotlivé ingredience plníme v množství 0,1–0,5 ml, znamená to též dosti značnou potřebu jednotlivých ingredientů, zvláště používáme-li vazby komplementu s odstupňovanými dávkami komplementu. Naproti tomu však při této modifikaci vazby komplementu nutno ocenit to, že právě používání odstupňované řady komplementu — nevýhoda to, která způsobuje technicky a časově náročnější provádění reakce — nám umožňuje pečlivější a přesnější vyšetření materiálu. Tato modifikace nám přináší zvláště ve výzkumu velmi cenné a přesné výsledky.

Okolnost, že u vazby komplementu je třeba poněkud většího množství vyšetřovaného materiálu, je závadou, která může někdy i znemožnit řádné vyšetření, neboť nejen antigeny, ale i vyšetřovaná sera nezřídka získáváme v nedostatečném množství. Některé antigeny jsou dosti drahé, jindy je opět problémem serum, ať už je to malé množství sera získané z mikromamalií, zkoumané pro epidemiologické účely, nebo hyperimunní serum z malých zvířat pro diagnostické účely, které slouží jako pozitivní kontrola. Proto také některé komplement-

fixační reakce při virových nemocech jsou prováděny mikrometodami, které snižují objem jednotlivých složek na nejmenší možnou míru.

Plnění menších množství — 0,1 ml a méně — však přináší s sebou nebezpečí vadného plnění, ulpění malého množství ingredientů na stěnách pipety či na stěnách zkumavky, což se samozřejmě odráží v nepřesnosti výsledku reakce. Při reakcích konaných v malých rourkách (na př. při Variole ve Vidalových zkumavkách) je však třeba nejprve se zacvičiti na správný odhad stupně haemolysy, neboť průsvitnost užší vrstvy obsahu v malé rource je větší než v rource silnější.

Za účelem ještě účinnějšího šetření materiálu a technicky snadnějšího provádění, byly u některých nákaz vypracovány modifikace vazby komplementu na základě skličkové metody, na př. nákazy viry skupiny *Coxsackie*.

Literární přehled

Při stoupající tendenci po přesnějším differencování mikrobů a stále častějším používání vazby komplementu bylo třeba uvažovat o možnostech alespoň částečného zjednodušení techniky vazby komplementu za účelem jejího snadnějšího provádění. Metodiku vazby komplementu, pokud jde o zásadní podstatu a přítomnost jednotlivých složek, nelze měnit, avšak z níže uvedeného uvidíme, že byly propracovány různé modifikace, které nejen přispěly k šetření jednotlivých složek, jichž je nedostatek, ale též usnadnily technické provedení reakce.

Za tímž účelem byly na př. vypracovány různé modifikace původní reakce Vidalovy, která přes to, že je techniky mnohem snadněji proveditelná než vazba komplementu, během doby doznala jistých modifikací, zaměřených hlavně ke zjednodušení provádění reakce agglutinace. Jak Gruber-Durhamova reakce k průkazu antigenu specifickým imunním serem, tak i Gruber-Vidalova reakce k průkazu protilátek v seru homologním antigenem je prováděna:

- a) v reagenčních zkumavkách,
- b) na podložním sklíčku,
- c) mikroskopickou agglutinací.

Mikroskopická agglutinace na podložním sklíčku, která byla původně prováděna jako orientační zkouška před provedením normální Vidalovy reakce zkumavkové, překročila během doby rámec orientační reakce a dnes při správné technice dává spolehlivé výsledky a vytlačuje následovně agglutinace ve zkumavce. Při této modifikaci je výhodou malá spotřeba imunního sera, rychlost provedení a zjednodušení reakce, což má velký význam při stoupající tendenci po přesnějším differencování mikrobů.

Za účelem dalšího zrychlení a zjednodušení provádění reakce agglutinace vypracoval Babudieri (1) novou modifikaci mikroskopické agglutinace, prováděné na skleněných deskách, do nichž jsou vyhloubeny důlky o průměru 10 mm. Při této metodě odpadá potřeba zkumavek, stojánek a pracné mytí skla. Použil této metody při laboratorním vyšetřování Q horečky a hodnotil tuto metodu jako velmi ekonomickou při depistáži Q horečky.

Při stále častějším používání reakce vazby komplementu byly i u této reakce propracovány některé modifikace, které se obdobně snaží zrychlit provádění vazby komplementu za současného šetření jednotlivých ingredientů.

Tak **Fulton** a **Dumbell** (3) použili při serologickém srovnávání kmenů virů chřipky kapkové metody vazby komplementu, při čemž reakci prováděli na deskách z plexiskla (místo ve zkumavkách) a jednotlivé ingredienty byly na desku vkapávány po kapkách. Desky z plexiskla byly 16 čtverečních inčů a 0,125 inče silné (1 inč = 2,54 cm). Vrchní plocha desky byla vyrytím rozdělena na 144 políček, 12 ve svislém sloupci a 12 ve vodorovné řadě. Jedno políčko mělo stranu 3,5 cm dlouhou. Řady čtverců byly za účelem orientace podélně označeny písmeny a svisle číslicemi.

Jednotlivé složky vazby komplementu byly na určitá políčka vkapávány pipetami, které byly roztříděny tak, aby uvolňovaly 20 mm³ a 40 mm³ destilované vody. Autoři zjistili, že uvolňování tohoto obsahu po kapkách z pipet bylo dostatečně přesné pro všechny použité reagentní roztoky bez ohledu na jejich měnící se roztažlivost povrchu.

Pro naplnění reakce byly desky z plexiskla vloženy na zvlášť upravený rošt, který byl pak vložen do mosazných obalů (krabic), které byly vzduchotěsně uzavřeny přišroubováním víčka opatřeného gumou. Aby nedošlo k odpařování kapek s plexiskla, byla na dno krabice vložena vata, namočená v destilované vodě. Krabice s deskami pak byly vkládány jednak do ledničky při 4° C, jednak do termostatu při 37° C.

Tato metoda umožnila autorům provést bez potřeby velkého množství zkumavek velké množství zkoušek, umožnila s přesností posoudit kmeny a připravila cestu pro další klasifikaci.

Kapkovou metodu vazby komplementu podle **Fultona** a **Dumbella** použili s úspěchem **Svedmyr** a spol. (8) při fixaci komplementu s **Brunhildovými** a **Lansingovými** viry **Poliomyelytidy**. Autoři metodu hodnotí tak, že tato modifikace vazby komplementu poskytuje jednoduchou a spolehlivou techniku a je zvláště cenná pro malý počet potřebných reagentů. Pro vkapávání ingredientů použili 1 ml stříkačky s jehlou čís. 19, která uvolňuje kapku o obsahu 20 mm³.

Kapkovou metodu vazby komplementu podle **Fultona** a **Dumbella** hodnotí rovněž velmi kladně **Klönne** (5) zejména v případech, kdy je k dispozici jen velmi malé množství antigenu či sera. Výsledek reakce vazby komplementu, t. j. stupeň haemolysy, hodnotí za 1–2 hodiny po naplnění haemolytického systému jednak podle sedimentu červených krvinek, které sedimentují uprostřed kapky, jednak podle barvy tekutiny.

Kraft a **Melnick** (6) použili kapkové metody vazby komplementu podle **Fultona** a **Dumbella** při imunologickém studiu virů skupiny *Coxsackie*. Popisují přesnou metodiku práce podle **Fultonovy** a **Dumbellovy** techniky destičkové fixace komplementu a zdůrazňují, že při provádění této modifikace neexistuje větší omyl, než jaký vzniká při používání zkumavkového testu. Zdůrazňují dále, že velkou výhodou destičkové metody je to, že umožňuje provádět vyšetření ve větším měřítku při použití různých ředění sera, jakož i antigenu při různých dávkách komplementu. Toto přesné vyšetření reaktivity různých roztoků sera a antigenu nemůže být provedeno, jestliže je v reakci použita pouze jediná dávka komplementu. Metodika umožňuje provést křížové reakce. Dále zdůrazňují, že jednou z velkých výhod používání destičkové metody je, že reakce různých ředění sera nebo antigenu s komplementem je možno stále porovnávat s prováděnými kontrolními testy.

Ačkoliv podle literárních údajů byla kapková vazba komplementu podle **Fultona** a **Dumbella** s úspěchem použita v cizině již na několika pracovištích při různých vyšetřeních, nebyla u nás tato reakce dosud vyzkoušena a popsána.

Vzhledem k tomu, že tato modifikace vazby komplementu značně urychluje provádění vazby komplementu, usnadňuje její provádění, jakož i šetří množství použitých složek, pokusili jsme se propracovat tuto metodu a jelikož nebyla dosud popsána v československé literatuře, popisujeme naši modifikaci kapkové vazby komplementu v určitých podrobnostech.

Metodika

Naši modifikaci kapkové vazby komplementu jsme na rozdíl od modifikace podle Fultona a Dumbella prováděli na deskách z plexiskla, do nichž byly vyvrtány důlky, podobně jako provádí Babudieri agglutinaci. Zhotovení desek z plexiskla s důlky je sice nákladnější, ale tato modifikace poskytuje určité výhody, které budou objasněny popisem práce.

