

SBORNÍK
ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Veterinární medicína

10 ✓

ROČNÍK 6 (XXXIV) – PRAHA, ŘÍJEN 1961

CENA 10 Kčs

SBORNÍK

Československé akademie zemědělských věd

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada: akademik Vincenc Jelínek (předseda), gen. MVDr. Vladimír Chládek, člen korespondent SAV František Nižnánský, MVDr. Jiří Boháč, prof. MVDr. Richard Harnach, doc. MVDr. Jaroslav Dražan, prof. MVDr. Karel Šobra, prof. MVDr. Emanuel Král, MVDr. Ladislav Zima, MVDr. Ladislav Polák, MVDr. František Lehký, doc. MVDr. inž. Jan Vlček. Vedoucí redaktor František Němec.

© Československá akademie zemědělských věd, Praha 1961

Obsah — Содержание — Content — Inhalt

- Baštář M.: Příspěvek k posuzování charakteru kultur salmonel a jiných enterobacteriaceí při kultivaci v játrovém bujónu s brilantovou zelení
 К вопросу оценки характера культур *Salmonell* и других *enterobacteriacei* при культивации на печеночном бульоне с брильянтовой зеленью
 A Contribution to the Determination of the Feature of Cultures of *Salmonella* and other *Enterobacteriaceae* cultivated on Liver-bouillon with Brilliantgreen 745
- Bogdan J.: Príspevok k morfolologickej diferenciácii granulómov semenníku a prisemenníku baranov
 К вопросу морфологической дифференциации грануломов семенников и придатков баранов
 A Contribution to the morphological Differentiation of Granuloms of the Orchis and Epididymis in Rams 751
- Sova Z., Komárek J.: Klinická a hematologická diagnostika virové enteritidy a otravy Neratoxem u koček
 Клиническая и гематологическая диагностика вирусного энтерита и отравления Нератоксом у кошек
 The Clinical and Haematological Diagnosis of Virus-enteritis and Intoxications with Neratox in Cats 761
- Sovadina M., Petříček M.: Příspěvek k balení čerstvého masa v porcích
 К вопросу упаковки свежего мяса в порциях
 Ein Beitrag zur Verpackung von portioniertem Frischfleisch 771
- Krul J., Petráš K.: Změny v orgánech a tkáních kuřat celotělově ozářených RTG paprsky. — III. Změny v játrech a slezině po dávce 500 r a podání OTC za 30 dní po ozáření
 Изменения в органах и тканях цыплят, облученных рентгеновыми лучами. — III. Изменения в печени и селезенке после дозы 500 р и подачи ОТС через 30 дней после облучения
 Changes in the Organs and Tissues of with X-rays Whole-Body-irradiated Chickens. — III. The Changes in the Liver and Spleen after a Dosis of 500 r and Application of Oxtetracycline the 30th day after Irradiation 781

Příspěvek k posuzování charakteru kultur salmonel a jiných enterobacteriaceí při kultivaci v játrovém bujónu s brilantovou zelení

K вопросу оценки характера культур *Salmonell*
и других *enterobacteriacei* при культивации на печеночном бульоне
с брильянтовой зеленью

**A Contribution to the Determination of the Feature of Cultures of *Salmonella* and
other *Enterobacteriaceae* cultivated on Liver-bouillon with Brilliantgreen**

MVDr. M. BAŠTÁŘ, vet. lékař

*Krajské veterinární zařízení Jihočeského kraje, veterinární vyšetřovací stanice,
Čes. Budějovice*

Došlo dne 27. IX. 1961

Ú v o d

Při prověřování použitelnosti některých pomnožovacích půd pro salmonely (hlavně pro *S. gallinarum-pullorum*) jako je půda Kaufmanova, Müllerova a Hoderova, byl též zkoušen játrový bujón s brilantovou zelení v koncentraci 1 : 5000 a 1 : 50 000 (podle Rosanova, Koljakova a Killiana). Játrový bujón s uvedenou koncentrací barviva je považován za vhodnou půdu zejména při pomnožování materiálu s náročnější a slaběji rostoucí *Salmonellou gallinarum-pullorum* (SGP).

Při zkoušení růstu různých typů salmonel a jiných enterobacteriaceí i jiných druhů zárodků v této půdě jsme zjistili změny barvy půdy, které daly podnět k dalšímu studiu. Sledovali jsme chování různých pohyblivých nebo nepohyblivých nebo méně pohyblivých kmenů, tlumení růstu barvivem vzhledem k barvitelnosti mikroba podle Grama, dále pak chování kmenů čerstvých i sbírkových a vzhled kultury v půdě vzhledem k růstové fázi.

Šlo nám především o to, zda by zjištěného barevného efektu v půdě nemohlo být využito pro diagnostiku.

Je celkem zřejmé, že výsledné rozdílné zabarvení půdy s různými kulturami je způsobováno změnou pH. O konečném pH salmonelových kultur není v dostupné literatuře mnoho závažných údajů. Spíše najdeme sdělení o optimálním růstu za určitého pH prostředí. Tak ku př. pro SGP se udává optimální prostředí o pH 6,8—7,2. Podle Sedláka podporuje alkalické prostředí všeobecně růst salmonelových kmenů. Ve světové literatuře se udává jako optimální pro-

středí pH 7,2 až 7,4. Na běžných půdách s brilantovou zelení roste pak podle Sedláka převážná většina typů *Salmonel* dobře s výjimkou kmenů *S. paratyphi* A., *S. typhi* suis, *S. sendai*, *S. abortus ovis*, *S. pullorum* jakož i *S. typhi*. Odlišné růstové vlastnosti kultur *S. abortus equi*, *S. abortus ovis*, *S. pullorum* a *salmonel* skupiny *typhi* suis popisuje i Stellmacher.

Metodika práce

K pokusům jsme použili bujón z játrové infúze s brilantovou zelení v koncentraci 1 : 5000 a 1 : 50 000 o počátečním pH 7,2. Měření pH bylo prováděno kolorimetricky. Půdu jsme naočkovali 1 kličkou agarové příp. bujónové kultury. Růst byl posuzován v době od 24 do 72 hodin. Ke kontrole zabarvení byla používána nenaočkováná půda. Při přípravě půdy se osvědčila celkem dobře kratší doba frakcionované sterilizace v páře 2krát po 15 minutách.

Abychom zjistili vliv antigenního aparátu, snažili jsme se fixovat somatický a bičíkový antigen. Pokud jsme prováděli následně i počáteční slabé formalizování kultur, ukázalo se to jako bezúčelné.

Abychom ovlivnili pohyblivost mikrobů, používali jsme alkoholizování agarových ploten (přelévání ploten 1 ml etylalkoholu s následným cditím přebytku alkoholu a odpařením 30 minut při 37° C). Mimoto jsme za tímž cílem prováděli pasáže očkovaním přes Gasnerovu půdu nebo játrový bujón s brilantovou zelení. Takto ovlivněné kultury jsme pak přeočkovávali do játrových bujónů s brilantovou zelení.

Reakci pH jsme vyšetřovali zprvu jen zhruba pomocí papírových univerzálních indikátorů, což sloužilo jen k povšechné informaci. Dále jsme prováděli stanovení kolorimetrické s vlastními vyrobenými standardy z fosfátových pufrů podle Soerensena v rozsahu 5,3—8,3. Ani kolorimetrické zjišťování nám nedalo spolehlivé výsledky, což lehce pochopíme z přehledu v tabulce konečných hodnot pH. Proto bylo nakonec nutno použít jonoskopu. PH jsme měřili na multistopu III-elektronkovém milivoltmetru. Měření bylo prováděno při teplotě cca 20° C a regulováno na příslušnou teplotní korekci. Měřilo se pomocí vysokoohmové skleněné elektrody proti nasycené kalomelové. Kalibrace se prováděla s pufrů podle Soerensena.

Ke zkoušení barevných rozdílů byly použity vždy 1—2 kmeny zárodků druhu *Salmonella typhi murium*, *S. cholerae* suis, *S. enteritis*, *S. typhi* suis, *S. typhi abdominalis*, *S. sendai*, *S. paratyphi* A., *S. aberdeen*, *S. anatum*, *S. abortus equi*, *S. paratyphi* B., *S. newport*. Dále pak kmeny *Escherichia coli communis* 013, *Shigella sonnei*, *Serratia marcescens* a *Proteus vulgaris*. Mimo *enterobacteriaceae* jsme zkoušeli dále růst kmenů *Listeria monocytogenes*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* suis, *Staphylococcus pyogenes aureus* a *B. anthracis*. Dále bylo ověřeno celkem 18 kmenů *SGP*.

Převážná část uvedených kmenů byly kmeny sbírkové. Zjistili jsme, že zde nezáleží na tom, zda je kmen čerstvý nebo pasážovaný ve sbírce, ale že záleží především na růstové fázi mikrobi, jak o tom bude dále pojednáno. U většiny uvedených kmenů bylo provedeno přesné měření pH, u dalších, v přehledné tabulce neuvedených, jen orientační kolorimetrické měření.

Pohyblivost a intenzitu růstu jsme ověřovali mikroskopicky fázovým kontrastem.

Vlastní výsledky

1. Hodnoty pH (jsou uvedeny v tabulce)

Požadované počáteční pH půdy bylo 7,1–7,2. V tabulce neuvádíme přibližné hodnoty zjišťované jen kolorimetricky. Všechny v tabulce uvedené kmeny štěpí glukózu.

2. Barevné rozdíly (subjektivní posouzení)

Kultura SGP se projevovala po inkubaci zabarvením půdy do středně sytého travového odstínu. Jiné salmonely (pokud byly pohyblivé a v S-fázi) se v popisovaném prostředí projeví zabarvením půdy do barvy žlutozelené.

S. abortus equi (SR-forma) se projevovala v travově zelenavém zabarvení.

Kultura *Proteus vulgaris* se projevila zabarvením až do slámové žluti; kultury *Escherichia coli* a *Shigella* v zelenožlutém zabarvení půdy. Kultury *Listeria monocytogenes*, *Erysipelothrix* a *B. anthracis* a *Staphylococcus pyogenes aureus* se neprojevily podstatnou změnou půdy proti nenaočkované půdě kontrolní.

Sytě travové zabarvení měly i kmeny *S. typhi abdominalis*, *S. sendai* a *S. paratyphi A.*, menší měrou i *S. aberdeen* a *S. typhi suis*.

3. Tlumení růstu

Růst grampozitivních zárodků je v půdě tlumen. Do určité míry je tlumen i růst zárodků *S. paratyphi A.*, *S. typhi suis*, *S. sendai*, *S. aberdeen* a SGP.

I. Přehledná tabulka konečných pH půdy

Kmen:	Rozmezí pH:	Průměrné pH:
(podle šarží zkoušeného bujonu)		
<i>S. paratyphi A.</i>	4,48–5,82	5,01
<i>S. abortus equi</i>	5,65–7,42	6,68
<i>S. paratyphi B</i>	4,50–5,53	4,97
<i>S. typhi murium</i>	4,42–5,58	4,93
<i>S. cholerae suis</i>	4,35–5,75	5,14
<i>S. newport</i>	4,30–5,55	4,85
<i>S. enteritidis</i>	4,40–5,48	4,87
<i>S. gallinarum-pullorum</i>	5,70–7,45	6,68
<i>S. anatum</i>	4,35–5,32	4,82
<i>Escherichia coli communis 013</i>	5,95–6,90	6,31
<i>Proteus vulgaris</i>	5,50–7,14	6,07
<i>Shigella sonnei</i>	5,50–7,61	6,67
<i>Serratia marcescens</i>	7,17–8,70	7,70
<i>Listeria monocytogenes</i>	6,15–7,75	7,22
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae suis</i>	5,92–8,23	7,19
<i>B. anthracis</i>	7,00–7,65	7,35
<i>Staphylococcus pyogenes aureus</i>	6,35–7,49	7,06
Kontrolní nenaočkovaná inkubovaná půda	7,14–7,62	7,41

4. Vztah pohyblivosti

Jestliže došlo alespoň k částečnému útlumu pohyblivosti a růstu zárodku pasážemi nebo alkoholizováním ploten, játrový bujón s podobně ovlivněnou subkulturou nabýval zelenavého zabarvení a pH půdy stoupalo proti kulturám pohyblivým.

5. Vztah k fázi mikrobů

Při změnách do R-fáze docházelo k částečnému vypadávání kultury do sedimentu. SR-formy (některé neoživené sbírkové kmeny) rostly v difúzním zákalu s více méně tmavším zabarvením půdy a určitým množstvím sedimentu, který mohl odpovídat množství R-forem kultury.

Diskuse

Shrneme-li naše poznatky, označuje tedy barevná reakce popsané půdy do určité míry konečné pH půdy s narostlou kulturou mikrobi a je v určitém vztahu k jeho pohyblivosti, růstové fázi, barvitelnosti, tlumení růstu apod.

Změna barvy při subjektivním posouzení značí změnu pH půdy. Zmnožení sedimentu značí u salmonel změnu fáze (do R-forem nebo smíšených SR-forem).

Pohyblivější kultury salmonel mají pH nižší než kultury méně pohyblivé nebo nepohyblivé (*SGP*).

Průměrné konečné pH půdy leží u většiny salmonel pod pH 5,0, jedině u *S. abortus equi* a *S. gallinarum-pullorum* se blíží k pH 7,0 (pokud se týče kmene *S. abortus equi*, byl k dispozici pouze sbírkový kmen v SR-fázi).

Při umělém předběžném okyselení půdy nenačkované nebo při jejím alkalizování dojde při naočkování popisovaných kultur k obdobným změnám konečného pH i ke změně barvy půdy. Neznamená to však, že by nezáleželo na výchozím pH půdy, poněvadž mikrobům vyhovuje určité optimum a při výkyvu do kyselého nebo zásaditého prostředí nalézáme pak do určité míry změny intenzity i charakteru růstu.

Pokud jsme použili jen kolorimetrického stanovení pH prostředí, barevné rozdíly půdy přivedly nás k domněnce, že dochází u pohyblivějších zárodků k alkalizaci půdy. Chyba byla způsobena obdobnými barevnými změnami játrového bujónu s brilantovou zelení jak při kyselém, tak i zásaditém pH. Měření pomocí jonoskopu nám však ukázalo, že hranice konečného pH půdy s naočkovanými salmonelami leží mnohem níže v kyselém prostředí právě u pohyblivých kultur.

Změna pH prostředí je vyvolávána fyziologickou činností mikrobi a tedy i jeho bičíkového aparátu. Nelze ovšem zapomenout i na odlišný fermentační aparát u každé skupiny i druhu mikrobů a na odlišný charakter fermentovaných zplodin, takže změna pH půdy není vyvolávána jen aktivním pohybem a spoluúčastí řasinkového aparátu, který má určitý nárok na energetické zdroje. Jistěže tu hrají důležitou roli i nároky na vlastní výživu mikrobů. Ku příkladu *Stokes* uvádí, že některé salmonely jako *S. typhi suis*, *S. abortus ovis*, *S. paratyphi A* a konečně *SGP* vyžadují k růstu celou řadu specifických složek mimo thiamin a kyselinu nikotinovou (adenin, guanin, cystin, methionin, leucin, threonin, histidin apod.). Konečné pH půdy je pravděpodobně ovlivněno i obsahem všech složek v půdě samé, které jsou činnostmi mikrobů rozkládány.

Dnes se při typizaci salmonel věnuje celkem málo pozornosti dynamice růstu i dalším životním projevům mikrobi. Někdy nepostačíme s ověřováním biochemických vlastností i s určením antigenní struktury. U některých kmenů nám vše selhává a nedaří se nám ani prověření kultury fágem. Jestliže je možné úpravou

pH řídit růst určitých druhů mikrobů v bakteriální směsi, bude tedy možné v některých případech usuzovat podle konečného pH půdy na růst určitého druhu mikroba v kultuře. Je jisté, že je to posuzování dost hrubé, ale může být dostatečným orientačním měřítkem. U streptokoků bývá konečné pH půdy někdy typickým diferenciálním a diagnostickým znakem.

Chování se kultury SGP v popsané půdě je po stránce barevného odlišení i po stránce změny pH výrazné a může sloužit eventuálně i k určení typu, jestliže vyloučíme možnost izolace jiné kultury podobně se chovající.

Poněvadž změny v barvě indikátoru barevné půdy za určitých okolností mohou být vedle přímé mikroskopie měřítkem životnosti, pohyblivosti a charakteru mikroba, bylo by vhodné prověřit i jiné druhy tekutých půd s barevným indikátorem a barvivem ovlivňujícím růst, abychom si rozšířili možnosti v diagnostice.

Souhrn

Při použití pomnožovací půdy — jatrového bujónu s brilantovou zelení — byly zjištěny změny v barvě naočkovaných kultur v uvedené půdě související se změnou konečného pH půdy, charakterem a pohyblivostí mikroba, jeho růstovou fází, nároky na výživu apod. Výrazně odlišné chování projevovaly zejména kmeny *S. gallinarum-pullorum*.

*

V závěru děkuji za laskavou spolupráci soudruhům: V. Jaborové a J. Sýkorovi z SVÚ Praha a s. ing. Freundové a s. Švihovskému z KVZ - VVS České Budějovice.

Literatura

1. Calmette A., Bequet A., Negre L. a Bretey J.: Manuel technique de microbiologie et de sérologie. Paris 1948, 727 str. — 2. Huttyra F., Marek J., Manninger R., Moczy J.: Spezielle Pathologie u. Therapie der Haustiere. Jena, 1954, I. díl Infektionskrankheiten, 868 str. — 3. Kelsner R. A. a Schoening H. W.: Manual of veterinary bacteriology, Baltimore, 1948, 727 str. — 4. Koljakov J. a E.: Veterinarnaja mikrobiologija, Moskva 1952, 487 str. — 5. Prežtečenski V. E., Borovskaja V. M., Margolina L. T.: Rukovodstvo po laboratornym metodam issledovanija, Moskva, 1950, 304 str. — 6. Raška a kolektiv autorů: Mikrobiologické vyšetřovací metody. Praha 1958, 804 str. — 7. Rosanov N. I.: Mikrobiologičeskaja diagnostika zabojevanij sel'skochozjajstvennych životnych, Moskva, 508 str. — 8. Sedlák J. a spolupracovníci: Enterobacteriaceae jako původci střevních nákaz, Praha 1955, 239 str. — 9. Stellmacher W.: 1959. Über zwei neuere Reaktionen für Enterobakterien, Monatshefte f. Vet. Med., 12, 378. — 10. Stokes J. L.: 1958. Growth-factor-dependent strains of salmonellae. J. Bact. 76, 4, 417.

К вопросу оценки характера культур *Salmonell* и других *enterobacteriacei* при культивации на печеночном бульоне с брильянтовой зеленью

При посеве на среды — печеночный бульон с брильянтовой зеленью — были обнаружены изменения в окраске привитых культур в указанной среде, соответствующие изменению окончательного pH почвы, характеру и подвижности микроба, стадии его роста, требованиями в отношении питания и т. п. Особенно выразительное отклонение в поведении показали штаммы *S. gallinarum - pullorum*.

A Contribution to the Determination of the Feature of Cultures of Salmonella and other Enterobacteriaceae cultivated on Liver-bouillon with Brilliantgreen

In using as cultivation medium liver bouillon with brilliantgreen there could be ascertained changes in the colour of the inoculated cultures, which were in connection with the changes of the final pH of the medium, the feature and the mobility of the microbe, its phase of growth, its demands on nutrition a. s. o. A significantly different behaviour showed especially the *Salmonella gallinarum-pullorum* strains.

Príspevok k morfolologickej diferenciacii granulómov semenníku a prisemenníku baranov

**К вопросу морфологической дифференциации гранулومов семенников
и придатков баранов**

**A Contribution to the morphological Differentiation of Granuloms of the Orchis
and Epididymis in Rams**

Josef BOGDAN

*Katedra pathologickej morfológie a fyziológie domácich zvierat veterinárskej fakulty
VŠP v Košiciach, vedúci: Doc. Dr. Koloman Boda, C. sc.*

Ústav patologickej morfológie, vedúci: Doc. Dr. Jozef Bogdan, C. sc.

Došlo dňa 30. V. 1960

Ú v o d

Vedľa bežných častých nešpecifických orchoepididymitíd baranov možno pozorovať makroskopicky (zriedkavo) alebo mikroskopicky (častejšie) granulómy v skrotálnych pohlavných orgánoch baranov. Bežným klinicko-anatomickým vyšetrením sú tieto granulómy považované za nešpecifickú orchitídu, respektíve epididymitídu a len histologické vyšetrenie môže upresniť charakter zmien.

Prevažná časť autorov charakterizuje granulóm z hľadiska morfogenetického ako útvar vznikajúci pri hyperergických reakciách organizmu (S k a l s k ý, 1) pri metamorfóze retikuloendotelií, ktoré sa transformujú a diferencujú v epiteloidné a obrovské bunky (A n i č k o v, 2). Podľa S t u d n i č k u a W o l f a (3) vznikajú pri fagocytárnej schopnosti buniek RES, ktoré vo svojom tele inaktivujú mikroby, v dôsledku čoho menia svoj vzhľad a stávajú sa epiteloidnými a obrovskými. S m i t h a J o n e s (4) vidia taktiež podstatu granulómu v retikuloendoteliálnej proliferácii, ktorú nachádzame u mnohých ochorení, ktoré náležia ku infekčným granulómom. Bunečnú proliferáciu buniek RES zaznamenávajú aj S t o l z a kolektív (5) u granulómov, vnikajúcich pri pozdných alergózach. Podľa R o u l e t a (6) môžu vzniknúť granulómy na podklade reakcie tkania hostiteľa na cudzie látky, cudzie telesá. V takýchto prípadoch granulómy môžu sa podobáť infekčným granulómom.

P r e h l a d l i t e r á t ú r y

V literatúre niet súhrnných prameňov ktoré by pojednávali o granulómoch v pohlavných orgánoch baranov. Sú to prevážne len kazuistiky, ktoré boli častejšie zaznamenané u ostatných druhov zvierat.

Granulomatózne orchoepididymitídy u tuberkulózy semenníkov a prisemenníkov u býkov uvádza prevažná väčšina autorov Joest (7), Cohrs (8), Christensen (9), Salyi (10).

Šetka (11) zisťuje granulomatózne zápaly semenníkov u býkov, u ktorých virologickým vyšetrením bola dokázaná infekciozita pre sajúce myšky a kuracie embryá. Bližšiu štruktúru granulómov však neuvádza.

Aktinomykómy v šúrku a semenníkoch u býkov zaznamenal Görig a Kovalevski (12) a Bieberdorf (13).

Hansen a Schebitz (14) zaznamenali pri chronickej salmonelóze oslov granulomatózny charakter zápalu s častým výskytom obrovských, epiteloídnych a plazmatických buniek.

Henke a Lubarsch (15) uvádzajú pri syfilitíde mužov častejšie v semenníku než v prisemenníku granulomatózne zmeny.

U brucelózy granulómy v pohlavných orgánoch zaznamenali Ariel (16) u baranov a Juns kovec (17) a Thomsen (18) u ošípaných, Černjak (19) u hovädzieho dobytká, Tudoriu (32) v semenníku u zajacov, Bol (21) a iní u človeka.

Pseudotuberkulómy v pohlavných orgánoch baranov zaznamenali Simmons a Hall (22), Jamieson a Soltys (23), Belonje (24), Watts (31).

Spermagranulómy a spermatické abscesy zistili u epididymitídnych baranov s nešpecifickým kultivačným nálezom zárodkov *E. coli* a kolónií *staphylococcus pyogenes albus* Behrens a kol. (25) a Lölliger (26).

Granulómy v pohlavných orgánoch zaznamenali aj Tudoriu (20) u baranov, z ktorých bola izolovaná pestrá zmes baktérií.

Bogdan a kol. (27, 33) zaznamenali granulómy pri infekčnej epididymitíde baranov, z ktorých boli Nižnánsky izolované zárodky otypizované ako brucelly a z niektorých prípadov boli izolované Koppelom (34) bruceloidne zárodky, dosiaľ neotypizované bližšie.

Valova (28) zistila granulómy u epididymitídnych baranov (14 % prípadov), z ktorých boli izolované *Escherichia coli*, baktérie podobné brucellám, dosiaľ bližšie neotypizované. Ďalej boli z epididymitídnych baranov izolované *Corynebacterium pyogenes* a *Pseudomonas aeruginosa*. Uvádza však aj granulómy pri negatívnom kultivačnom náleze. Podľa štruktúry rozdeľuje ich na lymfoidne granulómy, spermagranulómy a spermatické abscesy.

Materiál a metodika

Štúdium granulómov skrotálnych pohlavných orgánov zakladá sa na morfológikom vyšetrení 167 baranov s klinicko-morfológickým syndrómom epididymitídy.

Po odporazení a súčasnom odobratí krvi pre sérologické vyšetrenie na brucelózu bola prevedená pitva a odber vzorkov na patomorfologické a bakteriologické vyšetrenie. Sérologické a bakteriologické vyšetrenie previedol ŠVVU Bratislava a pobočka Košice.

Odobraté tenké excízie rôznych zmenených častí semenníkov, prisemenníkov spolu s ich obalmi a zmenené časti ostatných orgánov boli fixované v 10% formole, Zenkerovej tekutine, alkohole, zaliate do parafínu a prehľadne farbené hematoxylín-eozinom. Súčasne previedlo sa doplňujúce vyšetrenie podľa Van

Giesona, na retikulín podľa Gomoryho, na vápno podľa Kossayho, na hyalín podľa Kühneho v modifikácii Craianovej, na amyloid podľa Mayera, na elastín rezorcín-fuchsinom podľa Weigerta, na baktérie podľa Löfflera metylénovou modrou a karbol-thioninom podľa Ziehl-Nielsen.

V ý s l e d k y

Morfologické vyšetrenie doplnené kultivačnými nálezmi ukázali, že pohlavné abnormality baranov môžu byť spôsobené bakteriálnymi agensami, ktoré sú zachytené na prehľadnej tabulke nájdených granulómov spontánne ochorelých baranov. Morfológické hodnoty, spôsobené rôznymi druhmi zárodkov, sú zachytené vo vertikálnych rubrikách podľa rôznych kvalitatívno-morfologických ukazovateľov.

Horizontálne hodnoty poukazujú na výskyt jednotlivých druhov zmien v pohlavných orgánoch i v ostatných orgánoch v jednotlivých skupinách podľa rôznych druhov izolovaných zárodkov. Kvalitatívne zhodné zmeny boli zistené aj v prípadoch s nešpecifickým alebo negatívnym kultivačným nálezom.

Granulómy boli zistené v periorchiu aj v semenníkoch a prisemenníkoch v 28 prípadoch (18,7 %) v skupine, kde boli izolované bruceloidne zárodky dosiaľ neotypizované, v skupine s pozitívnou aglutináciou na antigén *Brucella abortus*, v skupine, kde boli zistené zárodky skupiny *Pasteurella*, tbc. Veľmi časté boli v skupine s nešpecifickým a negatívnym kultivačným nálezom.

Granulómy skupiny č. 1. vyskytovali sa prevažne v semenníkoch, ale aj v prisemenníkoch. Vyskytovali sa v interstíciu. Ich stavba bola nepravidelná. Obsahovali epiteloídne bunky, lymfoídne bunky, plazmocyty, histiocyty a v jednom prípade aj obrovské bunky typu Langhans. Mimo uvedených granulómov, ktoré neobsahovali spermie, boli zistené početné spermagranulómy, spermatické abscesy v šírku, nešpecifické periorchitídy a epididymitídy alebo orchitídy. Granulómy totožnej stavby ako v pohlavných orgánoch boli zistené v pľúcach a pečeni, pričom v 6 prípadoch boli zistené obrovské bunky typu Langhans.

V pľúcach boli zaznamenané abscesy, v 9 prípadoch intersticiálna lymfocytárna ložisková nefritída.

Granulómy skupiny č. 2. boli zistené v semenníku a ich stavba bola shodná so skupinou č. 1. Vo vnútorných orgánoch boli zistené totožné granulómy v pečeni a pľúcach.

Granulómy skupiny č. 5. boli zistené u všetkých vyšetrených prípadov. Klinicky zistená u nich jednostranná (2) a obojstranná (2) epididymitída a fibrózna periorchitída a jednostranná orchoepididymitída (1). Mikroskopickým vyšetrením potvrdený klinický nález bol upresnený na parciálnu granulomatóznú epididymitídu (4) s diseminovanými intratubulárnymi i intertubulárnymi granulómami. Granulómy s obrovskými bunkami typu Langhans zistené v pľúcach (2), bez obrovských buniek v pečeni (1). U všetkých kusov išlo o červivosť pľúc, dikroceliózu, fasciolózu (3) a sarkosporidiózu myokardu (3).

Granulómy skupiny č. 6. zistené v periorchiu, semenníkoch, prisemenníkoch, pečeni a pľúcach. Klinickým vyšetrením zistená obojstranná orchoepididymitída (1) a lavostranná epididymitída. Morfológickým vyšetrením zistená fibrózna periorchitída (2), z čoho jedna granulomatózneho charakteru, granulómy s obrovskými bunkami typu Langhans (2). V prisemenníku zistené intertubulárne granulómy ako u skupiny č. 1 (1), spermagranulómy (1) obsahujúce obrovské bunky typu Langhans. V jednom prípade zistená fibróza semenníku a abscesy.

