

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ,
LESNÍHO A VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ

Veterinární medicína

3

ROČNÍK 9 (XXXVII) — PRAHA, KVĚTEN 1964

CENA 10 Kčs

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ,
LESNÍHO A VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ
VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada: prof. MVDr. Emanuel Král (předseda), akad. Ivan Brauner, MVDr. Jan Čarvaš, doc. MVDr. Jaroslav Dražan, prof. MVDr. Tomáš Gdovin, MVDr. Martin Lis, MVDr. Andrej Mačička, MVDr. Ladislav Polák, doc. MVDr. Oldřich Svoboda, MVDr. Jan Šnoflák, doc. MVDr. inž. Jan Vlček, pplk. MVDr. Miroslav Vojáček, MVDr. Ladislav Zima. — Vedoucí redaktor František Němec.

© Ústav vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 1964

Obsah - Содержание - Inhalt - Content - Contenu

- Scherer V., Hocmanová M.: Hemagglutínácia a agarová precipitácia ako pomocné metódy diagnostiky bovinnej tuberkulózy
Гемагглютинация и агаровая преципитация как вспомогательные методы диагностики туберкулеза крупного рогатого скота
Hemagglutination and Agar Precipitation as Auxiliary Methods in Diagnosis of Bovine Tuberculosis
Hämagglutination und Agarpräzipitation als Hilfsmethoden zur Diagnose der Rindertuberkulose
Hémagglutination et précipitation de gélose comme méthodes auxiliaires du diagnostic de la tuberculose bovine
Hemagglutinacia y precipitación de agar como método auxiliar de la diagnóstico de la tuberculosis bovina 143
- Kazda J., Hampl J.: Příspěvek k biochemické diferenciaci *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium bovis* a *Mycobacterium avium*
К вопросу биохимической дифференциации *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium avium*
On the Biochemical Differentiation of *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium bovis*, and *Mycobacterium avium*
Beitrag zur biochemischen Differenzierung von *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium bovis* und *Mycobacterium avium*
Une contribution à la différenciation biochimique de *Mycobacterium tbc*, de *Mycobacterium bovis* et de *Mycobacterium avium*
Contribución a la diferenciación de *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium avium* 153
- Šimek R., Grígelová R., Záhorský J.: Príspevok k otázke vzťahu medzi tuberkulózou rožného statku a tuberkulózou človeka
К вопросу отношения между туберкулезом крупного рогатого скота и туберкулезом человека
On the Problem of the Mutual Relations Between Tuberculosis of Cattle and Tuberculosis of Man
Beitrag zur Frage der Beziehungen zwischen der Rindertuberkulose und der Tuberkulose beim Menschen
Une contribution à la question des rapports entre la tuberculose bovine et la tuberculose humaine
Contribución a la cuestión de la relación entre la tuberculosis del ganado bovino y la del hombre 159

Hemaglutinácia a agarová precipitácia ako pomocné metody diagnostiky bovinnej tuberkulózy

Гемагглютинация и агаровая преципитация как вспомогательные методы
диагностики туберкулеза крупного рогатого скота

**Hemagglutination and Agar Precipitation as Auxiliary Methods in Diagnosis of
Bovine Tuberculosis**

**Hämagglutination und Agarpräzipitation als Hilfsmethoden zur Diagnose der
Rindertuberkulose**

MVDr. Vítazoslav SCHERER, prom. vet. léc, Mária HOCMANOVÁ,
Ing. Vladimír KRČMĚRY, CSc.

*Odbor špeciálnej diagnostiky ÚŠVÚ - pobočky v Bratislave, vedúci
MVDr. M. Halaša, CSc.*

Ú v o d

Dôsledný boj s tuberkulózou hovädzieho dobytku si vyžaduje neustále spresňovanie jej diagnostiky. Súbežne s tým rastie i potreba komplexnejšieho vyšetrovania, ako aj zavedenia a ďalší vývoj doplnkových metod diagnostiky bovinnej tuberkulózy. Značný rozsah vývojových a výskumných prác, zaoberajúcich sa serologickými metodami diagnostiky tuberkulózy, svedčí o neustávajúcej snahe dosiahnuť i týmto smerom plnšie diagnostické pokroky.

Najuzíavanejšou metódou séro-diagnostiky tuberkulózy sa stala Middlebrook-Dubosova hemaglutinačná reakcia (MDH), ktorá zo všetkých zachytuje najviac pozitívnych prípadov (1) a iba niekedy dáva pozitívne výsledky u netuberkulózných jedincov (1, 4, 15, 38). Pokúsili sme sa preto zhodnotiť význam tejto séroreakcie a jej výsledky sme porovnávali s výsledkami tuberkulinácie i s patologicko-anatomickými nálezmi zvierat po ich odpozarení.

Spolu s MDH sme robili aj precipitačnú reakciu metódou dvojitej difúzie v agare podľa Ouchterlonyho za použitia komplexného antigénu, pripraveného pôsobením ultrazvuku na *M. bovis*.

Materiál a metódy

Vyšetrované séra sme rozdelili do dvoch skupín. V prvej skupine bolo 590 sér od hovädzieho dobytku pozitívne reagujúceho na tuberkulín a dodávaného na bratislavský bitunok v rámci normálnych porážok. Pozitivita na tuberkulín

sa konštatovala podľa patričného označenia ušného boltca a nebola nami v tomto pokuse zvlášť overovaná. V tejto skupine boli iba porovnávané výsledky tuberkulinácie s výsledkami MDH a u MDH-pozitívnych sér aj s výsledkami precipitácie v agare.

V druhej skupine bolo 293 sér od tuberkulín-pozitívnych zvierat, odobrať pred ich porážkou. Tu sa vzájomne porovnával patologicko-anatomický nález, tuberkulínová reakcia, MDH a agarová precipitácia.

Okrem týchto sér sa vyšetrilo 619 sér tuberkulín-negatívnych zvierat.

MDH sa robila podľa metodiky, vypracovanej Pavlasom (2). Ako senzibilinogén sa použil komerčný očný tuberkulín Biovety. Za pozitívny titer sa považoval 1 : 64 a vyšší.

Agarová precipitácia sa robila v 1,75 % Agare pro imunoэлектрофорезу, alebo ÚSOL. Jamky pre antigén i séra boli v agare vyhlbené pomocou trubičiek o priemere 0,7 cm. Antigén i séra sa do jamiek vnášali kapilárou v množstve 0,1 ml. Antigén sa používal vždy v koncentrácii 1 %.

Antigén na precipitáciu sa pripravil ozvučovaním 3% suspenzií 6týždňového porastu *M. bovis* na Petragnaniho pôde (kmene Ravenel a Bi-4) v destilovanej vode. Pri porovnávacích precipitačných reakciách dávali oba antigény v podstate totožné výsledky. Ozvučovanie sa robilo na ultrazvukovom generátore MSE pri 18–21 kC/min. po dobu 30 minút tak, aby teplota neprestúpila 45°C (3). Po ozvučovaní sa suspenzia centrifugovala 60–90 minút pri 4500 ot./min. Supernatant sa použil ako precipitačný antigén. Osvedčil sa tiež ako KFR antigén. Celá ozvučená suspenzia kmeňov *M. bovis* (neodcentrifugovaná) sa na malom počte sér osvedčila ako antigén pre skličkovú aglutináciu.

Setrný spôsob spracovania mykobaktérií pomocou ultrazvuku vylučuje denaturáciu antigenných frakcií, prípadne iné vážnejšie zmeny v štruktúre ich makromolekúl (3).

Výsledky a diskusia

Výsledky našich skúmaní sú uvedené v tabuľkách I. až IV. Z tabuľky I. vidieť, že okolo 60 % tuberkulín-pozitívnych zvierat nedáva pozitívnu MDH. MDH však diferencuje výsledky tuberkulinácie a odráža dynamiku pozitivity či negativity pato-anatomického nálezu. U sekčne negatívnych zvierat (prítom však tuberkulín-pozitívnych) je MDH pozitívna iba v malom počte prípadov (asi 20 %). Prítom precipitácia v agare je tu vždy negatívna, a to aj u tých sér, u ktorých bola pozitívna MDH (tab. II).

I. Hromadné vyšetrovanie MDH a agarovej precipitácie u tuberkulín-pozitívnych i negatívnych zvierat (bez pitevného nálezu)

Výsledky séroreakcií	Tuberkulín-pozitívne zvieratá		Tuberkulín-negatívne zvieratá	
Počet sér	590		619	
Pozitívnych v MDH	248	41 %	31	5 %
Negatívnych v MDH	352	49 %	588	95 %
Z MDH + sér vzatých na precipitáciu	135		31	
Z nich pozitívnych v reakcii precipit.	21	18 %	0	

II. Porovnanie pat.-anatomickeho nálezu s výsledkami MDH a prec. v agare u tuberkulín-pozitívnych zvierat

Pat. — anat. nález	Celkový počet zvierat (sér)	Z toho MDH pozitívna							MDH negatívna						
		počet	%	z nich robená prec. v ag.	prec. pozitív.		prec. negatív.		počet	%	z nich robená prec. v ag.	prec. pozitív.		prec. negatív.	
Negatívny	116	24	20 %	10	∅		10	100 %	92	80 %	35	∅		35	100 %
Lokalizovaný	133	57	43 %	30	9	31 %	21	62 %	76	57 %	52	∅		52	100 %
Generalizovaný	44	32	74 %	28	28	100 %	∅		12	26 %	8	6	75 %	2	25 %
Spolu	293	113							180						

Z tabuľky II vidieť, že u zvierat s lokalizovaným tuberkulóznym procesom (viď nižšie) sa počet pozitívnych výsledkov pohybuje pri MDH okolo 50 %. V prípade viacorgánovej aktívnej *tbc* vystupuje pozitivita MDH na 74 %. V takýchto prípadoch je precipitácia v agare v tých sérach, kde išlo o pozitívnu MDH, 100 % pozitívna. U tých málo sér v tejto kategórii, u ktorých MDH bola negatívna, precipitácia dávala v 80 % prípadoch pozitívny výsledok.

Z výsledkov v tabuľke III prekvapuje značný počet negatívnych pato-anatomických nálezov u tuberkulín-pozitívnych zvierat. U takýchto prípadov je aj MDH na 80 % negatívna (tab. II) a precipitácia je na 100 % negatívna.

Ak berieme do úvahy súhrn prípadov lokalizovaných a generalizovaných foriem *tbc*, výsledky MDH sú v tejto skupine 50 % pozitívne a 50 % negatívne. Pri podrobnejšom skúmaní však zistíme, že MDH pomáha prakticky dosť presne predpokladať, či sa jedná o generalizovaný progredujúci proces alebo proces lokalizovaný. Zo 177 zvierat s pozitívnym pato-anatomickým nálezom len u 12 prípadov sa zistila generalizovaná *tbc* a súčasne negatívna MDH. U zvierat s pozitívnym nálezom ide väčšina negatívnych výsledkov MDH na vrub lokalizovaných *tbc* zmien (tab. II a III).

III. Porovnanie výsledkov patologicko-anatomických nálezov a séroreakcií u tuberkulín-pozitívnych zvierat

Celkový počet zvierat	293
Z nich malo patologicko-anatomický nález pozitívny	177—60 %
negatívny	116—40 %
Celkový počet zvierat s pozitívnym pat.-anatomickým nálezom	177
Z nich mali pozitívnu MDH	89—50 %
negatívnu MDH	88
Celkový počet zvierat s negatívnym pat.-anatomickým nálezom	116
Z nich mali pozitívnu MDH	24—20 %
negatívnu MDH	92—80 %

Pre hodnotenie významu MDH je ďalej významná skutočnosť, že z tuberkulín-negatívnych zvierat len 5 % dávalo pozitívnu MDH (tab. I).