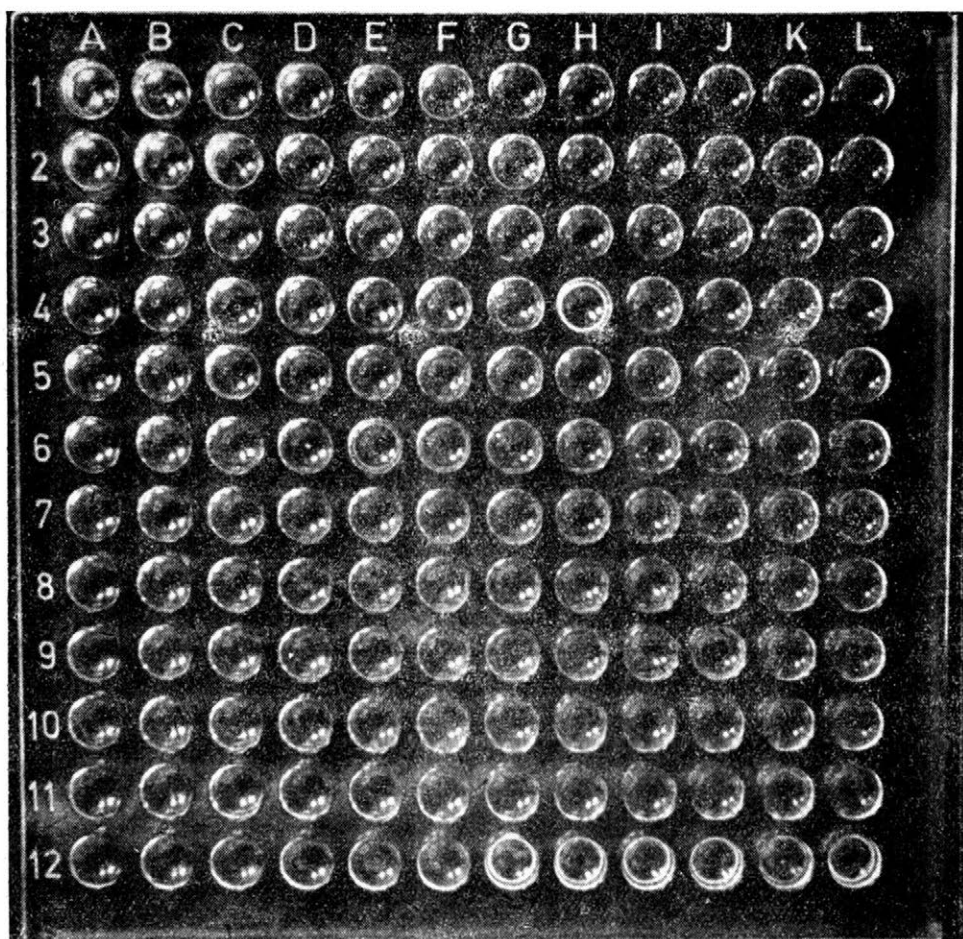
Používáme desky z plexiskla o síle 10 mm, do nichž jsou vyvrtány důlky o průměru 10 mm a hloubky 6 až 7 mm. Na zaoblení spodní části důlku (dolní radius) připadá 2 mm. Obsah důlků, který je 400–500 mm³, plně stačí nejen na pojmутí ingredientů, ale vyhovuje také k protřepání obsahu důlků bez nebezpečí vystříknutí tekutiny, neboť podle velikosti kapek je naplněno průměrně 200 mm³. Zmenšovat obsah důlků by nebylo účelné, jelikož by pak nebylo možné řádné protřepání směsi.

Počet důlků na desce může být různý podle toho, jakým způsobem a za jakým účelem je vazba komplementu prováděna. Je-li vyšetření prováděno několika antigeny, je lépe mít více důlků vodorovně. Vzhledem k naší potřebě jsme se rozhodli používat desek, na nichž je 12 důlků vodorovně a 12 důlků svisle, celkem 144 důlků, které jsou od sebe vzdáleny 3 mm. Vodorovné řady jsou označeny číslicemi, svislé pak písmeny.

Důlky musí být dobře vyleštěny a na spodním radiu důlku nesmí být stopy po vrtání, jelikož špatné vyleštění by bylo na závadu při posuzování výsledku reakce. Nedostatečné vyleštění spodního radiu by způsobovalo nepravidelnosti sedimentu červených krvinek, což by dělalo potíže při posuzování reakce podle sedimentu červených krvinek. (Viz obraz 4 — důlek 1K.) Rovněž boky důlků musí být dobře vyleštěny, aby byly beze stop po vrtání, jelikož jinak může dojít k zachycení byť i malého procenta nehaemolysovaných červených krvinek na stěnách důlků.

K plnění ingredientů po kapkách používáme pipet 1–2 ml, které za účelem stejnoměrnosti kapek musí být stejné, hlavně zakončení pipet. Pipety, které používáme k plnění, si vyzkoušíme tím způsobem, že zjistíme jednak počet uvolněných kapek na 1 ml, jednak, zda tento počet kapek je stálý. Na př. pipeta na 1 ml nám dává 20 kapek, t. j. obsah jedné kapky je 50 mm³, opakovaným pipetováním si pak ověříme, zda tento počet kapek je při každém pipetování stejný. Při plnění vazby používáme pak jen těch pipet, které v 1 ml dávají 20 kapek. Kdybychom při plnění jedné vazby používali různých pipet, některé by měly 20 kapek do 1 ml, jiné na př. 25 nebo 30 kapek, bylo by plnění nepřesné a samozřejmě by se to objevilo v nepřesnosti výsledku reakce. Při plnění jiné vazby můžeme použít zase sadu pipet, které mají kapky o obsahu 40 mm³, t. j. 25 kapek na 1 ml.

Přesné vkapávání dosáhneme také tím, že na konec pipety nasadíme jehlu, jejíž konec je ubroušen. Světlost jehly volíme podle toho, jak velké kapky chceme plnit. Rovněž používané jehly si nejdříve vyzkoušíme na množství a obsah kapek.



Obraz 1. Deska z plexiskla s vyhloubenými důlky — pohled shora

Рис. 1. Пластика из плексигласа с углублениями — вид сверху

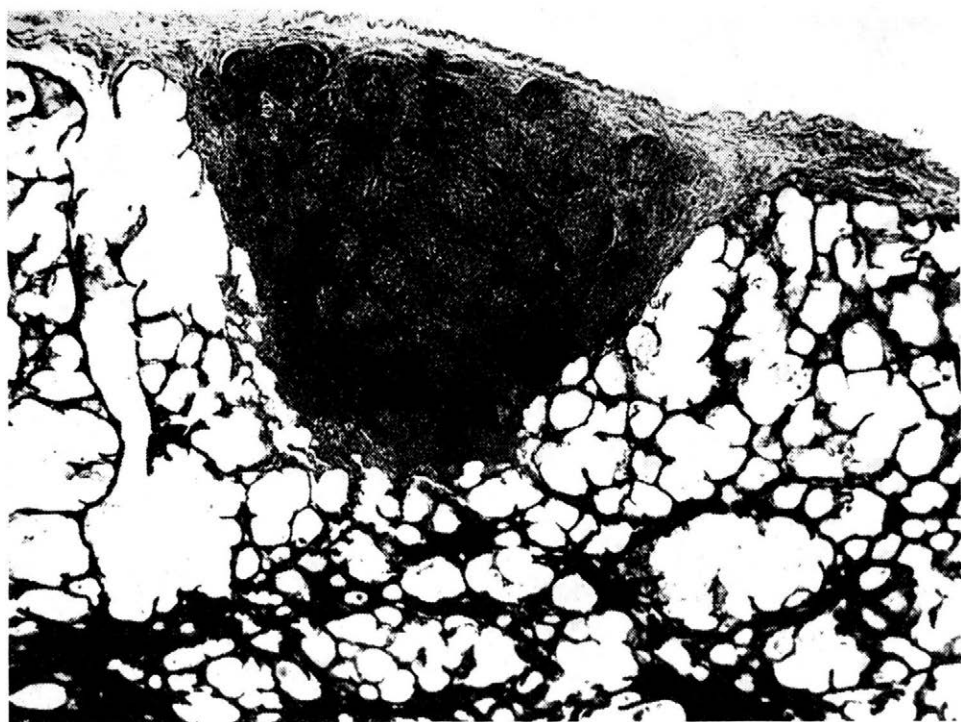
Ill. 1. Sheet of plexiglass with engraved pits — a view from above

Abb. 1. Die Platte aus Plexiglas mit ausgehöhlten Grübchen — Ansicht von oben

K l ö n e uvádí, že při plnění je používána stále stejná stříkačka i jehla a že jsou při plnění proplachovány používaným fyziologickým roztokem. My používáme pro každou složku jinou pipetu, neboť proplachování fyziologickým roztokem nepovažujeme za dostatečné a nad to by se tím zdržovalo ještě i plnění. Jedině při plnění téhož sera v různých ředěních používáme jedné pipety tak, že plníme serum od nejvyššího ředění k nejnižšímu, totéž u komplementu a antigenu.

Při plnění nutno pipetu držet kolmo za účelem stejnoměrnosti kapek, nutno však samozřejmě dbát toho, aby pipeta při plnění se nedotkla stěny důlku, neboť by pak odměření kapky nebylo možné.

Obsah důlků po naplnění protřepáme tím způsobem, že pravou rukou destičkou pohybujeme k sobě a od sebe, při čemž narážíme na položený prst levé ruky nebo levou rukou destičku přidržujeme a palcem pravé ruky poklepáváme



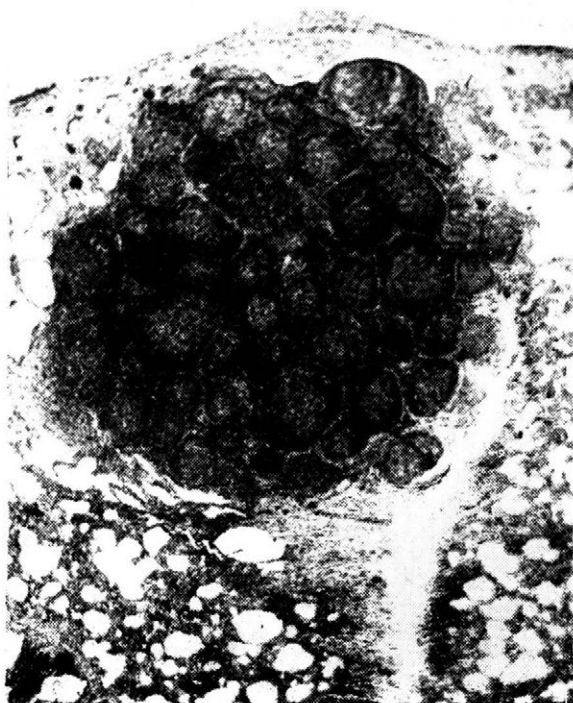
1. Subpleurální lymphadenopathie jehlanovitého tvaru (na řezu trojúhelníkovitého) s nodulární strukturou a s vikarujícím emfysemem okolí