I. Prehľadná tabuľka nájdených granulómov pohlavných orgánov spontánne ochorelých baranov

[illegible]

Nekrotická orchitída	5		7	6	3					6	5	32	64	
Fokálna nekrotická epididymitída	3			2	1			1	1	3		8	19	
Nehnisavá lymfocytárna epididymitída	9											38	47	
Spermatocoele	13		17	5	2					8		15	60	
Fibróza semenníkov	2		9	1		1			2		1	5	21	
Fibróza prisemenníku	1** 19		14	7		2	1		1		1	10	1** 55	** skleróza pri- semenníku
Vývojové anomálie v prisemenníkoch												15	15	
Epididymitidy spolu	25	2	21	13	4	2	1	1	1	16	7	40	133	
Orchitidy spolu	14	2	16	9	3	2		1	2	7	6	36	98	
Periorchitidy spolu	29	3	20	12	4	2	1	1	2	14	7	47	142	
Granulómy v pečeni	4	2			1	1		1	1	1	1	24	36	
Granulómy v pľúcach	***6 12	1		5	2	2	1	1	1	12		19	***6 56	*** obrovské bunky typu Langhans v pe- čení a pľúcach
Abscesy v pľúcach	6			2		1	1		1			3	14	
Abscesy v pečeni												2	2	
Intersticiálna lymfocytárna nefrit	9			5					1	11	1	14	41	
Počet vyšetrených baranov	30	3	21	20	4	2		1	2	19	7	57	167	

Z parazitóz zistená červivosť pľúc (1), dikrocelióza (2) a sarkosporidióza myokardu (1).

Granulómy tejto skupiny boli zachytené v dvoch chovoch (B a K). V jednej lokalite bola klinickým vyšetrením zistená epididymitída u 7 baranov, ktoré boli kultivačne negatívne na brucelózu. Histologickým vyšetrením baranov prvej lokality bola len v jednom prípade zistená tuberkulóza semenníkov a ostatných orgánov najmä pľúc, pečene a ich korešpondujúcich miazgových uzlín. U ostatných 6 baranov bola zistená taktiež tbc pľúc a v 2 prípadoch tbc pečene, zatiaľ čo v semenníkoch a prisemenníkoch zistené bežné nešpecifické granulomatózne zmeny s okrskami fibrotizácie. V jednom prípade boli v tejto skupine vykultivované zárodky zo skupiny *Streptococcus viridans*. Pokiaľ sa týka histologickej stavby pozostávali granulómy z epiteloídnych a obrovských buniek typu Langhans a lymfoidných buniek s dobre vytvoreným väzivovým obalom a častými úkazmi fibrotizácie.

Granulómy skupiny č. 11. Klinicko-anatomickým vyšetrením zistené epididymitídy (2) a orchoepididymitídy (5). Histologickým vyšetrením zistená periorchitída fibrózneho a granulomatózneho (2) charakteru, orchitída (6), z čoho jedna granulomatózneho charakteru bez zistenia obrovských buniek. Epididymitídy nešpecifického charakteru zistené v 7 prípadoch, spermagranulómy v jednom prípade. V jednom prípade zistené granulómy v pečeni a intersticiálna lymfocytárna nefritída. Granulómy pozostávali z epiteloídnych, lymfoidných, plazmatických buniek, pričom často boli pozorované úkazy fibrotizácie.

Granulómy skupiny č. 12. vyskytovali sa len v prisemenníkoch, a to tak intra ako aj intertubulárne. Pozostávali z epiteloídnych, plazmatických a obrovských buniek rôznych typov najmä Langhans (3). Veľmi často bolo možno v nich pozorovať okrsky fibrotizácie. Súčasný bol aj nález totožných granulómov v pečeni (24) s nálezom obrovských buniek typu Langhans tak v granulómoch (10), ako aj mimo nich (5). Z ostatných zmien boli zaznamenané abscesy v pečeni, pľúcach, intersticiálna lymfocytárna ložisková nefritída, červivosť pľúc (16), fasciolóza (5), dikrocelióza (13), sarkosporidióza myokardu (9), cysticercóza seróz (6).

Spermagranulómy boli zistené v skupine č. 1., 6., 10., 11., 12. Spermatické abscesy v skupine 1., 3., 4., 5., 10., 12. Vývojové úchylky v skupine č. 12.

Mikroskopická štruktúra popísaných granulómov je zachytená v pripojených mikrofotografiách č. 1–12.

Diskusia

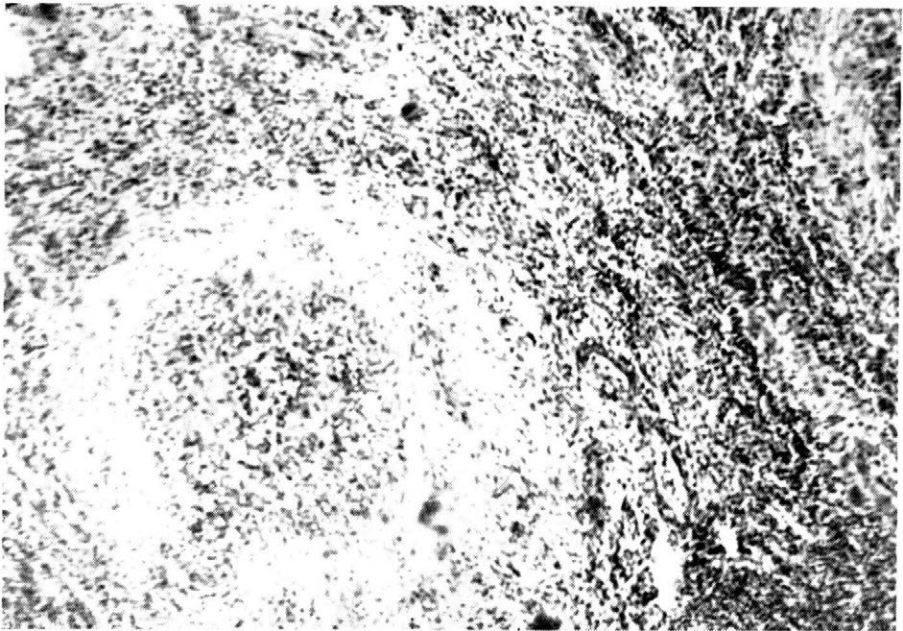
Naše výsledky poukazujú na to, že granulómy v pohlavných orgánoch baranov prichádzajú relatívne často, preto javí sa potrebné previesť histologické vyšetrenie uzlovitých afekcií pohlavných orgánov, ako uvádza Behrens (25). Keďže semenníky a prisemenníky predstavujú rúrkovitý, parenchymatozný orgán, sú následky zápalov retencia semena, čo sa potom prejaví tvorbou uzlov v rôznych častiach prisemenníku, najčastejšie v chvostu prisemenníka.

Následky nešpecifických zápalov prisemenníka bývajú zpravidla poruchy luminizácie. Obdobné následky sú aj pri vývojových poruchách v niektorom úseku vývodného systému.

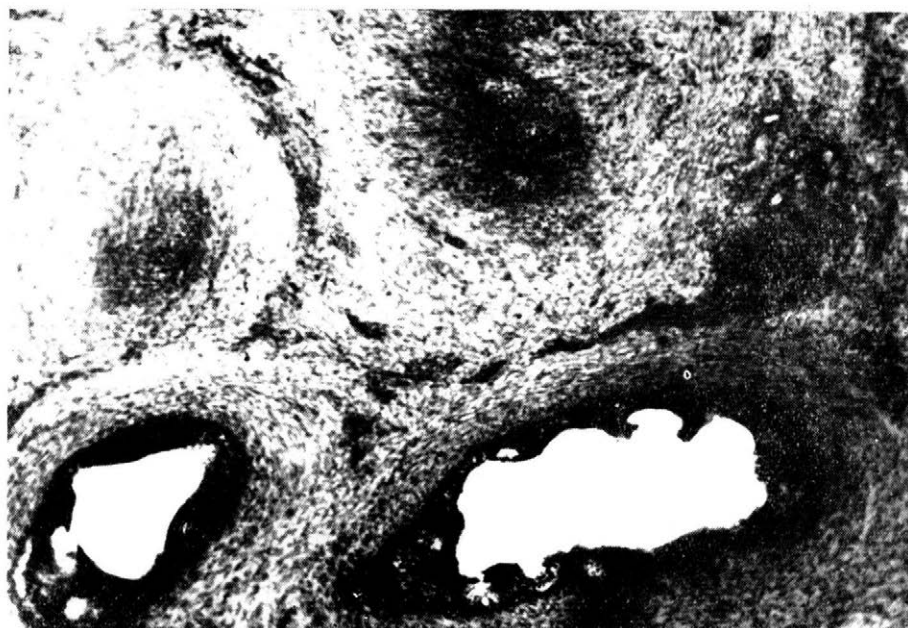
Spermagranulómy boli zistené najmä pri poruchách luminizácie vývodných semenných ciest. Svojou stavbou shodujú sa so stavbou cudzotelesového granu-



Obr. 1. *Orchitis focalis granulomatosa* s obrovskými buňkami. Baran č. 151, L-1 216 56 spontánne infikovaný. Disseminované granulómy v pľúcach s obrovskými buňkami typu Langhans. Zväčšenie: 10×12. Farbenie HE



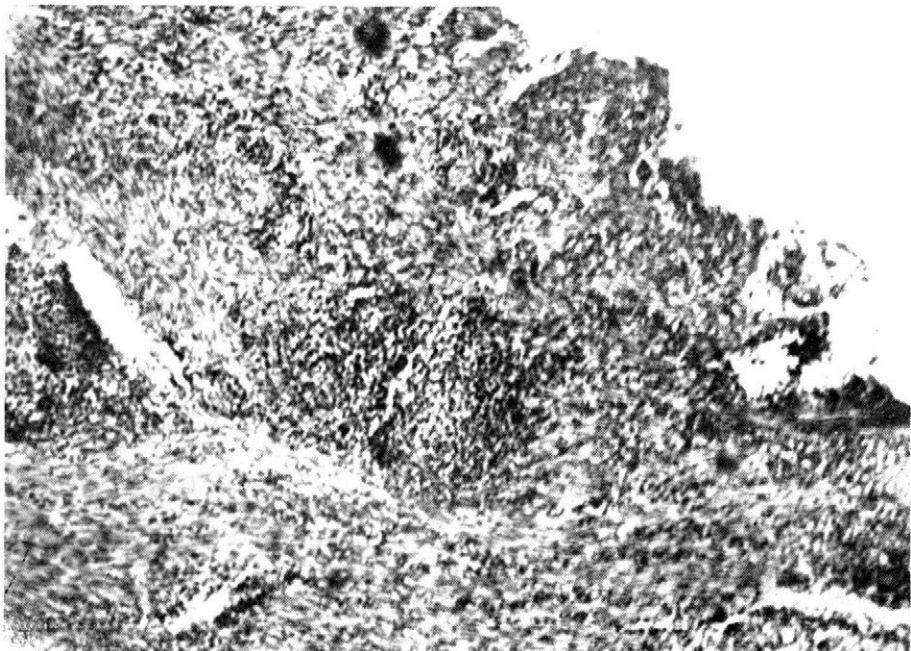
Obr. 2. *Epididymitis granulomatosa*. Baran č. 135, spontánne onemocnelý. L-1 181 56. č. B. Disseminované granulómy miestami konglomeráty granulómov s obrovskými buňkami v pľúcach. Bakteriologický nález: Negatív. Zväčšenie: 10×12. Farbenie HE



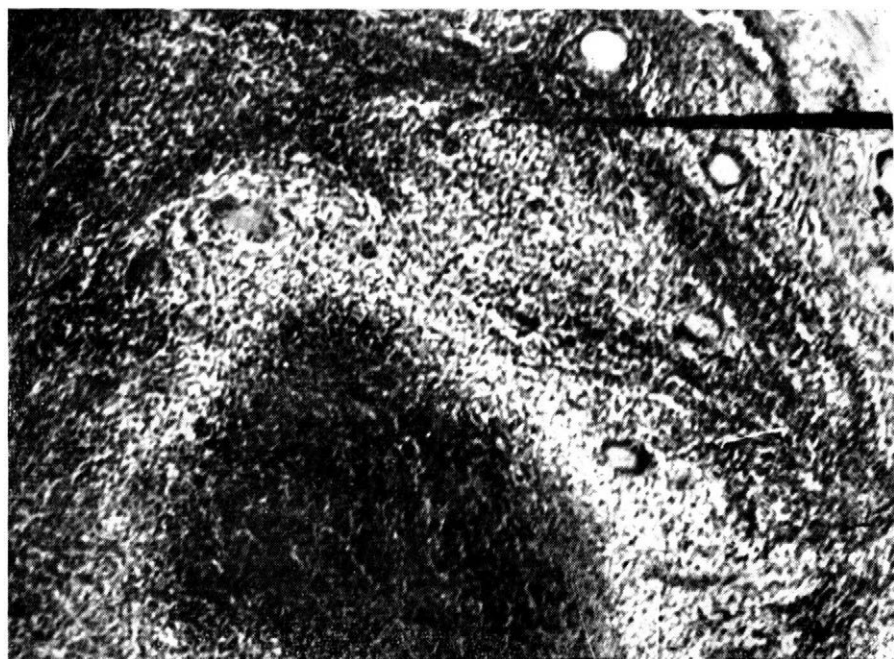
Obr. 3. Konglomerát granulómov v prímenníku, Baran č. 113, L-1 111 56 spontánne onemocnělý. Fibrózne granulomatózna periorchitída a orchiepididymitída. Granulómy v obličkách, prímenníku a periorchiu. Bakteriologický nález: Negatív. Zväčšenie: 10×12 . Farbenie: HE



Obr. 4. Intertubulárny granulóm v prímenníku v štádiu fibrotizácie. Baran č. 118, L-1 401 58 spontánne onemocnělý. Bakteriologický nález: Negatív. Zväčšenie: 10×12 . Farbenie HE



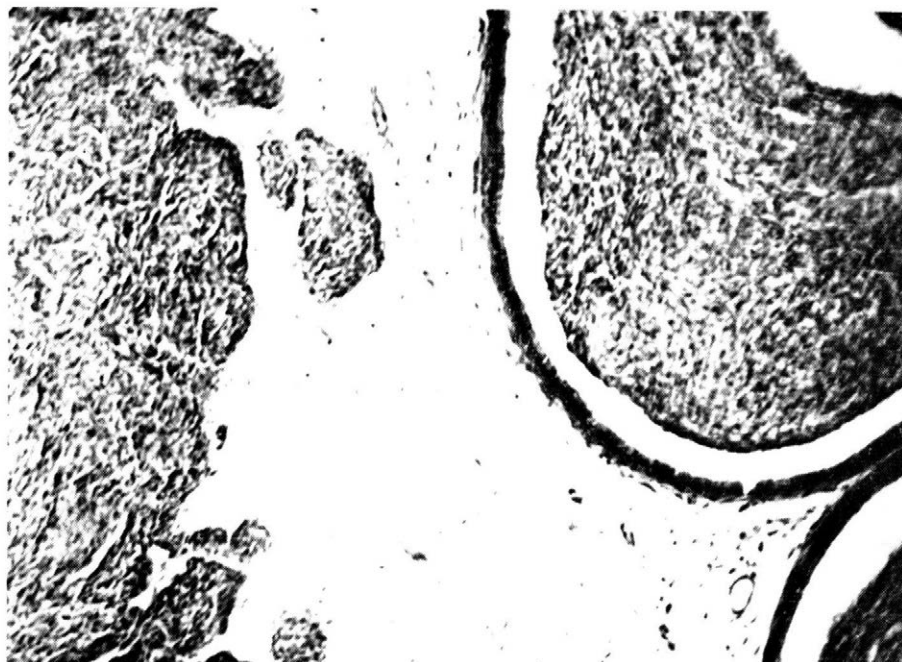
Obr. 5. *Periorchitis granulomatosa* v štádiu fibrotizácie. Baran č. 79 spontánne onemocnelý L-1 251 56. Histologický nález v pohlavných orgánoch *orchoepididymitis tuberculosa*. Zväčšenie: 10×12. Farbenie: HE



Obr. 6. *Epididymitis tuberculosa*. Baran č. 79, spontánne onemocnelý. L-1 251 56. Zväčšenie: 10×12. Farbenie: HE



Obr. 7. *Epididymitis granulomatosa*. Baran č. 61, spontánne onemocnelý. Bakteriologický nález: *Corynebacterium pyogenes*. Zväčšenie: 10×12. Farbenie: HE



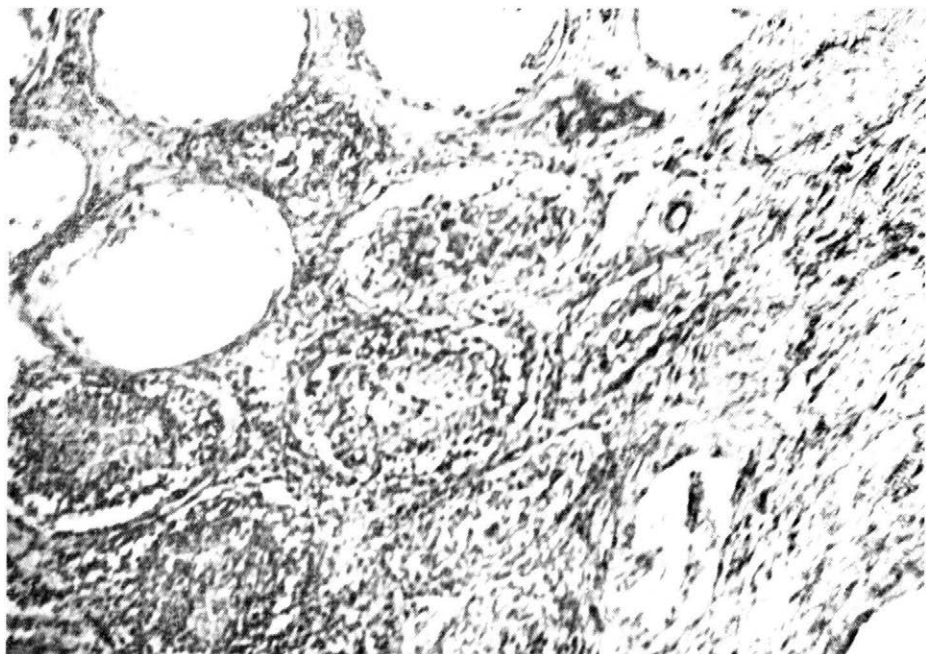
Obr. 8. Spermagranulómy v interstíciu prisemenníku a spermatocele. Baran č. 60, spontánne onemocnelý. Bakteriologický nález: *Corynebacterium pyogenes*. Zväčšenie: 10×12. Farbenie: HE



Obr. 9. Spermatický abscess v prímenníku. Baran č. 14 spontánne onemocnelý L-1 591 58. Bakteriologický nález: Bruceloidné zárodky. Zväčšenie: 10×12. Farbenie: HE



Obr. 10. Intertubulárny granulóm v prímenníku v štádiu fibrotizácie. Baran č. 9, spontánne onemocnelý L-1 289 56, ŠVVÚ. Bakteriologický nález: Bruceloidné zárodky. Zväčšenie: 10×12. Farbenie: HE



Obr. 11. *Orchitis necroticans et granulomatosa*. Baran č. 8. Zväčšenie 10×12. Farbenie: HE



Gbr. 12. Intertubulárny granulóm prisemenníku v štádiu fibrotizácie. Baran č. 60 L-1 397 58. spontánne onemocnený Bakteriologický nález z bioptického materiálu: Bruceloidné zárodky. Hist. dg. z bioptického materiálu: *Epididymitis granulomatosa*. Zväčšenie: 10×12. Farbenie: HE

lómu. V ich centre boli zistené spermie, na ktoré naväzuje vrstva obrovských buniek a histiocyto. Periferiu vytvára vrstva fibrocyto, plazmatických buniek a makrofágo. Ak porovnáme uvedený útvar s cudzotelesovým granulómom, centrálna masa spermií predstavuje cudzie teleso, pričom intermediárna a periférna vrstva predstavujú reakciu organizmu a sú shodné u spermagranulómu a cudzotelesového granulómu. Spermagranulómy boli zistené v 5 rôznych skupinách, z ktorého dôvodu nemožno mu prisudzovať rozhodujúcu charakteristickú vlastnosť, ktorá by mohla slúžiť k diferenciacii niektorých afekcií prisemenníkov.

Spermagranulómy makroskopicky predstavujú šedobiele až šedožlté respektívne šedobiele uzlíčky veľkosti špendlíkovej hlavičky a môžu dosahovať aj väčších rozmerov a musia byť diferencované od špecifických granulómov najmä od tuberkulov, brucelózných granulómov a pseudotuberkulómov, respektívne iných granulómov.

Tuberkulózne granulómy, ktoré boli zistené, obsahovali v centre epiteloídne bunky, obrovské bunky typu Langhans so silným retikulárnym stromatom a na periferii lymfocytárny val s väzivovým obalom, ktorú štruktúru zaznamenal Jelínek (25), Joest (7), Cohrs (8), Salyi (10), Roulet (6). V našich prípadoch boli zaznamenané produktívne, fibrotizované a kazeózne tuberkuly jak v semenníkoch, prisemenníkoch tak v periorchiu, čo je analogickou variantou ako cituje u človeka Henke a Lubarsch (15).

Brucelózne granulómy v semenníkoch, prisemenníkoch obsahovali v centre málo epiteloídnych a obrovských buniek, veľmi tenké retikulárne stroma, pomerne veľké množstvo neutrofilných granulocytov, ciev a eozinofilných buniek, zatiaľ čo na periferii boli pozorované plazmatické bunky, histiocyty a fibroblasty, fibrocyty a obrovské bunky rôznych typov.

Roulet (6) poukazuje na histologické odchýlky tuberkulov od brucelózných granulómov. Na brucelózu poukazujú neutrofilné polymorfojaderné leukocyty, ktoré u tbc chýbajú. Obrovských buniek je u brucelózných granulómov menej a je badať u nich polymorfizmus, zatiaľ čo u tuberkulózy sú len typu Langhans. Jemné retikulárne stroma poukazuje na brucelózu, zatiaľ čo hrubšie na tbc. U brucelózných granulómov je nápadne veľké množstvo eozinofilných granulocytov a ciev, čo u tbc nepozorujeme. Smerodatným kritériom pre tuberkulózu sú primárne zmeny v iných orgánoch najmä v pľúcach a ostatné pomocné nálezy, alergická skúška a bakteriologický nález, prípadne farbenie tbc bacilov v histologických rezoch metódou podľa Ziehl-Nielsen.

U brucelózy sú časté primárne zmeny v pohlavných orgánoch a tiež v orgánoch RES. Smerodatným kritériom je sérologické, alergické a bakteriologické vyšetrenie. Doporučuje sa tiež farbenie brucel v histologických rezoch metódou karbotionom podľa Nicolleho.

Diferenciálne diagnosticky tuberkulózu a brucelóznou orchoepididymitídu je treba diferencovať od pseudotuberkulózy, pri ktorej možno pozorovať vrstevnatú stavbu kazeózne hnísavých ložísk, obklopených väzivovým púdzrom, z ktorého možno uvedenú masu vylúpuť. Histologicky pseudotuberkulómy líšia sa od tuberkulov prevládáním exsudatívno nekrotických procesov nad proliferatívnymi a hypertrofickými procesmi a taktiež chýbaním obrovských buniek, ačkoľvek Ippen ((36) zaznamenal u zajaca nález obrovských buniek pri pseudotuberkulóze.

Diagnóza pseudotuberkulózy je možná jedine bakteriologicky. V starších ložiskách množstvo živých mikróbov z väčšej časti oslabených môže byť malé. Samotný bakteriologický nález bez charakteristických kazeózných zmien nie je dostatočujúci. V pochybných prípadoch doporučuje sa intraperitoneálna infekcia morčata alebo kráľika. K charakteristickým zmenám pri uvedenom ochorení patria abscesy

a kazeózne ložiská vrstevnatej štruktúry v rôznych miazgových uzlinách, pľúcach, pečeni, slezine, obličkách, prípadne v iných orgánoch.

Granulómy, ktoré boli zistené v skupine č. 1., boli mikroskopicky zhodné so skupinou č. 2. Morfológický nález granulómov k dôkazu identičnosti nestačí, preto javí sa potrebné doplniť uvedenú štúdiu doplnujúcim vyšetrením.

Granulómy, ktoré boli zistené v skupine č. 5 pri pasteureleze, v literatúre neboli zaznamenané a nájdené granulómy boli pravdepodobne spôsobené inými zárodkami než *pasteurellami*.

Granulómy v skupine č. 11 a 12 sú podobné skupine č. 2, ale aj skupine č. 6.

Spermatocoele svojou stavbou zhoduje sa s cudzotelesovým granulómom a naokoľko bolo nájdené v rôznych skupinách č. 1, 3, 4, 5, 10, 12, nie je možné prisudzovať mu zvláštny diagnostický význam. Význam nález granulomatózných zmien v semenníkoch a prisemenníkoch spočíva v tom, že pri ich zistení je nutné previesť ich histologickú diferenciáciu a tiež prihliadať k ostatným komplexným nálezom nutným pre to-ktoré ochorenie, pri ktorom prichádzajú granulomatózne zmeny v semenníkoch a prisemenníkoch.

S ú h r n

Bolo vyšetrených 167 baranov s klinicko-morfológickými zmenami v pohlavných orgánoch.

Granulomatózne afekcie v pohlavných orgánoch boli zistené v 19 % prípadov pri brucelóze, tuberkulóze, ako aj v prípadoch s pozitívnym nálezom zárodkov *E. coli*, baktérií podobných brucellám (dosiaľ bližšie neotypizovaných). Pomerne často vyskytovali sa v prípadoch s negatívnym, menej často s nešpecifickým kultivačným nálezom.

Spermatické abscesy boli zaznamenané pri pozitívnom kultivačnom náleze zárodkov podobných brucellám, *Corynebacterium ovis*, *Corynebacterium pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *E. coli*, ako aj pri negatívnom kultivačnom náleze.

Vývojové anomálie zistené v 15 prípadoch vo forme segmentálnej aplázie Wolfho vývodu.

Nešpecifické orchoepididymitídy a periorchitídy a následné fibrosklerotické zmeny boli zaznamenané v 124 prípadoch.

Boli zistené lymfoidne, lymfoidno-epiteloídne, epiteloídno-obrovskobunečné granulómy ako aj spermagranulómy, spermatické abscesy a cudzotelesové granulómy.

Uvádza sa morfológia jednotlivých zistených granulómov vo vzťahu k diferenciácii.

L i t e r a t ú r a

1. Skalský: Bratislavské lekárske listy 1, 43-54, 1957. — 2. Aničkov N. N.: Učenie o retikuloendotelialnej sisteme. Moskva, 1930. — 3. Studnička a Wolf: Histologická a mikroskopická anatómia. Skriptum soš. 1-2, 1953. — 4. Smith H. A. a Jones T. C.: Veterinary Pathology, Philadelphia, 1957. — 5. Stolz a kol.: Alergie, Praha, 1957. — 6. Roulet X.: Entzündung und Immunität, Hanover, 1958. — 7. Joest: Spezielle pathologische Anatomie der Haustiere II. 1937, III. 1924, V. 1929. — 8. Nieberle K. a Cohrs P.: Lehrbuch der Spec. Path. Anatomie der Haustiere IV. 1954. — 9. Bloom E., Christensen N. O.: Výskumy patologických stavov v genitáliách býkov, 1957-58. Preklad CSAZV 1959. — 10. Salyi G.: Háziallatok részletes korbonctana, Budapest, 1954. — 11. Šetka R.: Veterinářství č. 1. 18-20,

1959. — 12. Görig a Kovalevski: Rev. gen. de M. vet. 7 1906, DTW 1900. — 13. Bieberdorf F. W.: JAVMA 122, 49-50, 1953. — 14. Hansen H. S. a Schebitz H.: DTW Nr. 8. 212-217, 1959. — 15. Henke F. a Lubarsch O.: Handbuch der Spec. Path. Anat. und Histologie, VI 3 Männliche Geschlechtsorgane, Berlin, 1931. — 16. Ariel M. M.: Patologická morfológia brucelózy, Moskva, 1939. — 17. Juskovec M. K.: Bruceloz selskochozajstvennych životnych, Moskva 1952. — 18. Thomsen A., Bendtsen H., Christiansen: Nordisk Veterinær medicin, Nr. 1, str. 1-34, 1956. — 19. Černjak V. Z.: Patologičeskaja diagnostika infekcionnych zaboľevanij. Selchoziz, 1957. — 20. Tudoriu K. P., Andrejev M. P., Dragič D.: Mold. Annarul Inst. Past. de higiena animala VII, 5-20, 1958. — 21. Boľ K. G., Boľ B. K.: Osnovy patologičeskoj anatomii sel'skochozajstvennych životnych, Moskva 1954. — 22. Simmons G. a Hall K.: Austr. vet. J. 29-33, 1953. — 23. Jamieson S. a Soltys M. A.: Austr. Vet. J. 1947. — 24. Belonje C. W. A.: JAVMA 22, 165-173, 1956. — 25. Behrens H. a kol.: Zuchthygiene, Fortpflanzungsstörungen und Besamung der Haustiere, Bd. 8, H. 4. 234-251, 1959. — 26. Löffler H. CH.: Monatshefte für Vet. Med. I. 1958. — 27. Bogdan J., Belák M.: Folia vet. fac. med. vet. cass. T. 1. F. 2. Op. 30, 322-334, 1956. — 28. Valova A.: Štúdium granulomatózných orchoepidymitid baranov. Diplomová práca, Košice, 1960. — 29. Bogdan J.: Výskum epididymitid baranov na Slovensku. Dizertačná práca, Košice, 1959. — 30. Bogdan J.: Habilitačná práca, Košice, 1959. — 31. Watts P. S.: Austr. Vet. J. 31, 1-6, 1955. — 32. Tudoriu C. D., Jonica, Dragici, Kambir: Annarul Inst. de Patol. si higiena animala Bukuresti Vol. V. 1955. — 33. Bogdan J., Belák M., Pauer T., Kočiš J.: Folia vet. Fac. med. vet. cass. 1958. — 34. Koppel Z.: Výsledky laboratorných vyšetrení, 1956-1959. — 35. Jelínek a kol.: Pat. anatomia dom. zvierat. Skriptum Praha, 1956. — 36. Ippen R.: Monatshefte für Veterinärmedizin 10, 217-224, 1956.