Z tabuliek I a II vidieť, že len u 40 % tuberkulín-pozitívnych zvierat sa v sére dajú pomocou MDH dokázať hemaglutiníny. Možné príčiny negatívnej MDH u tuberkulózných jedincov budú ešte spomenuté nižšie. Neslobodno zabudnúť, že i kvalita samotnej tuberkulinácie a jej posudzovania môže tu hrať významnú úlohu. Ak si však všimame nie počet diskrepantných, ale súhlasných výsledkov tuberkulinácie a MDH, ktoré sa stále pohybujú okolo 50 %, je zrejmé, že dva výsledky sú vždy lepšie ako jeden. Výskyt protilátok v sére a stav alergie sú prejavy dvoch odlišných mechanizmov reakcie organizmu na antigenný podnet. Takto sa bezpečnejšie potvrdí diagnóza *tbc* najmenej u 50 % tuberkulín-pozitívnych zvierat a zachytí sa skoro 80 % generalizovaných foriem *tbc*.

Ani v jednom prípade, kde bol negatívny pato-anatomický nález, nebola pozitívna precipitácia v agare. Asi 80 % zvierat s generalizovanou *tbc*, ktoré dávali negatívnu MDH, dávalo pozitívnu precipitáciu v agare, počet sér tu však bol malý (tab. II).

U 70 % zvierat s generalizovanou *tbc*, ktoré pozitívne reagujú na tuberkulín, je aj výsledok MDH pozitívny. U všetkých týchto zvierat je pozitívna aj agarová precipitácia. Precipitácia zvyšuje teda záchytnosť generalizovanej *tbc*.

Pri celkovom hodnotení našich výsledkov možno pre posúdenie diagnostického významu MDH urobiť tieto závery:

IV. Celkové porovnanie výsledkov sérreakcií a patologicko-anatómických nálezov u 293 tuberkulín-pozitívnych zvierat

Pat.-anat. nález	Počet	Hemaglutinácia				Precipitácia u MDH + u MDH -				
		pozitívnych		negatívnych		spolu	pozit.	neg.	pozit.	neg.
Negatívny	116	24	20 %	92	80 %	45	0	10	0	35
Lokaliz.	135	57	43 %	76	57 %	82	9	21	0	52
Generaliz.	44	32	73 %	12	27 %	36	28	0	6	2
Spolu	293	113		180		163	37	31	6	89

Negatívny výsledok MDH u tuberkulín-pozitívneho zvieraťa vylučuje s 50 % pravdepodobnosťou prítomnosť pato-anatómického nálezu a na 95 % vylučuje generalizovanú a progredujúcu *tbc*.

Pozitívny výsledok MDH u takéhoto zvieraťa na 30 % avizuje generalizovanú *tbc*, v 44 % prípadov môže ísť o lokalizovaný nález a v 27 % prípadov sú výsledky falošné, pretože patologicko-anatómický nález je negatívny.

U 37 % tuberkulín-pozitívnych zvierat nebolo možné nájsť nijaký patologicko-anatómický nález (toto potvrdzujú i iné zdedenia: 49, 50). U 80 % takýchto zvierat bola MDH negatívna. To by mohlo značne pomáhať odlišiť tie tuberkulínové reakcie, ktoré azda nemajú taký klinicky alebo epizootologický význam.

Zvieratá, ktoré majú generalizovanú *tbc*, dávajú vo vysokom percente pozitívnu MDH i precipitáciu v agare. Takéto prípady teda ťažko uniknú komplexnej diagnostike alergickej i serologickej.

MDH dobre odráža pato-anatómický nález najmä v oboch extrémoch. Tam, kde je tento negatívny, je aj MDH na 80 % negatívna. A zasa u 73 % generalizovaných tuberkulózy je aj MDH pozitívna.

Niektoré problémy treba však ďalej a ešte podrobnejšie riešiť. Treba osvetliť, prečo značný počet tuberkulín-pozitívnych zvierat nemá žiaden tuberkulózný nález (37 %) a má negatívnu MDH (50 %). Negatívny makroskopický pato-anatómický nález nemusí ešte znamenať, že zviera je tuberkulózy prosté. Existujú tiež veľké rozdiely v schopnosti jednotlivých zvierat reagovať na antigenný podnet BK tvorbou protilátok. Hladina protilátok v sére môže byť ovplyvňovaná aj vysycovaním, resp. neutralizáciou neustále produkovanými dávkami antigénu, vyplavovanými do krvného obehu z infikovaných orgánov. Preto sa na jediné stanovenie titra hemaglutinínov nedá celkom spoľahnúť (24).

V sérodiagnostike mnohých akútnych ochorení sa za aktivitu procesu pokladá zvyšovanie titra protilátok behom krátkej doby. U chronického ochorenia akým je *tbc* titer protilátok nemusí dosahovať maximum v čase, keď je klinicky zrejмый aktívny proces. Konečne v dôsledku dlhodobej a kontinuálnej produkcie

antigénu perzistujúcimi mikroorganizmami môže dôjsť k určitému stupňu imunologickej paralýzy. Z týchto dôvodov ani výška titru protilátok v sére ani jeho zmeny nemusia mať tu taký význam ako pri iných infekčných chorobách.

Podľa Takahashiho a spol. (6) antigény *M. tuberculosis* ako i rôzne tuberkulíny, obsahujú vždy väčší počet substancií, schopných senzibilizovať erytrocyty. Ich chemickou štruktúrou sa zaoberá väčší počet prác (8—10, 32—35). Grabar (7) zistil, že na normálne erytrocyty sa najlepšie viažu polysacharidové (PS) antigény. Samotný dubosovský antigén je typickým PS antigénom (9). Na tаниzované erytrocyty sa najlepšie viažu proteínové antigény. Väčšina preparátov mykobakteriálnych antigénov je však duálneho charakteru. Iba fosfolipidy z *M. tuberculosis* možno pripraviť ako čisté antigény, neobsahujúce ani proteíny ani PS (8). Dokázalo sa, že séra tuberkulózných jedincov obsahujú najmenej tri druhy od seba odlišiteľných protilátok: antiproteíny, anti-PS a antifosfatidy (5, 6, 11). V MDH reagujú prakticky iba antipolysacharidové protilátky (6). Najšpecifickejšou hemaglutináciou u tuberkulózy je tá, ktorá ako senzibilinogén používa fosfolipidy (10). Fosfolipidy sú totiž uložené hlbšie vo vnútri bakteriálneho tela BK a vznik protilátok proti nim závisí od deštrukcie BK. Preto antifosfatidy najlepšie odrážajú priebeh a rozsah *tbc* ochorenia (12). Vypracovala sa i tomu zodpovedná séroreakcia (13).

Teda MDH v bežnom prevedení zachytáva u tuberkulózných jedincov len časť protilátkového spektra (5, 14) a to prevážne anti-PS protilátky. Nevie sa, ako tieto odrážajú tuberkulózný proces a stav imunity. Preto sme v našej práci doplnili MDH aj precipitáciou v agare. Vzťah precipitínov a hemaglutinínov u tuberkulózy podrobne skúmal Lind (23).

Zatiaľ čo sa tuberkulín (OT) osvedčil ako senzibilinogén pri MDH, ukázal sa byť zlým precipitačným antigénom. Myslí sa (17), že sa precipitinogenné súčasti OT do značnej miery rozrušujú pri jeho príprave. OT použili ako antigén na precipitáciu u tuberkulózy viacerí autori (18—20), avšak práve nízka špecifita a malá citlivosť OT (21) viedla k bezvýslednej snahe izolovať z neho špecifické precipitinogény. Experimentálne práce (22) však naznačujú existenciu týchto v OT. My sme na precipitáciu v agare používali antigén pripravený pôsobením ultrazvuku na *M. bovis* (pozri aj 36).

Parlett a Youman (24) dosiahli precipitáciou v agare v špeciálnom jednoducho kapilárnom usporiadaní (v podstate podľa Oudina) dobrú shodu s klinickými nálezmi. Ako antigény použili pervaporované nezahriate filtráty z kmeňa H37Rv. Thurston a Steenken (25) potvrdili veľmi dobré výsledky s týmto testom. Mechanizmus kapilárnej a platňovej precipitácie v agare u *tbc* porovnával Lind (26). Ak sa kapilárna precipitácia robí spolu s MDH, dosahuje sa takmer úplná zhoda s klinickými nálezmi (25).

Ako metodu sérodiagnostiky *tbc* použili agarovú precipitáciu aj ďalší pracovníci (27—31) a to i na pomocnú diagnostiku bovinnej *tbc* u dobytky. (30). Pozitívne reakcie sa dosahovali obvykle u pokročilých prípadov alebo progredujúcej aktívnej *tbc*.

Porovnanie výsledkov pato-anatomického nálezu, MDH a precipitácie v agare s menším počtom sér urobil aj Hrušovský (37), pričom vcelku dosiahol rozličné výsledky. U zvierat s pozitívnou tuberkulínovou reakciou, ale s negatívnym pato-anatomickým nálezom, má titer 1:31—1:64 v MDH asi 48 % zvierat. Ním použitý PPD precipitoval v agare asi 15 % sér zvierat s tuberkulóznymi pitevnými nálezmi. U prípadov generalizovanej *tbc* 8 sér z 12 dávalo pozitívnu precipitáciu.

Prvé zprávy o použití MDH ako pomocnej metódy diagnostiky bovinnej *tbc* boli optimistické (Gernez-Rieux, Sohier a ďalší, 16—18). Hartwig v r. 1953 a Weinhold v r. 1954 (16) a Wardaman (11) tiež pokladajú MDH za cennú doplnkovú metódu tuberkulinácie. MDH sa však nemôže používať ako náhrada za tuberkulináciu (44—47). Schwartz (47) a Schmidt (48) odporúčajú robiť MDH v mlieku pri podozrení *tbc* mastitíd.

V humánnej medicíne je MDH posudzovaná prevážne priaznivo (5, 15, 18—20, 38—42). Nechýbajú však ani skeptické a kritické hlasy (16, 43, 44). Z týchto sú najzávažnejšie kritické závery rozsiahlej štúdie Spangberga (16). Uvádza, že výskyt pozitívnych výsledkov je síce vyšší v prípadoch rozsiahlej *tbc*, vylučovaní BK v spúte, exudatívnych zmenách atď., ale v žiadnej skupine prípadov sa nedosiahlo vyššie % pozitívnych výsledkov MDH ako 58 %.

Ďalšie namietky sú, že nie je určený vzťah medzi hemaglutinínmi v sére a aktivitou, resp. rozsahom *tbc* procesu alebo odolnosťou organizmu proti tuberku-

lóznej infekcii. Imunita proti *tbc* nie je pravdepodobne záležitosťou prítomnosti alebo neprítomnosti protilátok v sére.

Výskyt protilátok u klinicky zdravých jedincov možno vysvetliť 1. prekonaním ochorenia a spontánnym vyliečením, 2. kontinuálnou expozíciou, pričom nedošlo k nakazeniu sa, 3. tuberkuláciou. (14) (31). Zo 68 študentov, u ktorých bola MDH úplne negatívna, sa u 19 objavili po tuberkulinácii nízke titre MDH protilátok. (16). 4. Nie je vylúčené, či styk s inými acidorezistentnými zárodkami neimituje pozitívnu MDH. Bajan a Schwartz (39) priznávajú, že zatiaľ nemožno uspokojivo vysvetliť príčiny negatívnej MDH u chorých jedincov, určite však nejde o neprítomnosť protilátok. (42). Svoje skúmania uzatvárajú názorom zhodným s naším, že MDH môže spolu s ostatnými klinickými, laboratornými a epizootologickými vyšetrovaniami značne pomôcť pri spresnení diagnostiky *tbc* najmä v konečnej fáze jej hromadnej likvidácie.