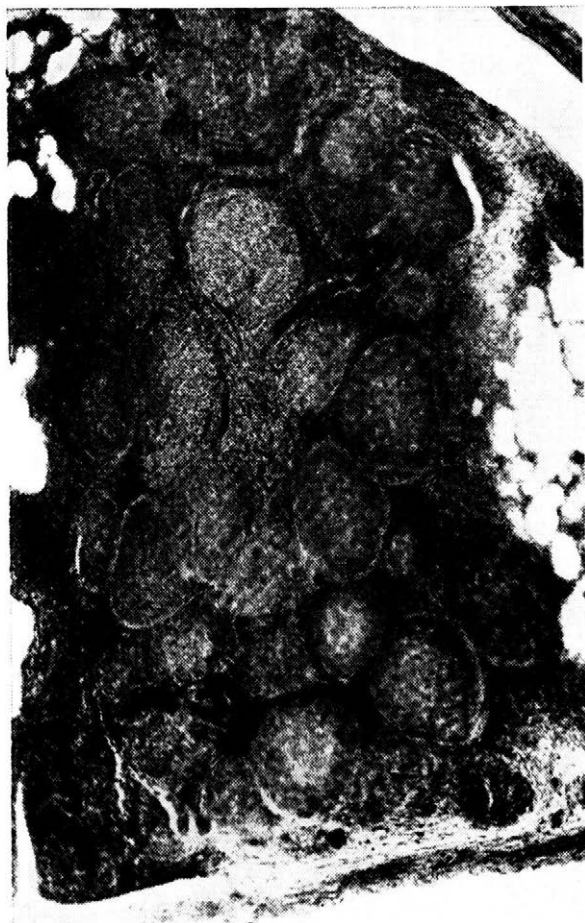
2. Subpleurální lymfadenopathie kulovitého tvaru s nodulární strukturou, vydouvající pleuru, s interlobulárním pojivem na periferii uzlíčku

2. Лимфаденопатия под легочной плеврой шарообразной формы с нодулярной структурой, вздувающей плевру, с интерлобулярной соединительной тканью на периферии узелка

2. Subpleural lymphadenopathy of globular form with a nodular structure, pouching out the pleura, with interlobular connective tissue on the periphery of the nodule

2. Subpleurale Lymphadenopathie kugelförmiger Form mit einer nodularen, die Pleura ausbauchenden Struktur, mit interlobularem Bindegewebe auf Peripherie des Knötchens





3. Subpleurální lymfadenopatie hranolovitého tvaru s nodulární strukturou a se značnou dilatací subserózní lymfatické cévy

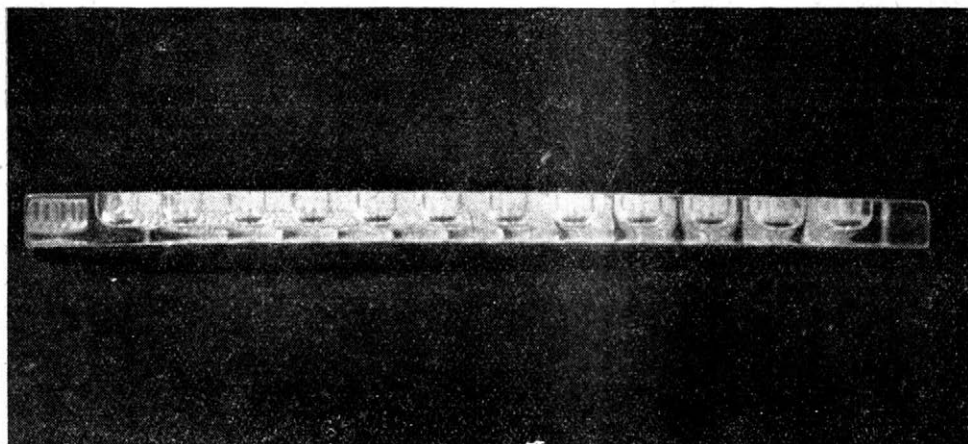
3. Лимфаденопатия под легочной плеврой призматической формы с нодулярной структурой и со значительным расширением субсерозного лимфатического сосуда

3. Subpleural lymphadenopathy of prismatic form with a nodular structure and with a considerable dilatation of the subserous lymphatic vessel

3. Subpleurale Lymphadenopathie prismatischer Form mit nodularer Struktur und mit einer beträchtlichen Dilatation des subserösen lymphatischen Gefäßes

4. Subpleurální lymfadenopatie se značnou tvorbou nodulů, které vydouvají pleuru a prominují nad okolní tkáň





Obraz 2. Deska z plexiskla s vyhloubenými důlky — pohled se strany

Рис. 2. Пластика из плексигласа с углублениями — вид сбоку

Ill. 2. Sheet of plexiglass with engraved pits — a side view

Abb. 2. Die Platte aus Plexiglas mit ausgehöhlten Grübchen — Seitenansicht

destičku se všech stran při současném pomalém otáčení desky. Tím dochází k náhlým otřesům, kterými je tekutina protřepávána.

Krouživým pohybem bychom nedosáhli řádného protřepání obsahu. Protřepávání se musí dít na hladkém podkladu (papír), abychom nepoškodili spodní plochu desky. Plexisklo je totiž velmi citlivé na poškrábání, které by bylo na závalu průhlednosti. Po protřepání desku přikryjeme sklem, aby se tekutina příliš nevypařovala. Sklo musí na destičku přiléhat, což ovšem předpokládá, aby deska byla úplně hladká a nezkroucená. Předpokládáme, že těsnější uzavření (přikrytí) desky není třeba, jelikož mírné odpaření tekutiny není na závalu, což jsme si též pokusy ověřili.

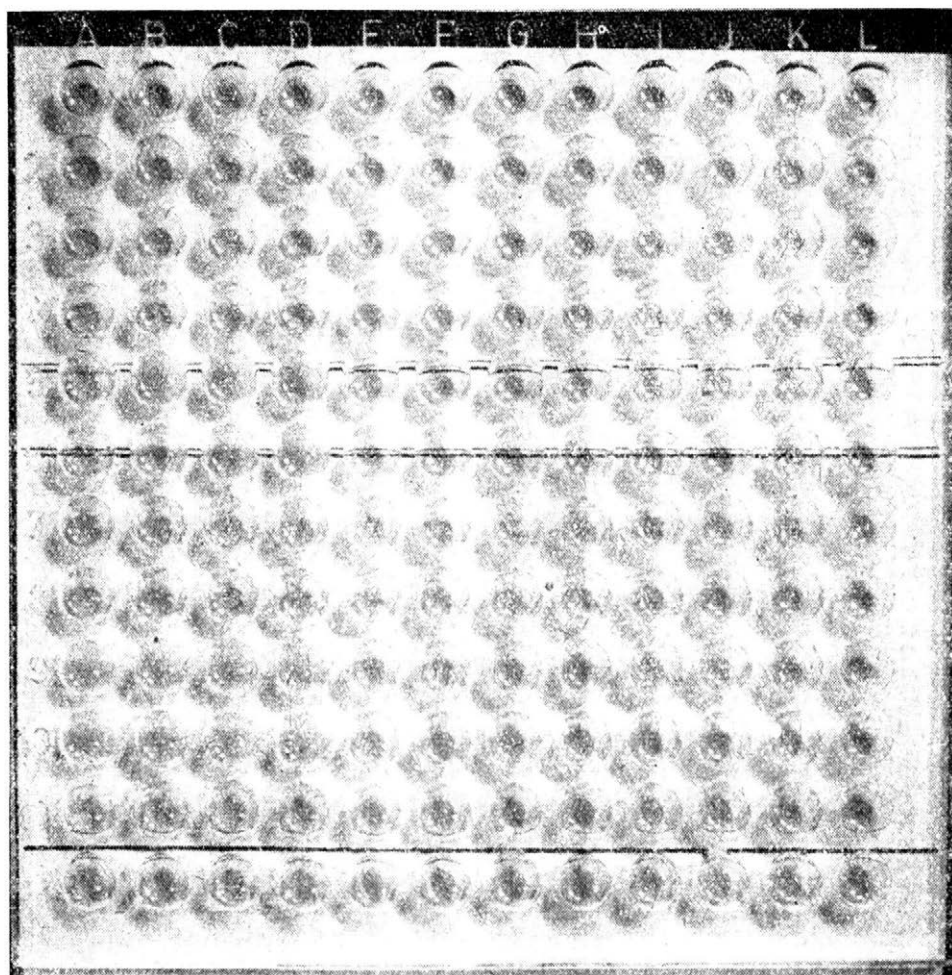
Po naplnění první části vazby komplementu, t. j. po naplnění vyšetřovaného sera, antigenu a komplementu, vložíme desku přikrytou sklem přes noc (na 16—18 hodin) do ledničky při 3—5° C. Používáme-li více desek, skládáme desky na sebe a horní destičku pak přikryjeme sklem.

Druhý den desku vložíme na 10 minut do termostatu při 37° C, pak naplníme haemolytický systém (2 kapky) a vazbu vložíme opět do termostatu při 37° C na 2 hodiny. Odečítání reakce provádíme za 45 minut po prvé a za 2 hodiny po druhé.

První hodnocení reakce za 45 minut provádíme posouzením průhlednosti tekutiny podle stupně haemolysy, druhé hodnocení po 2 hodinách podle velikosti sedimentu červených krvinek. Dvojí odečítání reakce nám zajišťuje správné vyhodnocení reakce, o čemž bude hovořeno později. Odečítání reakce je velmi pohodlné a rychlé.

Hodnocení reakce posouzením průhlednosti podle stupně hemolysy

Desku položíme na bílý papír s černým šrafováním a po předběžném protřepání hodnotíme zbarvení a průhlednost tekutiny. V důlcích, kde proběhla úplná haemolysa, vidíme černé šrafování na bílém papíře ostře a jasně, kdežto



Obraz 3. Posuzování výsledku reakce za 45 minut po přidání haemolytického systému
Podklad desky z plexiskla tvoří bílý papír s černými čarami. Za účelem přesnějšího rozlišení průhlednosti tekutiny a určení stupně haemolysy jsou vedle sebe naryšovány 1 silnější a 1 jedna slabší černá čára.

Рис. 3. Оценка результатов реакции через 45 минут после введения гемолитической системы

Под пластинку из плексигласа подложена белая бумага с черными линиями. С целью более точного определения прозрачности жидкости и установления степени гемолиза — на бумаге проведены параллельно одна тонкая, а другая более толстая черные линии

III. 3. Judging the result of the reaction 45 minutes after adding of the haemolytical system

As a base for the plexiglass sheet serves a white paper with black lines. In order to discern more accurately transparency of the liquid and to establish the grade of haemolysis there are drawn on it 2 parallel black lines, one thinner and one thicker.

Abb. 3. Beurteilung des Ergebnisses der Reaktion 45 Minuten nach Zugabe des hämolytischen Systems

Die Unterlage der Platte aus Plexiglas bildet ein weißes Papier mit schwarzen Linien. Zwecks genauerer Unterscheidung der Durchsichtigkeit der Flüssigkeit und Bestimmung des Hämolyse-Grades sind nebeneinander 1 stärkere und 1 schwächere schwarze Linie aufgezichnet.