К вопросу морфологической дифференциации гранулом семенников и придатков баранов

Исследовалось 167 баранов с клинико-морфологическими изменениями половых органов.

Грануломатозные аффекции в половых органах были установлены в 19 % случаев при бруцеллезе, туберкулезе, а также и в случаях позитивного наличия зародышей *E. coli*, бактерий, похожих на бруцеллы (до сих пор ближе неотипизированных). Сравнительно часто они появлялись при негативном, реже при неспецифическом культивационном диагнозе.

Сперматические абсцессы были отмечены при позитивном культивационном результате анализа зародышей, похожих на бруцеллы, *Corynebacterium ovis*, *Corynebacterium pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *E. coli*, а также и при негативном культивационном диагнозе.

В 15 случаях были установлены ненормальности развития в форме сегментальной дисплазии канала Вольфа.

Неспецифические орхоэпидимиты и периорхиты с последующими фибросклеротическими изменениями были отмечены в 124 случаях.

Были установлены лимфоидные, лимфоидно-эпителиоидные, эпителиоидно-крупноклеточные грануломы, а также и спермагрануломы, сперматические абсцессы и грануломы, вызванные инородным телом.

Приводится морфология отдельных обнаруженных гранулом с учетом их дифференциации.

A Contribution to the morphological Differentiation of Granuloms of the Orchis and Epididymis in Rams

Examined were 167 rams with clinical and morphological changes of the genital organs.

Granulomatous changes in the genital organs were found in 19 % of the cases, in brucellosis, tuberculosis, but also among infections with *E. coli* and microbes similar to Brucellas but hitherto not typified. Relatively often they were found in cases with negatives, less frequently with non specific results of cultivation.

Spermatic abscesses were found in connection with positive cultivation of microbes similar to *Brucella*, *Corynebacterium ovis*, *Corynebacterium pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *E. coli* and also in cases with negative results of the cultivation.

Anomalies of development were found in 15 cases in form of segmental aplasia of the Wolff ductus.

Non specific orchoepididymites, and periorchites with subsequent fibroclerotic changes were found in 124 cases.

There were found lymphoid, lymphoid-epitheloid, epitheloid-gigantocytous granuloms and also spermagranuloms, spermatic abscesses and granuloms from foreign bodies.

The morphology of the particular granuloms is discussed with reference to the differentiation.

Klinická a hematologická diagnostika virové enteritidy a otravy Naratoxem u koček

Клиническая и гематологическая диагностика вирусного энтерита
и отравления Наратоксом у кошек

The Clinical and Haematological Diagnosis of Virus-enteritis and Intoxications with
Neratox in Cats

Zdeněk SOVA a Jan KOMÁREK

Z I. interního a infekčního oddělení Krajské veterinární nemocnice v Pardubicích,
přednosta MVDr Zdeněk Sova, kandidát veterinárních věd

Došlo dne 8. IX. 1960

Úvod

V posledních dvou letech se setkáváme stále častěji s případy těžkých anémií u koček, vyvolaných pozřením Neratoxu-kumarinového přípravku, používaného ke trávení hlodavců. Klinické příznaky konečného stadia této otravy jsou jednoznačné, méně pokročilé případy mohou však být klinicky zaměněny snadno s infekční enteritidou u koček, enzootií, která působí občas u koček hromadné ztráty. V tomto příspěvku chceme se zabývat klinickým a hematologickým obrazem obou chorob, rozebrat příznaky shodné a vymezit ty, které umožní obě onemocnění spolehlivě odlišit.

Infekční enteritis koček

Toto onemocnění, které může mít 80–90 % ztrát, bývá v literatuře označováno různými názvy. Onemocnění popsali poprvé v roce 1928 v Paříži Verge a Cristoforoni (26) jako infekční gastroenteritis, o 4 roky později v Anglii Hindle a Findley (10), v roce 1934 v Maďarsku Jarmai (12) a téhož roku v USA Lawrence a Syverton (17). Konečně v roce 1936 popsali chorobu jako *laryngotracheitis infectiosa* Krembs a Seyfried (16). Lawrence a Syverton, Hammon a Enders (9) i Brion a Bertnad (cit. 11) nazývají toto onemocnění nakažlivou agranulocytózou, leukopaenií a aleukocytózou koček. Z dalších synonym zbývá ještě uvést panleukopaenie (Arlein - 2), kočičí mor — Katzenpest (Bachmann - 3) nebo kočičí nákaza — Katzensuche (Ackermann). Někdy bývá choroba označována jako Katzenstaupe — kočičí psinka. Pod tímto názvem popsali v USA Kirk (15) a Merchant (18) a ve Švýcarsku Bachmann (3) virózu

Předneseno na 2. celostátní veterinární hematologické konferenci ve dnech 2.—3. června 1960 v Pardubicích.

s poněkud mírnějším klinickým průběhem, než je možno pozorovat u virové enteritidy, především s příznaky katarálními, faryngeálními a pulmonálními. Pestrost symptomů a nemožnost sérologické či jiné objektivní diagnostiky vedly k tomu, že se vyvinula tak pestrá terminologie této choroby. K zabránění nejasností budeme onemocnění označovat nadále shodně s Ackermanem (1) jako infekční enteritis neboli panleukopaenii. Původcem choroby je virus menší než 25 milimikronů, označovaný anglosaskou literaturou jako panleukopaenievirus. Choroba je vysoce kontagiózní, virus se může uchovat mimo hostitele více než rok a lze ho likvidovat jenom důkladnou dezinfekcí. Virus je specifický pro šelmy kočkovité, nezdařil se přenos na šelmy psovitě ani na laboratorní zvířata (králíky, morčata, fretky, krysy a myšky). Choroba je zvláště nebezpečná pro kočky, nově přenesené ze zdravého do zamořeného prostředí. V západních zemích je nákaza šířena při výstavách či ve zvířecích útulcích. Přenašečem mohou být i krev sající parazité. K infekci dochází cestou dýchací či zažívací. Virus byl prokázán Merchantem v krvi, nosním sekretu, ve faeces a občas i v moči. Onemocnění kočky jakéhokoliv stáří, nejvnímavější jsou kočky mladé do 2 let. Inkubační doba je 2–6 dní, kočky odmítají potravu, jsou malátné, mají zvýšenou teplotu na 40–42° C. Nejnápadnějším příznakem je zvracení, především u mladých koček. V prvních dnech obsahují zvratky potravu, později jen žaludeční šťávu se žlutými šlemy, někdy i se žlučí. Pacienti jsou přinášeni na vyšetření s podezřením na otravu právě pro úporné zvracení. V průběhu choroby dochází rychle k celkové depresi a vyčerpání v důsledku dehydratace. Zvířata vyhledávají chladnou podlahu, slábnou, žalostně naříkají, dochází ke ztrátě elasticity kůže a k rychlému vyhubnutí. Oční bulby jsou vpadlé, okolí tlamky potřísněno zvratky, rovněž tak přední tlapy. Asi u 10 % případů dochází ke ztrátě epithelu na špičce jazyka a jeho okrajích, k tonsilitidám a ke gingivitidám. Onemocnění provází typický *foetor ex ore*. Při palpaci břicha nemocných koček je možno slyšet v důsledku tekuté a plynné náplně kloktavé zvuky. Někdy může palpace vyvolat sténání i zvracení. Průjem není konstantním příznakem, bývá pozorována i zácpa. Jedním z nejcharakterističtějších příznaků virové enteritidy koček je panleukopaenie, která představuje patognomonické diagnostické kritérium. Ačkoliv bývá při onemocnění snižen i počet červených krvinek, je nejvýraznější úbytek bílých krvinek z normálních hodnot, pohybujících se na 10 000 během krátké doby často až pod 1000 v 1 cmm. Pítevní obraz je při perakutním průběhu nevýrazný a často makroskopicky negativní, v akutních případech pozorujeme lokální zarudnutí serózy a mukózy tenkého střeva. Čím je průběh delší, tím jsou změny výraznější. Obsah ve střevech je kašovitý, šlemovitý, někdy až hnisavý. Submukóza bývá oedematózně zduřelá, mesenteriální uzliny zvětšené. Výrazné změny jsou na dření kostní. Při otevření femuru najde se místo formovaného válečku kašovitá, rozbfředlá hemorrhagická dřev. Histologicky lze prokázat intranukleární inkluze v některých buňkách z mízních uzlin, dřevě kostní, sleziny a mukózy zažívací roury.

Vlastní pozorování

V letech 1955–1956 mohli jsme pozorovat enzootický výskyt infekční enteritidy u koček v bezprostředním okolí Pardubic. Celkem jsme měli možnost během 2 měsíců vyšetřit 15 koček, nejméně desetinásobný počet nemocných koček nebyl přiveden k vyšetření a ošetření. V obci D. vyhynula touto chorobou převážná většina koček. Majitel N. K. z téže obce přišel postupně o čtyři kočky, které onemocněly a uhynuly za výše popsaných příznaků. U tří ze čtyř těchto koček

byl sledován krevní obraz, který je pro chorobu charakteristický svou výraznou leukopanií a proto ho uvádíme:

Kočka č. 1, stáří 3 roky, hematologicky vyšetřena třetí den klinického onemocnění:

BK 3.450 Leukogram: N 73, T 7, Eo 1, L 19

ČK 5,820.000

Hb 45^gSicca

Kočka č. 2, stáří 1 a půl roku, asi třetí den onemocnění:

BK 2.950 Leukogram: N 77, T 3, L 20, anisocytosa

ČK 6,370.000

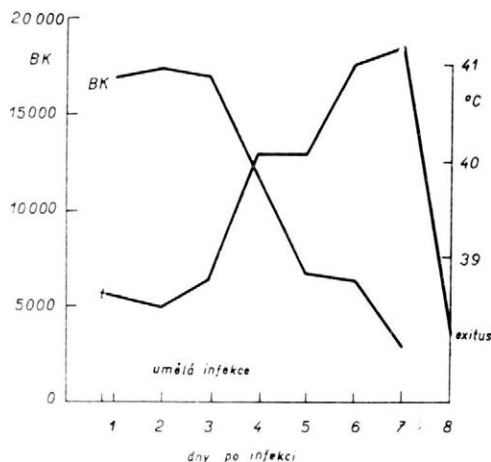
Hb 42^gSicca

Kočka č. 3, stáří 1 rok, vyšetřena těsně před exitem:

BK 1,120 Leukogram: N 92, T 6, L 2.

ČK 5,900.000

K potvrzení diagnózy byla provedena experimentální infekce roční zdravé kočky z nezamořeného prostředí. Pokusné kočky byl podán jeden ml infekční krve z kočky č. 1 (3. den choroby) intraperitoneálně. Experimentální infekce měla průběh, který je zachycen na grafu 1.



Graf 1: Křivka teploty u leukocytů u kočky při umělé infekci virem panleukopatie

V den experimentální infekce měla pokusná kočka 16.300 BK v 1 cmm, při t 38,8. Čtvrtý den po infekci došlo ke vzestupu teploty na 40,1^o C, táž teplota byla i pátý den a v dalších 2 dnech ještě teplota stoupala až na 41^o C. V den exitu (8. den) došlo k poklesu pod normu. Souběžně se vzestupem teploty klesaly při vyvinutí se klinických příznaků (deprese, úporné zvracení, průjem) počty BK, a to čtvrtého dne na 12.500, pátý den na 6.300, šestý den na 4.950 a konečně sedmý den na 2.950 BK v 1 cmm.

I když jsme z technických důvodů nemohli provést virologické vyšetření, experimentální přenos s typickým klinickým i hematologickým obrazem potvrdil, že ve sledované enzootii šlo skutečně o virovou infekční enteritis koček.

Se sporadickými případy onemocnění setkáváme se v průběhu roku neustále, od roku 1956 však jsme nepozorovali hromadný výskyt této choroby.

Otrava masožravců Neratoxem

Neratox je kumarinový preparát chemického složení 3 alfa-fenyl-beta-acetyl-ethyl 4 hydrooxycumarin (19,27). Přípravek se v poslední době u nás běžně používá k trávení hlodavců. Je to sypký, blankytně modrý prášek, který se sype na škvarky. Jak je běžně známo, tlumí Neratox tvorbu protrombinu a usmrcuje vykrvácením. Smrtná dávka pro potkany je 1 mg na 1 kg ž. v. při podávání po 5 dní, pro domácí zvířata je tato dávka 25–40 mg na 1 kg ž. v. Smrt nastává pozvolna, bezbolestně, takže umírající zvíře neplaší ostatní.

V dostupné literatuře nenašli jsme popisované případy otravy koček Neratoxem (preparáty kumarinovými), jsou popisovány pouze ojedinělé případy otravy psů warfarinem. Tak Bowden, Baxter a Hodgman (4) popisují otravu warfarinem u závodních greyhoundů (chrtů), k níž došlo krmivem, znečištěným trusem otrávených hlodavců. U několika psů došlo k úhynům při závodech po 200 až 300 uběhnutých metrech dostihu, jiní psi díky menším přijatým dávkám se po intenzivní léčbě vitamínem K uzdravili. Ojedinělý případ otravy psa warfarinem uvádějí Cotchin a Carter (5).

Vlastní pozorování

Koncem roku 1959 a počátkem roku 1960, kdy Neratox počal být používán ve větší míře v našem městě k deratizaci, začaly se nám množit případy onemocnění u koček, které byly donášeny s těžkými příznaky anémie, se spojivkami sklovitě bílými, většinou s krvácením buď z nosu nebo z některých jiných přirozených tělních otvorů. Tyto případy byly celkem klinicky jednoznačné jako otrava Neratoxem, zvláště když v anamnéze bylo uváděno hubení hlodavců. Méně klinicky jasné byly ovšem ty případy, kdy nedošlo ještě k výrazné diatézi a kdy nebyla anémie pokročilá. I u těchto případů bylo možno pozorovat občasné zvracení, malátnost, celkovou skleslost a průjem. Je zvýšená citlivost orgánů v dutině břišní, zvíře občas při palpaci zasténá. Rozpoznání otravy v tomto stadiu je velmi důležité, poněvadž v této době je možno ještě některá zvířata velkými dávkami vitamínu K zachránit.

Z celkového počtu 21 případů, vyšetřovaných během dvou let, podařilo se nám zachránit pouze dvě kočky, které přijaly návnady pravděpodobně velmi málo. Měli jsme možnost osm z těchto zvířat, kde anémie byla již pokročilejší, sledovat hematologicky a čtyři z nich nejtypičtější uvádíme:

Kočka č. 1. Zvíře již čtyři dny nežere, slintá, krvácí z nosu a konečníku.

Spojivky jsou porcelánově bílé, t 39,2.

BK 29.000

Leukogram: N 36, Z 15, L 23

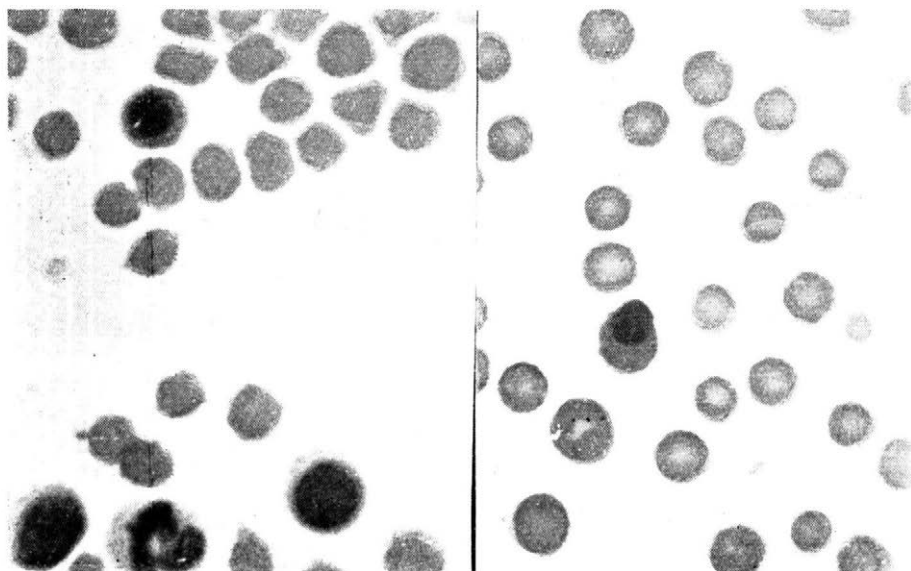
ČK 1,520.000

Leukocytóza, posun doleva, hypochromní anémie, výskyt erythroblastů

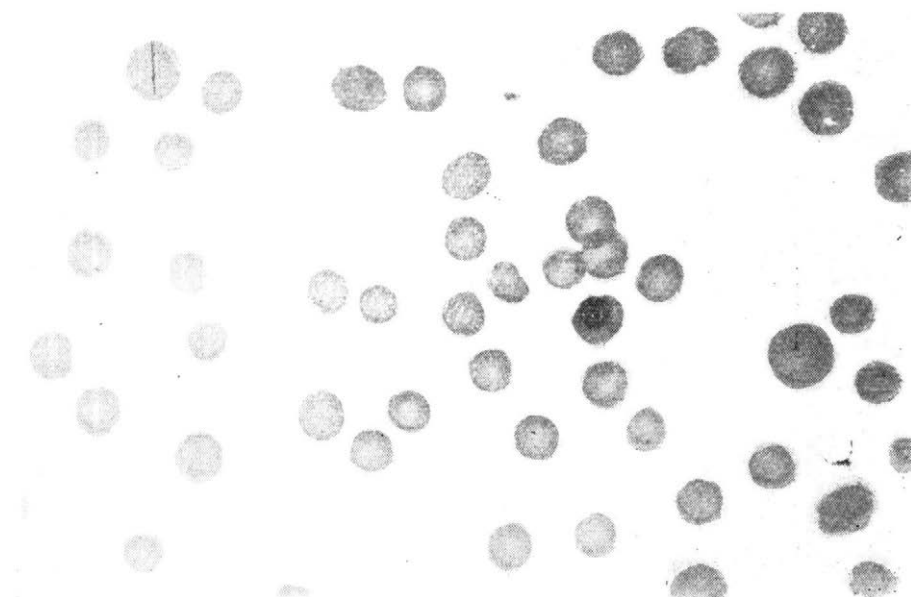
HB méně než 10^9 podle

Sahliho

Hematokrit 15



1. Hypochromní anémie u koček při otravě Neratoxem, Erythroblasty



2. Hypochromní anémie koček při otravě Neratoxem

Kocour č. 2. Zvíře nežere, zvrací, má průjem, krvácí z konečníku. Spojivky jsou silně anemické, t 38,9.

BK 11.600

Leukogram: N 68, T 1, L 31

ČK 4,320.000

Hypochromní anémie, polychromarofilní erythroblasty, polychromasie, anisocytóza

Hb 35⁰Sahli

Hematokrit 34

Kočka č. 3. Zvíře již tři dny krvácí, jednak z končetiny, jednak z pochvy, je silně apatická, anemická, studená, t 37,9.

BK 40.600

Leukogram: N 88, T 2, metamyelocyty 7, L 7

ČK 2,330.000

12 polychromatofilních erythroblastů na 100 BK, anisocytóza, hypochromní anémie, polychromasie

Hb méně než 20⁰Sahli

Kocour č. 4. Zvíře je silně anemické, nežere, zvrací, krvácí z nosu, t 38,9.

BK 15.500

Leukogram: N 51, T 5, L 30, Eo 3, Mo 8

ČK 3,780.000

Erythroblasty 11 na 100 BK, retikulocyty 72⁰/₁₀₀

Hb 31

Hypochromní anémie, anisocytóza, polychromasie, nález erythroblastů, retikulocytóza, leukocytóza

Jak je vidět z uvedených leukogramů, upozorňuje na sebe na rozdíl od panleukopaenie výrazná anémie 1,500.000–4,320.000, v bílém krevním obraze naopak jsou počty BK zvýšené nad 15.500, v jednom případě až do 40.600 BK v 1 cmm. Anémie je hypochromní, v periferním krevním obraze nacházíme polychromatofilní erythroblasty, anisocytózu, polychromasii. V neutrofilech je mírný posun doleva, v několika případech byla pozorována výrazná retikulocytóza až do 5–7 % všech erythrocytů. Hematokrit klesá na 15 dílků, hemoglobin, měřený podle Sahliho, na 35–10 i méně.

Pitevní nález kočky č. 3: sliznice jsou bledé, je možno pozorovat rozsáhlé krváceniny ve svalovině pánevní i hrudní, pod pobřišnicí i na sliznici močového měchýře, na perikardu a v mediastinu. U kočky došlo k vykrvácení do dutiny břišní a hrudní, krev v dutinách ani v cévách není sražená.

Vesměs byly pitevní nálezy charakterizovány příznaky hemorrahické diatéze s vykrvácením buď do dutin, nebo mimo tělo.

Abychom si ověřili účinek Neratoxu v průběhu experimentální otravy, podali jsme tento ve třech dávkách po 170 mg přes den čtyřměsíčnímu kotěti váhy 850 g. Kotě bylo zakrslé, s invazí tasemnic a s ftiriasí. Čistý Neratox byl po odvážení protřepán ve zkumavce s mlékem a touto nalit kotěti do dutiny ústní.

Podaná dávka představuje při přepočtení dávku 40 mg na 1 kg pro dosi. U pokusného kotěte byl sledován klinický stav, krevní obraz a srážlivost. Tabulka hematologických vyšetření:

Den	BK	ČK	Hb	M	L	Eo	N	T	Srážlivost	Poznámka
1	10.500	8,770.000	53	—	19	2	75	4	1 min	před pokusem
2		9,080.000	70		15	2	78	5		podáno 170 mg Neratoxu
3	17.100	9,020.000	74		34	2	63	11	3 min	
4	19.100	8,640.000	60	1	46	1	50	1	6 min	podáno 170 mg Neratoxu
5	19.200	8,220.000	59	1	19	1	72	8	krev se nesráží	
6	17.100	7,100.000	60	3	40	1	54	2		podáno 170 mg Neratoxu
7	6.600	3,190.000								
Do příštího dne do rána exitus vykrvácením.										

Teplota pokusného zvířete stoupla z počáteční 38,2 na 39,2—39,4, počínaje pátým dnem od podání první dávky 170 mg Neratoxu. Počty ČK teprve pátý dne poklesly o 1 milión, šestého dne bylo napočteno jen 3,190.000, sedmého dne brzo ráno zvíře uhynulo vykrvácením. Doba srážlivosti se postupně zvyšovala z počátečních 60 vteřin na 3 minuty, 6 minut a konečně čtvrtý den po podání první dávky se krev již nesráží vůbec a volně pomalu odtéká z veny, kde byla denně odebírána krev. Od čtvrtého dne kotě nepřijímá potravu, je naježené, apatické. Pátého dne dochází ke krvácení z nosu a z místa vpichu stále odtéká krev. Kotě uhynulo vykrvácením navenek. V pitvním nálezu je výrazná anémie všech orgánů, na pravé plicí je malá, plošná krvácenina 2×3 mm, ve střevech silná invaze *Taenia crassicolis*, jinak je nález negativní.

Diskuse

V práci jsme popsali klinické a hematologické nálezy při virové enteritidě u koček a při otravě Neratoxem. Obě onemocnění, nejsou-li příliš v pokročilém stadiu, mohou mít tyto shodné příznaky: nechutenství, zvracení, průjem, zchvácenost, deprese, anémie. Pokročilé případy otravy Neratoxem upozorňují na sebe výrazným krvácením nesrážlivé krve z přirozených otvorů tělních. Na rozdíl od infekční enteritidy, která je doprovázena vysokou teplotou přes 40° C, mívají kočky otrávené Neratoxem pouze mírně zvýšenou teplotu. Spolehlivé rozlišení umožní hematologické vyšetření, kdy pokročilejší případy otravy Neratoxem se vyznačují výraznou hypochromní anémií a většinou absolutní leukocytózou, zatím co virová enteritis mívá mírnou anémii při výrazné leukopaenii. Srovnáme-li tyto hematologické nálezy s krví zdravých koček vyniknou rozdíly nejlépe:

Krev zdravé kočky podle Schermera:	BK dospělá kočka 8.600—27.400 kotě 5.400—10.800 ČK 7—10 miliónů leukogram: N 31—85, Eo 1—10, BA 0—2, L 10—64, Mo 1—3	průměr 18.000 průměr 7.600
podle Nikitina:	BK 17.900 N 68, Eo 4,5, Ba 0,25, L 26, Mo 1,5 ČK 8,200.000	
Virová enteritis koček:	BK 2.950 N 77, T 3, L 20 ČK 6,370.000 Hb 40	
Otrava Neratoxem	BK 29.000 N 63, T 15, L 23 ČK 1,520.000 Hb 10	

Z diferenciálně diagnostického hlediska řadí se k oběma nosologickým jednotkám, které jsme popsali, tyto další choroby, které by mohly být zaměněny:

Infekční laryngoenteritis koček je onemocnění, které je popisováno od roku 1935 v Německu a které je některými považováno za totožné s infekční enteritidou, jiní autoři označují tuto chorobu za samostatnou virózu s převahou změn v laryngu: hemorhagické otoky někdy až s difteroidními membranami v krajině mandlí a hrtanu, někdy s obdobným nálezem i ve střevech. Jinak jsou klinické příznaky shodné s virovou enteritidou.

Za další chorobu je nutno považovat *virovou rhinotracheitis*, jejíž původce byl izolován na tkáňové kultury z kočičích ledvin v roce 1958 C r a n d e l e m a M a u r e r e m (6). Choroba projevuje se konjunktivitidou, rhinitidou, slzením a alterací především dýchacích cest.

Konečně z krevních parazitóz u koček přichází v úvahu *Hemobartonellosis*, původce je kokovitý či tyčinkovitý krevní parazit červených krvinek *Haemobartonnella felis* nebo též *Eperythrozoon felis*. Choroba byla popsána C l a r k e m v Jižní Africe a pak řadou dalších autorů, z posledních let je nutno alespoň jmenovat práce S e a m e r (22), S e a m e r a D o u g l a s (23) z Anglie a práce F l i n t et al. (8) z USA. Tato parazitární infekční anémie koček může mít akutní či chronický průběh a je doprovázena, podobně jako virová enteritis, depresí, anorexíí a počáteční horečkou. V krevním obraze je makrocytární hemolytická anémie s charakteristickým hemogramem. U některých případů bývá pozorován ikterus, u jiných splenomegalie či mesenterická *lymphadenitis*. Na rozdíl od virové gastroenteritidy nebývá zvracení. Počet erythrocytů klesá na 1—5 miliónů, počet leukocytů bývá na rozdíl od panleukopaenie z počátku normální, později dochází asi u 25 % případů k leukopaenii — výjimečně až na 4—5000 BK v 1 cmm. V roztěru je možno pozorovat anisocytózu, difúzní basofilii, v pokročilém stadiu možno pozorovat až 2—30 erythroblastů na 100 BK. V řadě ČK je možno pozorovat typické kokovité hemobartonelly. Toto onemocnění nebylo v ČSSR dosud ani pozorováno, ani popsáno.

Souhrn

V předložené práci jsou popsány klinické a hematologické nálezy při infekční virové enteritis u koček a při otravě Neratoxem (warfarinem) u koček. Obě choroby byly experimentálně reprodukovány.

- K diferenciálně diagnostickým kritériím patří při klinickém vyšetření
1. teplota, která bývá při virové enteritidě zvýšená přes 40° C zatím co při otravě Neratoxem bývá teplota jen mírně zvýšená.
 2. Krevní obraz virové enteritidy je charakterizován jen mírnou anémií při výrazné leukopaenii. Při otravě Neratoxem je tomu většinou naopak; onemocnění se projevuje výraznou hypochromní anémií, zpomalením či ztrátou srážlivosti krve a většinou absolutní leukocytózou.

Hematologické vyšetření je cenným diferenciálně diagnostickým vodítkem především u případů málo pokročilých, kdy včasná diagnóza může usměrnit správnou terapii.