Súhrn

U 590 tuberkulín-pozitívnych a 619 sér tuberkulín-negatívnych zvierat porovnali sa výsledky Middlebrook-Dubosovej hemaglutinácie a tuberkulínovej reakcie. U 293 zvierat sa okrem toho porovnali výsledky oboch testov s pitevným nálezom na tuberkulózu. U značného počtu sér, ktoré dávali pozitívnu reakciu hemaglutinácie, vyšetrila sa i precipitácia v agare pomocou antigénu *M. bovis*, pripraveného ultrazvukom.

Ukázalo sa, že hemaglutinačná reakcia je užitočnou doplnkovou skúškou tuberkulinácie, ktorá pomáha diferencovať tuberkulínovú reakciu a dopĺňa ju z ďalšieho aspektu reakcie organizmu na antigénny podnet. Podobne precipitácia v agare pomáha diferencovať výsledky hemaglutinačnej skúšky a to zvlášť u prípadov generalizovanej tuberkulózy.

Negatívny výsledok hemaglutinácie na 50 % vylučuje existenciu pato-anatomickeho tuberkulózneho nálezu u tuberkulín-pozitívnych zvierat a na 95 % vylučuje generalizovanú a progredujúcu *tbc*.

Pozitívny výsledok hemaglutinácie u tuberkulín-pozitívnych zvierat na 30 % indikuje generalizovanú tuberkulózu, v 44 % ide o lokalizovaný nález a v 26 % prípadov sa výsledky hemaglutinácie nezhodujú, pretože patologicko-anatomický nález je negatívny.

U tuberkulín-negatívnych kusov iba 5 % dávalo pozitívnu hemaglutinačnú reakciu.

Došlo dňa 29. 10. 1963

*

Na tejto štúdii technicky spolupracovala technička Zdena Krajčiová, za čo jej ďakujeme. Taktiež ďakujeme kolektívu vet. lekárov hygienickej služby bratislavského bitúniku za ochotnú spoluprácu. Konečne ďakujeme dr. Grünbergerovi a dr. Károvi z Chem. ústavu ČSAV v Prahe za spoluprácu pri ultrazvukovej príprave antigénov.

Literatúra

1. Eidus J., Lányi L. — Die Laboratoriumsdiagnostik der Tuberkulose. — Barth Verl. Leipzig, 1959. — 2. Pavlas M. — Metodika Middlebrook-Dubosovy hemaglutinace. — Návrh standardní metodiky MDH pro SVÜ. Praha, 1961. — 3. Krčméry V., Scherer V., Hocmanová M. — Antigény *M. bovis*, pripravené ultrazvukom. — Prednáška na IV. bakteriologickom seminári, V. Hány, 1961. — 4. Boyden D. E., Sorkin P. — cit. (5). — 5. Wilde —. — Ztschr. ärztl. Fortbild.

52, 520, 1958. — 6. Takahashi J. a spol. — J. exper. Med. 113, 1141, 1961. — 7. Grabar P. a spol. — C. R. Acad. Sci. 234, 899, 1952. — 8. Takahashi J. a spol. — C. R. Soc. Biol. 154, 2163, 1960. — 9. Takahashi J. a spol. — Science, 127, 1053, 1958. — 10. Takahashi J., Ono K. — Amer. Rev. tbc, 83, 381, 1962. — 11. Takahashi J., Fukae N. — C. R. Soc. Biol. 152, 690, 1958. — 12. Takahashi J., Onodera T. — C. R. Soc. Biol. 154, 887, 1960. — 13. Takahashi Y. — Amer. Rev. resp. Dis. 85, 708, 1962. — 14. Vardaman T. H. — Amer. J. vet. Res. 21, 574, 1960. Vardaman T. H., Larsen A. B. — tamže 23, 274, 1962. — 15. Čunderlík J., Schwartz E. — Rozhl. Tuberk. 17, 444, 1957. — 16. Spangberg J. — Acta tuberc. Scand., suppl. 46, 1959. — 17. Parlett R. C., Youmans G. P. — Amer. Rev. tbc. 74, 450, 1958. — 18. Smith D. T., Scott B. N. — Amer. Rev. tbc. 62, 51, 1950. — 19. Schwartz B. a spol. — Amer. Rev. tbc. 66, 594, 1952. — 20. Hollander A. G. a spol. — Amer. Rev. tbc. 67, 497, 1953. — 21. Burrell R. R. a spol. — Amer. Rev. tbc. 74, 259, 1956. — 22. Lagercrantz R. — Acta Path. Micr. Scand. 38, 492, 1956. — 23. Lind A. — Int. Arch. Allergy 16, 336, 1960. — 24. Parlett R. C., Youmans G. P.: — Amer. Rev. tbc. 77, 462, 1958. — 24a. Parlett R. C., Rehr C. A. — Amer. Rev. resp. Dis. 80, 886, 1959. — 25. Thurston J. R., Steenken W. J. — Amer. Rev. resp. Dis. 81, 695, 1960. — 26. Lind A. — Int. Arch. Allergy 18, 305, 1961. — 27. Greene J. A. a spol. — Univ. Michigan Med. Bull. 27, 79, 1961. — 28. Šír Z. — Rozhl. Tuberk. 19, 769, 1959. — 29. Krška J., Horák M. — Tamže 19, 690, 1959. — 30. Almássy K. — Magy. Állatorv. Lap. 17, 199, 1962. — 31. Alshabkhoun A. a spol. — Amer. Rev. resp. Dis. 81, 704, 1960. — 32. Williams C. A., Dubos R. J. — J. exp. Med. 110, 981, 1959. — 33. Tsumita T., Matsumoto R. — Exc. Med. IV, 470, 1961. — Jap. J. Med. Sci. Biol. 13, 131, 1960. — 34. Földes J. — Acta micr. Acad. Sci. Hung. 8, 115, 1961. — 35. Hokari S. — Med. J. Shinshu Univ. 2, 317, 1957 (Podrobne cit. v Exc. Med., sect. IV, 1958). — 36. Blagoveščenskij V. A. a spol. — Žurn. Mikr. epid. imunol. 33, č. 8, 130, 1962. — 37. Hrušovský F. — neuvěřené pozorovania. — 38. Brenna G., Di Mauro N. — Minerva med. 50, 2949, 1959. — 39. Bajan A., Schwartz E. — Brat. lékařs. listy 43/I, 276, 1963. — 40. Schwartz E. — Rozhl. Tuberk. 19, 222, 1959. — 41. Hermann W.: — Tuberkulosearzt 12, 69, 1958. — 42. Popp L. — Zbl. Bakt. I. Orig. 170, 98, 1957. — Z. Immunitätsforsch. 117, 420, 1959. — 43. Karapata A. P. — Sov. Med. 25, č. 10, 29, 1961. — 44. Kertay N. — Acta microbiol. Hung. 5, 165, 1958. — 45. Gray D. F. — Austral. vet. J. 29, 293, 1953. — 46. Zeller K. — M. Tierheilkunde 1953, Rinder-tbc, 152-159. — 47. Schwartz H. — Arch. Lebensmittel-Hyg. 9, 29, 1958. — 48. Schmidt G. — Schw. Z. allg. Path. Bakt. 17, 444, 1954. — 49. Masár J. — Poznátky z cesty do Dánska a Anglicka. — Referát na mikrobiol. seminári v Bratislave, 11. X. 1963. — 50. André J. — osobné zdelenie.

Гемагглютинация и агаровая преципитация как вспомогательные методы диагностики туберкулеза крупного рогатого скота

У 590 туберкулин-положительных и 619 сывороток туберкулин-отрицательных животных сравнивались результаты гемагглютинации Мидлбрук-Дубоса и туберкулиновой реакции. У 293 животных кроме того сравнивались результаты обоих тестов с туберкулезным диагнозом на вскрытии. У значительного числа сывороток, которые показывали положительную реакцию гемагглютинации, исследовалась и преципитация в агаре при помощи антигена *M. bovis*, приготовленного ультразвуком.

Было установлено, что реакция гемагглютинации является полезным дополнительным испытанием туберкуликации, помогающим дифференцировать туберкулиновую

реакцию, и дополняет ее дальнейшим аспектом реакции организма на антигенный импульс. Подобным образом преципитация в агаре помогает дифференцировать результаты испытания гемагглютинации, притом особенно в случаях общего туберкулеза.

Отрицательный результат гемагглютинации исключает на 50 % пато-анатомический туберкулезный диагноз у туберкулин-положительных животных и на 95 % — общий и прогрессирующий туберкулез.

Положительный результат гемагглютинации у туберкулин-положительных животных в 30 % указывает на общий туберкулез, в 44 % означает местный диагноз, а в 26 % случаев результаты гемагглютинации не сходятся, потому что патолого-анатомический диагноз негативен.

У туберкулин-негативных голов только 5 % показывали положительную реакцию гемагглютинации.

Hemagglutination and Agar Precipitation as Auxiliary Methods in Diagnosis of Bovine Tuberculosis

In 590 tuberculin-positive and in 619 sera of tuberculin-negative animals we compared the results obtained with Middlebrook-Dubos's hemagglutination with the tuberculin reaction. Besides this we compared in 293 animals the results obtained in both tests with the autopsy findings with regard to tuberculosis.

In a considerable number of sera reacting positively to hemagglutination also the agar precipitation was investigated by means of the antigen prepared by means of ultra-sound. It was shown that the hemagglutination reaction is a useful complement to the tuberculation test, which helps to differentiate the tuberculin reaction and complements it as regards a further aspect of the reaction of the organism to an antigenic stimulation. Similarly also agar precipitation helps to differentiate the results of the hemagglutination test, particularly in cases of generalized tuberculosis.

A negative result of hemagglutination excludes in 50 per cent the existence of a patho-anatomical tuberculous finding in tuberculin-positive animals, and in 95 per cent the generalized and progressive tuberculosis.

A positive result of hemagglutination in tuberculin-positive animals in 30 per cent indicates generalized tuberculosis, in 44 per cent there is a localized finding, and in 26 per cent of cases the results of hemagglutination do not agree as the pathologico-anatomical finding is negative.

In tuberculin-negative animals only 5 per cent gave a positive hemagglutinative reaction.

Hämagglutination und Agarpräzipitation als Hilfsmethoden zur Diagnose der Rindertuberkulose

Bei 590 Sera von auf Tuberkulin positiv und 619 auf Tuberkulin negativ reagierenden Tieren wurde das Ergebnis der Hämagglutination nach Middlebrook-Dubos und die Tuberkulinreaktion verglichen. Bei 293 Tieren wurden außerdem die Ergebnisse der beiden Teste mit dem Sektionsbefund der Tuberkulosenuntersuchung verglichen. Bei einer großen Anzahl von Seren, die eine positive Reaktion der Hämagglutination gaben, untersuchten wir auch die Präzipitation in Agar, und zwar mit Hilfe des Antigens *M. bovis*, das mittels Ultraschall zubereitet wurde.

Es zeigte sich, daß die Hämagglutinationsreaktion eine nützliche zusätzliche Prüfung zur Tuberkulinisierung ist, die uns hilft, die Tuberkulinreaktion zu differenzieren und sie in bezug auf die Reaktion des Organismus auf einen durch Antigene hervorgerufenen Impuls erweitert. Ähnlich hilft die Präzipitation im Agar, die Ergebnisse der Hämagglutinationsprüfung zu differenzieren, und zwar besonders bei Fällen von generalisierter Tuberkulose.

Ein negatives Ergebnis der Hämagglutination schließt zu 50 % bei tuberkulinpositiven Tieren die Existenz eines pathoanatomischen Tuberkulosebefundes und zu 95 % eine generalisierte und progressive Tbc aus.

Ein positives Ergebnis der Hämagglutination bei tuberkulinpositiven Tieren indiziert zu 30 % eine generalisierte Tuberkulose, bei 44 % handelt es sich um einen lokalisierten Befund und bei 26 % der Fälle ist das Ergebnis der Hämagglutination nicht übereinstimmend, da der pathologisch-anatomische Befund negativ ist.

Bei tuberkulinnegativen Tieren hatten nur 5 % eine positive Hämagglutinationsreaktion.