Пříklad vyhodnocení:

Řádka 5:

Důlek A — průhlednost tekutiny zmenšena, slabší i silnější čára jsou od sebe dobře odlišené, avšak nejsou jasně a ostře viditelné — výsledek reakce hodnocen na +.

Důlek B, C, D — tekutina neprůhledná, černé čáry nejsou viditelné, úplná zábrana haemolysy — výsledek reakce hodnocen na ++++.

Řádka 6:

Důlek A — tekutina úplně průhledná, obě čáry jsou ostře a jasně viditelné, úplná haemolysa — výsledek reakce hodnocen negativně.

Důlek B — průhlednost tekutiny silněji zmenšena, obě čáry jsou sice ještě od sebe odlišné, avšak jsou nejasné — výsledek reakce hodnocen na ++.

Důlek C — průhlednost tekutiny velmi slabá, obě čáry splývají, nejsou od sebe rozpoznatelné, jsou viděny vcelku a nejasně (stínově) — výsledek reakce hodnocen na +++.

Důlek D — tekutina neprůhledná, černé čáry nejsou viditelné, úplná zábrana haemolysy — výsledek reakce hodnocen na ++++.

Důlek F, L — tekutina úplně průhledná, obě čáry jsou viditelné ostře a jasně, úplná haemolysa — výsledek reakce hodnocen negativně.

Пример оценки результата реакции

Ряд 5:

Углубление A — прозрачность жидкости уменьшенная, тонкая и более толстая линии легко отличаются одна от другой, однако видны не вполне ясно и четко. Результат реакции обозначается +.

Углубления B, C, D — жидкость непрозрачна, черные линии не видны, полное отсутствие гемолиза — результат реакции обозначается + + + +

Ряд 6:

Углубление A — жидкость совершенно прозрачная, обе линии видны ясно и четко, наступил полный гемолиз — результат реакции считается отрицательным.

Углубление B — прозрачность жидкости значительно уменьшенная, обе линии, хотя их еще возможно отличить одну от другой, однако видны неясно — результат обозначается + +

Углубление C — прозрачность жидкости весьма слабая, обе линии сливаются, невозможно отличить одну от другой, они видны вообще неясно (затененно) — результат реакции обозначается + + +

Углубление D — жидкость мутная, черные линии не видны, полное отсутствие гемолиза — результат реакции обозначается + + + +

Углубления F, L — жидкость совершенно прозрачна, обе линии видны ясно и четко, наступил полный гемолиз — результат реакции считается отрицательным

Example of evaluation:

Row 5:

pit A — transparency of the liquid reduced, both thinner and thicker line are well distinguished from each other but they are not clearly and sharply visible — result of the reaction valued on +.

pit B, C, D — the liquid not transparent, the black lines are not visible, a complete inhibition of haemolysis — result of reaction valued on ++++.

Row 6:

pit A — the liquid entirely transparent, both lines are sharply and clearly visible, a complete haemolysis — result of the reaction valued negatively.

pit B — transparency of the liquid more markedly reduced, both lines are still visible, though, but they are unclear — result of the reaction valued on ++.

pit C — transparency of the liquid very feeble, both lines merge, they are not discernible from each other, they are visible as a whole and unclearly (faintly indicated as a shadow) — result of the reaction valued on +++.

pit D — the liquid not transparent, the black lines are not visible, a complete inhibition of haemolysis — result of the reaction valued on ++++.

pit F, L — the liquid entirely transparent, both lines are sharply and clearly visible, a complete haemolysis — result of the reaction valued negatively.

Beispiel der Auswertung:

Reihe 5:

Grübchen A — Durchsichtigkeit der Flüssigkeit vermindert, sowohl die schwächere als auch die stärkere Linie sind gut voneinander unterschiedlich, sind jedoch nicht klar und scharf sichtbar — Ergebnis der Reaktion gewertet auf +.

Grübchen B, C, D — Flüssigkeit undurchsichtig, schwarze Linien sind nicht sichtbar, vollständige Hemmung der Hämolysen — Ergebnis der Reaktion gewertet auf ++++.

Reihe 6:

Grübchen A — Flüssigkeit vollständig durchsichtig, beide Linien sind scharf und klar sichtbar, vollständige Hämolysen — Ergebnis der Reaktion negativ gewertet.

Grübchen B — Durchsichtigkeit der Flüssigkeit stärker vermindert, beide Linien sind zwar noch voneinander verschieden, sie sind jedoch unklar — Ergebnis der Reaktion auf ++ gewertet.

Grübchen C — Durchsichtigkeit der Flüssigkeit sehr schwach, beide Linien fließen zusammen, sind nicht erkennbar voneinander, sind als ein Ganzes und unklar (schattenhaft) sichtbar — Ergebnis der Reaktion auf +++ gewertet.

Grübchen D — Flüssigkeit undurchsichtig, schwarze Linien sind nicht sichtbar, völlige Hemmung der Hämolysen — Ergebnis der Reaktion auf ++++ gewertet.

Grübchen F, L — Flüssigkeit vollständig durchsichtig, beide Linien sind scharf und klar sichtbar, völlige Hämolysen — Ergebnis der Reaktion negativ gewertet.

tam, kde nastala lyse krvinek v určitém stupni, je černé šrafování méně jasné až neznatelné. Tímto způsobem můžeme pohodlně a hlavně přesně podle průhlednosti tekutiny určit stupeň haemolysy. V tom případě, kdy po 45 minutách nenastala ještě úplná haemolysa v kontrolách, ponecháme desku ještě 15 minut v thermostatě a pak reakci hodnotíme. Po tomto prvním vyhodnocení vložíme desku opět do thermostaty a po 1 hodině hodnotíme vazbu po druhé podle sedimentu červených krvinek. (Viz obr. 3 a text na stránkách 366—368.)

Hodnocení reakce podle sedimentu červených krvinek

Při tomto hodnocení tvoří podložku zrcadlo. Desku z plexiskla zvedneme asi 15 cm nad zrcadlo a sediment červených krvinek v zrcadle pozorujeme a hodnotíme. (Viz obr. 4 a text na stránkách 370—371.)

Sediment červených krvinek můžeme též dobře hodnotit, i když ponecháme desku položenou přímo na zrcadle. Při hodnocení bereme rovněž v úvahu barvu tekutiny, která je různá podle stupně haemolysy. (Viz obr. 5 a text na stránkách 372—374.)

Při druhém hodnocení za 2 hodiny jsme často pozorovali, že v důlcích, kde při prvním hodnocení podle stupně haemolysy po 45 minutách byla reakce hodnocena na jeden i dva křížky, dochází po 2 hodinách většinou k úplné haemolysy, což upřesňuje vyhodnocení reakce, neboť odpadají ve značné míře nejasnější výsledky. Je-li reakce pozitivní při prvním hodnocení na 4 křížky a většinou i na 3 křížky, zůstává tento výsledek i po 2 hodinách nezměněn. V tabulkách 1 a 2 je uvedeno vyhodnocení 2 ser po 45 minutách a po 2 hodinách.

Procento dubiosních výsledků je skutečně omezeno jen na ty případy, kdy v seru je přítomno malé množství specifických protilátek či hledaného antigenu. Zjistili jsme, že při pozitivní reakci nedošlo k lysi červených krvinek ani po delší době než 2 hodiny. Tímto dvojím odečítáním reakce je zajištěno správné vyhodnocení výsledku reakce.

Tab. 1. Vyhodnocení sera čís. 1 a čís. 2 za 45 minut

Komplement	1:10	1:15	1:20	1:25	1:10	1:15	1:20	1:25
Antigen	Tx 1:30				Fys. roztok (kontrola)			
Serum č. 1	1 : 10	+	+	+	+	+	+	+
	1 : 20	-	+	+	+	+	+	+
	1 : 50	-	-	+	+	+	+	+
Serum č. 2	1 : 10	-	-	+	+	+	+	+
	1 : 20	-	-	+	+	+	+	+
	1 : 50	-	-	-	-	-	-	-

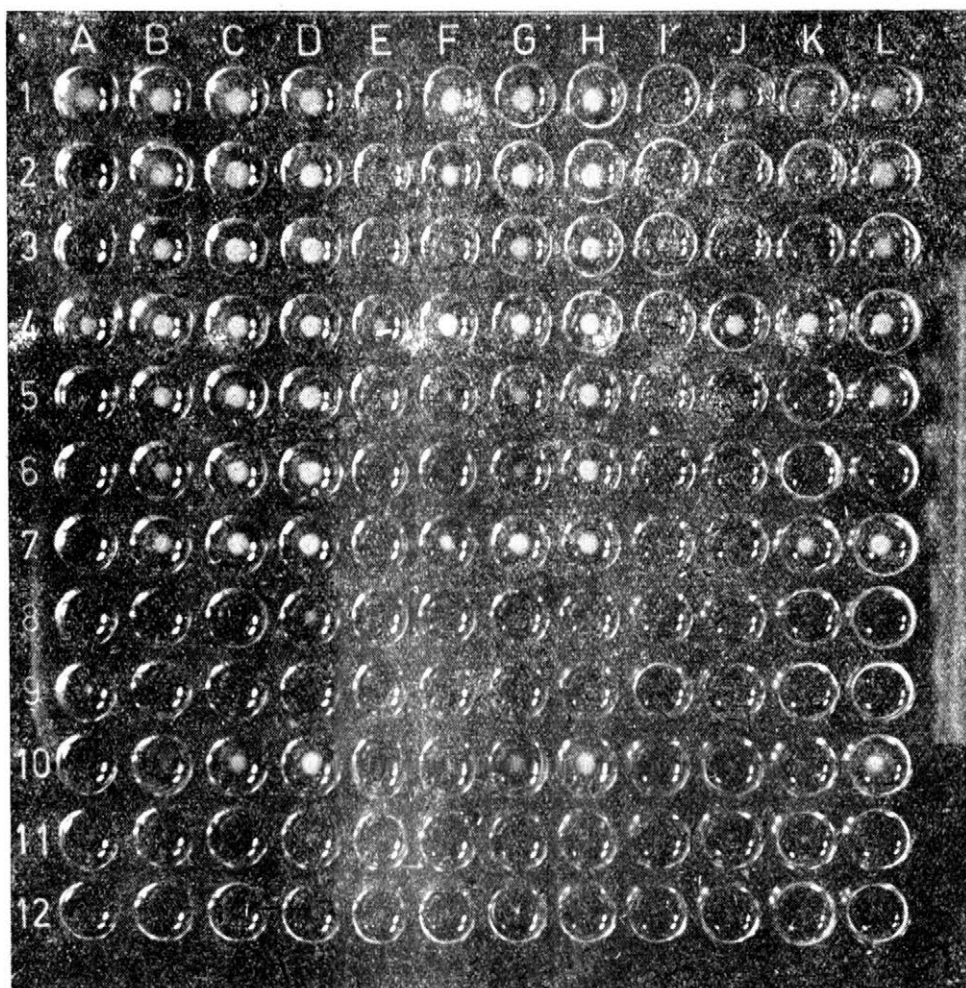
Tab. 2. Vyhodnocení sera č. 1 a čís. 2 za 2 hodiny