Literatura

1. Ackermann O.: Die Katzensenche-infektiöse Enteritis oder Panleukopaenie der Katze und ihre Bekämpfung durch aktive Immunisierung. Blau. Hfte. aus der Behringwerke A. G., Marburg Lahn, 1960. — 2. Arlein M. S.: Infectious Feline-enteritis or Panleukopenia. North. Amer. Vet. 21, 12, 1940. — 3. Bachmann W.: Die Krankheiten von Hund und Katze. E. Reinhardt-Verlag München Basel 350, 1956. — 4. Bowden R. S. T., Baxter M. K., Hodgman S. F. J., Wilkinson E.: Warfarin Poisoning at Derby Greyhound Stadium. Vet. Rec. 72, 6, 102-105, 1960. — 5. Cotchin E., Carter J.: Warfarin Poisoning in a Dog. Vet. Rec. 67, 753, 1955. — 6. Grandel R., Maurer F.: Isolation of feline virus associated with intranuclear inclusion bodies. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97, 3, 487-490, 1958. — 7. Englert H. K.: Laryngo-Enteritis infectiosa der Katzen und ihre Schutzimpfung mittels Formol-Vaccine. Tierärztl. Umsch. 8, 282, 1953. — 8. Flint J. C., Roepke M. H., Jensen R.: Feline Infectious Anemia. II. Experimental Caeses. Am. J. Vet. Res. 20, 74, 33-40, 1959. — 9. Hammon W. D., Enders J. F.: A Virus Disease of Cats, principally characterized by Aleukocytosis, enteric Lesions and the Presence of intranuclear Inclusion Bodies. J. Exper. Med. 69, 327, 1939. — 10. Hindle F., Findlay G. M.: Studies on Feline Distemper. J. Comp. Path. 45, 11, 1932. — 11. Hutyrá, Marek, Manninger, Moczy: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. G. Fischer-Verlag, Jena, 1954. — 12. Jarmai K.: Über die durch ein filtrierbares Virus verursachte Magen- und Darmentzündung der Katze. Budapest, D. T. W., 26, 401, 1934. — 13. Jennings A. R.: Virus Disease on the Cat. Brit. Vet. J. 105, 39, 1949. — 14. Kikuth W., Gönnert R., Schweikert M.: Infectiöse Aleukocytose der Katze. Zbl. Bakt. 146, 1, 1940. — 15. Kirk H.: Index of Diagnosis for canine and feline Surgeons. Bailliere, Tindall and Cox London 1953. — 16. Krembs J., Seyfried O.: Laryngo-Enteritis infectiosa, eine in Deutschland bisher unbekannte verlustreiche Katzensenche. T. Rdsch. 20, 259, 1936. — 17. Lawrence J. S., Syverton J. T.: Spontaneous Agranulocytosis in the Cat. Proc. Soc. exper. Biol. Med., 38, 914, 1938. — 18. Merchant A.: Veterinary Bacteriology and Virology. The Iowa State Colege Press. 832, 1953. — 19. Radkevič P. I.: Veterinárni toxikologie. Stát. zem. nakl. Praha, 1955. — 20. Riser W. H.: Feline Diseases JAVMA 238, 1954. — 21. Ruud G.: Katzensenche-Infectiöse Gastroenteritis, Katzenstaupe. Panleukopaenie Agranulocytose. Medlemsb. Norske Veterinaerforening 9, 399, 1957. — 22. Seamer

B. J.: The Propagation and Preservation of *Eperythrozoon coccoides*. The Journ. of Gen. Microbiol. 21, 2, 1959. — 23. Seamer B. J., Douglas S. W.: A New Blood Parasite of British Cats. Vet. Rec. 71, 405-408, 1959. — 24. Schermerer S.: Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. J. A. Barth-Verlag Leipzig 83, 1954. — 25. Urbain A.: Contribution à l'Etude de la Gastroenterite infectieuse des Chats. Ann. Inst. Past. 51, 202, 1933. — 26. Verge J., Christoforoni N.: Le Gastroenterite Infectieuse des Chats. Comp. rend. Soc. biol. 99, 312, 1928. — 27. Vondráček V., Riedl O.: Klinická toxikologie. SZN Praha 1958. — 28. Wachnik Z.: Infekční kočičí gastroenteritis. Med. Veter. 13, 203, 1957, referát ve Veterinärmedizin Z. N. — 29. Weyers H.: Zur Klinik ansteckender Katzenkrankheiten. Katzensenche-Katzenstaupe. B. M. T. W. 67, 333, 1954.

Клиническая и гематологическая диагностика вирусного энтерита и отравления Нератоксом у кошек

В предлагаемом сообщении описываются клинические и гематологические диагнозы при инфекционном вирусном энтерите кошек и при отравлении кошек Нератоксом (Warfarin). Оба заболевания были воспроизведены экспериментальным путем.

К дифференциально-диагностическим критериям при клиническом исследовании относятся:

1. Температура, которая при вирусном энтерите повышается более чем на 40° , в то время как при отравлении Нератоксом температура повышается лишь незначительно.

2. Картина крови вирусного энтерита характеризуется умеренной анемией при ярко выраженной лейкопении. Отравление Нератоксом имеет в большинстве случаев обратные последствия; заболевание характеризуется выразительной гипохромной анемией, замедлением или потерей свертываемости крови и в большинстве случаев абсолютным лейкоцитозом.

Гематологический анализ является ценным дифференциально-диагностическим средством прежде всего в еще слабо выраженных случаях, когда своевременный диагноз может способствовать назначению правильной терапии.

The Clinical and Haematological Diagnosis of Virus-enteritis and Intoxications with Neratox in Cats

The paper contains a description of clinical and haematological findings in infectious virus-enteritis of cats and in intoxications with neratox (warfarin) in cats. Both diseases have been reproduced experimentally.

The criteria of differential diagnosis in examining clinically are the following: 1) The temperature, which is in virus-enteritis increased above 40° C, whereas in intoxications with neratox the temperature is only slightly increased. 2) The blood picture of the virus-enteritis is characterized only by a slight anaemia with a significant leucopenia. In intoxications with neratox it is mostly the opposite. There is

a significant hypochromatic anaemia with coagulation of blood slackened down or its complete loss and mostly an absolute leucocytosis.

The haematological examination is a valuable means for the differential diagnosis especially in cases not very advanced, where an early diagnosis may lead to a right therapy.

Příspěvek k balení čerstvého masa v porcích

К вопросу упаковки свежего мяса в порциях

Ein Beitrag zur Verpackung von portioniertem Frischfleisch

MVDr. Milan SOVADINA, Mojmir PETŘÍČEK, prom. vet. lékař
Výzkumný ústav pro maso v Brně

Došlo dne 20. V. 1960

Tato práce je věnována památce doc. dr. Jana Hökla, laureáta státní ceny in memoriam a zakladatele Výzkumného ústavu pro maso, od jehož úmrtí uplynulo dne 15. února 1961 10 let.

Ú v o d

Maso je stále ještě potravinou nejméně dotčenou moderními prodejními metodami, ačkoliv tam, kde jsou zavedeny i u masa, je kupující rádi přijímají. Balení masa do spotřebitelských dávek se má rozvinout daleko širě než dosud. Starý způsob prodeje masa z háků je z mnoha hledisek nevyhovující a pomalý. Hlavním cílem nového způsobu je zvýšit hygienu prodeje. Dosavadní cesta masa od výrobce k spotřebiteli je cestou neustálého nebezpečí znečištění nebo načichnutí od okolních předmětů a stálých změn teploty. Nový způsob prodeje má také zaručit váhu a druh prodáváného masa. Poněvadž maso jako zboží není charakterizováno nějakou značkou, musí se kupující spolehnout na ohodnocení zboží zrakem. Z toho vyplývá, že k balení masa i masných výrobků se musí používat zcela průhledného obalu. Tak zvané klasické obalové materiály nevyhovují svými vlastnostmi těmto zvýšeným požadavkům a prudký rozmach, který nastal v tomto směru spolu s převratem ve způsobech, ekonomice a efektivnosti balení, zatlačil tyto obalové hmoty do pozadí a otevírá cestu použití umělých plastických hmot, neboť ony splňují bohatým výběrem specifických vlastností a možností zpracování velkou část požadavků na ochranu jakosti i nejnáročnějších výrobků.

M a t e r i á l a m e t o d i k a

Vzali jsme si za úkol posoudit novodobé obaly, které jsou v současné době vyráběny v množství, které odpovídá plánované potřebě masného průmyslu, s hlediska vhodnosti pro balení čerstvého masa po stránce technologické. Zaměřili jsme se především na hodnocení vlivu obalu na maso s hlediska údržnosti hodnocením faktorů, které ovlivňují mikrobiální činnost u baleného masa v por-

cích během skladování, dále na hodnocení smyslově postřehnutelných změn chuti, vlivu na údržnost barvy, zachování svěžího vzhledu a vznikajících ztrát na váze a dále vlastností obalů samotných, tj. jejich odolnosti proti mechanickým insultům, spolehlivé a jednoduché uzavíratelnosti, vhodnosti pro mechanizaci procesu balení apod.

K pokusům jsme používali maso výsekové, hovězí a vepřové. Po zabalení byly vzorky uchovávány v chladírně při teplotě $+2^{\circ}\text{C}$ až $+4^{\circ}\text{C}$ a ve stanovených intervalech byly odebírány vzorky k vyšetřování. U vepřového masa byly jednotlivé tržní druhy (plec, kýta, krkoviče, atd.) vyšetřovány odděleně a u hovězího masa bylo k pokusům použito masa z kýty a žebra.

Hodnotili jsme tyto obalové hmoty: celofán obyčejný (Ce), celofán oboustranně natíraný, nesvařitelný teplem (Ce-P), celofán oboustranně natíraný, svařitelný (Ce-L), výrobce Chemosvit Tatry (nátěr proveden lakem na bázi nitrocelulózy), polyamid, (výrobce ZWP Žilina), polyethylen (Pe), výrobce Fatra Napajedla.

Pro stanovení počtu zárodků na povrchu masa bylo použito metody podle Arpaie (2), modifikované Zlámalovou (16). Odběr vzorku byl proveden seškrábáním povrchu masa sterilní čepelkou na konstantní ploše. V grafickém vyhodnocení mikrobiologického vyšetření bylo pro přehlednost použito logaritmu skutečného počtu zárodků na 1 cm^2 povrchu vzorku masa. Diagnostika mikroorganismů nebyla prováděna.

Stanovení amoniaku bylo prováděno metodou podle Dvořáka (6). Zhodnocení zdravotní nezávadnosti zkoušených obalů uváděné v tab. I. a propustnosti pro vzduch uváděné v tab. II je převzato z literatury (10, 8, 19). Propustnost pro tuk byla posuzována při teplotě $+4^{\circ}$, $+20^{\circ}$ a $+40^{\circ}\text{C}$ za normálního atm. tlaku. Všechny uváděné výsledky jsou průměrem hodnot získaných z 10 vyšetření každého druhu ve dvou pokusných řadách.

V ý s l e d k y

Obalový materiál pro maso musí vyhovovat těmto požadavkům:

1. fyziologicky nezávadný, neovlivňující chuť a vůni baleného zboží;
2. nepropustný pro vzduch;
3. nepropustný pro vlhkost;
4. odolný vůči chemickým vlivům;
5. čirý nebo alespoň průhledný;
6. snadno potiskovatelný;
7. dobře a bezpečně uzavíratelný;
8. vhodný pro použití v balících automatech;
9. cenově přístupný.

Všeobecně možno říci, že obalový materiál splňující tyto požadavky je vhodný pro čerstvé maso a masné výrobky.

Posouzení vhodnosti zkoušených obalů pro čerstvé maso z hlediska uvedených požadavků

1. Fyziologická nezávadnost obalového materiálu spočívá v naprosté netečnosti obalu k přechovávaným látkám, jak po stránce vlivu na vůni a chuť, tak i po stránce přestupu některých složek obalu (změkčovadel) do baleného zboží. Podle provedených zkoušek lze hodnotit posuzované obaly s tohoto hlediska následovně:

I. Vliv různých obalových hmot na čerstvé maso

Obal	Vliv na vůni čerstvého masa	Vliv na chuť masa po tepelné úpravě	Odolnost proti působení masa	Odolnost proti působení tuku	Zdravotní hledisko (10, 19)
Ce	nemá	nemá	nedostatečná	dobrá	nezávadný
Ce-P	pach po nátěru	nemá	lak se uvolňuje	dobrá	nezávadný
Ce-L	pach po nátěru	nemá	lak se uvolňuje	dobrá	nezávadný
Pa	nemá	způsobuje hořkou příchut'	uvolňuje kopolymer	dobrá	nezávadný
Pe	nemá	nemá	dobrá	nedostatečná	nezávadný

Zdravotní nezávadnosti se při výběru obalu věnuje v první řadě pozornost. Dále se posuzuje vliv na smyslově zjistitelné změny v chuti a vůni. Nátěr zkoušených druhů celofánu není zakotvený, ve vlhkém prostředí se odlupuje a zůstává lpět na maso tam, kde došlo k přímému styku masa s celofánem. Je zdravotně nezávadný (upravený nitrocelulózový lak), má však charakteristický pach, který se přenáší na maso. Po tepelné úpravě tento pach zcela vymizí. Polyamid naší výroby (ZWP) Žilina) má v tomto ohledu nejméně příznivý vliv, neboť způsobuje hořkou příchut' patrnou při tepelné úpravě masa. Je to důsledek uvolňování kopolymeru kaprolaktamu. Obvyčejný celofán je málo rezistentní proti vlhkosti a ve vlhku se mění i další jeho vlastnosti v nepříznivém smyslu. Polyetylen splňuje v tomto ohledu nejlépe požadované vlastnosti a jeho propustnost pro tuk se projevuje až po delším styku s tukem.

2. Nepropustnost pro vzduch a některé plyny, zvláště kyslík, je důležitá z hlediska udržitelnosti masa a zachování jeho barvy. Otázka změn barvy masa za různých atmosférických podmínek uvnitř obalu je značně komplikovanou záležitostí.

3. Nepropustnost pro vlhkost předpokládá naprostou odolnost obalu proti vodě, minimální nasákavost a minimální propustnost pro vodní páry při normální teplotě.

4. Odolností proti chemickým vlivům se v daném případě rozumí netečnost proti slabým kyselinám a proti působení tuku.

5. Na průhlednosti obalu spočívá možnost vizuálního hodnocení zboží kupujícími. Tato možnost musí být při prodeji baleného masa kupujícími zachována.

6. Potištěním je možno zvýšit atraktivnost obalu s hlediska obchodního a dosáhnout odstranění nutnosti vkládat do balíčku etiketu, vytištěním potřebných údajů na obal.

7. Snadná a bezpečná uzavíratelnost obalu dává možnost záruky za údaje o druhu, váze a ceně masa, znemožňuje záměny a šízení spotřebitelů.

8. Po ekonomické stránce je důležité, aby obal nebyl drahý.

Velmi důležitým hlediskem při posuzování vhodnosti obalu je jeho vliv na udržitelnost čerstvého masa. Posuzování čerstvosti jsme prováděli organolepticky a jeho objektivních měřítek jsme použili sledování mikrobiálního obrazu po-

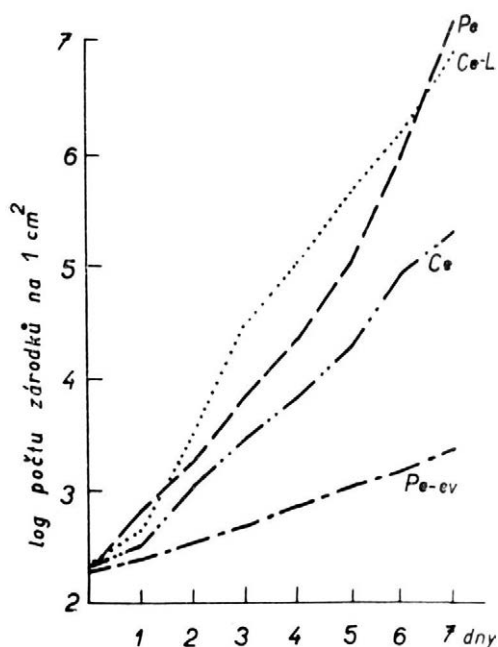
II. Posouzení vhodnosti zkoušených obalů pro čerstvé maso z různých hledisek

Obal	Propustnost (8)		Odolnost proti che- mic. vliv.	Průhled- nost	Potiskova- telnost	Uzavíra- telnost	Cena kg/Kčs
	pro vzduch	vlhkost					
Ce	—	—	—	+	+	—	13,95
Ce-P	+	+	—	+	+	—	20,00
Ce-L	+	+	—	+	+	+	20,00
Pa	+	—	+	+	+	+	28,02
Pe	+	+	+	+	—	+	0,26/ks

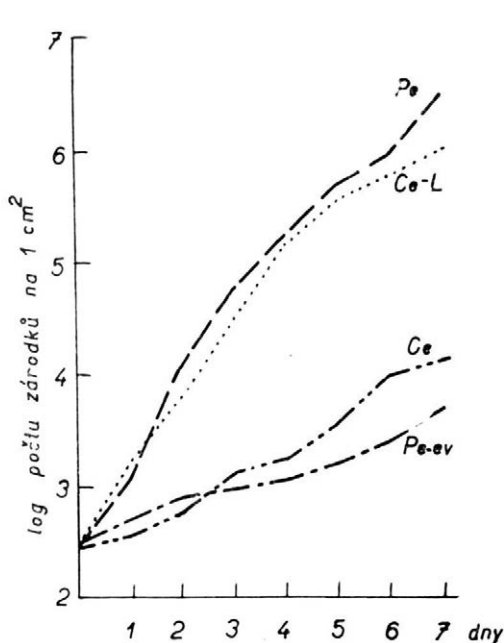
vrchu masa především po stránce kvantitativní, ale i po stránce kvalitativní se zřetelem na zárodky skupiny *Coli aerogenes* a sledování obsahu prchavých amon-ných zásad, neboť je známo, že existuje závislost mezi organoleptickým posouzením a množstvím těchto látek, bylo-li maso skladováno při nižší teplotě.

Vliv obalového materiálu na povrchovou mikroflóru u čerstvého porcovaného masa během skladování při teplotě +2 až +4° C

Pro větší přehlednost uvádíme grafické znázornění průběhu růstu mikroor-ganismů na povrchu masa baleného ve zkoušených obalových hmotách.



Graf 1. Množení zárodků na povrchu vepřového masa při teplotě +4° C v různých obalech

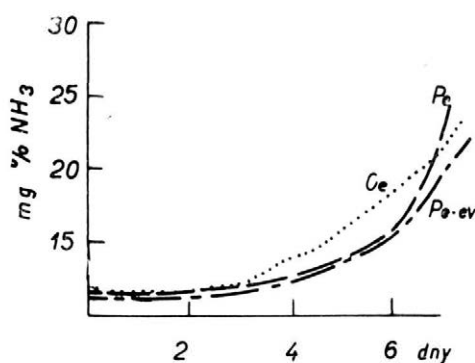


Graf 2. Množení zárodků na povrchu hovězího masa při teplotě +4° C v různých obalech

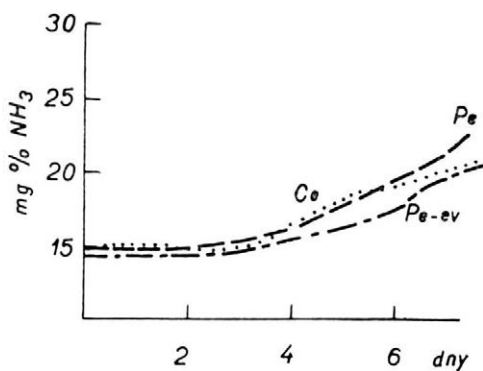
U masa baleného v Ce dochází k pomalému vzestupu počtu zárodků, a to v důsledku vysoké propustnosti obyčejného celofánu pro vodné páry; proto dochází k odpařování vody s povrchu masa a k vytvoření zaschlé tenké vrstvičky, která je nepříznivá pro rozvoj zárodků. Maso balené v Pe a Ce-L si zachovává při skladování vlhký povrch a tím i svěží vzhled, ovšem vytváří se zde současně příznivé prostředí pro rozvoj zárodků, zvláště proto, že relativní vlhkost dosahuje téměř 100 % a v balíčku je uzavřeno větší množství vzduchu, nasyceného vzdušnou mikroflórou. Důkazem to srovnání křivek růstu zárodků u masa baleného v Pe se vzduchem a Pe evakuovaném. V průběhu krátkodobého skladování se neprojeví propustnost Pe pro kyslík a kyslíčník uhličitý v nepříznivém smyslu, sáček zůstane přitisknut k masu, a tím zamezí přímému styku vzduchu s povrchem masa.

Kvalitativně nebyly prokázány výrazné změny v morfologii nebo pohyblivosti zárodků během prvních tří dnů. U vepřového masa byly zjišťovány zaškracené, živě pohyblivé tyčinky, štíhlé nesporeotvorné nepohyblivé tyčinky a zcela ojediněle diplokoky. Teprve čtvrtý den se vyskytly ve větším měřítku ovoidní sporotvorné tyčinky. Poslední den skladování se vyskytly také streptokoky. Ze vzdušné mikroflóry, která přežila čtyři dny skladování, nebyly zjištěny pátý den sarciny. Zvláštní pozornost byla věnována zárodkům skupiny *Coli*. U všech vzorků byly tyto zárodky zjištěny před zabalením. Během skladování v Pe docházelo k jejich postupnému ubývání a změně jejich biochemických vlastností (na Gassnerově půdě nerostly v typicky modrých koloniích, neměnily reakci Savageovy půdy, ale vytvářely v ní pouze plyn).

U hovězího masa byly přítomny převážně tyčinkovité sporotvorné, nepohyblivé tyčinky G+ a nesporeotvorné diplobacily. Ostatní zárodky, jako zaškracené tyčinky a kokovité zárodky byly přítomny jen v malém množství. Kvalita mikroflóry se během skladování vcelku neměnila, pouze velikost mikroorganismů se zmenšila a pohyblivost se poněkud zvýšila. Zárodky skupiny *Coli* byly první den vykultivovány, během 5 dnů vymizely. Evakuované balíčky masa neměly podstatně odlišnou mikroflóru než balíčky neevakuované v prvních dvou dnech. Lišily se pouze výskytem vzdušných stafylokoků a sarcin, které vymizely již druhý den skladování. Orientačně byla skladována také anaerobní mikroflóra. Množství anaerobních zárodků bylo všeobecně velmi nízké.



Graf 3. Změny v obsahu NH_3 v baleném vepřovém masě skladovaném při $+40^\circ\text{C}$



Graf 4. Změny v obsahu NH_3 v baleném hovězím masě skladovaném při $+40^\circ\text{C}$

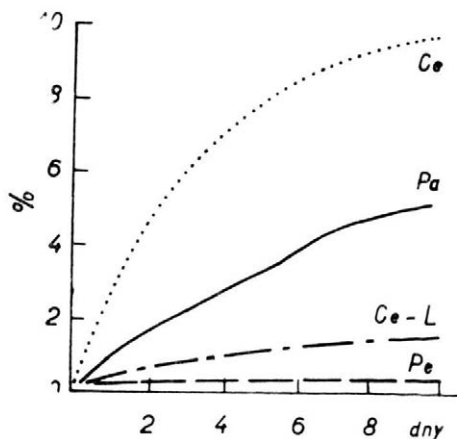
Stanovení prchavých amonných zásad vyjádřených v mg% NH_3

Jejich stanovení bylo prováděno souběžně s mikrobiologickým vyšetřováním a bylo dalším kritériem pro hodnocení údržnosti masa v různých obalech.

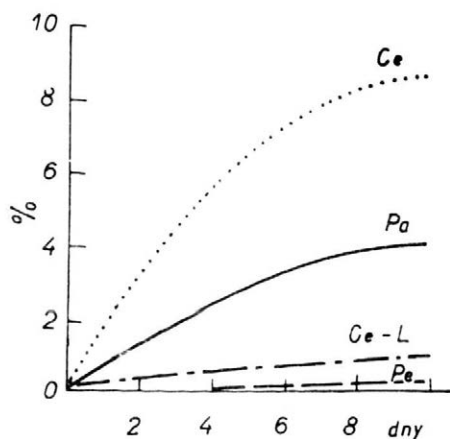
Mezi zkoušenými obalovými hmotami byly zjištěny pouze nepatrné rozdíly ve vlivu na tvorbu prchavých amonných látek, jak je patrné z grafů č. 3 a 4.

Ztráty na váze masa baleného v různých obalech

Tyto ztráty jsou důležitým faktorem pro volbu obalového materiálu. Zvětšení povrchu masa, porušení přirozených zábran odpařování vody (svalové povázky) a konečně narušení vlastní svalové tkáně řezem nebo sekem, mají za následek zvýšení váhových ztrát, které by použitím nevhodného obalu mohly dosáhnout nežádoucí výše.



Graf 5. Vliv obalu na váhové ztráty u porcovaného a baleného hovězího masa



Graf 6. Vliv obalu na váhové ztráty u porcovaného a baleného vepřového masa

Vliv obalu na smyslově postihnutebné vlastnosti masa

U hovězího masa baleného v Pe byl zjišťován v prvních dnech skladování typický nakyslý pach s mléčným příchutem, který byl po otevření balíčku značně intenzivní, ale vystavením masa na vzduchu vyprchal během několika minut. U hovězího masa baleného v Ce byl tento typický pach pozorován zejména u vzorků zabalených několik hodin po porážce, zatímco u masa odvěšeného byl zjišťován jen ojediněle. Povrch masa si v balíčcích Pe udržel po celou dobu skladování čerstvý vzhled, v barvě docházelo třetí den ke změně do tmava. Celkový vzhled balíčků v Pe je rušen vysrážením vodních par na vnitřní povrch obalu a uvolněnou svalovou tekutinou, jejíž množství dosahuje u hovězího masa z kýty a plece v některých případech až 10 % váhy porce. Tento nedostatek se nám podařilo odstranit evakuací balíčků. K povrchovému oslznutí docházelo v balíčcích Pe a Ce-L u neevakuovaných sáčků 7. až 10. den při skladování v teplotě $+4^{\circ}\text{C}$. U balíčků v Ce si neudržel povrch masa čerstvý vzhled déle jako 24 hod. Po této době docházelo k oschnutí povrchu a nápadnému ztemnění barvy. Uvolněná svalová tekutina rozmočila obal do té míry, že nesnesl bez poškození další manipulaci. Použitím Ce-L se odstraní tento nedostatek, ale jakost použitých ná-

těru není zatím taková, jakou bychom si přáli. Pa ovlivňuje nepříznivě chuť masa, a to tím, že uvolňuje kopolymer kaprolaktam.

Vepřové maso skladované v Pe vykazovalo větší náchylnost k povrchovému oslznutí, k němuž docházelo již 6. den skladování, při teplotě $+4^{\circ}\text{C}$. Uvolňování svalové tekutiny nečiní u vepřového masa mimo kýtu zvláštní potíže. Mnohem více než u hovězího masa působí potíže kosti, zvláště u krkvice a pečeně, které mechanicky poškozují obal. Vliv jednotlivých obalů na čerstvost vzhledu masa je obdobný jako byl popsán u hovězího masa. Změny v barvě nejsou rovněž tak výrazné.

Podle zjištěných skutečností je možno zkoušené obalové hmoty hodnotit takto:

Celofán obyčejný je dobře průhledný, neovlivňuje chuť baleného masa, avšak nezabraňuje dostatečně tomu, aby maso nemohlo nabýt cizích pachů z vnějška. Vzhled masa baleného v Ce se vzhledem k vysoké propustnosti pro vodní páry a vzduch rychle mění, povrch osychá, mění se barva a dochází k vysokým váhovým ztrátám. Pro tyto vlastnosti a také pro nemožnost snadného a bezpečného uzavření, nelze tento obalový materiál doporučit k balení masa.

Celofán oboustranně natíraný, teplem nelepitelný, je dobře průhledný, zanechává na mase zřetelný přípach. Vzhled povrchu masa zůstává čerstvý, barva se během 3 dnů nemění. Vzhledem k nedostatkům nátěru a k nemožnosti bezpečného uzavření balíčku není vhodný pro balení masa.

Podobné výsledky byly získány s oboustranně natíraným celofánem teplem svařitelným. Jeho výhodou je skutečnost, že lze teplem víceméně bezpečně uzavírat. K balení masa při dosavadní jakosti nátěru není vhodný. Při jeho použití je nutné podložit maso na svařované ploše podložkou, aby nedošlo při svařování, k němuž je potřeba teploty 130° až 150°C , ke koagulaci bílkovin na povrchu masa.

Polyamid je dobře průhledný, chrání maso před nabytím cizích pachů, avšak k nepříznivému ovlivňování chuti a ke značné propustnosti pro vodní páry a také k vysoké ceně není vhodný pro balení masa.

Polyethylen má poněkud horší průhlednost než předchozí obalové hmoty, nezanechává na mase žádný pach, neovlivňuje jeho chuť, chrání ho před pachy z okolí, uchovává barvu i vzhled masa čerstvého po delší dobu a při odsátí vzduchu prodlužuje údržnost za stejných podmínek o 48 hod. Pokud se týká způsobilosti obalů pro mechanizaci balícího procesu jsou Ce a Ce-P vhodné pro balící automaty. Jejich nevýhodou je nutnost lepení balíčků speciálními lepidly. Ce-L je z tohoto hlediska výhodnější, neboť umožňuje uzavření pouze pomocí tepla. Pe je pro svůj voskovitý povrch a celkovou měkkost a poddajnost pro použití v balících automatech nezpůsobilý. — Mechanická odolnost posuzována z hlediska vlivu přepravy a manipulace je dobrá u všech zkoušených obalů pro maso bez kostí. Ostré hrany kostí narušují všechny použité obaly při manipulaci a dopravě.

Na základě výsledků dosažených při posuzování vhodnosti obalů pro balení čerstvého masa nelze považovat žádný ze zkoušených obalových materiálů za optimální. Uvedeným požadavkům je nejbližší svými vlastnostmi polyethylen ve spojení s evakuací (vyjma porce s kostmi). Vzhledem k tomu, že výroba baleného masa v porcích má ke konci 3. 5LP dosáhnout 40–50 % výroby veškerého výsekového masa, kteréžto kvantum nemá v jiných státech obdoby, je třeba hledět na otázku výběru obalové hmoty také z hlediska národohospodářského. Surovinu pro výrobu Pe je třeba zatím dovážet z kapitalistických států, kdežto celofán je výrobek tuzemský. Nedostatky, které byly při našich pokusech u celofánu zjištěny, lze podle dobrozdání našich obalářských odborníků odstranit, a to zavedením

výroby jednostranně lakovaného celofánu nebo zakotvením nátěru. Těmito opatřeními vzniknou předpoklady pro uplatnění natíraného celofánu při balení masa, určeného k rychlé spotřebě.