Z materiálu Studijně dokumentačního střediska Ústavu vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 2, Slezská 7

Cantoni C., Casillo S.: Changes in the conglutination index of tuberculous cattle (Změny v konglutinačním indexu při tuberkulóze skotu). 1963, Arch. Vet. Ital. 14, 205-213. 1963, Dtsch. tierärztl. Wschr. 70, 359-363.

Stöckl W., Auer H.: Demonstration of tubercle antibodies in bovine sera by the tube gel precipitation technique of Parlett and Youmans (Průkaz tuberkulóz-ních protilátek v bovinním séru Parlettovou a Youmansovou gelovou precipitační metodou ve zkumavce). 1963, Rindertuberk. u. Brucellose 12, 88-93.

Nassal J.: The fresh blood rapid agglutination test for the diagnosis of tuberculosis in fowls (Rychlá aglutinační zkouška s použitím čerstvé krve k diagnóze tuberkulózy u drůbeže). 1963, Rindertuberk. u. Brucellose 12, 109-116.

Andrejev A. I.: Reakcija svjazyvanija komplemента na tuberkulez so slož-no-smešannym antigenom (Reakce vazby komplementu na tuberkulózu za použití smíšeného antigenu). 1963, Veterinarija, č. 7, 66-67.

Příspěvek k biochemické diferenciaci *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium bovis* a *Mycobacterium avium*

К вопросу биохимической дифференциации *Mycobacterium tbc*,
Mycobacterium bovis и *Mycobacterium avium*

On the Biochemical Differentiation of *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium bovis*,
and *Mycobacterium avium*

Beitrag zur biochemischen Differenzierung von *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium*
bovis und *Mycobacterium avium*

Dr. Jindřich KAZDA, CSc., dr. Jaroslav HAMPL

Výzkumný ústav veterinárního lékařství Brno-Medlánky, ředitel doc. dr. inž.
Jan Vlček

Úvod

Podobně jako u jiných bakteriálních druhů, kde se od biologických metod diferenciaci přechází stále více k přesnějším a citlivějším metodám biochemickým, tak i v bakteriologii tuberkulózy se v posledních letech prosazuje tendence zpřesnit typizaci zavedením biochemických metod. Tyto metody spočívají především v detekci určitých enzymatických systémů, druhově specifických.

Literární přehled

Otázka diferenciacie patogenních mykobakterií ve veterinární medicíně je širší a druhově bohatší, neboť zahrnuje i *Myco avium*. Z tohoto důvodu je nutno rozšířit výběr metod tak, aby bylo možno diferencovat vedle *Myco tbc* a *Myco bovis* i *Myco avium*.

Metody diferenciacie jsou nejvíce propracovány při diferenciaci *Myco tbc* a *Myco bovis*. Zajímavé srovnání biologických a biochemických metod uvádí Meissnerová (1961), která na velkém počtu humánních a bovinních kmenů, ukázala, že 27 % humánních a 14 % bovinních kmenů se nepodařilo typizovat biologickým pokusem. Podle Bönickeho (1962) je u metod biochemických toto procento daleko nižší, a to 1–2 %.

Jednou z běžně používaných metod je stanovení aktivity enzymů, tzv. nitrátoreduktáz. Těmito metodami se zabývala řada autorů (Kumagai 1950, Edson 1951, Gordon a Smith 1953–1955, Boisvert 1961). Velmi obšírně se touto problematikou zabýval Virtanen (1960). Z vyšetřených

750 kmenů *Myco tbc* reagovalo 742 pozitivně, 1 slabě pozitivně a 7 negativně. Z 23 kmenů *Myco bovis* mělo 21 negativní reakci, 2 slabě pozitivní. Z 12 vyšetřených kmenů *Myco avium* bylo 7 negativních a 5 silně pozitivních.

Jak uvádí Bönicke (1962), šlo u pozitivně reagujících aviárních kmenů o jiný druh mykobakterií, což dotvrzuje zjištění téhož autora, podle něhož z 33 kmenů *Myco avium* reagovaly všechny negativně. V poslední době potvrdil tyto údaje i Tacquet (1962). U nás se touto problematikou zabývali Sytařová a Novák (1962). Průkaz redukce nitrátů lze tedy použít k rozlišení *Myco tbc* na straně jedné a *Myco bovis* a *Myco avium* na straně druhé.

V poslední době se zásluhou rozsáhlých studií Bönického (1962a) podařilo prokázat druhově specifickou řadu enzymů, náležících do skupiny acylamidás. V tzv. amidové řadě autor použil k diferenciaci velkého počtu jednotlivých druhů mykobakterií soustavu 10 enzymů, a to: acetamidázy, benzamidázy, ureázy, isonikotinamidázy, nikotinamidázy, pyrasinamidázy, salicylamidázy, allantoinamidázy, sukcinamidázy a malonamidázy. *Myco tbc* má podle autora pozitivní reakci s ureou a nikotinamidem, *Myco bovis* pozitivní reakci s ureou a negativní s nikotinamidem, allantoinem, benzamidem, sukcinamidem a acetaminem a konečně *Myco avium* pozitivně reaguje s nikotinamidem a pyrazinamidem a negativně se zbývajícími amidy.

Pro námi uváděný účel diferenciaci by bylo možno použít stanovení ureázy, nikotinamidázy a pyrazinamidázy. Vzhledem k tomu, že převážná část pokusů Bönického s amidovou řadou byla prováděna s atypickými a saprofytickými mykobakteriemi, nejsou známy reakce *Myco bovis* a *Myco tbc* s pyrazinamidem.

Další slibnou metodou vhodnou k diferenciaci *Myco bovis* od ostatních dvou typů patogenních mykobakterií je stanovení dehydrogenační aktivity (DHA), která je podle Virtanena (1960) průkazně nižší u *Myco bovis* než u *Myco tbc* a zejména u *Myco avium*.

K podobnému závěru došel ve své práci Hirsch a Kattanéo (1958), který rovněž u aviárních kmenů zjistil vyšší DHA.

DHA se prokazuje redukcí tzv. tetrazoliových solí (např. 2,3,5-trifenyltetrazoliumchlorid), které jsou redukovány flavinovými enzymy přítomnými v mitochondriích na červeně zbarvený formazan (Darzins 1958).

Na základě zhodnocení literárních poznatků jsme zvolili kombinaci 5 metod, a to: redukce nitrátů, stanovení DHA a stanovení aktivity ureázy, nikotinamidázy a pyrazinamidázy, vhodných k diferenciaci *Myco tbc*, *Myco bovis* a *Myco avium*.

Metodika

Redukce nitrátů byla zjišťována v modifikaci podle Sytařové a Nováka (1962) v Šulově půdě s obsahem 0,02 % NaNO_3 po třítydenní inkubaci při 37°C. Důkaz NO_2^- byl proveden Griesovým činidlem. Výsledky byly odečítány kvalitativně. Celkem bylo vyzkoušeno 31 kmenů *Myco tbc*, 21 kmenů *Myco bovis* a 24 kmenů *Myco avium*.

Rozklad nikotinamidu, urey a pyrazinamidu jsme zjišťovali metodou popsanou Bönickem (1962) s průkazem amoniaku podle Russela (1944). Pokusy byly prováděny se suspenzí bakteriální masy s přepočtením na 5 mg polovlhké váhy. K 1 ml 0,00164 M roztoku příslušného amidu byl přidáván 1 ml bakteriální suspenze ve fosfátovém tlumivém roztoku M/15, pH 7,2. Po 18 hod. inkubaci při 37°C bylo přidáno 0,2 ml roztoku MgSO_4 , 2 ml alkalického roztoku fenolu a 1 ml hypochloritového roztoku. Vzniklé zelenomodré zbar-

vení bylo fotometrováno při 6870 Å na fotokolorimetru Minor v kulaté kyvetě o průměru 1 cm. Koncentrace vzniklého amoniaku je udávána v jednotkách γ/ml . Bylo prověřeno 38 kmenů *Myco tbc*, 13 kmenů *Myco bovis* a 24 kmenů *Myco avium*.

Stanovení DHA bylo prováděno v modifikaci podle Virtanena (1960) po dvouhodinové inkubaci při 37° C. Koncentrace vzniklého formazanu je udávána v hodnotách extinkce fotokolorimetru (kulatá kyveta o průměru 1 cm, filtr 5270 Å). Výsledky jsou přepočteny na 10 mg bakteriální masy. Bylo prověřeno 38 kmenů *Myco tbc*, 26 kmenů *Myco bovis* a 32 kmenů *Myco avium*.

Získané výsledky byly variačně statisticky zhodnoceny t-testem podle Studenta.

Kmeny *Myco tbc* byly získány laskavostí Dr. Sytařové a Dr. Nováka z Krajské laboratoře *tbc* v Brně, některé kmeny nám laskavě poskytl Dr. Černovský z Ústředního státního veterinárního ústavu, pobočka Brno, dále byly zkoušeny sbírkové kmeny oddělení pro výzkum *tbc* Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně. Asi v polovině případů šlo o sbírkové kmeny. U ostatních, převážně primokultur nebo subkultur, bylo jejich typové zařazení ověřeno biologickým pokusem.

Vlastní výsledky

Přehled výsledků dosažených při redukci nitrátů udává tab. I:

I.

Typ	Redukce NO_3			Počet kmenů
	+	$\pm$	—	
<i>Myco tbc</i>	29	1	1	31
<i>Myco bovis</i>	0	3	18	21
<i>Myco avium</i>	0	2	22	24

Dosažené výsledky při stanovení enzymatické aktivity ureázy, nikotinamidázy, pyrazinamidázy a DHA jsou uvedeny v tab. II:

II.

Typ	ureáza	nikotinamidáza	pyrazinamidáza	DHA
	γ/ml			E
<i>Myco tbc</i>	$4,5 \pm 3,4$	$5,5 \pm 3,2$	$3,9 \pm 2,6^*$	$0,21 \pm 0,08$
<i>Myco bovis</i>	$7,4 \pm 3,7$	0**	0	$0,05 \pm 0,05+$
<i>Myco avium</i>	0***	$5,7 \pm 4,4$	$5,4 \pm 3,8$	$0,38 \pm 0,18$

Vysvětlivky: * V jednom případě reakce negativní

** U jednoho laboratorního kmene 0,5 γ/ml

*** U tří laboratorních kmenů naměřen slabý rozklad, méně než 0,5 γ/ml

+ V 11 případech reakce negativní

Variačně statistickým hodnocením rozdílů biochemických reakcí mezi jednotlivými druhy bylo zjištěno:

a) *Myco tbc* se liší od *Myco bovis* významně v redukci nitrátů, v aktivitě nikotinamidázy a pyrazinamidázy a dále DHA ($P < 0,001$). Aktivita ureázy je neprůkazně vyšší u *Myco bovis*.

b) *Myco tbc* se významně liší od *Myco avium* v redukci nitrátů, v aktivitě ureázy a DHA ($P < 0,001$).

c) *Myco bovis* a *Myco avium* se významně liší v aktivitě ureázy, nikotinamidázy, pyrazinamidázy a DHA ($P < 0,001$).

Diskuse

Jak vyplývá z výsledků, je diferenciací volena tak, aby nejméně dvě metody potvrzovaly typovou příslušnost. V případě rozlišení *Myco tbc* od *Myco bovis* a *Myco bovis* od *Myco avium* jsou to dokonce 4 metody. Tato skutečnost dovoluje zařadit poměrně spolehlivě i ty kmeny, u nichž se při některé reakci vyskytnou výjimky.

Vzhledem k tomu, že metody diferenciací jsou zaměřeny též na *Myco avium*, bylo upuštěno od tzv. niacinového testu, jehož spolehlivost podle Bönického (1962a) předčí reakce s nikotinamidem.