Komplement	1:10	1:15	1:20	1:25	1:10	1:15	1:20	1:25
Antigen	Tx 1 : 30				Fys. roztok (kontrola)			
Serum č. 1	1 : 10	-	-	+	+	+	+	+
	1 : 20	-	-	+	+	+	+	+
	1 : 50	-	-	+	+	+	+	+
Serum č. 2	1 : 10	-	-	-	-	-	-	-
	1 : 20	-	-	-	-	-	-	-
	1 : 50	-	-	-	-	-	-	-

Jednotlivé stupně haemolysy jsou u kapkové vazby komplementu ostřeji odděleny než u zkumavkové vazby, čímž je též usnadněno přesnější odečítání a vyhodnocení reakce. U kapkové vazby komplementu z velké části odpadají neurčité a nejasné výsledky na 1 nebo 2 křížky a rozdíl mezi 2 a 3 křížky lze téměř vždy přesně vymezit, což je důležité proto, že reakci na 2 křížky nehodnotíme jako pozitivní. Vysvětlení pro tuto skutečnost jsme našli také v tom, že plnění ingredientů při kapkové vazbě komplementu je přesnější. Při přeměrování napipetovaného obsahu zkumavek, které ve výsledku haemolysy u zkumavkové vazby se rozcházejí s příslušnými důlky kapkové vazby komplementu jsme zjistili, že v příslušné zkumavce místo 1 ml celkového množství byl v některých zkumavkách rozdíl 0,1–0,15 ml (vždy méně), což je vysvětlitelné jednak nepřesnými pipetami, jednak ulpěním malého množství ingredientů na stěnách pipety či zkumavky při rychlém plnění. Při běžném diagnostickém vyšetřování je těžké vyhnout se této chybě, jelikož pipetování je nutno provádět poměrně rychle, aby bylo možno zvládnout vyšetření většího množství vzorků. Tato možnost chyby při plnění po kapkách odpadá, což se pak jeví na přenosti výsledku.

Samozřejmě, že se setkáváme i se sery autotropními a v takovém případě reakci se serem i jen částečně autotropním hodnotíme vždy kriticky, i když tyto nespecifické reakce většinou nastávají v nízkém ředění sera.

Vzhledem k tomu, že při vyhodnocování reakce máme vždy přehled po celé vazbě a můžeme neustále pozorovat kontroly a srovnávat je s ostatními důlky vlastní vazby, máme zaručeno správné vyhodnocení stupně haemolysy ve všech důlcích, jakož i dobré vyhodnocení antikomplementárního účinku vyšetřovaných ser nebo antigenů.



Obraz 4. Posuzování výsledku reakce za 2 hodiny po přidání haemolytického systému
Deska z plexiskla je zvednuta asi 15 cm nad zrcadlo a výsledek reakce je hodnocen posuzováním velikosti sedimentu, který vidíme v zrcadle zespodu.

Рис. 4. Определение результатов реакции через 2 часа после введения гемолитической системы

Пластика из плексигласа поднята приблизительно на 15 см над зеркалом и результат реакции определяется в зависимости от размеров оседания, которое наблюдается в зеркале снизу

III. 4. Judging the result of the reaction 2 hours after adding of the haemolytical system

The plexiglass plate is lifted about 15 centimetres over the mirror and result of the reaction is valued by judging the size of sediment which we see in the mirror from below.

Abb. 4. Beurteilung des Ergebnisses der Reaktion 2 Stunden nach Zugabe des hämolytischen Systems

Die Platte aus Plexiglas ist etwa 15 cm über das Spiegel gehoben und Ergebnis der Reaktion ist durch Beurteilung der Größe des Sediments, daß wir im Spiegel von unten sehen, gewertet.

Příklad vyhodnocení:

Důlek 1 A — reakce hodnocena na ++++
Důlek 2 A — reakce hodnocena na +++
Důlek 4 A — reakce hodnocena na ++
Důlek 4 F — reakce hodnocena na +
Důlek 4 E — reakce hodnocena negativně

Пример определения результатов реакции:

Углубление 1 A — реакция обозначается ++++
Углубление 2 A — реакция обозначается +++
Углубление 4 A — реакция обозначается ++
Углубление 4 F — реакция обозначается +
Углубление 4 E — реакция считается отрицательной

Example of evaluation:

Pit 1 A — the reaction valued on ++++
Pit 2 A — the reaction valued on +++
Pit 4 A — the reaction valued on ++
Pit 4 F — the reaction valued on +
Pit 4 E — the reaction valued on negatively

Beispiel der Auswertung

Grübchen 1 A — Reaktion gewertet auf ++++
Grübchen 2 A — Reaktion gewertet auf +++
Grübchen 4 A — Reaktion gewertet auf ++
Grübchen 4 F — Reaktion gewertet auf +
Grübchen 4 E — Reaktion gewertet auf negativ

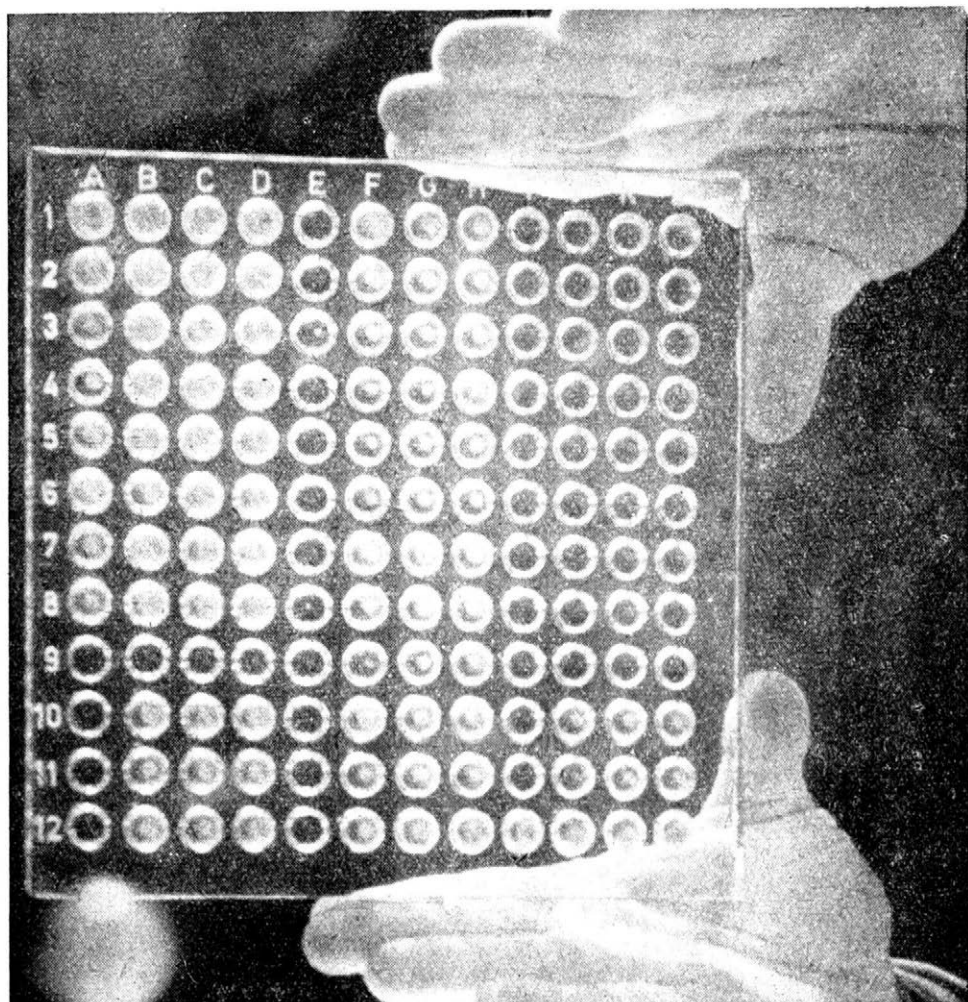
Zacvičení na správné vyhodnocení reakce, ať už podle stupně haemolysy či podle sedimentu červených krvinek, není nikterak těžké, neboť hodnocení stupně zábrany haemolysy za pomoci podkladů (šrafovaného papíru a zrcadla) je velmi usnadněno proti běžnému hodnocení vazby prováděné ve zkumavkách.

Hodnocení je dále mnohem rychlejší než hodnocení vazby prováděné ve zkumavkách, neboť odpadá brání jednotlivých zkumavek do ruky a jejich protřepávání.

Spolehlivost a jednoznačnost kapkové vazby komplementu se zkumavkovou vazbou jsme si ověřili tím, že část pokusných vyšetření jsme prováděli současně s běžně prováděnou vazbou ve zkumavkách plněných v množství 0,2 ml jednotlivých ingredientů, čili v celkovém množství 1 ml. Výsledky obou vazeb byly shodné, avšak u kapkové vazby komplementu, jak už bylo dříve řečeno, se nevyskytovaly chyby, které u zkumavkové vazby byly zaviněny nepřesným plněním, což při plnění většího množství zkumavek je pochopitelné.

Novou modifikaci kapkové vazby komplementu jsme vyzkoušeli při provádění laboratorních pokusů u toxoplasmosy a leptospirosy. Tyto pokusy byly náročné na vyšetření velkého množství vzorků vazbou komplementu. Zvláště při leptospirose nám tato metoda umožnila obsáhlá podrobná křížová vyšetření s mnoha leptospirozními antigeny a hyperimunními sery, což při provádění normální zkumavkové vazby komplementu by bylo technicky těžko proveditelné, jelikož bylo náročné jak časově, tak i personálně, jakož i velkou spotřebou jednotlivých složek vazby komplementu.

Výsledky těchto prováděných pokusů budou uveřejněny později.



Obraz 5. Posuzování výsledku reakce za 2 hodiny po přidání haemolytického systému

Podklad desky z plexiskla tvoří zrcadlo a výsledek reakce je hodnocen podle velikosti sedimentu červených krvinek a podle barvy tekutiny. Deska je položena přímo na zrcadlo.