Diskuse

Požadavky na vlastnosti obalového materiálu pro maso jsou ve svých základních rysech známy. Otázka zdravotní nezávadnosti je otázkou zásadní a dosavadní šetření v tomto směru u nových plastických hmot nejsou zatím uspokojivá z důvodů již výše uvedených. U nás k tomu přistupuje ještě ta okolnost, že mnohé látky musíme dovážet ze zahraničí, takže jejich přesné složení, zvláště co do obsahu některých pomocných složek, není známo, poněvadž je výrobci považují za výrobní tajemství. Mimo to nejsou standardní metodiky pro stanovení těchto látek a často není ani měřítka pro hodnocení získaných výsledků. Veřejnost je v tomto směru značně citlivá, neboť je mnohdy také nevhodně informována a varována. Bude proto důležité vypracovat na základě systematického rozboru právní úpravu v této oblasti. Otázka propustnosti pro vzduch a zvláště pro kyslík není zatím zcela jednoznačně jasná. Někteří autoři (12, 17, 21) připisují propustnosti pro kyslík u obalů pro čerstvé maso zvláštní důležitost. Nepropustnost pro O_2 zabrání žluknutí tuku, růstu aerobních zárodků a plísní a je také důležitá pro zachování barvy masa. Ogilvy (13) považuje však propustnost pro kyslík za důležitou pro zachování barvy masa, neboť snížený partiální tlak O_2 způsobuje diskolorace. Halleck aj. (7) udávají, že kmeny izolované z baleného masa mohly růst i v prostředí se sníženou tensí kyslíku. Clauss aj. (5) dospěli k názoru, že nepropustné materiály zachovávají lépe organoleptické vlastnosti čerstvého masa při skladování za teploty do $+4^{\circ}C$. Ball aj. (3) dokázali, že bakteriální růst je specifický pro balicí materiál, a že vakuum bylo faktorem, který přispíval k brzdění růstu zárodků. Podle našich zjištění lze mít za to, že balení do méně propustných materiálů je vhodnější pro balení čerstvého masa, poněvadž uchovává lépe organoleptické vlastnosti masa a omezuje bakteriální růst. Z těchto údajů vyplývá, že záleží na skutečných hodnotách propustnosti pro plyny u obalů, které se k pokusům používaly. Otázka barevných změn a otázka specifického bakteriálního růstu v různých obalových hmotách za různých skladovacích podmínek není tedy zatím uspokojivě vyřešena. V této práci pokračujeme a po získání dostatečného množství průkazného materiálu bude podána přehledná zpráva.

Nepřihlížíme-li k požadavkům na obaly pro maso, které jsou spíše rázu technicko-organizačního, zbývá diskutovat o hledisku národohospodářském. Podle perspektivních plánů má být v ČSSR ke konci 3. PL připraveno 40–50 % veškerého výsekového masa ve spotřebitelském balení. Je to množství, s nímž se nesetkáváme nikde jinde ve světě. Zavedením balení masa se sleduje nejen zvýšení kulturnosti a hygieny prodeje, ale také zamezení ztrátám, vznikajícím dosud při manipulaci a skladování nebaleného masa. Má-li být tohoto cíle dosaženo, musí obalový materiál mít takové vlastnosti, aby vyhověl daným požadavkům. Je třeba uvážit, že maso je potravinou, již byla dosud vzhledem k její hodnotě věnována minimální pozornost při distribuci. Hodnota, již lze vyjádřit např. jen jednu desetinu procenta ztrát vznikajících při dosavadním způsobu prodeje nebo v důsledku použití nevhodného obalu dosahuje téměř $\frac{3}{4}$ mil. Kčs. Navíc naše vlastní produkce masa nestačí uspokojit stále stoupající spotřebu a je tedy maso třeba dovážet, čímž se tyto ztráty dostávají do oblasti hospodaření s valutami. Je tedy otázka výběru obalové hmoty pro maso skutečně otázkou závažnou.

Souhrn

Jsou popsány výsledky hodnocení různých obalů pro spotřebitelské balení čerstvého masa určeného pro prodej samoobsluhou. Posuzován byl obyčejný celofán, celofán oboustranně natíraný, teplem nelepitelný, celofán oboustranně natíraný, teplem lepitelný, polyamid a polyethylen, a to z hlediska fyziologické nezávadnosti, nepropustnosti pro vzduch a vodní páru, s hlediska průhlednosti, měčnosti potiskování, uzavíratelnosti, mechanické odolnosti, možnosti použití v balících automatech a cenové dostupnosti. Při sledování vlivu obalu na údržnost bylo hodnocení prováděno organoleptickým posuzováním, doplněným chemickými a mikrobiologickými zkouškami. Bylo zjištěno, že nejméně se množí zárodky na povrchu masa uchovávaného při teplotě do $+4^{\circ}\text{C}$ v polyethylenu evakuovaném. Dále byl sledován vliv obalu na váhové ztráty masa. K nejnižším ztrátám dochází u masa baleného v polyethylenu. Na základě dosažených výsledků byl ze zkoušených obalů ohodnocen jako nejvhodnější polyethylen.

Literatura

1. Ayres J. S.: Přednáška na Third Conference on Research Amer. Meat Inst. (překlad VÚM P-379 57). — 2. Arpai J.: Čs. hygiena, IV., 8, 1959 (469). — 3. Ball C. O.: Food Technology, 13, March 1959. — 4. Celerýn J. a j.: Obaly, V. 4, 1959. — 5. Claus E. W. a j.: Food Technology, 11, July 1957. — 6. Dvořák Z.: Biochemie masa, ZZ 04/55-56, VÚMR Brno. — 7. Halleck E. F. a j.: Food Technology, 12, 5-6-12, 1958. — 8. Hanousek J. a j.: Obaly, IV, 2, 1956. — 9. Havlíček V.: Přehled plastických hmot. Praha 1959. — 10. Horáček J. a j.: Obaly, VI. 2, 33, 1960. — 11. Hnídek J.: Technická práce, XI. 2, 1959. — 12. Hölzemann W.: Vieh- und Fleischwirtschaft, VII, 7, 1958. — 13. Ogilvy W. S. a j.: Food Technology, 5, 3, 1951. — 14. Romanov A.: Technická práce, XI. 2, 1959. — 15. Shalles Ch.: Revue Générale du Froid, 5, 1958. — 16. Sovadina M. a j.: Porcované a balené maso, ZZ 03/59, VÚM Brno. — 17. Stegen H.: Die Fleischwirtschaft, 10, 1955. — 18. Sbíрка instrukcí pro NV, část 14, č. 65, 1958. — 19. Obaly, V. 1, 23, 1959. — 20. Obaly, IV, 4, 1958. — 21. Packaging, V, 346, 66, 1959.

К вопросу упаковки свежего мяса в порциях

В работе описаны результаты оценки разных оберток для потребительской упаковки свежего мяса, предназначенного для продажи в магазинах с самообслуживанием. Обсуждался обыкновенный целлофан, целлофан с 2-сторонним покрытием термически несклеиваемым, целлофан с 2-сторонним покрытием термически склеиваемым, полиамид и полиэтилен, а именно с точки зрения физиологической безвредности, непроницаемых для воздуха и водяных паров, с точки зрения прозрачности, возможности печатания на них, герметичности, механической сопротивляемости, возможности применения в упаковочных автоматах и дешёвизны. При изучении влияния обертки на сохранность оценка проводилась органолептическим путем, дополненным химическими и микробиологическими испытаниями. Было установлено, что меньше всего размножаются зародыши на поверхности мяса, хранимого при температуре до $+4^{\circ}\text{C}$ в пустотном полиэтилене. Далее изучалось влияние обертки на весовые потери мяса. Минимальные потери наблюдаются у мяса, завернутого в полиэтилене. На основе полученных результатов из испытываемых оберток полиэтилен оценен в качестве наиболее подходящего.

Ein Beitrag zur Verpackung von portioniertem Frischfleisch

Beschrieben sind die Ergebnisse der Auswertung verschiedener Verbraucherpackungen von frischem Fleisch für den Verkauf in Geschäften mit Selbstbedienung.

Beurteilt wurde gewöhnliches Zellophan, beiderseitig bestrichenes in Hitze nicht klebendes Zellophan, beiderseitig bestrichenes in Hitze klebendes Zellophan, Polyamid und Polyethylen, und das vom Standpunkt der physiologischen Unbedenklichkeit, der Undurchlässigkeit für Luft und Wasserdampf, der Durchsichtigkeit, der Möglichkeit bedruckt zu werden, der Verschleißbarkeit, mechanischen Widerstandsfähigkeit, der Möglichkeit ihrer Anwendung in Packautomaten und der Preislage. Bei der Bewertung des Einflusses der Packung auf die Lagerfähigkeit des Fleisches wurde die organoleptische Untersuchung durch chemische und mikroskopische Proben ergänzt. Es wurde festgestellt, daß sich die Bakterien an der Oberfläche des Fleisches am wenigsten vermehren bei einer Temperatur von bis zu $+4^{\circ}\text{C}$ in evakuiertem Polyethylen. Weiters wurde der Einfluß der Verpackung auf die Gewichtsverluste des Fleisches überprüft. Die geringsten Verluste traten beim Fleisch auf, das in Polyethylen gepackt war. Auf Grund dieser Ergebnisse wurde Polyethylen als das geeignetste Verpackungsmittel bewertet.

Změny v orgánech a tkáních kuřat celotělově ozářených RTG paprsky

III. Změny v játrech a slezině po dávce 500 r a podání OTC za 30 dní po ozáření

Изменения в органах и тканях цыплят, облученных рентгеновыми лучами

III. Изменения в печени и селезенке после дозы 500 р и подачи ОТС через 30 дней
после облучения

Changes in the Organs and Tissues of with X-rays Whole-Body-irradiated Chickens

**III. The Changes in the Liver and Spleen after a Dosis of 500 r and Application of
Oxytetracycline the 30th day after Irradiation**

MVDr Jaromír KRUL — Karel PETRÁŠ, prom. vet. lék.

*Z katedry pro patologickou morfologii a fyziologii veterinární fakulty VŠZ v Brně,
vedoucí akademik V. Jelínek*

Došlo dne 15. I. 1961

Úvod

Účinek ionizujícího záření na organismus je stále předmětem mnoha prací. Jen malé množství pracovníků se však zaměřilo na sledování změn v orgánech a tkáních u ptáků. Rovněž otázka látek různého typu (antibiotik, vitamínů aj.) na úpravu postiradiačního syndromu je stále otevřená.

Literární přehled

Buňky a tkáně v živém organismu jsou nesterpně citlivé na ozáření. Jejich radiosenzibilita je určena mnoha činiteli. Mohlo by se říci, že tato citlivost je nepřímo úměrná diferenciaci buněk a přímo úměrná jejich reprodukční schopnosti. Z toho vyplývá, že nejcitlivější jsou buňky stále se obnovující, tj. krvinky a buňky pohlavní, kdežto buňky vysoce diferencované, jako např. nervové, nezničí ani značné dávky záření. K maximálním změnám v buňce dochází hlavně na jádře, které je pětadvacetkrát citlivější na ozáření než protoplazma. Nejcitlivější buňky v organismu jsou lymfocyty a lymfatická tkáň vůbec. Jejich poškození bylo zaznamenáno již po dávce 25 r.

Jelikož u ptáků nejsou lymfatické uzliny a lymfatická tkáň je roztroušena v různě velkých okresech v různých orgánech, mají námi sledované orgány — játra a slezina — významnou roli při posuzování změn v organismu.

Bloom (1), který konal pokusy s kuřaty, popisuje po dávce 400 r celkové zmenšení sleziny, při čemž více a dříve byla změněna bílá pulpa než červená. Malé a střední lymfocyty podle jeho údajů úplně vymizely, velké lymfocyty přežily o něco déle. Nejnižší dávka záření, při které došlo k vytvoření změn byla 25 r.

Podle údajů Murraye a kol. (7) došlo u pokusných kuřat ve stáří 3 a 11 týdnů po ozáření dávkou 800 a 1000 r k značnému zmenšení sleziny a k vymizení všech lymfocytů. Ani za 9 dní po ozáření nebyly zjištěny známky počínající regenerace. Po dávce 400 r byl úbytek lymfocytů stejného rozsahu, avšak regenerace byla úplná již za 5 dní po ozáření. Co se týká jater, uvádí autoři, že došlo k redukci lymfatických okrsků s následnou restitucí. Jaterní buňky jsou však odolnější a teprve dávka 800 r způsobuje degeneraci některých buněk. Nápadná je aktivace Kupferových buněk, které velmi rychle fagocytují rozpadlé buňky. Po dávce 1000 r dochází často k sekundární bakteriální infekci degenerovaných ložisek, což svědčí o snížené rezistenci, nikoliv o přímém poškození buněk.

Skalka a Hill (10) popisují změny ve slezině u holubů po ozáření dávkou 540 r. Autoři pozorovali nejvýraznější změny na lymfatických folikulech. Destrukci lymfocytů zjistili 24 hod. po ozáření. Navíc zmizela většina lymfocytů z adventitie arterioli. Všechny lymfatické uzliny zanikly do 3 dnů. V podstatě stejné změny našli i 5.—7. den po ozáření. V játrech došlo během prvních 24 hodin k vymizení glykogenu z cytoplazmy a k homogenizaci plazmy. Ojedinele našli autoři i ložiska koagulační nekrózy a místa s parenchymatózně degenerovanými buňkami. Od 48 hodin do 7. dne docházelo k lipofanerosis. V okresech lymfatické tkáně zjišťovali rozpad lymfocytů.

Rada dalších autorů (Itikawa — 3, Kusano — 4, Rameš — 9, Holubec — 2) popisuje změny v těchto orgánech u savců. I u těchto dochází v játrech a slezině k obdobným změnám jako u ptáků, vyjma reakcí lymfatické tkáně v játrech.

Vliv aplikace antibiotik na úpravu postiradiačního syndromu je rovněž stále předmětem výzkumu. Opodstatněnost aplikace dokázali experimentálně Müller a Hammon (8). Smith (11) dosáhl podáním streptomycinu myším zvýšení počtu přežívajících myší po ozáření. Obecně se soudí, že důležitost podávání antibiotik pro zvýšení obranyschopnosti organismu je prokázána. Účinek lze charakterizovat takto:

a) antibiotika inhibují nebo usmrcují mikroorganismy, které působí latentní infekce nebo produkují pro organismus toxické látky.

b) v trávicím traktu umožňují antibiotika zmnožení mikroorganismů, které syntetizují známé nebo dosud i neznámé vitamíny a růstové faktory a usnadňují tak organismu jejich dostupnost.

c) antibiotika inhibují mikroorganismy, které odčerpávají z potravin některé látky, které jinak slouží k výživě organismu.

Vliv aplikace antibiotik a vitamínů zkoumají na naší katedře Mach, Surýnek a kol. (5, 6, 12), kteří sledovali u celotělově ozářených kuřat krevní obraz a jeho úpravu po podání oxytetracyklinu. Autoři referují o pozitivním vlivu oxytetracyklinu na úpravu postiradiační leukopenie, kdežto červený krevní obraz zůstal po zkrmování oxytetracyklinu podstatně neovlivněn.

Vlastní práce

Materiál a metodika

V souladu s výzkumnými pracemi na katedře patologické morfologie a fyziologie sledujeme morfologické změny na orgánech a v tkáních kuřat celotělově ozářených, kterým jsou podávány antibiotika a vitamíny v různých kombinacích. V tomto sdělení referujeme o morfologických změnách v játrech a slezině u kuřat celotělově ozářených rtg paprsky a ovlivněných oxytetracyklinem (dále jen OTC), které jsme převzali k vyšetření od Macha a Surynka (5, 12).

Tito autoři použili k sledování v této řadě pokusů 30 kuřat, která při započítí pokusů byla 8 týdnů stará. Skupina byla geneticky nesourodá a různého pohlaví.

V první skupině (I.) bylo 12 kuřat celotělově ozářených rtg paprsky jednorázově dávkou 500 r s přílivem 14 r/min. Zároveň byl této skupině podán OTC (Pfizer) v dávce 0,7 mg/kg ž. v. v 1% vodném roztoku. V druhé skupině (II.) bylo zařazeno 6 kuřat, která byla pouze ozářena rtg ve stejné dávce jako ve skupině I. Ve třetí skupině (III.) bylo rovněž 6 kuřat, kterým byl zkrmován jen OTC ve výše uvedených dávkách. Čtvrtá skupina (IV.) sloužila jako kontrolní.

Ozáření bylo provedeno přístrojem Super — Sanax při 180 kV, 15 mA, filtrací 1 mm Al, 0,5 mm Cu, ohnisková vzdálenost 90 cm na střed těla. U všech kuřat udržovali autoři standardní krmení s volným přísunem ke krmivu a pití. OTC byl podáván po celou dobu pokusů, tj. 30 dní. Po skončení pokusu, tj. 30. den po ozáření byla kuřata zabita dekapitací, provedena podrobná pitva a popisovány všechny makroskopické změny. Zároveň byly odebírány vzorky pro další histologické zpracování, fixovány 10%ním formalinem, zality po fixaci běžnou metodou do parafinu a po nařezání barveny přehledným barvením haematoxylin-eosinem.

Hodnocení reakcí okrsků lymfatické tkáně v játrech a slezině bylo prováděno proti kontrole t- testem podle vzorce:

$$t = \frac{d}{\sigma} \cdot \sqrt{\frac{r_1 \cdot r_2}{r_1 + r_2}}$$

$$\text{při čemž } \sigma = \sqrt{\frac{\Sigma(x - \bar{x})^2 + \Sigma(y - \bar{y})^2}{r_1 + r_2 - 2}}$$

r = počet měření

d = x — y

x = průměrná velikost uzlíčků
x̄ = velikost jednotlivých uzlíčků } u jedné skupiny

y a ȳ = x a x̄ u druhé skupiny

Σ = součet čtverců rozdílu skutečné a průměrné velikosti v jedné skupině.

Výsledky

Makroskopické vyšetření

I. skupina — rtg + OTC

Makroskopický nález u jednotlivých kuřat se příliš od sebe nelišil a proto je uveden souborně.

Výživný stav kuřat byl celkově slabší ve srovnání s kuřaty kontrolní skupiny. I když šlo o kuřata zabitá, lze při srovnání s kuřaty kontrolními říci, že byla ještě více anemická. Játra byla u některých kusů poněkud křehčí, vcelku však změny nebyly nikterak výrazné. Sleziny byly ve srovnání s kontrolní skupinou mírně zmenšené. Výraznější byl nález jen na sliznici střevní, kde jsme vesměs zjišťovali petechiální krváceniny. Jelikož však vždy byla zjištěna různě silná invaze škrkavek, nemůžeme se o původu petechií jednoznačně vyjádřit.

II. skupina — rtg

Změny u této skupiny byly obdobné jako u předcházející, tj. sleziny byly mírně zmenšené a na sliznici střevní byly ojedinělé drobné petechiální krváceniny. Nález na ostatních orgánech byl v mezích normy. Jen u jednoho kuřete jsme zjistili krváceniny na epikardu a na žláznatém žaludku a nápadnější žlutavé zabarvení jater. I v této skupině byla vesměs zjišťována různě silná invaze škrkavek.

III. skupina — OTC

Nález se rovnal vcelku předcházejícím skupinám, výrazné odchylky od normálního stavu nebyly zjištěny. Invaze škrkavek byla rovněž úměrná ostatním skupinám.

IV. skupina — kontrolní

U této skupiny byl výživný stav o málo lepší než u pokusných skupin. Pítevní nález na orgánech byl ve všech případech plně negativní, pouze na sliznici střevní byly zjištěny ojedinělé roztroušené petechiální krváceniny a ve střevech slabší invaze škrkavek.

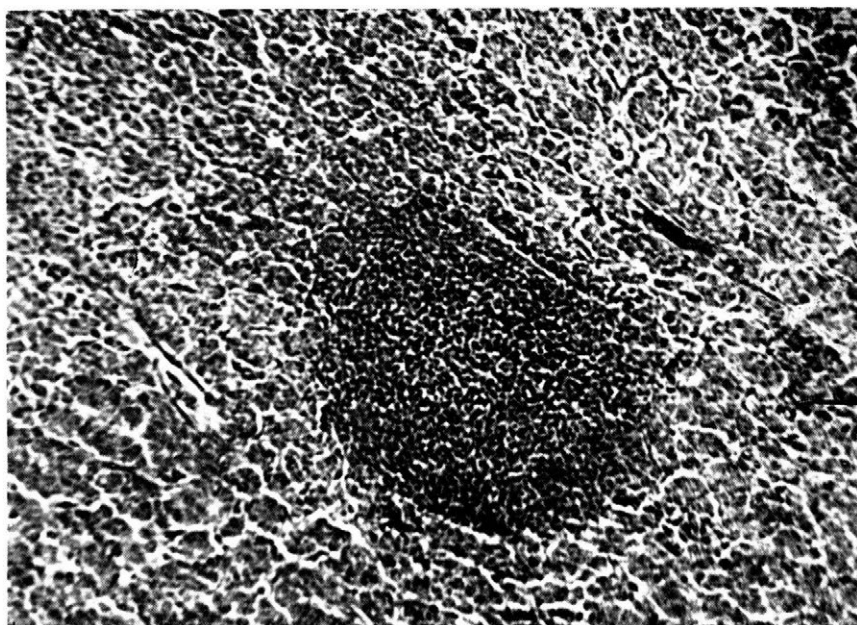
Mikroskopické vyšetření

Při histologickém vyšetřování jater a sleziny zaměřili jsme se kromě posouzení změn v parenchymu hlavně na reakci okrsků lymfatické tkáně v obou orgánech. Při srovnávání nálezů u pokusných skupin vznikla ovšem otázka, jak objektivně hodnotit změny ve velikosti této tkáně, která již subjektivně se nám zdála rozdílná proti skupině kontrolní. Proto jsme se rozhodli přistoupit k relativnímu proměření ložisek lymfatické tkáně a srovnávání jejich velikostí. Jelikož nám nešlo o to, abychom změřili absolutní velikost uzlíku, protože pak bychom museli mít řadu seriových řezů, abychom zachytili celý okrsek lymfatické tkáně, použili jsme pouze děleného okuláru H 8 x a měření jsme prováděli vždy za zachování stejných podmínek (obj. č. 6—0,15, minimální délka tubusu) vždy v několika náhodných řezech z jednoho orgánu jak u skupin pokusných, tak i u skupiny kontrolní. U každého kuřete jsme provedli vždy deset měření v každém orgánu. Aby ovšem mohla být hodnocena vypočítaná průměrná velikost a aby pak se mohlo hovořit o skutečně průkazném zmenšení nebo zvětšení okrsků aktivní tkáně u pokusných skupin proti skupině kontrolní, hodnotili jsme výpočty t-testem a srovnávali s tabulkami hodnot Studentova t-rozdělení.

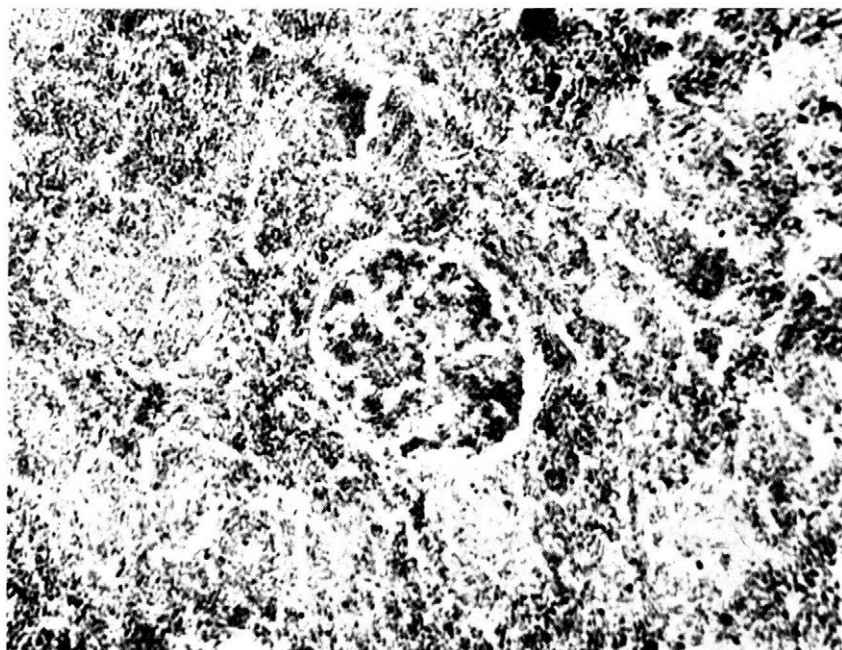
Nálezy v játrech

Skupina kontrolní (IV.) — jaterní parenchym nejevil odchylky od normální stavby, lymfatický aparát byl v mezích normy, lokalizován pravidelně perivaskulárně a v interstitiu portobiliárních prostorů.

Pro zjištění odchylek jsme posuzovali nejprve skupinu kuřat pouze ozářených rtg paprsky (II.). I u této skupiny byl jaterní parenchym zřetelný, buňky i jádra



1. „Aktivní“ uzlík v játrech kuřete. Skupina kuřat ozářených rtg. Lumipan okul. 9X, obj. 10X



2. „Produktivní“ folikul ve slezině kuřete. Skupina kuřat ozářených rtg. Lumipan okul. 9X, obj. 10X

buněk byly dobře barvitelné a jen na některých jádrech bylo možno pozorovat vakuolizaci. U kuřete, které se makroskopicky odlišovalo žlutavějším zabarvením jater, byly prokázány ložiskově tukové vakuoly (infiltrativní ztučnění), velikost „aktivních“ uzlíků však nevybočovala z mezí nálezů u ostatních kuřat této skupiny. Při posuzování ostrůvků „aktivní“ lymfatické tkáně a porovnávání se skupinou kontrolní bylo nápadné, že se ve srovnání s kontrolami poměrně hůře hledají, a že jsou co do rozměrů menší. Po provedeném měření a po vypočítání průměrné velikosti se potvrdil první subjektivní dojem. Zatím co průměrná velikost uzlíků kontrolní skupiny byla dána číslem 5,72, byla v pokusné skupině dána číslem 3,60. Při statistickém hodnocení t -testem se však toto zmenšení projevilo jako neprůkazné ($t < p 0,02$).

K dalšímu porovnání nálezů jsme použili skupinu, které byl podáván pouze OTC (III.). Jaterní parenchym byl rovněž dobře barvitelný, bez výrazných odchylek od normální stavby. Poměrným měřením okrsků aktivní tkáně jsme zjistili, že i zde došlo ke zmenšení, při kterém průměrná velikost byla dána číslem 3,16 proti číslu 5,72 ve skupině kontrolní. Při hodnocení t -testem bylo však i toto zmenšení statisticky neprůkazné, i když se poměrně hodně blížilo hranici průkaznosti ($t \geq 0,02$).

U skupiny I. (rtg + OTC) byl parenchym jaterní opět poměrně dobře zachován a jen ojediněle bylo možno zjistit ztrátu barvitelnosti a vakuolizaci jader a buněk. „Aktivní“ lymfatická tkáň byla zde výrazně menší a u 3 kuřat došlo dokonce k jejímu úplnému potlačení, takže jsme museli počítat s nulovými hodnotami. Při měření byla dána průměrná velikost okrsků číslem 2,41 k číslu 5,72 u kontrolní skupiny. Při hodnocení t -testem jsme dokázali, že toto zmenšení je vysoce průkazné ($t > p 0,02$).

Nálezy ve slezině

Při posuzování sleziny došli jsme k podstatně jiným výsledkům.

Již u skupiny kontrolní (IV.) byli jsme překvapeni tím, že ve třech případech se nám nepodařilo změřit velikost folikulů, takže při výpočtu byl nutno počítat s nulovými hodnotami. Avšak ani u zbývajících kontrolních kuřat nebyly folikuly nikterak výrazné a byly poměrně malé, takže celková průměrná velikost byla dána číslem 1,10.

U druhé skupiny (II. — rtg) byly však již folikuly zřetelné a daly se snadno změřit. Již subjektivně bylo jasné, že jsou větší a také průměrná velikost po měření byla dána číslem 4,24 proti 1,10 u kontrolní skupiny. Při hodnocení t -testem nebylo však toto zvětšení statisticky průkazné, i když se blížilo hranici průkaznosti ($t \geq p 0,02$). Vlastní tkáň sleziny nejevila podstatné odchylky od normální stavby.

Třetí skupině kuřat (III.), kterou jsme srovnávali s kontrolami, byl podáván pouze OTC. V této skupině bylo možno zřetelně pozorovat, že došlo ještě k větší aktivaci folikulů. Po provedeném měření jsme zjistili, že průměrná velikost je dána číslem 5,16 proti 1,10 skupiny kontrolní, což se při hodnocení t -testem ukázalo jako vysoce statisticky průkazné ($t > p 0,02$).

Při srovnání první skupiny (I. — rtg + OTC) se skupinou kontrolní byly již od počátku vyšetřování zjišťovány výrazné reakce folikulů. Měřením velikosti bylo zjištěno, že průměrná velikost je dána číslem 5,19 ku 1,10 skupiny kontrolní a t -testem se ukázalo, že toto zvětšení je opět statisticky průkazné ($t > p 0,02$).

Ani u těchto dvou pokusných skupin nebyly zjištěny podstatné odchylky od normální stavby sleziny.

Diskuse

Jak vyplývá z výsledků vyšetření, nebyl nález při makroskopickém vyšetření u žádné z pokusných skupin výrazný. Pouze mírné zmenšení slezin u všech skupin pokusných zvířat bylo známkou určitého zasažení organismu ozářením. Drobné petechiální krváceniny na sliznici střešní připočítáváme spíše působení škrkavek, jelikož stejný nález ve střevech popisujeme i u kontrolní skupiny.