V předložené práci se nezabýváme rozlišením těchto tří typů od atypických mykobakterií, i když podle Bönického (1962) a Virtanena (1960) by bylo možno pomocí této kombinace určit též *Myco kansasii* (I skupina fotochromogenní mykobakterií), a to v případě pozitivní redukce nitrátů, pozitivního stanovení ureázy a nikotinamidázy a negativního stanovení pyrazinamidázy. Rozlišení *Myco avium* od typu Battey, které provádíme podle arylsulfatázové aktivity (Kubica a spol. 1960) zde pro malý počet případů neuvádíme.

Souhrn

Byla použita kombinace pěti biochemických metod, a to: redukce NO_3 , stanovení aktivity ureázy, nikotinamidázy, pyrazinamidázy a dále dehydrogenáční aktivity (DHA). Redukce nitrátů byla zkoušena u 31 kmenů *Myco tbc*, 21 kmenů *Myco bovis* a 24 kmenů *Myco avium*. Aktivita ureázy, nikotinamidázy, pyrazinamidázy byla zjišťována u 38 kmenů *Myco tbc*, 13 kmenů *Myco bovis* a 24 kmenů *Myco avium*. DHA byla stanovena u 38 kmenů *Myco tbc*, 26 kmenů *Myco bovis* a 32 kmenů *Myco avium*.

Přehled výsledků udávají tabulky.

Myco tbc se vyznačuje pozitivní redukcí NO_3 , pozitivní aktivitou ureázy, nikotinamidázy a pyrazinamidázy a DHA.

U *Myco bovis* byla zjištěna pozitivní ureáza, negativní redukce NO_3 , nikotinamidáza, pyrazinamidáza a téměř negativní DHA.

Myco avium se vyznačuje pozitivní nikotinamidázou, pyrazinamidázou a DHA, negativní ureázou a redukcí NO_3 .

Myco tbc a *Myco bovis* lze rozlišit podle redukce NO_3 , aktivity nikotinamidázy a pyrazinamidázy a DHA.

Myco tbc lze rozlišit od *Myco avium* podle redukce NO_3 a aktivity ureázy.
Myco bovis lze rozlišit od *Myco avium* podle aktivity ureázy, nikotinamidy, pyrazinamidy a DHA.
Od popsáných druhů lze uvedenými metodami rozlišit též *Myco kansasii*.

Došlo dne 20. 12. 1963

Literatura

1. Boisvert H.: Ann. Inst. Pasteur, 100, 352, 1961. — 2. Bönicke R.: Ann. Soc. Belge Med. Trop. 4, 403, 1962. — 3. Bönicke R.: Bulletin of the International Union against Tuberculosis 32, 1, 13, 1962a. — 4. Darzis E.: The Bacteriology of Tuberculosis. Univ. Minnesota Press, Minneapolis, 1958. — 5. Edson N. L.: Bact. Rev. 15, 147, 1951. — 6. Gordon R. E., Smith M. M.: J. Bact. 66, 41, 1953. — 7. Hirsch A., Cattaneo C.: Zeitschr. f. Hyg. 145, 71, 1958. — 8. Kubica G. P., Vestfal A. L.: Am. Rev. resp. Dis. 83, 728, 1961. — 9. Kumagai H.: Sc. Rep. Res. Inst. Tohoku Univ., ser. C, 210, 1950. — 10. Meissner G.: Tuberkulosearzt, 15, 151, 1961. — 11. Russell J.: J. Biol. Chem., 156, 457, 1944. — 12. Sytařová J., Novák M.: Použití Virtanenova nitrátového testu k diferenciaci mykobakterií. Referát na bakter. semináři Vyšné Hány, 1962, 10. — 13. Tacquet A.: Ann. Soc. Belge Med. Trop., 4, 383, 1962. — 14. Virtanen S.: Acta tub. Scand., suppl. 48, 1960.

К вопросу биохимической дифференциации *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium avium*

Применялась комбинация пяти биохимических методов, а именно: редукция NO_3 , определение активности уреазы, никотинамидазы, пиразинамидазы и, далее, дегидрогенизованной активности (DHA). Редукция нитратов испытывалась у 31 штамма *Myco tbc*, 21 штамма *Myco bovis* и у 24 штаммов *Myco avium*. Активность уреазы, никотинамидазы, пиразинамидазы устанавливалась у 38 штаммов *Myco tbc*, 13 штаммов *Myco bovis* и у 24 штаммов *Myco avium*. DHA была установлена у 38 штаммов *Myco tbc*, 26 штаммов *Myco bovis* и у 32 штаммов *Myco avium*.

Обзор результатов приводят таблицы.

Myco tbc отличается положительной редукцией NO_3 , положительной активностью уреазы, никотинамидазы и пиразинамидазы и DHA.

У *Myco bovis* была установлена положительная уреазы, отрицательная редукция NO_3 , никотинамидазы, пиразинамидазы и почти отрицательная DHA.

Myco avium отличается положительной никотинамидазой, пиразинамидазой и DHA, отрицательной уреазой и редукцией NO_3 .

Myco tbc можно отличить от *Myco bovis* по редукции NO_3 , активности никотинамидазы и пиразинамидазы и DHA.

Myco tbc можно отличить от *Myco avium* по редукции NO_3 и активности уреазы.

Myco bovis можно отличить от *Myco avium* по активности уреазы, никотинамидазы, пиразинамидазы и DHA.

От описанных видов при помощи приведенных методов можно также отличить *Myco kansasii*.

On the Biochemical Differentiation of *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium bovis*, and *Mycobacterium avium*

The following combinations of five biochemical methods were applied: reduction of NO_3 , determination of the activity of urease, nicotinamidase, and pyrazinamidase, and further the dehydrogenative activity (DHA). The reduction of nitrates was tested in 31 strains of *Mycobacterium tuberculosis*, in 21 strains of *M. bovis*, and in 24 strains of *M. avium*. The activity of urease, nicotinamidase, and of pyrazinamidase was determined in 38 strains of *Mycobacterium tuberculosis*, in 13 strains of

M. bovis, and in 24 strains of *M. avium*. DHA was determined in 38 strains of *Mycobacterium tuberculosis*, in 26 strains of *M. bovis*, and in 32 strains of *M. avium*.

A survey of the results obtained is given in tables.

Mycobacterium tuberculosis is characterized by a positive reduction of NO_3 , by a positive activity of urease, nicotinamidase, and of pyrazinamidase, and by positive DHA.

In *M. bovis* a positive activity of urease was found, a negative reduction of NO_3 , nicotinamidase, pyrazinamidase, and an almost negative DHA.

M. avium is characterized by a positive nicotinamidase, pyrazinamidase, and DHA, and by a negative urease and reduction of NO_3 .

M. tuberculosis may be distinguished from *M. bovis* according to the reduction of NO_3 , according to the activity of nicotinamidase and pyrazinamidase, and DHA.

Mycobacterium tuberculosis may be distinguished from *M. avium* according to the reduction of NO_3 and according to the activity of urease.

M. bovis may be distinguished from *M. avium* according to the activity of the urease, nicotinamidase, pyrazinamidase, and of the DHA.

From the described species also *Mycobacterium kansasii* may be distinguished by means of the mentioned methods.

Beitrag zur biochemischen Differenzierung von *Mycobacterium tbc*, *Mycobacterium bovis* und *Mycobacterium avium*

Es wurde eine Kombination von fünf biochemischen Methoden verwendet, und zwar: die NO_3 -Reduktion, die Bestimmung der Aktivität von Urease, Nikotinamidase und Pyrazinamidase und ferner die Bestimmung der Dehydrogenationsaktivität (DHA).

Die Nitratreduktion erprobten wir bei 31 Stämmen *Myco tbc*, bei 21 Stämmen *Myco bovis* und 24 Stämmen *Myco avium*. Die Aktivität der Urease, Nikotinamidase und Pyrazinamidase bestimmten wir bei 38 Stämmen *Myco tbc*, 13 Stämmen *Myco bovis* und 24 Stämmen *Myco avium*. Die DHA stellten wir bei 38 Stämmen *Myco tbc*, 26 Stämmen *Myco bovis* und 32 Stämmen *Myco avium* fest.

Eine Übersicht der Ergebnisse ist den Tabellen zu entnehmen.

Das *Mycobacterium tbc* zeichnet sich durch eine positive NO_3 -Reduktion, eine positive Aktivität der Urease, Nikotinamidase und Pyrazinamidase und eine positive DHA aus.

Bei *Myco bovis* wurde eine positive Urease, eine negative Nitratreduktion und eine negative Nikotinamidase und Pyrazinamidase und eine beinahe negative DHA festgestellt.

Myco avium ist durch eine positive Nikotinamidase, Pyrazinamidase und DHA und durch eine negative Urease und NO_3 -Reduktion gekennzeichnet.

Myco tbc und *Myco bovis* können nach der NO_3 -Reduktion, der Aktivität der Nikotinamidase und Pyrazinamidase und nach der Dehydrogenationsaktivität voneinander unterschieden werden.

Myco tbc kann von *Myco avium* nach der NO_3 -Reduktion und der Ureaseaktivität differenziert werden.

Myco bovis ist von *Myco avium* durch die Aktivität der Urease, Nikotinamidase, Pyrazinamidase und durch die DHA zu unterscheiden.

Mittels der angeführten Methoden kann auch *Myco kansasii* von den beschriebenen Arten unterschieden werden.

Príspevok k otázke vzťahu medzi tuberkulózou rožného statku a tuberkulózou človeka

**К вопросу отношения между туберкулезом крупного рогатого скота
и туберкулезом человека**

**On the Problem of the Mutual Relations Between Tuberculosis of Cattle and
Tuberculosis of Man**

**Beitrag zur Frage der Beziehungen zwischen der Rindertuberkulose und der
Tuberkulose beim Menschen**

**Une contribution à la question concernant le rapport entre la tuberculose des bovins
et la tuberculose humaine**

**Contribución a la cuestión de la relación entre la tuberculosis del ganado bovino
y la del hombre**

Dr. R. ŠIMEK, Dr. R. GRÍGELOVÁ, J. ZÁHORSKÝ

*Liečebňa detskej tuberkulózy Lučivná, riaditeľ dr. R. Šimek, Ústav tuberkulózy
Bratislava, riaditeľ dr. J. Markovič.*

Ú v o d

Otázka tuberkulózy dobytky a jej vplyv na ochorenie človeka stali sa v posledných rokoch problémom, o ktorom sa veľa diskutuje. Príčinou všeobecného záujmu je hlavne tá okolnosť, že *Myco-bovis*, ako agens špecifického ochorenia u človeka, sa v celosvetovom meradle zisťuje priemerne v 10 %, čo znamená, že jedna desatina tuberkulózných ľudí by neochorela, keby nebolo tuberkulózy dobytky (Goerttler) (4, 5, 7, 9, 10, 11, 16).

Ako vyplýva z údajov mnohých autorov (1, 6, 13, 15), je však podiel u detí oveľa vyšší, takže Schenkovi už v r. 1947 razené heslo: „Kindertuberkulose — Rindertuberkulose“ (10) má aj dnes svoje plné oprávnenie. Podľa doteraz najväčšej svetovej štatistiky, spracovanej Goerttlerom a Weberovou (6, 7), podiela sa *Myco-bovis*, ako pôvodca pľúcnej tbc u človeka, v 4,2 %, u tbc mimoplúcnej v 21,6 %, u periférnych lymfatických uzlín však dokonca v 40,3 %. Podľa niektorých autorov (1, 3, 8, 12, 16, 17, 18) je však výskyt *Myco-bovis* v krčných lymfatických uzlinách omnoho častejší a dosahuje až 80 %, v abdominálnych dokonca až 90 % (13, 14). Brough k tomu ešte dokazuje, že vo Veľkej Británii zomrelo v rokoch 1941—1944 500 osôb na bazilárne meningitídy a ďalších 1050 na mimoplúcnu tbc vyvolanú *Myco-bovis* (1, 16). Tieto okolnosti potvrdzujú skutočnosť, že tuberkulóza dobytky je veľmi závažným zdrojom ochorenia pre ľudí a hlavne pre deti (19), čo nas viedlo k tomu, aby sme sledovali výskyt bovinnej infekcie u detí liečených v našom ústave. Od roku 1952 do konca roku 1969 liečili sme celkom 4505 detí, z toho 3591 s tbc pľúc a pohrudnice, 627 s tbc kostí a zhybov a 287 s ostatnými formami mimoplúcnej tbc. Z týchto celkove bolo 889 BK-pozitívnych.