Рис. 5. Определение результатов реакции через 2 часа после введения гемолитической системы

Под пластинкой из плексигласа помещается зеркало и результат реакции определяется в зависимости от размеров оседания красных кровяных телец и по цвету жидкости. Пластинка помещена прямо на зеркало

Ill. 5. Judging the result of the reaction 2 hours after adding of the haemolytical system

As a base for the plexiglass sheet serves a mirror and the result of the reaction is being valued according to the size of sediment and to the colour of the liquid. The sheet is laid directly on the mirror.

Ab. 5. Beurteilung des Ergebnisses der Reaktion 2 Stunden nach Zugabe des hämolytischen Systems

Die Unterlage der Platte aus Plexiglas bildet ein Siegel und das Ergebnis der Reaktion wird nach Größe des Sedimentes der roten Blutkörperchen und nach der Farbe der Flüssigkeit beurteilt. Die Platte ist direkt auf das Spiegel gelegt.

Пříklad vyhodnocení:

Rádka 1:

Důlek A, B, C, D, F, G, H, L — tekutina nezbarvená, velký sediment červených krvinek, úplná zábrana haemolysy — výsledek hodnocen na ++++.

Důlek E, I — tekutina lakově červeně zbarvena, žádný sediment červených krvinek, úplná haemolysa — výsledek reakce hodnocen negativně.

Důlek J — tekutina zbarvena částečně uvolněným barvivem krevním, poloviční sediment červených krvinek — výsledek reakce hodnocen na ++.

Důlek K — dolní radius důlku špatně vyleštěn a stopy po vrtání zapříčiňují nerovnoměrnou sedimentaci červených krvinek, takže sediment nelze dobře hodnotiti. Tento příklad vybrán záměrně, aby bylo zdůrazněno, že při zhotovování důlků musí být dbáno na bezvadné vyleštění dolního radia a boků důlků.

Výsledek reakce na +++ hodnotíme, jestliže tekutina je slabě červeně zbarvena a sediment červených krvinek je poněkud menší než při úplné zábraně — na obrázku na př. důlek 2 B.

Пример определения результатов:

Ряд 1:

Углубления A, B, C, D, F, G, H, L — жидкость бесцветная, большое оседание красных кровяных телец, полное отсутствие гемолиза — результат обозначается ++++

Углубления E, I — жидкость лакового красного цвета, не произошло оседание красных кровяных телец, наступил полный гемолиз — результат реакции считается отрицательным

Углубление J — жидкость окрашена частично в кровавый цвет, оседание красных кровяных телец произошло наполовину — результат реакции обозначается ++

Углубление K — нижний радиус углубления плохо отшлифован и следы после сверления являются причиной неравномерного оседания красных кровяных телец, таким образом оседание нельзя правильно определить. Автор приводит этот пример специально для того, чтобы подчеркнуть то обстоятельство, что при изготовлении пластинок необходимо следить за тщательной шлифовкой нижнего радиуса и боков углубления.

Результат реакции обозначается + + +, в том случае если жидкость окрашена в слабый красный цвет и оседание красных кровяных телец происходит в несколько меньшей степени, нежели при полном отсутствии — например, на рисунке 2 B.

Example of evaluation:

Row 1:

pit A, B, C, D, F, G, H, L — the liquid uncoloured, a large sediment of red blood-corpuscles, a complete inhibition of haemolysis — the result valued on ++++.

pit E, I — the liquid red-lacquer coloured, no sediment of red blood-corpuscles, a complete haemolysis — results of the reaction valued negatively.

pit J — the liquid coloured by a partially-freed blood-pigment, half-sediment of red blood-corpuscles — result of the reaction valued on ++

pit K — the lower radius of the pit badly polished and the traces after drilling cause an irregular sedimentation of red blood-corpuscles so that it is difficult to value the sediment reliably. This example has been chosen purposefully in order to emphasize that in making the pits a meticulous care must be applied to attain the faultless polishing of the lower radius and of sides of the pits.

We value the result of the reaction + + + + when the liquid is slightly rosy-red coloured and when the sediment of red blood-corpuscles is somewhat lesser than at the complete inhibition — on picture for instance the pit 2 B.

Beispiel der Auswertung

Reihe 1:

Grübchen A, B, C, D, F, G, H, L — Flüssigkeit ungefärbt, großes Sediment der roten Blutkörperchen, vollständige Hemmung der Hämolyse — Ergebnis auf ++++ gewertet.

Grübchen E, I — Flüssigkeit lackrot gefärbt, kein Sediment der roten Blutkörperchen, vollständige Hämolyse — Ergebnis der Reaktion negativ bewertet.

Grübchen J — Flüssigkeit mit teilweise frei gewordenem Blutfarbstoff gefärbt, Halbsediment der roten Blutkörperchen — Ergebnis der Reaktion auf ++ gewertet.

Grübchen K — der untere Radius des Grübchens schlecht poliert und die Spuren nach Bohren verursachen eine ungleichmäßige Sedimentation der roten Blutkörperchen, sodaß das Sediment nicht gut gewertet werden kann. Dieses Beispiel wurde absichtlich gewählt, um zu zeigen, daß bei Herstellung der Grübchen auf ein tadelloses Auspolieren des unteren Radius und der Grübchenseiten geachtet werden muß.

Ergebnis der Reaktion wird auf +++ gewertet wenn die Flüssigkeit schwach rot gefärbt ist und wenn das Sediment der roten Blutkörperchen ein wenig kleiner ist als bei vollständiger Hemmung — auf der Abbildung zum Beispiel das Grübchen 2 B.

Kapková vazba komplementu zjednodušuje provádění vazby komplementu a umožňuje mnohem rychlejší provádění reakce, což zejména při nutnosti vyšetření velkého množství vzorků zvyšuje význam této modifikace. Umožňuje vyšetření i v případech, kdy je k dispozici velmi malé množství materiálu a zároveň šetří i použité ingredience, zejména komplement a antigen, jehož příprava je v některých případech obtížná a nákladná, zejména u virových antigenů.

Při provádění kapkové vazby komplementu je také výhodou to, že nepotřebujeme tak velkého prostoru jako když používáme zkumavky ve stojancích a máme přitom neustále přehled po celé vazbě.

Odpadá pracné umývání malých zkumavek, které klade velké požadavky na umývárnu skla. Mytí desek z plexiskla je velmi jednoduché, neboť deska se vymyje prudkým proudem tekoucí vody, pak se ponoří do ředěné kyseliny na 1 hodinu. Po vyjmutí z kyseliny se opět opláchne pod tekoucí vodou, načež se několikrát propláchne v destilované vodě. Po vyjmutí z destilované vody se deska otřepe a dá se usušit do termostatu nebo sušárny při 60° C. Zvláštní vytírání důlků není potřeba.

Souhrn

Bylo pojednáno v krátkosti o významu reakce vazby komplementu při serologické diagnostice infekčních chorob a poukázáno na některé výhody a nevýhody této reakce. Vzhledem k úspěšnému použití kapkové vazby komplementu podle Fultona a Dumbella na cizích pracovištích byla na našem pracovišti propracována tato metoda v nové modifikaci jak v provádění, tak i vyhodnocování výsledků reakce.

Při provádění naší modifikace kapkové vazby komplementu podle Fultona a Dumbella jsme použili desek z plexiskla s vyvrtanými důlky, do nichž jsou jednotlivé ingredience plněny. Tato modifikace přináší některé výhody proti původní metodě. K plnění ingredientů jsme použili 1 a 2 ml pipet, které byly napřed vyzkoušeny a seřazeny tak, abychom při plnění jedné vazby používali

pipet, které uvolňují kapky o stejném obsahu. Zjistili jsme, že plnění po kapkách je velmi přesné, mnohem přesnější než plnění po 0,2 ml při běžném provádění vazby komplementu ve zkumavkách.

Úpravou destiček s důlky jsme dosáhli toho, že jsme nemuseli používat zvláštních roštů, na něž jsou naplněné desky vkládány, rovněž tak odpadlo používání vzduchotěsně uzavřených plechových obalů pro rošty. Desky po naplnění jsou přikryty sklem. V případě použití většího počtu desek lze desky skládat na sebe a teprve horní deska je přikryta sklem. Předpokládá to ovšem zaručeně rovné plexisklo. Tím je dostatečně zamezeno nadměrnému vypařování tekutiny. Mírné odpaření není na závadu reakce.

Vazbu komplementu jsme prováděli metodou dlouhodobého spojování za chladu. Druhou fází reakce po naplnění haemolytického systému jsme prováděli v termostatu při 37° C po dobu 2 hodin.

Odečítání reakce jsme prováděli jednak za 45 minut po naplnění haemolytického systému posuzováním výsledku reakce podle stupně haemolysy, podle zbarvení a průhlednosti tekutiny. Podklad tvoří bílý papír s černým šrafováním.

Druhé posouzení reakce jsme prováděli za 2 hodiny po naplnění haemolytického systému, kdy je výsledek reakce posuzován podle velikosti sedimentu červených krvinek a zbarvení tekutiny. Podklad desky tvoří zrcadlo.

Výsledek reakce je velmi snadno a rychle odečitatelný. U pozitivní reakce ani po delší době nedochází k lysi červených krvinek. Nutno však upozornit na to, že v některých případech při prvním posuzování může být reakce pozitivní na 3 křížky, kdežto při druhém posuzování za 2 hodiny dochází pak k lysi krvinek. Po dodatečném druhém vyšetření dotýčných ser jsme zjistili, že šlo o negativní sera, u nichž při prvním vyšetření došlo z nám neznámých důvodů k opožděné lyse červených krvinek. Má tedy hodnocení reakce po 2 hodinách svůj význam za účelem vyloučení chybného výsledku reakce, zaviněného opožděnou lysi červených krvinek.

Jednotlivé stupně haemolysy jsou od sebe ostře odděleny, zvláště pak lze dobře hodnotit reakci na 2 křížky a 3 křížky, což má velký význam při konečném posuzování pozitivnosti sera.

Velkou výhodou při posuzování je ta okolnost, že máme neustále přehled po celé vazbě i s kontrolami, což umožňuje přesné odečtení reakce zvláště u ser, u nichž se setkáváme s částečným antikomplementárním účinkem.

Desky z plexiskla jsou velmi snadno a rychle čistitelné, takže odpadá pracné a časově pro umyvárnu skla náročné mytí malých zkumavek.