Jinak tomu bylo s mikroskopicky pozorovanými reakcemi. Změny ve vlastní skladbě parenchymu obou orgánů byly minimální. Použitá metoda pro poměrné měření reakcí aktivní lymfatické tkáně v játrech a produktivních folikulů ve slezině se ukázala jako plně vyhovující a přinesla po propočítání velmi zajímavé výsledky. Vypočítané t při použití t -testu jsme srovnávali s hodnotami Studentova t -rozdělení. V pokusu byly zařazeny celkem 4 skupiny kuřat a t jsme vypočítali ve všech šesti možných kombinacích, tj.:

1. skupina kontrolní (IV.) : skupině rtg (II.)
2. skupina kontrolní (IV.) : skupině OTC (III.)
3. skupina kontrolní (IV.) : skupině rtg + OTC (I.)
4. skupina rtg (II.) : skupině OTC (III.)
5. skupina rtg (II.) : skupině rtg + OTC (I.)
6. skupina OTC (III.) : skupině rtg + OTC (I.)

Při srovnávání s hodnotami v tabulkách jsme zjistili, že statisticky průkazné pro $p < 0,02$ je u jater pouze třetí kombinace (kontrola : rtg + OTC) i když kontrola ku OTC se velmi přibližovala k hranici průkaznosti. U sleziny byla vysoce statisticky průkazná jak skupina kontrolní ku skupině OTC tak i skupina kontrolní ku skupině rtg + OTC a i porovnání kontrolní skupiny ku skupině jen ozářené se hranici průkaznosti velmi blížilo.

Při hodnocení dosažených výsledků jak z těchto výpočtů, tak i ze skutečností uvedených při mikroskopickém vyšetření vyplývá, že k jiné reakci dochází v játrech a k jiné ve slezině. Zatím co v játrech dojde jak po ozáření tak i po použití OTC a konečně i při současném použití a působení rtg a OTC ke zmenšení okrsků „aktivní“ tkáně, což je dokonce při srovnání kontroly ku rtg + OTC statisticky průkazné, dojde naopak ve slezině k silné aktivaci — zvětšení „produktivních“ folikulů, což je průkazné statisticky hlavně při porovnání kontroly ku OTC a kontroly ku rtg + OTC.

Avšak i v samotné slezině je posuzování reakcí zajímavé. Jak jsme již uvedli, zjistili jsme již u kontrolních kuřat ve 3 případech nulové hodnoty, tj. nepodařilo se nám „produktivní“ folikuly změřit. Jelikož byla do pokusu zařazena kuřata geneticky nesourodá, je možno, že to bylo příčinou nulových nálezů v těchto třech případech. Avšak přes tuto genetickou nesourodost, která v plné míře platila i u ostatních skupin, byly „produktivní“ folikuly ve slezinách u pokusných skupin jasně viditelné ve všech případech.

V této souvislosti je zajímavé, k jak velké aktivaci „produktivních“ folikulů ve slezině došlo po ozáření a současném podání OTC, neboť ve dvou případech byly folikuly tak minimální, že jsme při výpočtu museli počítat s nulovými hodnotami, což průměrnou velikost uzlíků zmenšilo, avšak přesto bylo zvětšení průkazné.

Podobně tomu bylo i v játrech, kde u 3 kuřat byly rovněž v této skupině nulové hodnoty; závěr z těchto fakt však zatím nelze vyslovit.

Vzniká ovšem otázka, proč se projevuje OTC potlačením okrsků „aktivní“ tkáně v játrech, zatím co ve slezině působí kladně ve smyslu aktivace „produktivních“ folikulů.

I když aktivace folikulů ve slezině nekoresponduje s nálezem v periferní krvi, jak můžeme vidět v pracích Macha a Surynka, můžeme se domnívat, že vzhledem k tomu, že krvetvorba neprobíhá ve všech hemopoetických orgánech u ptáků stejně intenzívně, mohou se látky stimulující krvetvorbu uplatnit jednou jako aktivátory nebo dokonce i paradoxně, jak je tomu v našem případě. Podle zkušeností Macha, Surynka a kol. není tato domněnka negací zjištěných hodnot v periferní krvi.

Srovnáme-li výsledky této práce s výsledky, které byly dosaženy Machem a Surynkem, můžeme říci, že se podařilo morfologicky potvrdit a podložit haematologický nález, že podávání OTC *per os* upravuje leukopenii po ozáření. Tato práce rovněž zpřesnila domněnku o mechanismu podávaného OTC na úpravu leukopenie u kuřat celotělově ozářených rtg paprsky. OTC působil nepřímou (nevíme však jakým mechanismem) na aktivaci extramedulární krvetvorby, čímž umožnil úpravu krvetvorby po 30 dnech po ozáření.

Souhrn

1. Byly sledovány změny u kuřat celotělově ozářených rtg paprsky v dávce 500 r s přílivem 14 r za minutu, změny u kuřat ozářených a ovlivněných podáváním oxytetracyklinu a změny u kuřat po podání samotného oxytetracyklinu 30. den po ozáření.

2. Je podán makroskopický popis změn u kuřat. Mikroskopicky jsou popsány změny v játrech a ve slezině a reakce lymfatické tkáně.

3. Bylo provedeno statistické zhodnocení průkaznosti zvětšení resp. zmenšení okrsků lymfatické tkáně v játrech a „produktivních“ folikulů ve slezině.

4. Je diskutován vliv oxytetracyklinu na úpravu krvetvorby a vliv rtg a OTC na játra a slezinu.

Literatura

1. Bloom W.: Histopathology of irradiation from external and internal sources, New York 1948. — 2. Holubec K.: Hirošima-Bikini, Praha 1957. — 3. Itikawa: DTW. 67, 351, 1960. — 4. Kusano: Atombombenschäden, Berlin 1954. — 5. Mach, Surynek, Školný: Sborník ČSAZV, Veterinární medicína, 5 (33), 735, 1960. — 6. Mach, Surynek, Stavařek: Veterinární časopis, 10, 61, 1961. — 7. Murray R. G., Pierce M., Jacobson L. C.: Biological effects of external and gamma radiation, 1956. — 8. Müller P., Hammon C. W.: J. Lab. clin. Med. 39, 462, 1952. — 9. Rameš M.: Radioaktivní záření a lidský organismus, Praha 1957. — 10. Skalka M., Hill M.: Folia biologica 5, 60, 1959. — 11. Smith W. W. a spol.: Prophylactic antibiotic therapy in X-irradiated animals, Am. J. of Physiol, 172, 351, 1953. — 12. Surynek, Mach, Jandl: Sborník ČSAZV, Veterinární medicína, 5 (33), 743, 1960.

Изменения в органах и тканях цыплят, облученных рентгеновыми лучами

III. Изменения в печени и селезенке после дозы 500 р и подачи ОТС через 30 дней после облучения

1. В работе изучались изменения у цыплят, облученных рентгеновыми лучами в дозе 500 р, в пересчете на все тело, с интервалом облучения 14 р за минуту, изменения у цыплят, облученных и находящихся под влиянием подачи окситетрациклина, а также

изменения у цыплят после подачи одного окситетрациклина через 30 дней после облучения.

2. Также дается макроскопическое описание изменений у цыплят. Микроскопически описываются изменения в печени, селезенке, а также реакции лимфатической ткани.

3. Была проведена статистическая оценка достоверности увеличения или уменьшения участков лимфатической ткани в печени и «продуктивных» фолликулов в селезенке.

4. Обсуждается влияние окситетрациклина на регуляцию образования крови и влияние рентгенов и ОТС на печень и селезенку.

Changes in the Organs and Tissues of with X-rays Whole-Body-irradiated Chickens

III. The Changes in the Liver and Spleen after a Dosis of 500 r and Application of Oxytetracycline the 30th day after Irradiation

1. Examined were the changes in chickens whole-body-irradiated with X-rays in a dosis of 500 r with a supply of 14 r pro minute, the changes in irradiated chickens and influenced by the application of oxytetracycline and changes in chickens after application of oxytetracycline alone the 30th day after irradiation.

2. The microscopical picture of the changes in chickens is given. Described are all microscopical changes in the liver and spleen and the reactions of the lymphatic tissue.

3. A statistical evaluation of the significance of the enlargement resp. reduction of the lymphatic tissue of the liver and of the productive follicles in the spleen was performed.

4. Discussed is the influence of oxytetracycline upon the haematopoiesis and the influence of x-rays and oxytetracycline upon the liver and spleen.

Dynamika buněčných změn v lymfě v průběhu akutní nemoci z ozáření

Динамика клеточных изменений в лимфе в течение острой болезни при облучении
**The Dynamic of Changes of the Lymph-cells in the Course of Acute Irradiation
Disease**

MVDr. Jan POSPÍŠIL
Veterinární výzkumné středisko, Praha

Došlo dne 8. IX. 1960

Ú v o d

V dřívějších studiích (18), kde jsme sledovali změny v periferní krvi psů ozářených celotělově rtg paprsky, jsme zjistili ve shodě s literárními údaji, že lymfocyty nejcitlivěji reagují poklesem v průběhu postiradiačních změn. Zajímala nás otázka buněčných změn v lymfě, kterou jsou do krevního řečiště vnášeny lymfocyty vyprodukované v lymfatické tkáni.

Změnami v lymfě po ozáření se zabýval kolektiv pracovníků „Naval Medical Research Institut“ (1). Tyto práce byly provedeny na malých psech, ozářených celotělově dávkou 500 r rtg paprsky. Úvodem autoři stanovili, že v lymfě zdravých psů se počet buněčných elementů pohybuje od 4.700 do 22.500 s průměrem 12.500 v jednom cmm lymfy. Během 18 hodin po ozáření klesly lymfocyty na 18 % od normální hodnoty. Za 24–120 hodin po ozáření bylo zjištěno průměrně 23 % normální hodnoty. 132 hodiny po ozáření klesly na 13 % normálních hodnot.

Doba srážení lymfy byla značně rozdílná a její hodnocení bylo obtížné.

Ross, Furth, Biegelow (12) sledovali také změny v buněčném složení lymfy, způsobené ionisujícím zářením. Tyto práce byly provedeny na psech v přibližné váze 12–14 kg a na kryších kmene Wistar o váze 200 až 300 g. Psi i krysy byli ozáření dávkou 750 r. Na podkladě těchto pokusů učinili tito autoři závěr, že erytrocyty se objevují ve velkých počtech v lymfě krys a psů po masivním vystavení X paprskům. Vrchol endoteliální fragility, jak ukazují počty erytrocytů v lymfě, nastává u krys devátý až čtrnáctý den a u psů jedenáctý až sedmáctý den. U obou druhů zvířat přesahují počty erytrocytů v 1 cmm lymfy často jeden milión. Diverze erytrocytů do lymfy způsobuje relativní anemii, nadměrné zničení erytrocytů, pravděpodobně ve vztahu k extravaskulárnímu úniku a ne k přímému poškození zářením, je částečně zodpovědna za absolutní anemii.

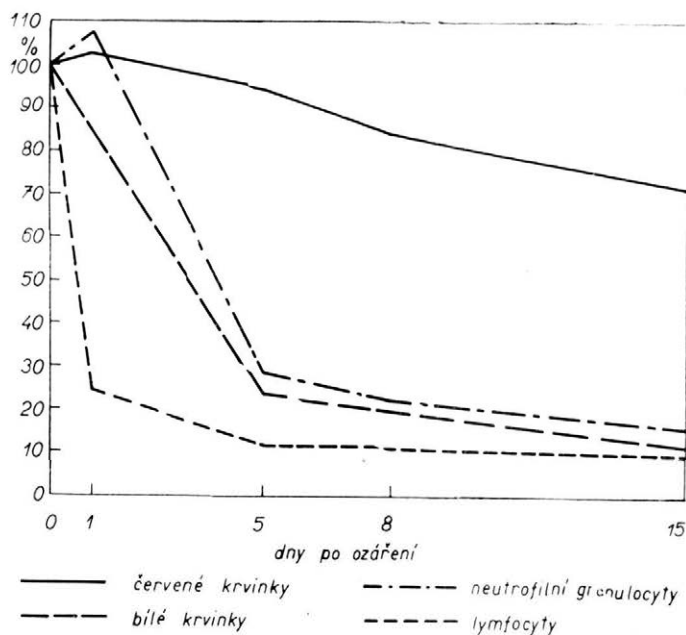
Pokles počtu lymfocytů v lymfě je závratný, podobně jako v periferní krvi dochází během 5 až 10 hodin ke snížení na minimální hodnoty. Během čtvrté až osmé hodiny po ozáření jsou v lymfě přítomny ve velkém počtu poškozené lymfocyty (vakuolizace buněčné plazmy a buněčného jádra, dvoj- a mnohonásobné jaderné buňky, pyknotické, fragmentované jádro) nebo lymfocyty neschopné života (životnost prokazována testem motility nebo safraninovým testem). Během uzdravování se procento velkých lymfocytů v lymfě nápadně zvyšuje, objevuje se zde mnoho abnormálních lymfoidních buněk a mitotických tvarů.

Metodika

K pokusům bylo použito zdravých psů a fen ve stáří 1–6 let, váhy cca 24–30 kg. Výběr psů do pokusu, sledování psů v době karantény před pokusem, krmení a ošetřování psů bylo prováděno podle zásad běžných na našem pracovišti a uvedených v předešlých sděleních (18). Ozařování psů bylo prováděno rtg terapeutickým přístrojem META při zachování těchto podmínek: 200 kV, 10 mA, filtr 4 mm Al, vzdálenost ohniska lampy od středu těla zvířete 125 cm. Průměrný příliv 5 r/min. Pes byl během ozařování fixován nitěným popruhem na dřevěné rohoži. Celotělová dávka byla u jedné skupiny 600 r, u druhé 800 r.

Pro kontrolu poškození organismu pronikavým zářením bylo prováděno pravidelné hematologické a klinické sledování ozářených psů obdobně jako v naší předešlé práci (18). Změny zjištěné v periferním krevním obraze jsou znázorněny na grafu 1 a 2.

S přihlédnutím ke kritériím dříve stanoveným (4) možno usuzovat podle změn v periferním krevním obraze, že použitá celotělová dávka 600 r při našich ozařovacích podmínkách vyvolala změny charakterizující dávku vyšší než LD 50. Tomuto nasvědčoval i klinický průběh nemoci z ozáření. Použitá dávka 800 r

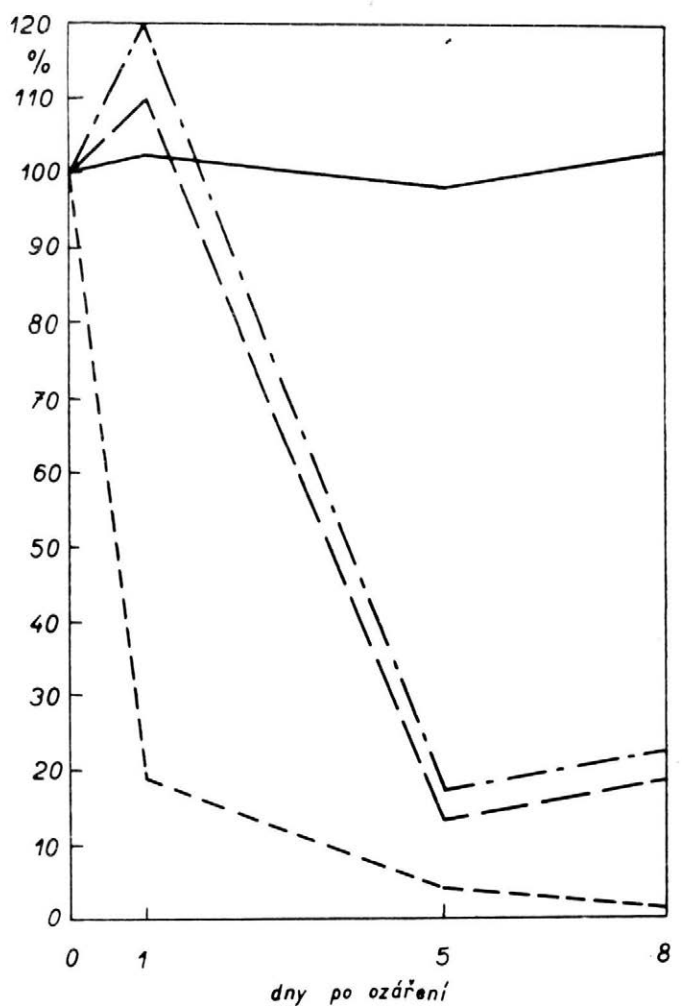


Graf 1. Změny v periferním krevním obraze psů celotělově ozářených dávkou 600 r rtg. paprsky

vyvolala změny charakterizující LD 100. Odběr lymfy byl prováděn z hrudního mizovodu, který byl vypreparován u psů uvedených do celkové anestezie thiopentalem (Pentotal Sodium Abbott, 5% roztok, 25 mg na 1 kg živé váhy).

Počet psů a interval sledování změn v lymfě po ozáření je uveden v následující tabulce:

Dávka celotělového ozáření rtg paprsky	Interval po celotělovém ozáření			
	24 hod.	5. den	8. den	15. den
600 r	10	8	8	8
800 r	4	4	2	—



Graf 2. Změny v periferním krevním obraze psů celotělově ozářených dávkou 800 r rtg paprsky

— červené krvinky - - - neutrofilní granulocyty
 - - - bílé krvinky . . . lymfocyty

Počet bílých krvinek a počet červených krvinek byl zjišťován ze vzorku centrální lymfy, odebraného po provedené preparaci hrudního mízovodu. Bílé krvinky byly po zředění lymfy Türkovým roztokem v baničkách počítány v Bürkerově komůrce vždy v padesáti velkých čtvercích. Červené krvinky byly počítány obdobnou metodou, jaká je obvyklá pro zjišťování jejich počtu v periferní krvi.

Zjišťování morfologických vlastností buněk lymfy bylo prováděno z roztěrů lymfy, barvených May-Grünwaldem-Giemsou a jaderná struktura byla hodnocena z nátěrů, barvených podle Feulgena.

Srážlivost lymfy byla určována metodou podle Whitbyho a Brittona, která je používána při zjišťování doby srážlivosti periferní krve. Čas protrombinové aktivity lymfy byl zjišťován metodikou běžnou pro určování protrombinové aktivity periferní krve. Použito bylo Thrombokinázy Spofa.

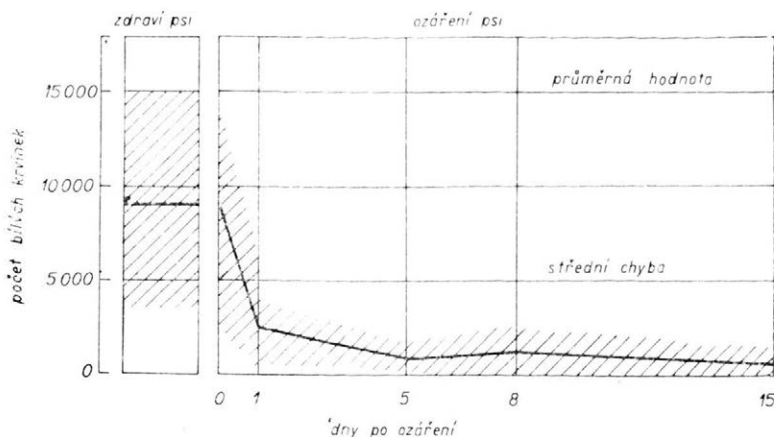
Průměrná velikost jádra lymfocytů byla určována vždy u 100 lymfocytů. Veškeré zjištěné hodnoty u ozářených psů byly porovnány s hodnotami zjištěnými u 30 zdravých psů neozářených.

V ý s l e d k y

a) U psů ozářených celotělově dávkou 600 r.

Počet lymfocytů v lymfě (graf 3)

U 30 zdravých psů neozářených byl zjištěn průměrný počet 9.200 lymfocytů v 1 cmm lymfy. U jednotlivých psů byly zjištěny poměrně značné individuální rozdíly. Střední chyba od zjištěného průměru byla ± 6.400 .



Graf 3. Počet bílých krvinek v centrální lymfě psů ozářených celotělově dávkou 600 r

Silná čára: průměrná hodnota. Čárkovaná: střední chyba

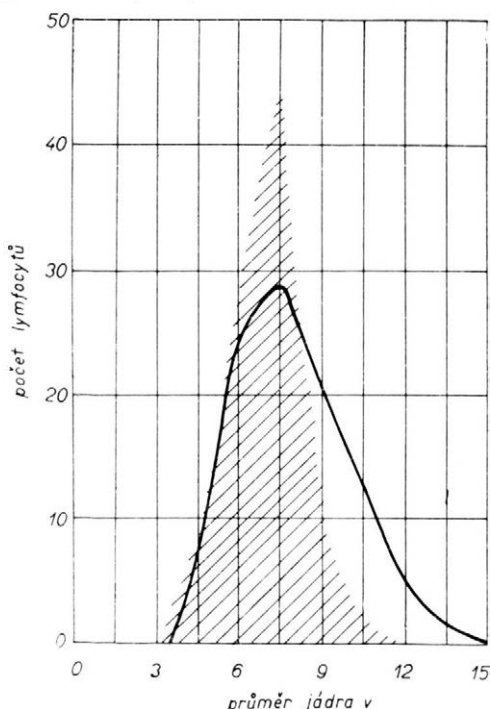
Za 24 hodiny po ozáření došlo k výraznému poklesu lymfocytů, kdy zjištěný průměr v 1 cmm lymfy byl 2.500. Tento pokles se během dalšího sledování neustále prohluboval.

Počet erytrocytů v lymfě

U 30 zdravých psů byly erytrocyty zjištěny jen ojediněle, proti tomu u psů ozářených v termínech 8. a 15. den nebyl po ozáření masivní výskyt erytrocytů v lymfě zvláštností.

Morfologické změny lymfocytů

V lymfě odebrané ozářeným psům bylo zjištěno vyšší procento velkých lymfocytů. Současně byly pozorovány morfologické změny v podobě vakuolizace jádra lymfocytů, jádro bylo větší, často mnohočetně laločnaté, při barvení Feulgenovou reakcí byla zjištěna méně výrazná barvitelnost (foto č. 1–4). Průměrná velikost jádra měřená u 100 lymfocytů se proti zdravým neozářeným psům zvětšovala. Při grafickém znázornění velikosti jádra lymfocytů pomocí křivky, sestrojené obdobně jako je Price-Jonesova křivka, byly zjištěny následující změny: Při porovnání s křivkou zjištěnou u zdravých psů bylo zjištěno, že po ozáření dochází k zřejmé deformaci této křivky. Za 24 hodin je vytvořena křivka s nižším kulminačním bodem a širší základnou. Pátý den došlo sice k mírnému zvýšení kulminačního bodu, ale zůstává neustále charakter křivky pozmeněné vzhledem k většímu množství zjištěných lymfocytů s velkým jádrem. Tento stav trvá i v dalších časových intervalech. Na grafu 4 jsou znázorněny změny popsané za 24 hodiny po ozáření (čárkovaná plocha — hodnoty u zdravých psů, plná čára — hodnoty u psů ozářených).



Graf 4. Průměr jádra lymfocytů centrální lymfy u psů ozářených celotělově dávkou 600 r 24 hod. po ozáření. Silná čára: hodnoty psů ozářených. Čárkovaná plocha: hodnoty psů zdravých.

Mimo tyto změny v jádru lymfocytů docházelo po ozáření ke změnám v piazmě. U velkých lymfocytů byla patrná silná bazofilie plazmy, četná vakuolizace, mnohdy byl plazmatický okraj silně roztrhán.

Čas srážlivosti lymfy

U zdravých kontrolních psů byl zjištěn průměrný čas srážlivosti lymfy 4 minuty 15 vt. $\pm$ 1 min. 40 vt.

U psů ozářených došlo v průměru k prodloužení doby srážlivosti lymfy přibližně o 2 minuty, ale od 8. dne byly hodnoty jednotlivých psů značně rozdílné, čímž došlo ke zvětšení vypočítané střední odchylky od průměru.

Protrombinovaný čas lymfy

Protrombinový čas lymfy, který byl u 30 zdravých psů při použití Thrombokinázy Spofa zjištěn 20 vt., se u psů ozářených podstatně nezměnil.

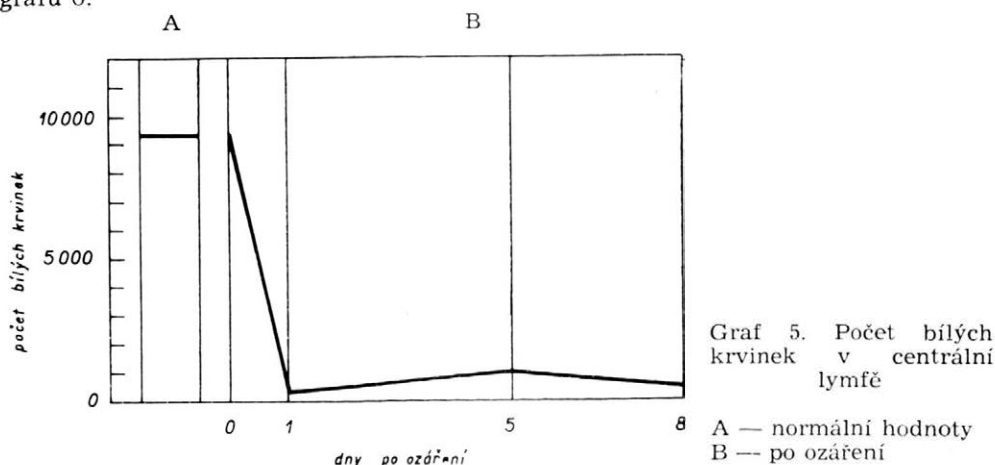
b) U psů ozářených celotělově dávkou 800 r.

Počet lymfocytů (graf 5)

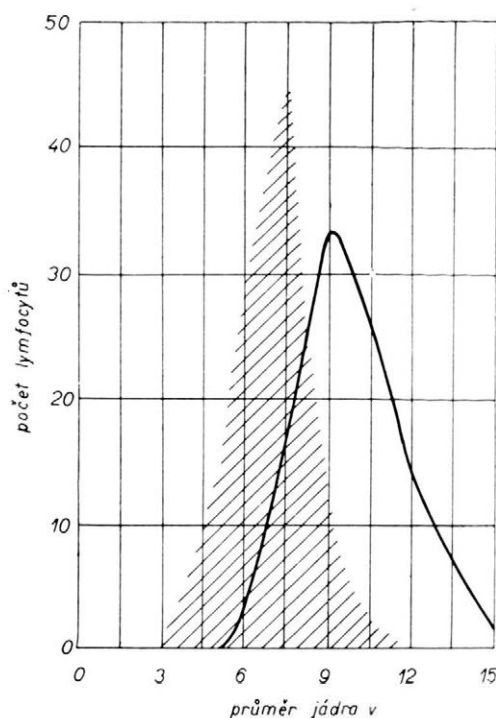
U psů ozářených celotělově dávkou 800 r rtg paprsky došlo za 24 hod. po ozáření k mohutnému poklesu počtu lymfocytů v lymfě. Pátý a osmý den po ozáření se zjištěný pokles pohyboval neustále na nízkých hodnotách.

Morfologické změny lymfocytů

Morfologické změny lymfocytů u psů ozářených celotělově dávkou 800 r byly obdobné změnám zjištěným u lymfocytů psů ozářených dávkou 600 r. Shodně byla též pozorována změna velikosti jádra lymfocytů. Toto je znázorněno na grafu 6.



Diskuse

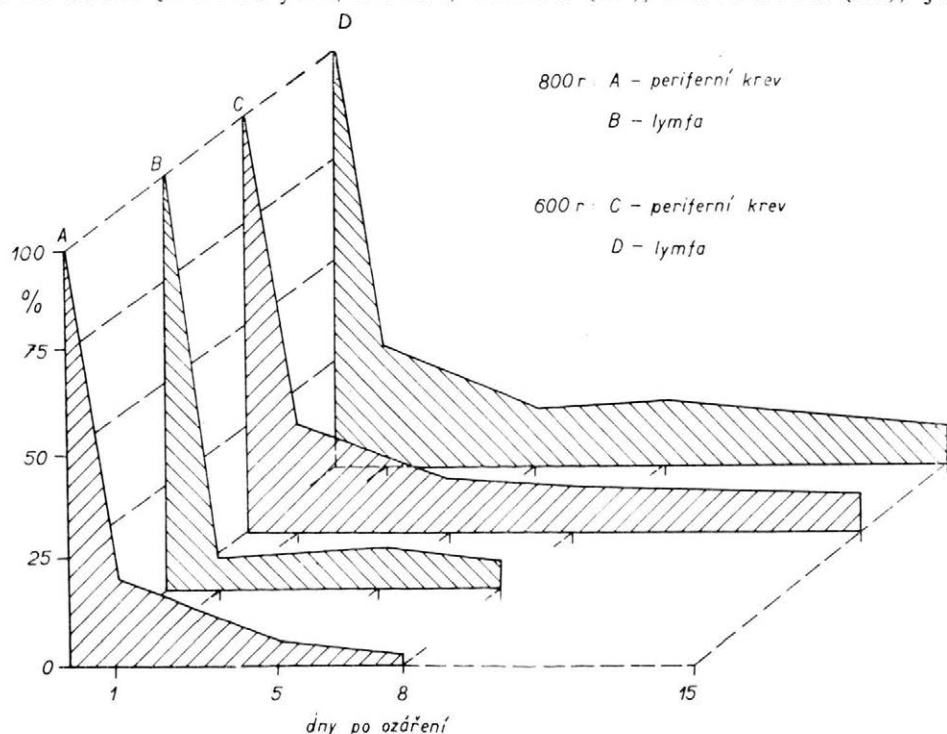


Námi zjištěný průměrný počet lymfocytů v lymfě 30 zdravých psů se podstatně neliší od průměru, který byl zjištěn pracovníky Naval Med. Institutu (1). Shodně jsme zjistili i značný rozptyl v individuálních hodnotách u zdravých psů. Zjištěné hodnoty nejsou v rozporu s hodnotami většiny autorů, jak je uvádějí Dinker a Yoffey (3).