U všetkých pacientov sme založili 434 700 kultivácií rovnakým dielom na pevnej vaječnej pôde Loewenstein-Jensen-Holmovej a na tekutej sérovej pôde podľa Šulu. Z nich bolo 14 697 BK-pozitívnych, t. j. 3,38 %. Z tohto materiálu sme v posledných 4 rokoch prešetrili 140 kmeňov od pacientov s pľúcnou a 24 kmeňov od pacientov s mimopľúcnou tbc. *Myco-bovis* bolo zistené iba v jednom prípade u dieťaťa s mimopľúcnou tbc.

Pri pomerne značnej premorenosti rožného statku očakávali sme častejší výskyt *Myco-bovis* u detí hlavne preto, že išlo predovšetkým o pacientov pochádzajúcich z vidieka alebo o deti, ktoré sa na vidieku každoročne dlhší čas zdržiavali. To, že sme u nich *Myco-bovis* nedokázali, vysvetľovali sme si:

1. jednak nedostatočnou účinnosťou doteraz bežne používaných kultivačných metód a živných pôd, ako na to pred časom už poukazoval Urech (1953),

2. jednak sme uvažovali aj o možnosti spätnej nákazy *Myco-tbc* od dobytky. Viedla nás k tomu aj tá okolnosť, že u väčšiny detí bol zdroj infekcie neznámy.

Infekcia dobytky *Myco-tbc* sa v odbornej literatúre popisuje iba ojedinele a vcelku sa jej nepripisuje veľká dôležitosť. Aby sme sa presvedčili vôbec o výskyte *Myco-tbc* u rožného statku, rozhodli sme sa prešetriť väčší počet vzoriek od statku poraženého pre tbc a zároveň vyskúšať vhodnosť nami používaných živných pôd na izoláciu *Myco-bovis*.

Materiál a metodika

Materiál sme získali z jatky vo Svite, odkiaľ nám veterinárni pracovníci denne posielali v sterilných nádobách excízie z orgánov porázaných zvierat. Jednalo sa o časti pľúc, pečene, sleziny, o mediastinálne uzliny, prípadne aj o črevá, ktoré sa dodali do nášho laboratória v ten istý deň, kedy zviera sa porazilo. Vzorky sa rozrezali na malé kúsky, rozmelili v tretej miske s pridaním fyziologického roztoku a filtrovali cez sterilnú gázu. Ďalej sme pokračovali rovnako ako pri kultivácii *Myco-tbc*. Na 5 ml filtrátu sme pridali 7 ml 3,7% HCl, nechali účinkovať 20 minút pri izbovej teplote, pridali 4 ml 8% NaOH a centrifugovali 20 minút pri 2500 obrátkach/min. Po odpipetovaní 15 ml supernatantu sme sediment roztrepali vo zvyšku tekutiny a po 0,5 ml preniesli do živných pôd, a to z každej vzorky na pôdu tekutú i pevnú. Z jedného sedimentu sme pravidelne naočkovali najmenej 3 skúmavky z každej pôdy.

Ako živného prostredia sme používali osvedčenú pevnú pôdu vaječnú podľa Loewenstein-Jensen-Holma s 2% glycerínu i bez glycerínu, ako aj tekutú pôdu Šulovu s 10 % bravčového séra. Rast sme kontrolovali okrem toho na pôde Petraganiho. Skúmavky boli uzavreté tesnou gumovou zátkou.

Inkubovali sme pri 37° C, pričom sa kultúry kontrolovali najprv za 6 týždňov a potom týždenne do 12. týždňa. Dostatočne vyrastené kultúry sme preočkovali, a to tak, že jedna bakteriologická slučka kultúry zoškriabnutá z pevnej pôdy sa rozotrela a roztrepala v 5 ml fyziologického roztoku a 0,1 ml tejto suspenzie sa preniesla na ďalšie pevné pôdy. U tekutých pôd sa polovička roztoku odpipetovala, v zvyšku sa rozpracovali kolónie tak, aby vznikla rovnomerná suspenzie, ktorá potom v množstve 0,5 ml sa preniesla na pevné pôdy.

Rast v subkultúrach bol oveľa rýchlejší, za 14 až 21 dní. Vcelku sme prešetrili 358 vzoriek excízií od 195 kráv so zrejmyými nálezmi špecifického uzlinového a pľúcného nálezu, z ktorých sme izolovali 123 kmene mykobaktérií. Z týchto sme vyhodnotili 101 kmeňov. U každého kmeňa sme previedli biologický pokus na králikovi a morčati, ďalej morfológické hodnotenie, diferenciatívny niacinový test, test katalázový a peroxydázový, ako aj určenie citlivosti na základné antituberkulotiká.

Izolácie a určenie citlivosti sme previedli v laboratóriu liečebne tbc v Lučivnej, podobne ako niacinové, katalázové a peroxydázové testy. Pokusy na zvieratách a ďalšiu typizáciu nám v najužšej spolupráci robili pracovníci ÚT v Bratislave a čiastočne bakteriologického laboratória ve Vyšných Hágoch.

Výsledky

I. Výsledky mikroskopického vyšetrenia v porovnaní s kultivačnými výsledkami

Mikroskopické vyšetrenia		Z toho vyšetrené kultivačne			
	počet	kult. +	%	kult. —	%
mikroskopicky +	124	87	70,2	37	29,8
mikroskopicky —	97	49	50,5	48	49,5
Spolu	221	136	61,5	85	38,5

Z uvedených 358 vzoriek sme založili 221 kultivácií, ktoré sme pred inkubáciou vyšetrili aj mikroskopicky. Mikroskopicky pozitívnych bolo 37 vzoriek, ale kultivačne nevyšli, 48 vzoriek bolo negatívnych mikroskopicky i kultivačne. Vcelku teda 38,5 % vzoriek sa nedalo bežnými kultivačnými metódami, určenými na preukaz *Myco-ibc*, vykultivovať. Z vyšších kultivácií bolo 49, t. j. 29,4 %, predtým mikroskopicky negatívnych.

61 vzoriek sme kultivovali na tekutej pôde Šulovej s 10 % bravčového séra a súčasne na vaječnej pôde Loewenstein-Jensen-Holmovej s glycerínom i bez glycerínu.

Na všetkých troch pôdach vyrástlo	26 kultivácií (42,6 %)
len na pôdach L-J-H s glycerínom i bez glycerínu	7 kultivácií (11,5 %)
len na pôde Šulovej	2 kultivácie (3,3 %)
nevyrástlo vôbec	26 kultivácií (42,6 %)

Vcelku teda vyrástlo 57,4 % vzoriek, pričom pevné pôdy sa ukázali o 8,5 % účinnejšie ako tekuté. Z uvedených 26 negatívnych kultivácií bolo predtým 35 % BK-pozitívnych. Ak porovnáme pôdy s glycerínom a bez glycerínu zisťujeme, že o niečo lepšie rástli kultúry na pôdach s glycerínom (49,2 % : 46 %).

Pôdu Petragraniho sme vyskúšali v 160 prípadoch, pričom sme jej vhodnosť porovnávali s pôdou Šulovou.

Na oboch pôdach vyrástlo	37 kultivácií (23,1 %)
len na pôde Petragraniho vyrástlo	60 kultivácií (37,5 %)
len na pôde Šulovej vyrástlo	3 kultivácie (1,9 %)
nevyrástlo vôbec	60 kultivácií (37,5 %)

Na pevnej pôde Petragraniho vyrástlo 60,6 % kmeňov, čo je o 35,6 % viac ako na pôde tekutej. Pôda Petragraniho sa v tomto prípade ukázala tiež ako účinnejšia než pôda Loewenstein-Jensen-Holmova, pričom rast na tejto pôde bol nepomerne bohatší. Z 60 negatívnych kultivácií bolo predtým 25, t. j. 41,7 %, mikroskopicky pozitívnych. Zo 73 mikroskopicky negatívnych vzoriek vyrástlo mykobakterium v polovine prípadov (37krát), z toho v 21 prípadoch (56,7 %) iba na pôde Petragraniho.

Ak teda zhrnieme kultivačné výsledky, zisťujeme, že priemerne v 38,5 % sú naše doteraz používané živné pôdy málo citlivé na preukaz mykobaktérií, hlavne *Myco-bovis*. Najmenej vhodná sa nám ukázala tekutá pôda s 10 % bravčového séra, najlepšie rástli kultúry na pôde Petragraniho, čo potvrdzujú aj iní autori. Medzi pôdami Loewenstein-Jensen-Holmovými s glycerínom a bez glycerínu nebolo, čo do vhodnosti a účinnosti, podstatnejšieho rozdielu.

Z hodnotených 101 kmeňov vyrástlo v primokultúre 76 kmeňov rastom dysgonickým a 25 kmeňov eugonickým. Po preočkovaní na ďalšie pevné pôdy podržalo si 74 kmeňov pôvodnú rastovú formu (69 dysgonických a 5 eugonických), zatiaľ čo 27 kmeňov sa menilo (26,8 %), a to 20 z eugonického na dysgonický a 7 kmeňov zmenilo rastovú formu dokonca dvakrát (z dysgonického na eugonický a naspäť na dys-

gonický). Vcelku v subkultúrach rástlo 96 kmeňov dysgonicky a 5 eugonicky. Keďže pri preočkovaní sa dodržiavala približne rovnaká veľkosť inokula, vyplýva z toho pomerná labilita rastových foriem, ktoré plynule prechádzajú jedna v druhú, pričom však u *Myco-bovis* prevažuje forma dysgonická.

Z piatich eugonicky rastúcich kmeňov boli u dvoch (č. 1783 a 1785) kolónie väčšie a suchšie, slabo pigmentované, obidva boli patogénne pre králik, a preto pokladané za *Myco-bovis*. Ďalšie dva kmene mali rastový charakter čiste eugonický — bohatý rast s veľkými pigmentovanými kolóniami typického karfiolového tvaru (kmene č. 489 a 490). Tieto dva kmene javili v biologickom pokuse vlastnosti *Myco-tbc*. Jeden kmeň rástol vo forme menších, suchších kolónií, slabo pigmentovaných (č. 638). V biologickom pokuse bol tento kmeň naprosto nepatogénny pre králik a pre morča vykazoval značne zníženú virulenciu.

Pri biologických pokusoch vychádzali sme zo všeobecne známych poznatkov, že:

1. *Myco-bovis* je patogénne pre králik a morča, vyvolávajú u oboch generalizovanú tbc,

2. *Myco-tbc* sú patogénne len pre morča, zatiaľ čo u králik nevyvolávajú buď žiadne zmeny, alebo len ojedinelé uzlíčky v pľúcach.

Previedli sme proto u všetkých kmeňov biologické pokusy na zvierati. Rovnakou dávkou (asi 0,003 mg polosuchej váhy) infikovali sme súčasne králik (i. v.) a morča (s. c. do inguiny). Zvieratá sme pozorovali po 10 týždňov, ak už skôr neuhynuli na generalizovanú tbc. Doba trvania biologického pokusu až do vytvorenia generalizovanej tbc je zachytená na tabuľke II.