Provádění kapkové vazby komplementu je nepoměrně rychlejší než provádění normální vazby komplementu ve zkumavkách, což umožňuje vyšetření mnohem většího počtu vzorků.

Z výhod, které uvádějí rovněž zahraniční autoři, uvádím:

1. možnost řádného vyšetření i v případech omezeného množství vyšetřovaného materiálu (sera, antigeny),
2. rychlá, jednoduchá a spolehlivá technika,
3. neustálý přehled po celé reakci s možností současně kontroly s kontrolními testy,
4. přesné posouzení velkého množství zkoušek.

Musíme zdůraznit zvláště důležitou a cennou skutečnost, že nová modifikace kapkové vazby komplementu v důsledku přesnějšího plnění ingredientů

a tím omezení chyb při plnění, dává přesnější výsledky než zkumavková vazba komplementu, což jsme si ověřili při současném kontrolním vyšetření metodou zkumavkovou a kapkovou.

Nemalou výhodou při naší modifikaci je i jednoduchost a hlavně spolehlivost přesného odečtení reakce za pomoci podkladů.

Shrme-li všechny výhody této modifikace, lze předpokládat, že přispěje k širšímu použití vazby komplementu jak při běžné diagnostice, tak i ve výzkumu, neboť odstraňuje určité technické nevýhody dosavadního způsobu provádění zkumavkové vazby komplementu, které jsou velkou časovou ztrátou.

Doporučujeme proto provádění této modifikace, neboť jsme nezjistili žádné úchytky od výsledků zkumavkové vazby komplementu. Proti původní metodě kapkové vazby komplementu podle Fultona a Dumbella má naše modifikace své určité výhody jak v provádění, tak i ve vyhodnocování a mimo jiné je i méně náročná na různé doplňující potřeby k vazbě, jako rošty, vzduchotěsné obaly a menší rozměry desek z plexiskla.

Souhrn

Je popsána nová modifikace kapkové vazby komplementu, prováděná na deskách z plexiskla s vyhloubenými důlky.

Malá spotřeba jednotlivých ingredientů umožňuje vyšetření i v případech, kdy je k dispozici velmi malé množství materiálu.

Proti normální zkumavkové vazbě komplementu odpadá potřeba zkumavek, stojánek a pracné mytí skla, proti původní metodě podle Fultona a Dumbella odpadá potřeba roštů a obalů.

Nezjistili jsme odchylných výsledků proti normální běžně prováděné zkumavkové vazbě komplementu. U nové modifikace jsme naopak zjistili přesnější výsledky. Jednotlivé stupně haemolysy jsou od sebe ostře odděleny, což umožňuje přesné vyhodnocení reakce.

Plnění ingredientů po kapkách je přesné, což zaručuje spolehlivost výsledků reakce a vylučuje chyby zaviněné nepřesným plněním.

Nová modifikace kapkové vazby komplementu poskytuje rychlou, jednoduchou a spolehlivou techniku.

Literatura

1. Babudieri B.: Techniques de la laboratoire pour le diagnostic de la fièvre Q. Zoonoses Genève 1954, 211-217. — 2. Blaškovič D.: Laboratorní metody vo virologii. Bratislava 1954. — 3. Fulton F., Dumbell K.: The serological comparison of strains of influenza virus. J. gen. Microbiol. 3, 1949, 97-111. — 4. Hallmann L.: Bakteriologie und Serologie. Stuttgart 1955. — 5. Klöne W.: Laboratoriumsdiagnose menschlicher Virus- und Rickettsieninfektionen. Berlin 1953. — 6. Kraft L., Melnick J.: Immunological reaction of the Cocksackievirus. II. Complement fixation test. J. Exper. Med. 92, 1950, 483-497. — 7. Málek I.: Obecná mikrobiologie lékařská. Praha 1953. — 8. Svedmyr A., Enders J., Holloway A.: Complement fixation with Brunhilde and Lansing Poliomyelitis viruses propagated in tissue culture. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 79, 1952, 296-300.

Новая модификация реакции капельного связывания комплемента

Автор описывает новую модификацию капельной реакции связывания комплемента, которая производится на пластинках из плексигласа с углублениями.

Небольшой расход отдельных ингредиентов предоставляет возможность производить постановку реакции также и в тех случаях, когда в распоряжении имеется весьма незначительное количество материала.

По сравнению с нормальной реакцией связывания комплемента в пробирке отпадает необходимость иметь для этой цели пробирки, поставки и также трудоемкое вымывание стекла, а по сравнению с первоначальным методом по Фультону и Думбеллю отпадают решетки и упаковка.

По сравнению с нормальной обычной реакцией связывания комплемента в пробирке при новой модификации не были установлены отклонения в полученных результатах. Наоборот, при новой модификации были установлены более точные результаты. Отдельные степени гемолиза отличаются резко одна от другой, что предоставляет возможность производить точную оценку реакции.

Наполнение ингредиентов производится по каплям с большой точностью, что обеспечивает наиболее надежные результаты реакции и исключает возможность ошибок, возникающих вследствие неточного наполнения.

Новая модификация капельной реакции связывания комплемента обеспечивает быстроту, простоту и надежность техники.

A New Modification of Drop Complement Fixation Test

A new modification of drop complement fixation test carried out on sheets from plexiglas with engraved pits was described.

A small use of ingredients enables the investigation even in those cases when a very small amount of material is on hand.

Using this modification no tubes, stands and laborious washing of glass are necessary. In the contrary to the original method of Fulton and Dumbell there is no need of racks and boxes.

We have not found results which would differ from those obtained by normal usually carried-out tube complement fixation test. On the contrary, the results were more exact. The degrees of haemolysis were very sharply separated which enables an exact reading of reaction.

The precise filling of ingredients enables the reliability of the reaction results and excludes the faults due to the wrong filling.

A new modification of drop complement fixation test presents a rapid, simple and reliable technic.

Eine neue Modifikation der Komplementbindungsreaktion mit der Tropfenmethode

Es wird eine neue Modifikation der Komplementbindungsreaktion mit der Tropfenmethode beschrieben, die in Bohrvertiefungen einer durchsichtigen Plexiglasplatte durchgeführt wird.

Diese Methode gestattet die Untersuchung auch wenn nur geringe Mengen der einzelnen Ingredients zur Verfügung stehen.

Gegen normale Komplementbindungsreaktion, die in Eprouvetten durchgeführt wird, fällt die Notwendigkeit der Benützung der Gestelle, Eprouvetten und ihr

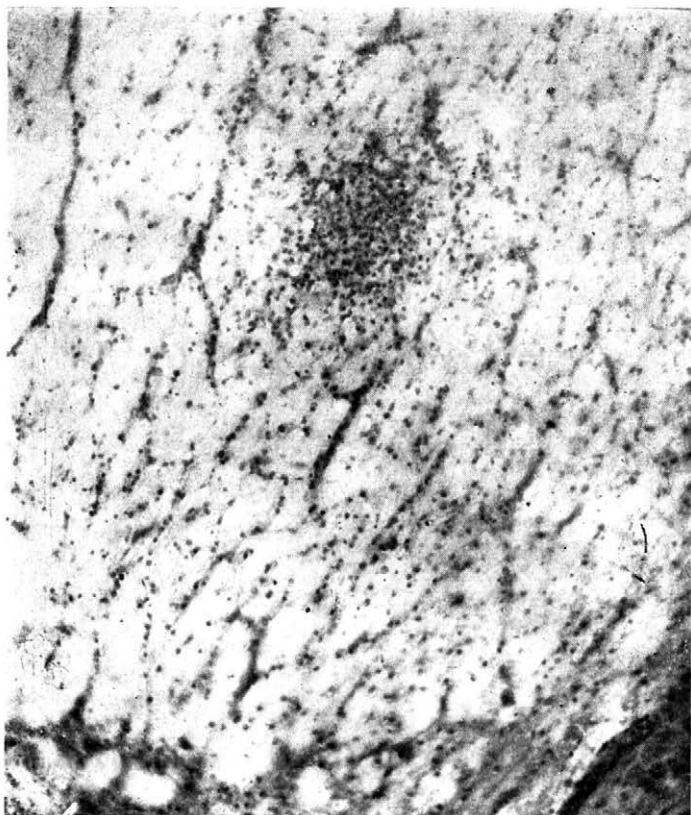
Waschen ab. Gegen die ursprüngliche Methode nach Fulton und Dumbell sind Gestellen und Metalbehälter nicht notwendig.

Wir haben keine Abweichungen in Ergebnissen gegen normale Komplementbindungsreaktion, die in Epruvetten durchgeführt wird, festgestellt. Im Gegenteil mit der neuen Modifikation sind genauere Ergebnisse möglich, weil der Grad der Hämolyse scharf abgegrenzt ist, was eine genauere Untersuchung ermöglicht.

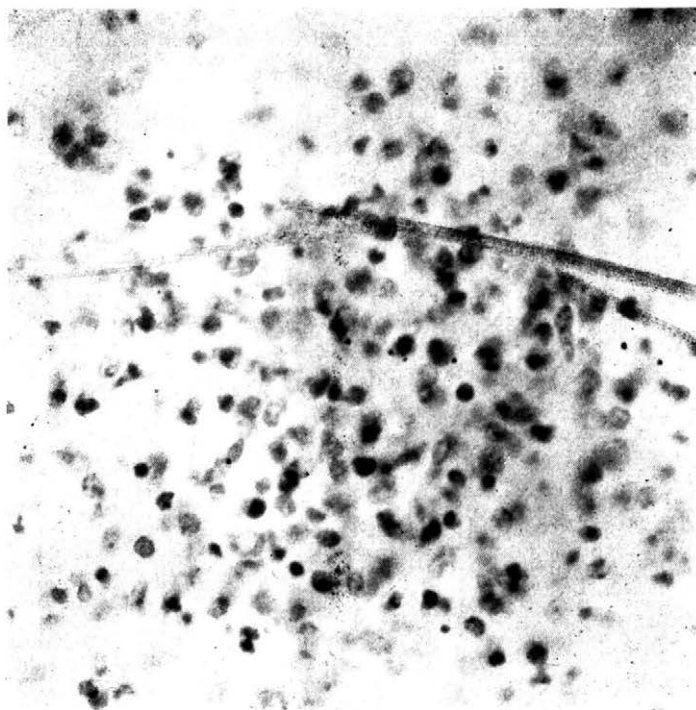
Die pünktlich durchgeführte tropfenweise Füllung der Ingredienten garantiert für die Verlässlichkeit der Ergebnisse und scheidet die Fehler, welche durch mangelhafte Füllung verursacht sind, aus.