Vzhledem k tomu, že v literárních údajích je shodně uváděno, že většina bílých krvinek, obsažených v lymfě, je tvořena lymfocyty [Ross (12), Drinker-Yoffey (3)], odpovídá zjištěný pokles bílých krvinek v lymfě u psů ozářených poklesu lymfocytů. K obdobnému závěru dospěli jak Ross, Furth, Biegelow (12), tak i Brown, Hardenbergh, Tullis (1).

Nástup i charakter lymfopenie zjištěné v lymfě má obdobný charakter jako lymfopenie zjištěná v periferní krvi (graf 7). Lymfopenii vzniklou po ozáření vysvětlují někteří autoři přímým

účinkem pronikavého záření na krevní lymfocyty [Schrek (13–16)] a současně zastavením produkce nových lymfocytů z poškozené lymfatické tkáně, jejíž radiosenzitivita je všeobecně uznávána. Rychlost nástupu lymfopenie je vysvětlována krátkou dobou života lymfocytů, která je mnohými autory udávána na 6 až 24 hodin [Rusznayak, Foldi, Szábo (17), Netoušek (11), Ja-



Graf 7. Lymfocytární reakce v periferní krvi a lymfě

nele (8), Lawrence (9)]. Je to v určitém rozporu s jinými autory, kteří určují dobu života lymfocytů daleko delší [Lissac (10), Bryant, Kelly (2), Gowan (6)]. Tyto nové údaje by jistě byly závažné k vysvětlení mechanismu náhlé lymfopenie vzniklé po masivním ozáření.

Zjištěné morfologické změny vzniklé po masivním ozáření jsou ve shodě se změnami, které byly popsány v obou uvedených pracech, řešících problém buněčných změn v lymfě během nemoci z ozáření (1, 12). Pozorovaná laločnatost jádra lymfocytů i častější výskyt velkých lymfocytů se zvětšeným jádrem výrazně vynikla při barvení lymfocytů Feulgenovou reakcí. Ingram (7) ve své práci popisuje výskyt lymfocytů s jádrem dvoulaločným jako výstražný moment po ozáření organismu malými dávkami jak x záření, tak po ozáření neutrony. K tomuto závěru dospěl autor jak po sledování změn v krvi lidí pracujících na rizikových pracovištích, tak na podkladě experimentálních prací provedených na psech. Obdobně Dobson a Chupp (5) pozorovali u osob opakovaně vystavených malým dávkám gama a x záření významné zmnožení lymfocytů s jádrem členěným.

Ross, Furth, Biegelow (12) došli k závěru, že erytrocyty se objevují v lymfě ozářených psů a krys. Prostup erytrocytů do lymfy, jehož vrchol byl 9. a 14. den, odůvodňují zvýšenou endoteliální fragilitou. Tento prostup považují za jednu z příčin relativní anemie.

V naší práci byl sice pozorován častější výskyt červených krvinek v lymfě ozářených psů, a to ve shodném časovém intervalu (8. a 15. den) u psů ozářených dávkou 600 r a 8. den u psů ozářených 800 r., tento výskyt nebyl však konstantní u všech případů. Výskyt červených krvinek v lymfě byl pozorován, i když méně často, i u psů kontrolních neozářených. Mnohdy se stávalo, že u těchto psů po vypreparování hrudního mízovodu odtékala lymfa krvavě zbarvena, ale po určitém čase došlo k vymizení červených krvinek z vytékající lymfy, nebo po vypreparování hrudního mízovodu byla lymfa prosta většího množství červených krvinek a po určitém čase se vytékající lymfa zbarvila erytrocyty.

Zde nutno současně uvážit zjištění Drinkera a Yoffeye (3), kteří uvádějí, že v lymfě hrudního mízovodu zjistili vždy přítomné červené krvinky, právě tak jako Rusznýak, Földi, Szabo (17) uvádějí, že v případech, kdy následkem zranění krevních vlásečnic vstupují ve stupňované míře buněčné elementy do interstitia, také stoupá buněčný obsah lymfy a lymfa se stává mnohdy krvavou od obsahu červených krvinek. Uvádějí, že již poměrně malé trauma stačí, aby způsobilo tyto změny. Při samotném preparování hrudního mízovodu dochází jistě k značnému traumatizování tkáně, které by jistě již samo o sobě mohlo býti podle těchto údajů příčinou výskytu červených krvinek v lymfě.

Doba srážlivosti lymfy se sice u ozářených psů prodlžovala, ale její hodnocení je pro značné individuální rozdíly nesnadné. K podobnému závěru došli i pracovníci Nav. Med. Institutu (1).

Souhrn

Byl sledován počet a morfologické změny buněk obsažených v centrální lymfě psů ozářených celotělově dávkou 600 r a psů ozářených celotělově dávkou 800 r rtg paprsky v těchto časových intervalech po ozáření: 24 hod., 5. den, 8. den, 15. den.

Byl zjištěn výrazný pokles počtu lymfocytů v centrální lymfě ozářených psů. U lymfocytů centrální lymfy ozářených psů byly zjištěny tyto morfologické změny: vakuolizace jádra, laločnatost jádra, bazofilie plazmy, četná vakuolizace plazmy. Současně bylo zjištěno vyšší procento velkých lymfocytů.

U ozářených psů byl zjištěn častější výskyt většího množství červených krvinek v centrální lymfě.

V úvodu práce byly zjištěny hodnoty počtu buněk v lymfě 30 zdravých psů, současně byla určena průměrná velikost jádra lymfocytů zdravých psů, dále byl určen u stejného počtu zdravých psů čas srážlivosti lymfy a protrombinová aktivita lymfy.

Literatura

1. Brown C. S., Hardenbergh C. S., Tullis J. L.: Naval Medical Research Institute, Project 006 012 04 29. — 2. Bryant B. J., Kelly L. S.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1958, 99, 3. — 3. Drinker C. K., Yoffey J. M.: „Lymphatics, Lymph and Lymphoid Tissue“. London 1938. — 4. Dienstbier Z., Arient M., Pospíšil J., Komárek J.: Mezinárodní radiobiologické symposium 1958, Praha.



Foto 1. Jádra lymfocytů v centrální lymfě zdravého psa (Feulgenova reakce)

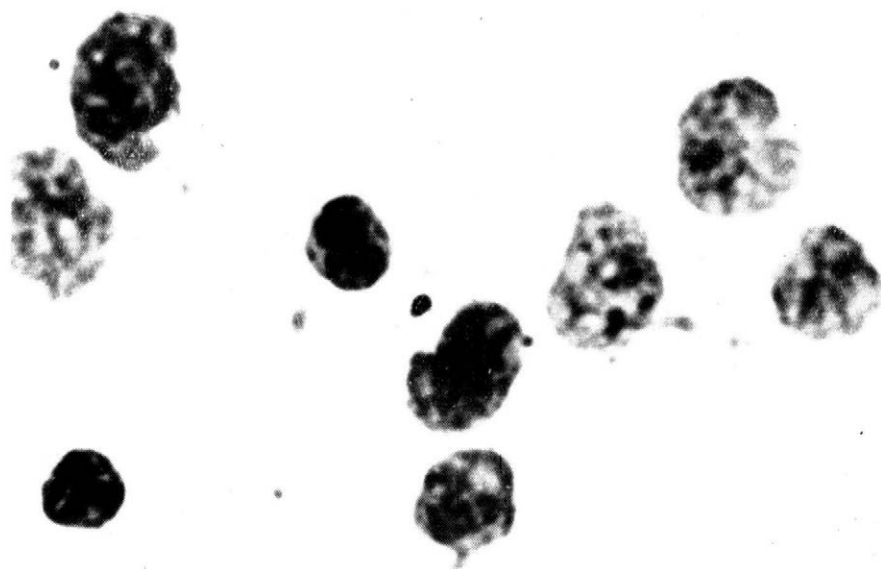


Foto 2. Jádra lymfocytů v centrální lymfě psa celotělově ozářených dávkou 600 r
rtg paprsky, 24 hodin po ozáření

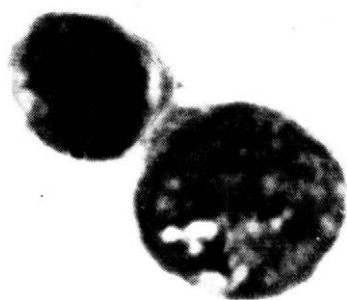


Foto 3. Velký lymfocyt s vakuolizací jádra v centrální lymfě psa 24 hodin po celotělovém ozáření dávkou 600 r rtg paprsky

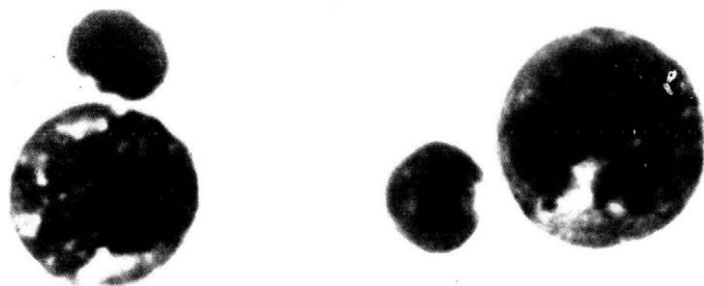


Foto 4: Velké lymfocyty s vakuolizací plazmy a nepravidelně členěným jádrem v centrální lymfě psa 24 hodin po celotělovém ozáření dávkou 600 r rtg paprsky

- 5. Dobson R. L., Chupp M. N.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1957, 95, 2. — 6. Gowans J. L.: Brit. Med. Bull. 1959, 15, 1. — 7. Ingram M.: Proc. of the International Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy, 1955, 13, str. 210-214. — 8. Janele J., Hrodek O., Mitera M.: „Dětská hematologie“. SZN Praha 1957. — 9. Lawrence J. M.: Radiology 1948, 51, 401. — 10. Lissac J.: Rev. Fran. et Clin. Biol. 1957, 2, 2, 178-196. — 11. Netoušek M.: „Nauka o krvi“. SZN Praha 1951. — 12. Ross M. H., Furth J., Biegelow R. R.: Blood 1952, VII, str. 417-428. — 13. Schrek R.: Radiology 1955, 65, 6. — 14. Schreck R.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1943, 54, str. 283-285. — 15. Schrek R.: Archiv Path. 1957, 63, 3. — 16. Schrek R.: Amer. Clin. Path. 1959, 31, 2. — 17. Ruzsnyak I., Földi M., Szabo G.: „Physiologie und Pathologie des Lymphkreislaufes“. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1957. — 18. Kolektiv autorů: „Postiradiační syndrom“. Vojenské zdravotnické listy 1958, číslo 9, příloha 4.

Динамика клеточных изменений в лимфе в течение острой болезни при облучении

Изучалось число и морфологические изменения клеток, содержащихся в центральной лимфе собак, облученных дозой 600 рентген, в пересчете на все тело, и собак, облученных дозой 800 рентген лучами Рентгена, в пересчете на все тело, в следующих интервалах времени после облучения: 24 часа, 5 дней, 8 дней, 15 дней.

Было установлено значительное понижение числа лимфоцитов в центральной лимфе облученных собак. У лимфоцитов центральной лимфы облученных собак были установлены следующие морфологические изменения: вакуолизация ядра, дольчатость ядра, базофилия плазмы, многочисленная вакуолизация плазмы. Одновременно был установлен более высокий процент больших лимфоцитов.

У облученных собак наблюдалось более частое появление большего количества красных кровяных шариков в центральной лимфе.

В начале работы были установлены величины числа клеток в лимфе 30 здоровых собак, одновременно была определена средняя величина ядра лимфоцитов здоровых собак, далее у того же количества здоровых собак было определено время осаждения лимфы и протромбиновая активность лимфы.

The Dynamic of Changes of the Lymph-cells in the Course of Acute Irradiation Disease

Examined have been the numbers and morphological changes of the cells in the central lymph of dogs whole-body-irradiated with X-rays in a dosis of 600 r and of dogs whole-body-irradiated with a dosis of 800 r in the following intervals after irradiation: 24 hours, 5, 8 and 15 days.

A significant decrease in the number of lymphocytes in the central lymph of the irradiated dogs was found. The lymphocytes of the central lymph of irradiated dogs showed the following morphological changes: vacuolisation of the nucleus, po-

lymphoid nuclei, basophilic plasma and multiple vacuoles in the plasma. Also a higher percentage of great lymphocytes was present.

In irradiated dogs more often a greater amount of erythrocytes in the central lymph could be found.

Initially the cell values of lymph cells of 30 healthy dogs and the average size of the nuclei of lymphocytes in sound dogs, further in the same number of sound dogs the coagulation time of the lymph and its prothrombin activity were established.

Průběh aktivit některých enzymů v krevním séru psa po aplikaci CCl₄, srdečním podvazu a thoracotomií

Течение активности некоторых энзимов в кровяной сыворотке собаки
после применения CCl₄, подвязки сердца и торакотомии

Der Verlauf der Aktivitäten einiger Enzyme im Blutserum von Hunden nach Appli-
kation von CCl₄, nach Herzunterbindung und Thorakotomie

MVDr. Lubomír ŠLESINGER

Krajská veterinární nemocnice v Senici n. Myj.

Došlo dne 7. IV. 1960

K ucelenému enzymatickému obrazu nutně náleží průběh hladin aktivit sledovaný po určité době na zvířeti zdravém, v průběhu choroby nebo po provedeném experimentu. V práci se chceme zabývat sledováním aktivit některých enzymů po aplikaci CCl₄, po podvázání levé koronární větve arterie a po thoracotomii. Účel uvedeného šetření tkví v objasnění významu aktivit enzymů pro rozsah a závažnost patologických změn a dále v prognostickém významu.

Důležitost enzymatických reakcí pro metabolismus a životní pochody vůbec je bezesporný. Enzymy udržují v harmonickém souladu veškeré funkce organismu za fyziologického stavu. Poruchy nebo znehodnocení enzymů zavinuje nesoulad jejich činnosti a posléze chorobu.

Enzymy krevní plazmy jsou převážně poutány na buněčné elementy parenchymatózních orgánů. K poškození buněk dochází buďto funkčním přepjetím z nadměrného výkonu nebo také okamžitým specifickým vyblokováním enzymů.

Při otravě CCl₄ dojde k difúznímu poškození jaterních lobulů. Alterace jaterních buněk nastává v centru lobulů a šíří se periferně. Rozsah jaterní nekrobiózy závisí na intenzitě působení jedu, rezistenci jaterní tkáně a odolnosti celého organismu. Z hlediska praktického, ověřeného experimenty, je odolnost organismu přímo závislá na stáří, druhu, rase, výživě a pohlaví.

Na základě patologických změn jaterního parenchymu po aplikaci CCl₄, dojde tedy k vážnému narušení metabolismu v organismu. Vytvořivší se enzymopatie má za následek uvolňování enzymů a vzestup jejich aktivity v krvi. U patomorfologických změn jater jde převážně o zmnožení transamináz. Zjišťovaná aktivita sérových transamináz je přímo úměrná rozsahu nekrotických změn jaterního parenchymu. Průběh sledované křivky aktivit enzymů má potom strmý vzestup, změnám úměrnou výšku a posléze stadium sestupné.

Při podvázání větve věnčité tepny dojde k umělému infarktu, k zastavení metabolismu a k nekróze postižené části srdeční svaloviny. Nekrobiotické pochody mají za následek vyplavení enzymů z buněk postiženého ložiska a zvednutí hla-

diny aktivit v plazmě krevní. Výška hladin aktivit odpovídá velikosti postiženého ložiska.

Chirurgické rozrušení kosterní svaloviny má rovněž za následek zvýšenou aktivitu některých enzymů v krevní plazmě. I zde dochází ke zvýšenému vyplavování anebo ke zvýšené tvorbě enzymů.

Značnou předností zjišťování aktivit enzymů před ostatními dosud používanými klinicko-laboratorními zkouškami, je jejich časný výskyt v krevním séru, a to již před příznaky klinickými nebo změnami morfologickými. Zvýšené aktivity enzymů ukazují na patofyziologický stav organismu ve stadiu preprodromálním.

Dosavadní poznatky potvrzují zvýšení aktivity stejných skupin enzymů při rozličných chorobách. Bude proto úkolem dalšího výzkumu hledat a prokazovat aktivity specifických enzymů pro jednotlivé orgánové poruchy. Např. při jaaterních poruchách, a to převážně při akutních zánětech, se aktivizují především transaminázy kyseliny oxaloctové a pyrohroznové. Nespecifičnosti lze do určité míry odpomoci opakovaným sledováním aktivity tj. charakteristickou křivkou nebo současným sledováním více enzymatických aktivit.

Část metodická

Carboneum tetrachloratum jsme aplikovali psům žaludeční sondou v dávce 0,5 ccm na kg ž. v. Ke stanovení základních enzymatických aktivit jsme odebírali vždy krev před zákrokem z *vena saphena*. Další vzorky krve k získání séra jsme odebírali v časových intervalech 24, 48, 72 a 96 hod. po aplikaci CCl_4 nebo jiném zákroku.

Srdeční infarkt jsme vyvolali nízkým podvazem sestupné větve levé věnčité tepny po předcházející thoracotomii. Psi zákrok přežili. Rozsah infarktu jsme autopticky nezjišťovali. Odběr krve byl uspořádán obdobně jako u předcházející skupiny.

Thoracotomie byla provedena na jiné skupině psů, za účelem demonstrace ovlivnění aktivit enzymů tímto zákrokem. Krev byla odebírána obdobně, jak již bylo uvedeno.

Metody stanovení enzymů

Transaminázy kyseliny oxaloctové GOT a pyrohroznové GPT jsme určovali metodou podle Reitmana a Frankela (5) (7). Výsledky jsou udávány v mikromolech kyseliny oxaloctové 1 ccm/1 hod./37° C u GOT, u GPT v mikromolech kyseliny pyrohroznové.

Aldoláza ALD byla stanovena metodou podle Sybleye a Lehningera (6) množstvím rozpuštěného fruktózo-1,6-difosfátu. Triosofosfáty byly stanoveny pomocí jejich alkalilabilního fosforu (2).

Fosfohexoisomeráza PHI byla stanovena metodou podle Brunse (1). Výsledky jsou udány v mikromolech vytvořeného fruktózo-6-fosfátu 1 ccm séra/1 hod./37° C.

Lakticodehydrogenáza LDH byla stanovena podle metody Ševely a Továrka (9). Výsledky jsou udány v mikromolech enzymaticky vytvořené kyseliny pyrohroznové 1 ccm/1 hod./37° C.

Dehydrogenáza kyseliny jablečné MDH byla stanovena fotometrickou metodou podle Ševely a Továrka (8). Aktivita enzymu byla vyjádřena v mikromolech ketokyseliny vznikající z L-jablečnanu enzymatickou transhydrogenací jako kyselina pyrohroznová 1 ccm séra/1 hod./37° C.

Sorbitdehydrogenáza SDH byla stanovena podle metody Ševely a Továrka (10).

Charakteristika jednotlivých enzymů a výsledky jejich aktivit dosud zjištěné u jednotlivých druhů domácích zvířat

Vlastní výsledky aktivit

Transamináza GOT

Uskutečňuje zvratnou transaminaci mezi kyselinou alfa-ketoglutarovou a asparagovou za vzniku kyseliny glutamové a oxaloctové. V séru zdravých koní se pohybuje její aktivita od 2 do 3,8 mikromolu. Ve tkáni jaterní od 1.100 do 2.750 mikromolů. Ve tkáni srdeční od 2.600 do 3.000 mikromolů. V moku mozkomíšním od 0,2 do 0,5 mM. U koní s chirurgickým onemocněním se pohybuje v krevním séru od 2 do 16,3 mM, s chorobami interními od 3,2 do 9,4 mM. Při toxické hepatitidě u koní od 16 do 48 mM.

V krevním séru zdravých psů jsme naměřili aktivitu od 0,5 do 1,5 mM. V krevním séru psů s chorobami interními od 0,5 do 1,85 mM. Při toxické *hepatitis* od 4,9 do 6,8 mM. Při chirurgických zákrocích od 0,7 do 1,7 mM.

V krevním séru zdravého skotu se pohybuje v rozmezí od 1,3 do 2,0 mM. V krevním séru skotu s chorobami interními od 1,2 do 2,5 mM.

Transamináza GPT

Transaminuje reverzibilně kyselinu alfa-ketoglutarovou a alanin za vzniku kyseliny glutamové a pyrohroznové. V krevním séru zdravých koní se pohybuje její aktivita od 0,05 do 0,3 mM. U nemocných koní s chirurgickými chorobami od 0,1 do 0,7 mM. S chorobami vnitřními od 0,1 do 0,77 mM. Při toxickém zánětu jater od 0,6 do 0,8 mM. V jaterní tkáni zdravých koní od 50 do 51 mM, ve svalů srdečním od 48 do 80 mM, v moku mozkomíšním od 0,2 do 0,4 mM.

V krevním séru zdravých psů se pohybuje v rozmezí od 0,4 do 1,87 mM. V krevním séru psů s interními chorobami od 0,7 do 4,8 mM. Při toxické *hepatitis* od 19,8 do 32,5 mM. Při chirurgickém onemocnění od 0,9 do 2,0 mM.

V krevním séru zdravého skotu se GPT pohybuje v rozmezí od 1,0 do 1,4 mM. V krevním séru skotu s chorobami interními od 0,8 do 1,7 mM.

Aldoláza

ALD (zymohexáza) štěpí fruktózo-1,6-fosfát v triosofosfáty. V krevním séru zdravých koní se pohybuje od 0,5 do 1,0 mM. V jaterní tkáni zdravých koní od 183 do 250 mM, ve svalovině srdeční od 210 do 930 mM. V moku mozkomíšním od 0,07 do 0,1 mM. V krevním séru koní nemocných chorobami chirurgickými od 0,6 do 2,3 mM, chorobami interními od 0,6 do 2,1 mM.

V krevním séru zdravých psů od 0,5 do 1,8 mM. U nemocných psů s chorobami interními od 0,5 do 2,3 mM. Při toxických hepatitidách od 1,3 do 8,5 mM.

V krevním séru zdravého skotu se pohybuje ALD od 1,4 do 2,3 mM. U skotu nemocného chorobami chirurgickými a interními sahá širší aktivity od 1,7 do 7,2 mM.

Fosfohexoisomeráza

PHI zvratně katalyzuje rovnováhu mezi glukózo-6-fosfátem a fruktózo-6-fosfátem. V krevním séru zdravých koní se její aktivita pohybuje mezi 5,8 a 8,2 mM. V moku mozkomíšním se nám ji nepodařilo prokázat. V srdeční svalovině koně se pohybuje od 6.750 do 7.750 mM.

V krevním séru zdravých psů je v rozmezí od 5,3 do 7,3 mM.

Dehydrogenáza kyseliny mléčné

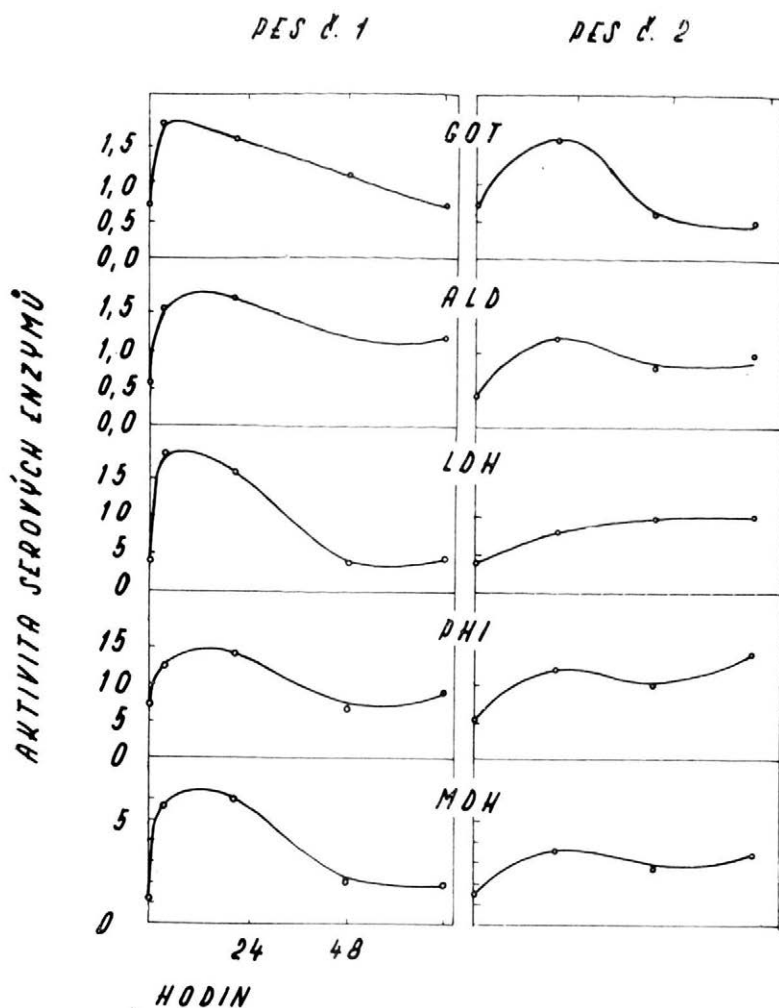
LDH katalyzuje zvratnou reakci mezi kyselinou pyrohroznovou a mléčnou za současné přeměny redukované formy kofermentu DPNH v oxydovanou formu DPN⁺. V krevním séru zdravých koní se její aktivita pohybuje od 6 do 13,2 mM. V srdeční svalovině od 11.500 do 14.000 mM. V jaterní tkáni zdravých koní od 7.000 do 8.500 mM.

V krevním séru zdravého skotu je v rozmezí 25 až 35 mM. U skotu nemocného chorobami interními a chirurgickými se pohybuje od 18 do 31 mM.

Dehydrogenáza kyseliny jablečné

MDH katalyzuje reverzibilně reakci kyseliny jablečné v kyselinu oxaloctovou za současné přeměny kofermentu DPN⁺. Je vázaná na mitochondrie.

V krevním séru zdravých koní se pohybuje od 2,7 do 3,9 mM. V moku mozkomíšním od 0,9 do 1,2 mM, v jaterní tkáni zdravých koní od 5.500 do 6.500 mM, v srdeční svalovině od 6.000 do 8.500 mM.



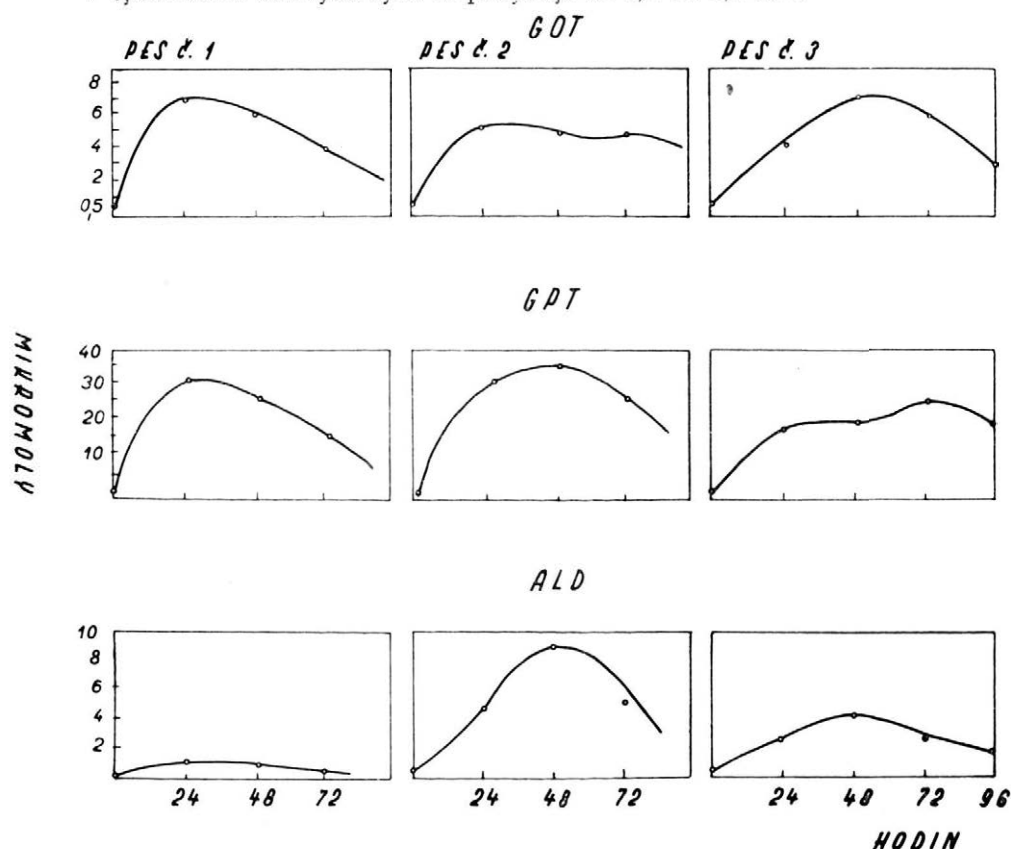
Graf 1. Průběh hladin po umělém infarktu

V krevním séru zdravých krav se pohybuje v rozmezí 4 až 6 mM. U nemocných krav od 3,8 do 6 mM.

Sorbitdehydrogenáza

SDH jako enzym katalyzuje zvratnou reakci mezi D-sorbitolem a oxydovaným DPN za vzniku fruktózy a redukované formy $DPNH + H^+$.

V krevním séru zdravého skotu se pohybuje od 0 do 0,2 mM. V krevním séru skotu nemocného chorobami chirurgickými a interními od 0 do 0,3 mM. V ejakulátech zdravých býků se pohybuje od 0,2 do 1,5 mM.