II. Doba trvania biologického pokusu

Pokusné zviera zahynulo	Do 4 týždňov	Do 6 týždňov	Do 8 týždňov	Do 10 týždňov	Nedošlo ku generalizovanej tbc
Králik	59 (58,4 %)	13 (12,8 %)	18 (17,8 %)	8 (7,9 %)	3 (2,9 %)
Morča	15 (14,8 %)	30 (29,7 %)	25 (24,7 %)	30 (29,7 %)	1 (0,9 %)

Do 4 týždňov po infekcii zahynulo 59 králikov, pričom najkratší čas vzniku generalizovanej tbc bol 16 dní. Do 6 týždňov zahynulo 13 králikov a 18 do 8 týždňov po naočkovaní. Do 10 týždňov sa dožilo iba 8 králikov, ktorí sa usmrtili a u ktorých sa zistila tak isto generalizovaná tbc. U 3 zvierat infikovaných kmeňmi čís. 489, 490 a 638 nedošlo ku generalizácii ani po 10 týždňoch (išlo o kmene *Myco-tbc*).

Morčatá hynuli po infekcii takto: 15 do 4 týždňov, pričom najkratší čas vzniku generalizovanej tbc boli 3 týždne, 30 do 6 týždňov, 25 do 8 týždňov a 30 ich bolo

III. Výskyt špeciálnych zmien v jednotlivých orgánoch králikov

Orgán	Makroskopicky zistené zmeny	Histologické zmeny	Výskyt mykobakterií
Pľúca	98	98	96
Slezina	95	95	91
Pečeň	92	65	71

usmrtených po 10. týždni. U všetkých sme zistili známky generalizovanej tbc. Jeden kmeň (č. 638) vyvolal u morčata len miestne zmeny regionálnych uzlín, a to aj vo vyšších koncentráciách (10–20 mg). Kmeň bol rezistentný na 10 gamma INH s negatívnou katalázovou a peroxydázovou reakciou.

Nálezy u zvierat sa hodnotili podľa makroskopických a histopatologických zmien jednotlivých orgánov. Zo skúmaných 101 kmeňov boli 3 pre králikov úplne nepatogénne a zaradené preto ako *Myco-tbc*, ostatných 98 kmeňov vyvolalo generalizovanú tbc a boli preto považované za *Myco-bovis*. Kmene č. 489, 490 a 638, ktoré sa pri typizácii ukázali ako *Myco-tbc*, boli izolované z kazeifikovaných mediastinálnych uzlín. Tieto uzliny boli asi veľkosti fazule, ostatný somatický nález zvierat bol normálny. Rozsiahle špecifické zmeny boli na pľúcach a poväčšine i v slezine králikov, zatiaľ čo pečeň u niektorých zvierat nebola postihnutá. Výskyt špeciálnych zmien v jednotlivých orgánoch podáva tabuľka III.

Žo všetkých orgánov sa založili kultivácie. Diferenciáciu sme si doplnili preočkovaním kmeňov na pôdy s obsahom bromkresol-purpuru. Všetky kmene, okrem 3 prv uvedených, svedčili pre *Myco-bovis*. Rovnaké výsledky dal aj niacinový test. Makroskopické a histologické zmeny v orgánoch pokusných zvierat neboli v žiadnej korelácii s patologicko-anatomickými zmenami chorých zvierat.

Citlivosť na tri základné antituberkulotiká sme sledovali na pevných vaječných pôdach podľa Loewenstein-Jensen-Holma s obsahom 0,04 až 20 gamma INH a 1 až 50 gamma STM a PAS. Pre nesúrodé výsledky, ktoré boli v rozpore so zistenou vysokou virulenciou mykobaktérií pre pokusné zvieratá, sme od hodnotenia upustili. Podobne premenlivé boli aj výsledky katalázového testu. Zo 101 kmeňov malo iba 54, t. j. 53,5 % test pozitívny, zatiaľ čo peroxydázový test bol vo všetkých prípadoch negatívny.

Diskusia

Prešetrili sme 101 kmeňov mykobaktérií izolovaných z uzlín a orgánov tuberkulózneho dobytká, pričom sme v 98 prípadoch zistili *Myco-bovis*, v 2 prípadoch *Myco-tbc* citlivé na tri základné antituberkulotiká a v jednom prípade kmeň hodnotený ako úplne rezistentný kmeň *Myco-tbc*, kde rezistencia bola v súlade so zníženou virulenciou. Zistila sa pomerne značná premenlivosť rastu *Myco-bovis*, ktorý je však v prevážnej väčšine rázu dysgonického. Podobne ako *Proküpék*, aj my sme našli 2 kmene otypované ako *Myco-bovis*, ktoré rástli čiste eugonicky. Tento spôsob rastu u *Myco-bovis* je teda možný, aj keď nie je častý. *Proküpék* ho zistil v 0,5 %, my v 2 % prípadov.

Podobne je tomu aj s preukazom *Myco-tbc* u rožného statku. Prv uvedený autor uvádza 0,75 % z podobného materiálu ako je náš, avšak s tým rozdielom, že ním popísané kmene rástli dysgonicky. V našej zostave sa *Myco-tbc* vyskytuje v 3 % vyšetrovaných kmeňov s typickým eugonickým rastom.

Vzhľadom na túto okolnosť prešetrili sa krmiči a dojiči dvoch roľníckych družstiev, odkiaľ infikované kravy pochádzajú. Z 39 ľudí zamestnaných pri ošetrovaní dobytká sú pre tbc pľúc v evidencii dvaja ošetrovatelia dobytká, z ktorých jeden prekonal bazilárnu meningitídu a druhý je chorý na cirrhotickú tbc pľúc. U tohto chorého bola v r. 1953 prevedená thpl I–IV. Iný zdroj sa nedal zistiť, je však treba podotknúť, že okolo dobytká pracuje veľký počet príležitostných robotníkov, ktorí značne fluktuujú, a ktorí sa nemohli zachytiť.

Práca so zdravým dobytkom je, vzhľadom na možnosť nákazy zvierat od človeka, či už *Myco-bovis*, alebo *Myco-tbc*, epidemiologicky závažná. Nakoľko pracovníkov v mliečnom hospodárstve možno prakticky považovať za pracovníkov v potravinárstve, bolo by veľmi účelné, s ohľadom na komplexne vedený boj

proti tuberkulóze, u všetkých týchto pracovníkov bezpodmienečne vyžadovať zdravotnícke preukazy a tieto kádre stabilizovať.

Je treba sa ďalej vážne zaoberať zmenou metodiky kultivácie mykobaktérií. *Myco-bovis* rastie na obvyklých pôdach zrejme iba vtedy, ak inokulum je bohaté na zárodky a i v tom prípade je viac ako tretina neúspechov. Doterajšia metodika pomnoženia baktérií v živom organizme a jeho typizácia neskorším preočkovaním na pevné pôdy je veľmi zdĺhavá a nákladná. Ani jedna z doteraz používaných pôd k rutínnej kultivácii neposkytuje optimálne podmienky pre rast *Myco-bovis*, preto bude treba vážne sa zamerať na ich úpravu. Každopádne je však treba predĺžiť inkubačný čas na 12 týždňov. Prvé kroky v tomto smere sa už učinili: v NDR Schmiedel, u nás Hejný a Šimek.

S ú h r n

Počas 4ročného obdobia podarilo sa od detí liečených v Liečebni detskej tbc v Lučivnej dokázať a izolovať *Myco-bovis* len v jednom prípade. Tento nízky výskyt možno vysvetliť hlavne nedostatočnou technikou izolácie (kultiváciou na bežných pomnožovacích pôdach). Súčasne sa však uvažovalo aj o možnosti nákazy detí od chorého dobytku infikovaného *Myco-tbc*. Toto nás viedlo k tomu, aby sme prešetrili 358 vzoriek excízií od 195 kráv porazených pre tbc. Zo 101 kompletne vyšetrených kmeňov našlo sa *Myco-tbc* v 3 prípadoch. Súčasne sme zaznamenali zlyhanie kultivácií *Myco-bovis* na bežných živných pôdach, aj po masívnej inokulácii, v 38,5 %.

Došlo dňa 29. 10. 1963

L iteratúra

1. Bajan A.: Epidemiologický význam bovinnej tbc so zvláštnym zreteľom na tbc detského veku. Prednesené na schôdzi Pneumolog. a ftizeologickej spoločnosti v Bratislave 1959.
2. Braun H. - Lebek G.: Med. Mschr. 1955, č. 6, 299-406 a č. 7 477-481.
3. Brough L.: Investigation of an outbreak of bovine tbc in a rural area in Leicestershire. Brit. J. Tbc. citovaný u Bajana (1) a Schreitera (15).
4. Goerttler V.: Sonderdruck aus wiss. Tagung 12.-23. 2. 1955, str. 185-187.
5. Goerttler V.: Berl. u. Münchener Tierärztl. Wschrft., 1954, 2, 21. —
6. Goerttler V.: Zschrft. f. ärztl. Fortbildg. 1957, č. 6-7, 304-312.
7. Goerttler V. a Weberová E.: Bovine Tuberkulose als Ursache humaner Tuberkulose. F. Enke Verlag Stuttgart, 1954.
8. Grigelová R., Sýkora F., Bajan A.: Príspevok k výskytu bovinného typu *Myco-tbc* u ľudí. Prednesené na II. bakteriolog. seminári vo Vyšných Hágoch, 1960.
9. Ickert Fr.: Ärztl. Praxis, 39, 24, 1954.
10. Kathe J.: Kindertuberkulose-Rindertuberkulose. Prophylaxe, 1954, 6, 237-247.
11. Käßler W. - Laugwitz N.: Mschrft. Tbk. Bekpf. 1962, 1-2, 8-15.
12. Kleinschmidt H.: Der Tbkarzt, 1958, 8, 471-476.
13. Knappe K.: Die Tbkarzt 1956, 12, 761-766.
14. Müller R. W.: Münchn. Med. Wschrft. 1955, 29, 920-922.
15. Schreiter G.: Zschrft. f. ärztl. Fortbildg. 1957, 14, 589-596.
16. Wiesmann E.: Schw. Zschrft. f. Tbk. 6, 122-135, 1949.
17. Wissler H.: Schw. med. Wschrft. Bd. 15. 1954.
18. Wissler H.: Acta tub. belg. 45, 3, 302-304, 1954.

К вопросу отношения между туберкулезом крупного рогатого скота и туберкулезом человека

В продолжение 4-летнего периода у детей, лечившихся в детской больнице tbc в Лучивной, удалось доказать и изолировать *Mycobacterium bovis* лишь в одном случае. Этот низкий процент можно объяснить, главным образом, недостаточной техникой изоляции (культивацией на обычных средах). Однако одновременно обсуждалась и возможность инфекции детей от больного скота, инфицированного *Mycobacterium bovis*. Это заставило нас исследовать 358 проб вырезов от 195 коров, забитых из-за tbc. В числе 101 полностью обследованного штамма был обнаружен *Mycobacterium bovis* в 3 случаях. Одновременно мы отметили безуспешность культивации *Mycobacterium bovis* на обычных питательных средах — даже после массивной инокуляции — в 38,5 % случаев.

On the Problem of the Mutual Relations Between Tuberculosis of Cattle and Tuberculosis of Man

In the course of a 4 years' period only in a single case was it possible to isolate *Mycobacterium bovis* from children treated at a hospital for infantile tuberculosis at Lučivna. This small occurrence may be explained mainly by an insufficient technique of isolation (cultivation on common propagation media). Simultaneously also the possibility of an infection of children by cattle infected with *Mycobacterium var. hominis* was considered. This induced us to examine 358 samples of excisions from 195 cows that had been killed because of tuberculosis. Of 101 completely examined strains *Mycobacterium var. hominis* was found in 3 cases. Simultaneously we observed a failure of cultivations of *Mycobacterium bovis* on current media — even after massive inoculation — in 38,5 per cent.