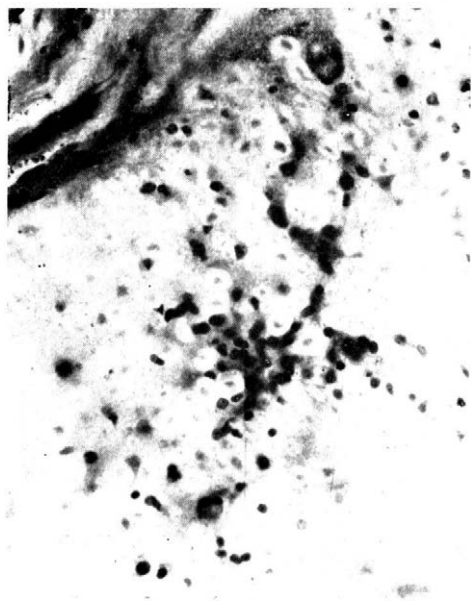
Die neue Modifikation der Komplementbindungsreaktion mit der Tropfentechnik ist eine schnelle, einfache und verlässliche Methode.

1. Gliové ložisko
v bílé hmotě míchy
sele. Barv. podle
Van Giesona. Slabé
zvětšení

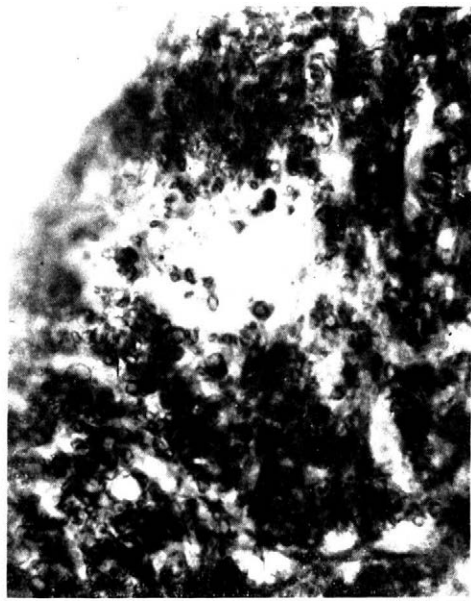


2. Gliové ložisko z obr.
č. 1 při silném zvět-
šení





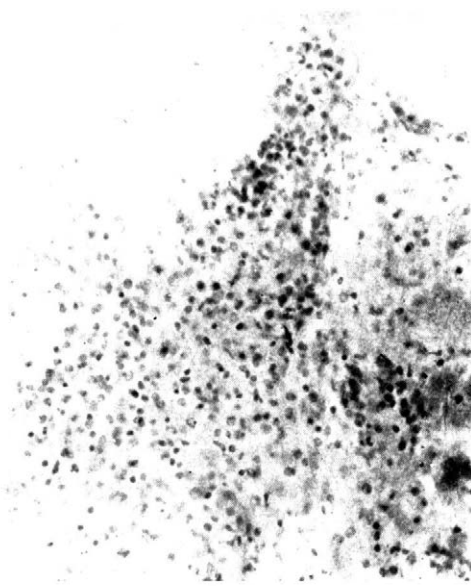
3. Gliový uzlíček v bílé hmotě míchy setele. Barv. podle Van Giesona



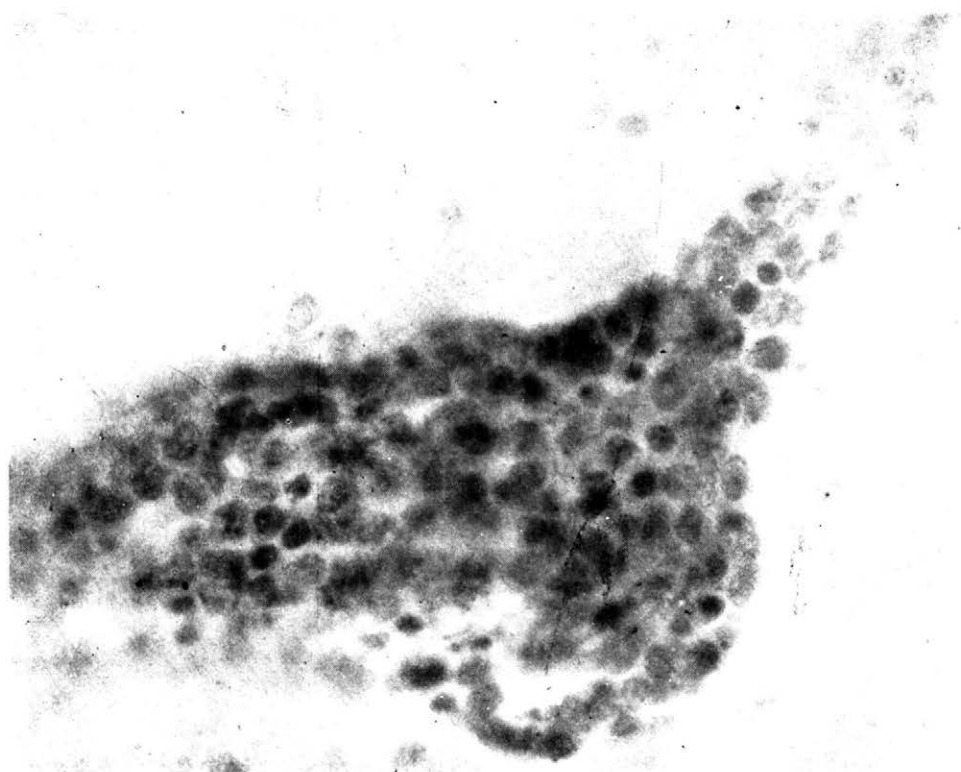
4. Rozpad myelinových pochev v místě gliového uzlíčku z obr. č. 3. Barv. podle Spielmeyera



5. Poškození a rozpad axonů v místě gliového uzlíčku z obrazu č. 3. Barv. podle Bielschowského



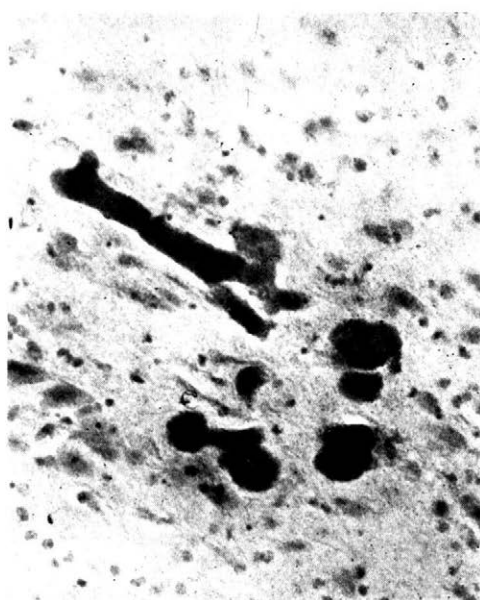
6. Difusní zmnožení glie na pokraji šedé hmoty míšních rohů. Barv. podle Van Giesona



7 Zmnožení buněk adventitie cévy a hromadění gliových buněk podél ní v šedé hmotě hemisfér. 21 dní staré sele. Silné zvětšení. HE



8a. Vypadávání vápenatých solí v silně rozšířené kapiláře v hemisféře 21 dní starého selete. HE



8b. Úplně kalcifikované cévy v hemisféře 21 dní starého selete



9. Difusní rozpad myelinových pochev v bílé hmotě míchy selete v těsné blízkosti šedé míchy. K reakci glie v těchto místech ještě nedošlo. Silné zvětšení. Barv. podle Spielmeyera



10. Poškození a rozpad axonů v místech jako u obr. č. 9. Silné zvětšení. Barv. podle Bielchowského

Obsah — Содержание — Content — Inhalt

Černovský J.: Studie biologické devitalisace viru infekční obrny prasat v moči a hnoјívce Изучение биологической девитализации вируса инфекционного энцефаломиелита свиней в моче и навозной жиже Study of Biological Devitalisation of Virus of Infectious Paralysis of Hogs in Urine and Liquid Manure Eine Studie über biologische Devitalisation des Virus der ansteckenden Schweinlähme im Harn und in der Jauche	317
Šlesinger L.: Příspěvek k jaterním zkouškám u koní К вопросу об исследовании печени у лошадей Notes on Liver Tests of Horses Ein Beitrag zu den Leberprüfungen bei den Pferden	331
Borkovec L.: Výzkum některých hygienických závad a mikrobiјní nálezy v pitných vodách zemědělských podniků Исследование некоторых санитарных недостатков и микробиологические результаты анализов питьевой воды в сельскохозяйственных предприятиях Research of some Hygienical Defects and the Mikrobial Findings in Potable Watters of the Agricultural Enterprizes Durchforschungen einiger hygienischer Beanständigungen und Mikroben-funden in den Trinkwässern landwirtschaftlicher Betriebe	343
Potůček M.: Nová modifikace kapkové vazby komplementu Новая модификация реакции капельного связывания комплемента A New Modifikation of Drop Complement Fixation Text Eine neue Modifikation der Komplementbindungsreaktion mit der Tropfen-methode	359

Socialistická věda pomáhá socialistické praxi

Z připravovaných knih Československé akademie zemědělských věd
pro rok 1957

Pod titulem „Vědecké práce“ jsou pro rok 1957 připraveny k publikování ročenky sedmi Výzkumných ústavů ČSAZV:

Vědecké práce Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Ruzyni

*Vědecké práce Výzkumného ústavu pro živočišnou výrobu
v Uhřetěvesi*

*Vědecké práce Výzkumného ústavu pro mechanizaci a elektrifikaci
zemědělství v Praze-Řepích*

Vědecké práce Výzkumného ústavu zemědělské ekonomiky v Praze

Vědecké práce Výzkumného ústavu krmivářského v Brně

*Vědecké práce Výzkumného ústavu zemědělsko-lesnických meliorací
v Praze*

Vědecké práce Výzkumného ústavu lesa a myslivosti na Zbraslavi

V úvodu jednotlivých publikací bude kapitola o historii, organizaci a činnosti ústavu i zavádění výsledků výzkumných prací do praxe. Publikace bude obsahovat vybrané práce vědeckých pracovníků ústavů, kteří takto předávají výsledky svých výzkumů zemědělské a lesnické veřejnosti.

Protože uvedené publikace vycházejí v omezených nákladech, doporučujeme zájemcům, aby si je co nejdříve u nás objednali.

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

administrace časopisů

Slezská 7, Praha XII