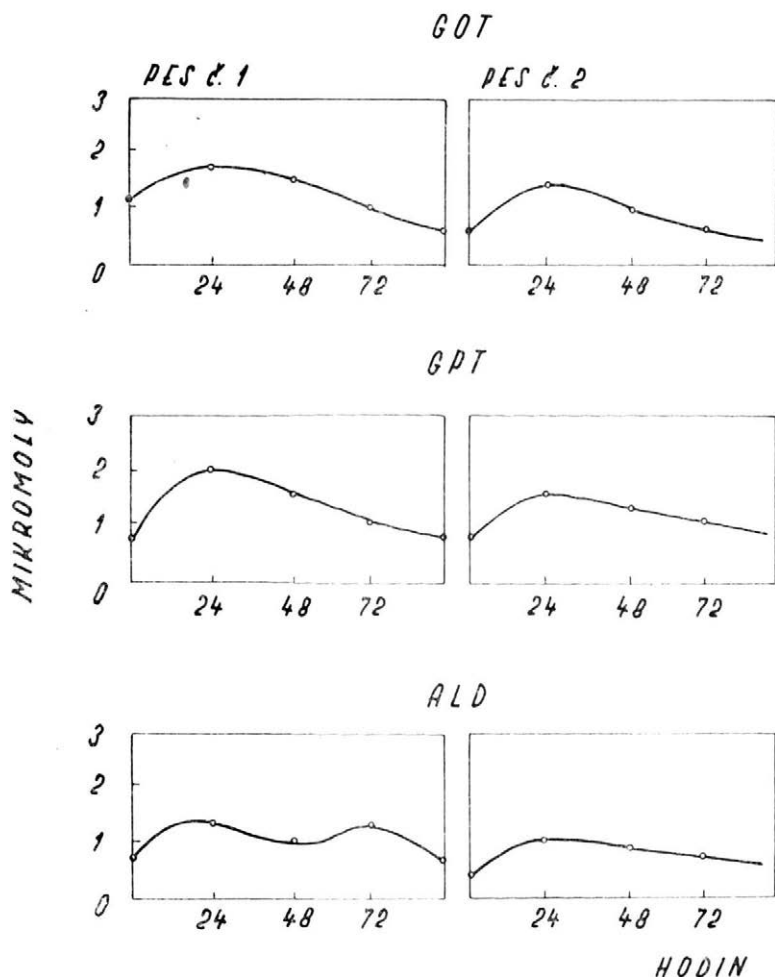


Graf 2. Průběh hladiny po aplikaci CCl_4

Diskuse

Podáním CCl_4 *per os* v dávce 0,5 ccm na kg ž. v. jsme vyvolali u pokusných psů akutní hepatitidu lehčího stupně. Celkový zdravotní stav psů nebyl v průběhu pokusu nijak valně narušen. Chorobný průběh byl pouze charakterizován sníženou žravostí, mírnou apatií a polydipsií. V moči jsme u všech psů prokázali mírný vzestup žlučových barviv. Icterus jsme neprokázali. Také krevní sedimentace nejevila úchylek od normálu. Hladina aktivit GOT, GPT a ALD se u všech psů po experimentu prudce zvedla. Pouze u psa č. 1 došlo k nepatrnému výkyvu v aktivitě ALD. Maxima výkyvu dosahovaly aktivity enzymů mezi 24 až 48 hod.

po aplikaci. Nejvyšších hodnot dosáhla GPT (32,5, 32,0 a 27,8 mM). Aktivita GOT a ALD byly nižší. Po 48 hod. se aktivity citelně snižovaly. Charakteristika křivek aktivit enzymů nasvědčuje krátkodobému podráždění jaterního parenchymu a rychlé jeho reparaci. Nepřímé porovnání poskytuje pozorování N i n g r a a spol. (3) při těžkých inf. hepatitidách u člověka, kde po týdny setrvaly zvýšené aktivity transaminázy glutamové-pyrohroznové.



Graf 3. Průběh hladin po thoracotomii

Po umělém podvazu koronární větve arterie došlo u psů k mírnému výkyvu aktivit všech enzymů. Jednalo se o nízké podvazy, které nijak vážně neohrožily činnost cirkulačního aparátu a naopak se rychle upravovaly. Průběh aktivit GOT, ALD, MDH, LDH a PHI vykázal nízký, ale prudký vzestup s klesající tendencí již po 24 hod. Prudký vzestup je charakteristický pro podráždění svalu srdečního. Některé enzymy se ve fázi uzdravování mírně znovu aktivovaly. Tyto zvraty si vysvětlujeme zvýšenou námahou po předběžném klidu.

Po pokusné thoracotomii u psů jsme zaznamenali mírný výkyv aktivit enzymů s velmi plochým průběhem v reparační fázi po 48 hod. Vzestup enzymatických

aktivit v séru si vysvětlujeme jako následek rozrušení svaloviny, jež je bohatým zdrojem především GOT.

Na základě našich experimentů je možno prakticky využít aktivit GPT při akutních změnách jaterního parenchymu u psů. Výrazná aktivita uvedené transaminázy je důležitým prekursorem patofyziologické funkce jater.

Souhrn

V práci jsme sledovali průběh hladin enzymatických aktivit po aplikaci CCl_4 , srdečním podvazu a thoracotomii. Na základě podráždění jater CCl_4 došlo k prudkému vzestupu aktivity GPT.

Rozrušení svaloviny při thoracotomii mělo za následek mírnou aktivaci enzymů. Průběh křivky byl na rozdíl od nízkého podvazu věnčité cévy plochý. Strmý vzestup aktivit enzymů po umělém infarktu je charakteristický pro nekrobiotické změny srdečního svalu.

Literatura

1. Bruns F. H.: Bestimmung u. Eigenschaften der PHI des Serums. Biochem. Zschr. 325, 532, 1954. — 2. Mikšchová V., Matoušková H.: Standardisace metody stanovení ALD v krev. seru. Scripta med. V tisku. — 3. Ninger E. a spol.: Serové enzymy u inf. zánětu jater. Vnitřní lékařství 3, 342-350, 1960. — 4. Pojer J. a spol.: Enzymový obraz srdečního infarktu. Choroby srdce a cév. Sborník LF. v Brně. 5-21, 1959. — 5. Reitman S., Frankel S.: A Colorimetric method for the Determination of Serum Glutamic Oxaloacetic and Pyruvic Transaminases. Am. J. Clin. Patholog. 28, 56, 1957. — 6. Sibley J. A., Lehninger A. L.: Determination of ALD in Animal Tissues. J. Biol. Chem. 177, 859, 1949. — 7. Ševela M.: K fotometrickému stanovení serových transaminas. Vnitřní lékařství 4, 721, 1958. — 8. Ševela M., Továrek J.: Stanovení MDH v krvi. ČLČ, v tisku. — 9. Ševela M., Továrek J.: Stanovení LDH v tělních tekutinách. ČLČ 98, 844, 1959. — 10. Ševela M., Továrek J.: Stanovení SDH v krev. seru. V tisku. — 11. Šlesinger L., Továrek J.: Aktivita GOT, GPT, ALD, MDH, LDH a FHI ve tkáních a těl. tekutinách zdravých koní. Vet. časopis SAV 6, 583, 1959. — 12. Šlesinger L.: Aktivita GOT, GPT a ALD v krev. seru zdravých a nemocných psů. Sborník ČSAZV 12,

Течение активности некоторых энзимов в кровяной сыворотке собаки после применения CCl_4 , подвязки сердца и торакотомии

В научном сообщении мы описывали течение уровня энзиматической активности после аппликации CCl_4 , подвязки сердца и торакотомии. На основании раздражения печени CCl_4 наблюдалось резкое повышение активности GPT.

Разрушение мускульных волокон при торакотомии имело своим последствием легкую активацию энзимов. Форма кривой в отличие от низкой подвязки венечной артерии была пологая. Резкое повышение активности энзимов после искусственного инфаркта характерно для некrobiотических изменений сердечной мышцы.

Der Verlauf der Aktivitäten einiger Enzyme im Blutserum von Hunden nach Applikation von CCl_4 , nach Herzunterbindung und Thorakotomie

In der Arbeit haben wir die Aktivitäten einiger Enzyme nach Applikation von CCl_4 nach Herzunterbindung und Thorakotomie verfolgt. Auf Grund der Leberreizung durch CCl_4 stieg die Aktivität der Transaminase GPT.

Die Zerstörung der Muskulatur durch die Thorakotomie steigerte nur wenig die Aktivität der Enzyme. Der Verlauf der Kurve war flach im Gegensatz zum Verlauf nach Unterbindung der Koronararterie.

Der steile Anstieg der Enzymaktivitäten nach dem künstlichen Infarkt ist für die nekrobiotischen Veränderungen des Herzmuskels charakteristisch.

Zkrmování chlortetracyklinu (aureomykoinu) u kachen s latentní ornitózou

Скармливание хлортетрациклина (Ауреомикойна) уткам с латентным орнитозом

Die Verfütterung von Chlortetracyclin (Aureomykoin) an Enten mit latenter Ornithose

J. STRAUSS, F. ŠMEJKAL, V. VONDRÁČEK a Z. KOŽUŠNÍK

Ústav epidemiologie a mikrobiologie v Praze, Výzkumný ústav antibiotik v Roztokách u Prahy, Okresní hygienicko-epidemiologická stanice ve Vys. Mýtě, Veterinární oddělení zemědělského odboru rady ONV ve Vys. Mýtě

Došlo dne 15. X. 1960

Úvod

Ze stanoviska klinické terapie ornitózy nejen u lidí, ale i u ptáků je již rozhodnuto, zejména pokusy K. F. Meyera (Meyer a Eddie, 1955), že nejúčinnějším lékem jsou antibiotika tetracyklinové řady. Úspěchy v prevenci krocení ornitózy pomocí chlortetracyklinu (CTC) byly již rovněž prokázány (Davis a Delaplane, 1958; Pollard, 1959). Zabývájíc se otázkou možnosti prevence šíření ornitózy u kachen pomocí antibiotik a tím i možnosti zabránění častým profesionálním onemocněním zejména v kolektivech

drůbežářských farem a JZD, studovali jsme danou otázku nejdříve experimentálně (Strauss a Šmekal, 1959). Byla zjištěna perzistence viru ornitózy u bílých myši i při aplikaci vysokých dávek aureomykoinu v Larzenově dietě, čímž se ukázala sporná vhodnost aplikace CTC v krmivu, jako prostředku k likvidaci kachní ornitózy. V této práci jde v podstatě o snahu ověření laboratorních výsledků výzkumu pomocí epidemiologického pokusu.

Podmínky pokusu

Pokus s podáváním aureomykoinu v krmivu kachnám byl zahájen v půli října 1959, tj. v období doznívajícího výskytu onemocnění u lidí a kachen s akutní ornitózou v oblasti spadající pod jistý východočeský drůbežářský závod. V tomto závodě se v posledních třech letech objevilo celkem 43 případů ornitózy s maximem 22 případů v roce 1958, a to v rozmezí od května do prosince, dosahující vrcholu v červnu.

Předneseno na mezinárodním epidemiologickém sympóziu v Praze — únor 1960.

Ke krmení kachen antibiotikem bylo přistoupeno těsně před zabitím a šhubáním v uvedeném drůbežářském závodě, s úmyslem snížit diseminaci viru ornitózy a tím i riziko expozice u škubaček.

K jednorázovému šhubání kachen bylo vybráno 24 pracovníků závodu, které předtím tuto práci téměř nevykonávaly, 10 z nich bylo v závodě zaměstnáno teprve 2–5 měsíců. Jejich titry KF-protilátek byly převážně negativní (7X) nebo nesignifikantní do titru 1 : 8 (14X). Titry 1 : 16 až 32 měly 3 škubačky.

Materiál a metody

Kachny. — K pokusu bylo použito hejna o počtu 900 kusů 5—6 týdenních kachen. Toto hejno pocházelo z lokality, kde byla v roce 1955 velká epidemie a epizootie. Na začátku roku 1959 byla v této lokalitě zjištěna v rámci průzkumu chovných hejn kachen v oblasti KNV Pardubice 85 % promořenost zjišťováním reakcí vazby komplementu inhibujících protilátek u 119 kachních sér. 400 kachen bylo krmeno příměsí CTC a 500 kachen sloužilo jako kontrola.

Aplikace antibiotika. — Bylo použito chlortetracyklin-hydrochloridu (CTC) — aureomykoinu, vyrobeného Výzkumným ústavem antibiotik, ve směsi s krmivem (bílkovitá směs — pšeničný šrot — ječmenný šrot — bramborové vločky — škvarky — minerální směs — sůl), v množství 500 gama na 1 gram krmiva. Počítáme-li s denní krmnou dávkou 200 g na kus, činilo množství podaného antibiotika 100.000 jednotek.

Sledování hladin chlortetracyklinu (CTC) v séru kachen bylo provedeno standardní metodou zjišťování inhibice růstu kmene *Staphylococcus pyogenes var. aureus*.

Izolační pokusy byly prováděny očkováním 10 g bílých myší 20 % suspenzí kachních slezin a jater ve fosfátovém ústojném roztoku o pH 7, 6 i. cerebrálně (0,03 ml) a části myši současně též i. peritoneálně (0,3—0,5 ml). Z každého pokusu byly provedeny 2 slepé pasáže ze směsi myších mozků a slezin.

Reakce vazby komplementu a inhibiční reakce vazby komplementu byla prováděna podle standardních metod (Strauss a spol., 1958) za použití skupinového antigenu připraveného podle Dekkinga z infikovaných myších plic holubím kmenem ornitózy (PV3) za současné kontroly specifity antigenu.

Výsledky

Hejnu 400 kachen byl podáván aureomykoin v krmivu po dobu 11 dnů. Kachny z toho hejna nejevily ani před, ani v průběhu celého pokusu žádných známek klinického onemocnění. V kontrolní skupině 500 kachen byl hlášen pouze jeden případ s příznaky ztíženého dýchání.

V průběhu krmení směsí krmiva a aureomykoinu byly stanoveny hladiny antibiotika v krvi 70 kachen po 24 hod., 4 a 9 dnech. Ve všech případech byly zjištěny pouze stopy inhibičního účinku růstu kmene *Staphylococcus pyogenes var. aureus*. Po skončení aplikací antibiotika byly kachny ještě ponechány 24 hod. na živu. V tkáních plic, srdce, jater, sleziny a svalů léčených kachen nebyla prokázána žádná hladina použitého antibiotika.

Ze 48 kachen (12,2 %) skupiny krmené aureomykoinem byly izolovány a identifikovány 4 kmeny a z 56 kachen (11,2 %) ze skupiny kontrolní 2 kmeny viru ornitózy. Tento náález svědčí jednak o jednoznačném výskytu latentní ornitózy ve sledovaném hejnu kachen a jednak o neschopnosti aureomykoinu za daných experimentálních podmínek doznívající nákazu z kachního hejna vyloučit. Tyto výsledky mohou do jisté míry podepřít názor o působnosti CTC jen na elementární tělíska jakožto aktivní formy vývojového cyklu viru ornitózy.

Rychlost adaptace resp. pasáž, ve které

se virus projevil klinickými příznaky u očkovaných myší, je ve shodě s dřívějšími izolačními pokusy u kachen s latentní ornitózou ve smyslu klinických příznaků až v druhé a třetí pasáži na rozdíl od kachen s akutní ornitózou, kde bývá izolace jasně pozitivní většinou hned v první pasáži (tab. I).

Skupina 400 kachen krmených aureomykoinem byla šhubána 13 škubačkami (ve věku od 15 do 53 let) a 400 kachen ze skupiny kontrolní 11 škubačkami (ve věku od 16 do 49 let), a to během jednoho dne. Škubačky byly vyšetřeny na skupinové komplement vázající protilátky přede dnem šhubání a asi po jednom měsíci ode dne šhubání v současně provedeném testu.

Ve skupině 13 škubaček, které zpracovaly aureomykoinem ovlivněné kachny, došlo u jedné z nich (53leté) k 16tinasobnému vzestupu protilátek z 1 : 8 na 1 : 128. Ve skupině 11 škubaček, které zpracovaly kontrolní skupinu kachen nedošlo k žádnému signifikantnímu vzestupu titru KF-protilátek.

U žádné ze 24 škubaček nedošlo v průběhu sledování jejich zdravotního stavu k onemocnění ornitózou, avšak krátce po zahájení pokusu onemocněla ornitózou krmíčka kontrolní skupiny, což by také mohlo svědčit o aktivním vylučování viru ornitózy u kachen s latentní nákazou.

1. Srovnání provedených izolačních pokusů v Tisové (aplikace CTC) a v Bašíně (bez CTC) s dřívějšími pokusy o izolaci ornitózového viru z kachen s akutní i latentní formou ornitózy

Izolace kmene z kachny s ornitózou	Rok izolace	Kmen	Adaptace kmene na bílých myších v pasáži								
			M ₁			M ₂			M ₃		
			po očkování dne								
			3.—5.	6.—10.	11.—20.	—5.	6.—10.	11.—20.	—5.	6.—10.	11.—20.
latentní	1959	1. Tisová 1 – CTC		○	○	○		○	○○●●		
		2. Tisová 2 – CTC		●		○○○○○			●●●●●		
		3. Tisová 3 – CTC			○○			○		●●●●●	
		4. Tisová 4 – CTC	○		○			○		●●●●●	
	1956	5. Bošín 1	○	○			●	○	●●●●●		
		6. Bošín 2	○	○			○		○●●		
		7. K 211 P		○	○		○○○○●		○●●●●		
		8. K 212 P			○	●			●●●●●		
		9. K 229 P			○	○●●●			●●●●●		
akutní	1955	1. K 2 P		○○●		○○○●●			●●●●●		
		2. G. J.	○●	○		○○	●●		○●●●		
		3. K 4 S	○	●●●●		●●●●			●●●●●		
		4. K 5 S	●●●●●			●●			○○●●●		
	1958	5. 6072	●	○●	○	○○○●●			●●●●●		
		6. SK 9	●●			●●●●●			●●●●		
		7.—19. 13 kmenů	●●●●			●●●●			●●●●●		

Myši s příznaky
 < netypickými ○
 < typickými ●

z celkového počtu 5 očkovaných myši

Diskuse

Na podkladě získaných výsledků uvedeného terénního pokusu (tab. II) nelze považovat aplikaci terapeutické dávky aureomykoinu 500 gama na 1 g krmiva po dobu 14 dnů za dostačující k likvidaci latentní ornitózy kachen. Tedy jednak z vyššího dávkování a jednak z prodloužené aplikace CTC v krmivu bychom snad mohli v dalších pokusech získat určitější zhodnocení.

I když na podkladě provedeného pokusu nelze aureomykoinem ve směsi s krmivem zbavit kachny latentní nákazy, lze se domnívat podle výsledků získaných na krocanech, že aplikace tetracyklinových

antibiotik v krmivu anebo parenterálně bude úspěšná spíše v případě akutního vzplanutí epizootie. V tom případě zvládnutí epizootie zabráněním masového hybnutí drůbeže by znamenalo národohospodářský efekt, ovšem s rizikem ev. persistance viru ornitózy.

Uvedené výsledky tohoto kontrolního epidemiologického výzkumu jsou jen předběžné. Bude nutné za výhodnějších epidemiologických podmínek a za podmínek „double blind testu“ s déle trvajícím zkrmováním CTC *per os* nebo parenterálně i ve vyšších dávkách účinnost znovu ověřit.

II. Výsledky pokusu o zjištění účinnosti chlortetracyklinu — aureomykoinu (500 gama na 1 g krmiva) při podávání kachnám s latentní ornitózou

Kachny	Krmené aureomykoinem	Kontrolní	Σ
Počet	400	500	900
Pokusy o izolaci viru u	48	56	104
Pozitivní izolace viru ornitózy	4	2	6 (5,8 %)

Souhrn

K pokusu bylo použito kachního hejna o počtu 900 kusů, pocházejícího z lokality, kde byla zjištěna na jaře 1959 pomocí inhibiční reakce vazby komplementu 85 % promořenost. Pokus byl zahájen v půli října podáváním chlortetracyklinu (CTC) v množství 500 gama na 1 g krmiva u 400 5—6 týdenních kachen po dobu 11 dnů. 500 kachen bylo odchováno bez antibiotika. Kachny nejevily před ani během celého pokusu celkem žádných známek klinického onemocnění. V průběhu zkrmování kachen směsí krmiva s CTC byly zjištěny jen stopy antibiotika v jejich krvi. U 48 resp. 56 kachen z obou skupin byly získány sleziny a játra k izolačním pokusům. Ve skupině zkrmované CTC byly izolovány 4 kmeny a ve skupině kontrolní 2 kmeny viru ornitózy.

Skupina 400 kachen krmených CTC byla šhubána 11 škubačkami (ve věku od

15—53 let) a 400 kachen ze skupiny kontrolní 13 škubačkami (ve věku od 16—49 let) vesměs pracovníci, které před tím tuto práci nevykonávaly. Škubačky byly před šhubáním a 1 měsíc ode dne šhubání v současně provedeném testu serologicky vyšetřeny na skupinové komplement vázající protilátky. Ke 16násobnému vzestupu titru KF-protilátek došlo u jedné ze škubaček z CTC skupiny. U 24 škubaček nedošlo k onemocnění ornitózou v průběhu sledování jejich zdravotního stavu. Pouze u jedné z krmiček ošetřujících kontrolní hejno, došlo krátce po zahájení pokusu k onemocnění ornitózou.

Na podkladě získaných výsledků terénního pokusu nedovedly terapeutické dávky aureomykoinu podávané po dobu 11 dnů zvládnout latentní ornitózu u kachen, u nichž lze předpokládat přítomnost rezistentních forem vývojového cyklu viru ornitózy vůči aureomykoinu.

Literatura

Davis D. E., Delaplane J. P.: Amer. J. Vet. Res. 19, 169, 1958. — Meyer K. F.: Bull. Wld. Hlth Org. 20, 101, 1959. — Meyer K. F., Eddie B.: Antibiot. Chemother. 5, 289, 1955. — Omori T., Morimoto T., Inaba Y., Ishii S., Matumoto M.: Jap. Exp. Med. 28, 405, 1958. — Pollard M.: Antibiot. Chemother. 9, 23, 1959. — Pollard M.: Tex. rep. Biol. Med. 17, 186, 1959. — Quan S. F., Meyer K. F., Eddie B.: J. Inf. Dis. 86, 132, 1950. — Semenov B. F., Laškevič V. A.: Antibiotiki 6, 73, 1958. — Strauss J., Šmejkal F.: Čs. epidemiol. mikrobiol. imunol. 8, 73, 1958.

Скармливание хлортетрациклина (Ауреомиконна) уткам с латентным орнитозом

Опыт проводился в стаде уток с поголовьем 900 голов, происходящем из местонахождения, где весной 1959 г. с помощью ингибиционной связи комплемента 8 была установлена 85% зараженность. Опыт был начат в половине октября подачей хлортетрациклина (СТС) в количестве 500 гамма на 1 г корма 400 5—6-недельным уткам в течение 11 дней. 500 уток выращивалось без антибиотика. До и в течение всего опыта утки не проявляли никаких признаков клинического заболевания. В период кормления уток смесью корма с СТС в крови уток были установлены всего лишь следы антибиотика. У 48 или 56 уток из обеих групп были взяты селезенка и печень для изоляционных опытов. В группе, которой подавался СТС, были изолированы 4 штамма и в контрольной группе 2 штамма вирусов орнитоза.

Группа уток в 400 голов, которым подавался СТС, ошпицовалась 11 работницами (в возрасте 15—53 лет) и 400 уток контрольной группы — 13 работницами (в возрасте 16—49 лет); все эти работницы до этого такую работу не производили. Перед ошпицованием и через месяц после ошпицования птицы работницы были обследованы с одновременным проведением серологического теста на групповой комплемент связывающий антитела. У одной из работниц, ошпицовавших группу уток с СТС, было обнаружено 16-кратное увеличение титра КФ — антитела. 24 работницы орнитозом в период наблюдения за их состоянием здоровья ее не заболели. Только одна из птичниц, ухаживающих за контрольным стадом, вскоре после начала опыта заболела орнитозом.

На основе полученных результатов опыта на местах с помощью терапевтических доз ауреомиконна, подаваемых в течение 11 дней, не удалось преодолеть латентный орнитоз у уток, у которых можно предполагать наличие устойчивых форм эволюционного цикла вируса орнитоза против ауреомиконна.

Die Verfütterung von Chlortetracyclin (Aureomykoin) an Enten mit latenter Ornithose

Zum Versuch wurde eine Entenschar von 900 Stück verwendet, die aus einem Ort stammte, wo im Frühjahr 1959 mit Hilfe der Komplementablenkungsreaktion eine 85% Verseuchung festgestellt worden war. Der Versuch wurde Mitte Oktober begonnen mit der Applikation von Chlortetracyclin in der Menge von 500 Gamma pro 1 g Futter an 400 5—6wöchentlichen Enten in der Dauer von 11 Tagen. 500 Enten wurden ohne Antibiotika aufgezogen. Weder vor noch nach dem Versuch wiesen die Enten Anzeichen einer klinischen Erkrankung auf. Im Verlauf der Fütterung der Enten mit einer Futtermischung mit Chlortetracyclinzusatz wurden nur Spuren des Antibiotikums in ihrem Blute festgestellt. Von 48 bzw. 56 Enten beider Gruppen wurde Leber und Milz entnommen, um Isolationsversuche auszuführen. In der mit Chlortetracyclin gefütterten Gruppe wurden 4, in der Kontrollgruppe 2 Ornithosestämmen isoliert.

Die Gruppe von 400 Enten, die Chlortetrazyklin erhalten hatten, wurde von 11 Arbeiterinnen im Alter von 15—53 Jahren und 400 Enten der Kontrollgruppe von 13 Arbeiterinnen im Alter von 16—49 Jahren gerupft. Keine dieser Arbeiterinnen hat vorher diese Arbeit verrichtet. Die Arbeiterinnen wurden vor dem Rupfen und 1 Monat nach dem Rupfen in einem gleichzeitig durchgeführten Test auf Komplement ablenkende Gruppenantikörper serologisch untersucht. Ein 16facher Anstieg des Titers der Antikörper war nur bei einer Arbeiterin, die Enten der Chlortetrazyklengruppe gerupft hatte, zu verzeichnen. Keine der 24 Rupferinnen erkrankte an Ornithose während der Kontrolle ihres Gesundheitszustandes. Bloß eine Arbeiterin, welche bei der Fütterung der Kontrollgruppe beschäftigt war, erkrankte kurz nach Beginn des Versuches an Ornithose.

Auf Grund der im Terrainversuch gewonnenen Ergebnisse konnten 11 Tage hindurch applizierte therapeutische Gaben von Aureomykoin eine latente Ornithose bei Enten nicht bewältigen und bei diesen muß das Vorhandensein von resistenten Formen des Entwicklungszyklus des Ornithosevirus gegenüber Aureomykoin vorausgesetzt werden.

- Pospíšil J.: Dynamika buněčných změn v lymfě v průběhu akutní nemoci z ozáření
Динамика клеточных изменений в лимфе в течение острой болезни при облучении
The Dynamic of Changes of the Lymph-cells in the Course of Acute Irradiation Disease 789
- Šlesinger L.: Průběh aktivit některých enzymů v krevním séru psa po aplikaci CCl₄, srdečním podvazu a thoracotomii
Течение активности некоторых энзимов в кровяной сыворотке собаки после применения CCl₄, подвязки сердца и торакотомии
Der Verlauf der Aktivitäten einiger Enzyme im Blutserum von Hunden nach Applikation von CCl₄, nach Herzunterbindung und Thorakotomie . . . 799
- Strauss J., Šmejkal F., Vondráček V., Kožušník Z.: Zkrmování chlortetracyklinu (aureomykoinu) u kachen s latentní ornitózou
Скармливание хлортетрациклина (Ауреомиконна) уткам с латентным орнитозом
Die Verfütterung von Chlortetrazyklin (Aureomykoin) an Enten mit latenter Ornithose 807

TUBERKULÓZA SKOTU —

NEPŘÍTEL NAŠEHO ZEMĚDĚLSTVÍ Č. 1!

Upozorňujeme Vás na tematické číslo 11 Sborníku ČSAZV - Veterinární medicína, které je zaměřeno na potírání a tlumení tuberkulózy skotu.

Obsahuje tyto práce:

- MVDr. V. Koub a : K úloze vědy při tlumení tuberkulózy skotu.
MVDr. J. Nov ý : Pokus o ekonomický rozbor TBC skotu v okrese.
I. Kub ín : Metódy boje proti tuberkulóze skotu na stát. statcích.
MVDr. J. Pol á k : Tlumení tuberkulózy skotu v málo zamořené oblasti.
MVDr. Frant. Pou s k a : Metódy tlumení tuberkulózy skotu v měřítku kraje.
MVDr. R. Klim š a, MVDr. J. Š u b e r t : Příspěvek k metodě odchovu telat v TBC chovech.
MVDr. O. Hrab ě t a : Metódy společného tlumení TBC a brucelózy skotu.
L. Č e r n ý : Tvorba vláken v tuberkulózní tkáni ve světle elektivních a histochemických barvicích metod.
MVDr. L. Rossi : Studia specifity boviniho a aviárního tuberkulinu.
MVDr. V. Š i m o n : Význam veterinárních vyšetřovacích stanic, jatek a mlékáren při tlumení tuberkulózy skotu.

Toto číslo Sborníku - Veterinární medicína přináší soubor nejaktuálnějších poznatků o tlumení tuberkulózy a bude doplněn dalším souborem prací, který vyjde ve Sborníku Veterinární medicína č. 1/1962.

Objednávky přijímá

Československá akademie zemědělských věd, Praha 2, Slezská 7,

Poštovní novinový úřad, Brno, tř. Obránců míru 2.