Beitrag zur Frage der Beziehungen zwischen der Rindertuberkulose und der Tuberkulose beim Menschen

Im Verlauf von vier Jahren konnte bei Kindern in der Tuberkulosenheilstalt in Lučivna nur in einem einzigen Fall das *Mycobacterium bovis* nachgewiesen und isoliert werden. Dieses geringe Vorkommen kann hauptsächlich durch die unzureichende Isolierungstechnik (durch die Kultivierung auf üblichen Nährböden) erklärt werden. Gleichzeitig wurde auch die Möglichkeit erwogen, daß die Kinder von kranken, mit *Myco tbc* infizierten Rindern angesteckt werden können. Das führte uns dazu, 358 Exzisionsproben von 195 wegen Tuberkulose geschlachteten Kühen zu untersuchen. Von 101 komplett untersuchten Stämmen fanden wir *Myco tbc* in drei Fällen. Gleichzeitig beobachteten wir in 38,5 % der Fälle ein Eingehen der *Myco-bovis*-Kulturen auf üblichen Nährböden, und zwar auch nach einer massiven Inokulation.

Une contribution à la question concernant le rapport entre la tuberculose des bovins et la tuberculose humaine

Au cours d'une période de quatre années on n'a réussi à prouver et à isoler à partir des enfants traités dans l'établissement de la tuberculose infantile à Lučivná le Myco-bovis que dans un seul cas. Cette apparition faible, on peut l'expliquer notamment par une technique d'isolation insuffisante (les cultures ayant lieu sur des sols de reproduction courants). En même temps on a cependant songé à la possibilité d'infection des enfants ayant son origine dans l'infection des bovins contaminés par le *Mycobacterium bovis* de la tuberculose. Ce fait nous a conduit à l'examen de 358 échantillons d'excisions, provenant de 195 vaches sacrifiées à cause de la tuberculose. Sur 101 souches complètement examinées, on a trouvé le Myco-tbc en 3 cas seulement. En même temps nous avons remarqué un échouement des cultures de Myco-bovis sur les sols nourriciers courants en 38,5 p. 100 de cas — même après une inoculation massive.

Contribución a la cuestión de la relación entre la tuberculosis del ganado bovino y la del hombre

En el curso de un período de cuatro años se logró demostrar, en el caso de niños curados en el sanatorio para la tuberculosis infantil en Lučivná el Myco-bovis y aislar este último, sólo en un caso. Esta baja presencia se puede explicar, particularmente por la aislación técnica insuficiente (cultivación sobre medios de reproducción corrientes). Sin embargo, se consideró también la posibilidad de la infección de criaturas del ganado enfermo, infeccionado por Myco-tbc.

Esta circunstancia nos condujo al hecho de examinar 358 muestras de excisias de 195 vacas matadas a causa de la tuberculosis. De 101 razas examinadas completamente se encontró el Myco-tbc en tres casos. Al mismo tiempo se verificaron presencias de las culturas de Myco-bovis sobre medios de reproducción corrientes — aún después de una aislación minuciosa — en un 38,5 %.

Z materiálu Studijně dokumentačního střediska Ústavu vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 2, Slezská 7

Vicard A.: Mode d'action du mycobactérium de Koch pathogène, leur incidence dans la prophylaxie de la maladie tuberculeuse. (Působení patogenního *Mycobacterium Koch* a jeho vliv na profylaxi tuberkulózy). 1963, Bull. Acad. vétérin. France (N. S.) 36, č. 3, str. 139-148.

Vicard M. A.: Pour une base scientifique et rationnelle de la prophylaxie de la tuberculose bovine. Pour un secteur de prophylaxie libre et contrôlée. (O vědeckém a racionálním základu profylaxe tuberkulózy skotu). 1962, Bull. mens. Soc. vétérin prat. France, č. 9, str. 302-310.

Krvný obraz v diagnostike moru ošipaných

Картина крови в диагностике чумы свиней

The Blood Count in the Diagnosing of Hog Cholera

Das Blutbild bei der Diagnostik der Schweinepest

MVDr. Ján PLEVA CSc.

Úvod

Hematologické vyšetřovania dostávajú v posledných rokoch širšieho uplatnenia i vo veterinárnej medicíne. Viac sú preštudované jednotlivé zmeny v krvnom obraze u prežúvavcov a jednokopytníkov ako u ošipaných. Táto skutočnosť zčasti pramení i z dôvodov obtiažnejšej manipulácie pri získavaní krvi u týchto zvierat v porovnaní so zvieratmi prv uvedenými. Následkom chýbania jednotnej spoľahlivej diagnostickej metódy pri niektorých chorobách prasiat siaha sa potom k vyšetřovaniu krvi ako doplnkovej metódy v uštalovaní diagnóz. Tak je tomu aj pri more ošipaných.

Prehľad literatúry

V literatúre o krvných zmenách pri more ošipaných nachádzame dnes pomerne početné názory a pripomienky. Abreu (1955) popisuje protrombinemiu pri tejto nákeze. Andrejev (1951) zase pripisuje veľký význam počtu retikulocytov, podobne ako Mathias, Schmidt (1957), zatiaľ čo Vyššelevskij (1954), Pleva, Vrtiak (1958) podčiarkujú nápadný pokles červených krviniek a hemoglobínu. Mathias, Klaus (1959) popisujú tvorbu vakuol v krvinkách ošipaných, uhynutých na mor, kým Černomordik (1939) prízvukuje hlavne zmeny v reakcii sedimentácie červených krviniek, podobne ako Sánchez (1957).

Väčšina autorov však vidí najtypickejšie zmeny v počte leukocytov. Pokles počtu leukocytov pod 10 000 v 1 mm³ pokladá Černomordik (1939) za sprievodný zjav infekcii morom ošipaných. Andrejev (1951) udáva hranicu 8 000, Bjeľkov (1940) pod hranicu 5 000 a Manninger, Mocsy (1954) pripúšťajú v niektorých prípadoch pokles leukocytov až pod hodnotu 1 000 v cmm. Dunne, Luedke, Reich, Hokanson (1957), Charbr (1955), Kudrjavcev (1953), Nikitin (1950), Smirnov (1948), Siňov (1955), Scheuner, Rauscher (1956) a Pinkiewicz (1960) potvrdzujú sústavný nález leukopenie pri ochorení na mor ošipaných. Zároveň referujú o markantnej lymfocytóze s následným vymiznutím eozinofilov.

O funkcii leukopénie pri imunizácii ošipaných proti moru podáva zprávu Osborne (1958). Je toho názoru, že prejav poklesu bielych krviniek je do určitej miery žiaduci k vytvoreniu sa solídnej imunity. Dräger (1957) vo svojich pokusoch

dokázal, že vírus moru ošipaných i po adaptácii na králikovi si zachoval svoju charakteristickú vlastnosť — schopnosť vyvolať leukopéniu. Podobný názor zdieľajú i Janowski, Stryszak (1958). Podľa ich výsledkov nastupuje od 3.—5. dňa a kulminuje na 7.—8. deň, avšak len asi u 30 % ošipaných. Oláh (1960) dáva leukopéniu do priameho súvisu so stupňom pomnoženia lapinizovaného vírusu v organizme. Jeho experimenty dokazujú, že za 4—12 dní od aplikácie lapinizovanej vakcíny sa vyvinie leukopénia a pokles bielych krviniek činí 30—80 % z pôvodného stavu. Zmeny po očkovaní krystalvioletovou vakcínou u 6—8 mesačných prasiat popisuje Lolin (1957). Zaznamenal silnú lymfocytózu a nezmenený počet neutrofilov.

Materiál a metodika

V našich pokusoch sme sledovali krvné obrazy 98 kusov ošipaných, chorých na mor. Z uvedeného počtu 47 bolo umele infikovaných vírusom moru ošipaných a 51 prasiat pochádzalo z prirodzeného ohniska nákazy. U prvej skupiny sme vyšetrenia prevádzali každý druhý deň po prevedenej infekcii, kým u prasiat v teréne sme podchytili hematologické vyšetrenia len jednorázove pred ich porážkou. Ako kontrola nám slúžili výsledky vyšetrení pri štúdiu anémie zdravých prasiat ako i doterajšie ďalšie skúsenosti so zmenami v krvných obrazoch pri niektorých nákazlivých chorobách prasiat ako je červienka, infekčná obrna, chrípka, paratýf a pod.

Odber sme prevádzali pravidelne ráno pred kŕmením. Krv sme odobrali z ušných vén. Hemoglobín sme určovali Sahliho metódou hemometrom GIM a RSE podľa Westergrena, sklonenú pri 50°. Počet červených a bielych krviniek sme stanovovali klasickou metódou v Bürkerovej komôrke. Rozpočet bielych krviniek sme prevádzali na 200 buniek.

Výsledky

Východzie hodnoty červených krviniek prasiat úmele infikovaných boli po väčšine jednotné. V letných mesiacoch sa pohybovali medzi 6.—7. milionami, kým v zime a v jarných mesiacoch činili v priemere 5—6 milionov. Ich počet po infekcii začínal postupne klesať a už na piaty deň erytropenia znamenala menej ako 4 miliony červených krviniek. Tým zároveň dochádzalo k poikilocytoze a schizocytoze. Retikulocyty v našich pokusoch nedávali hodnotiteľné zmeny. Hodnoty hemoglobínu ustupovali rovnobežne s pohybom erytrocytov a niekoľko dní pred exitom boli pod hranicou 40 %.

Po aplikácii vírusu moru ošipaných dochádzalo už v prvé dni k zrýchleniu reakcie sedimentácie červených krviniek, najmarkantnejšie predovšetkým pri odpočítávaní po 60 minútach. Z prešetreného počtu 47 infikovaných prasiat u 29 kusov dosiahla RSE najväčších hodnôt na 5. deň po nakazení v hodnotách: 79, 124, 133, 141 (posúdené po 30, 60, 120 minútach, a 24 hodinách).

Zvýšenie počtu leukocytov sme registrovali pravidelne na druhý — tretí deň po infekcii, o čom svedčí zvýšený počet bielych krviniek u 39 prasiat z tejto skupiny nad 20 tisíc Lc. V ďalšie dni ich hodnoty klesali k norme a len na 6.—7. deň po nakazení sme zistili ich náhly pokles. Tento sme pozorovali u 41 kusov prasiat. Počet bielych krviniek v tomto období činil v priemere 8900 a ani v jednom prípade nepresahoval hranicu 12 000 Lc. Po tomto náhlom znížení počty bielych krviniek v rapidnom poklese pokračovali a to v akútnych

prípadoch ochorenia až do úhynu. V prípadoch chronického charakteru bol tento zostup zpravidla na 3—4 dni prerušený, aby potom v pozvoľnom ubúdaní pokračoval až k hodnotám pod 6 tisíc Lc.

V skupine umele infikovaných prasiat 6 pacientov len tesne pred exitom dávalo obraz leukopénie.

Počet lymfocytov v našich pokusoch na druhý a tretí deň po infikovaní badateľne poklesol v priemere na 33 %. Po tejto prechodnej lymfopenii došlo na 4.—5. deň k narastaniu počtu týchto agranulocytov rovnomerne až po 9.—10. deň, keď lymfocytóza dosiahla numeru 86 % v priemere. Výraznejšiu lymfocytózu vyvolával kmeň Ši-min.

Monocyty a bazofily nehrali v našich výsledkoch podstatnejšej roli pre svoj malý počet výskytu ako v krvi zdravých tak i po nakazení.

V skupinách našich pacientov sme pred infikovaním zaznamenávali v priemere 4—6 % eozinofilov. V prvé dni po infekcii prevládala v krvných obrazoch miera eozinofilia (7—8 %), ktorá sa na 4.—5. deň vracala k norme. Len v posledné dni pred exitom nastúpila výrazná eozinopenia (1—2 %) a v niektorých prípadoch až úplné vymiznutie týchto bielych jaderných krviniek.

V prvé dni po infekcii nastala neutrofilia s posunom jadra vľavo. Asi od piateho dňa po nakazení — čo sa vo väčšine prípadov rovnalo s obdobím narastania klinických príznakov — došlo k ubúdaniu neutrofilných leukocytov približne až k 10. dňu od aplikácie vírusu, aby si neutropenia zachovala takéto hodnoty až po exitus. Tak ako u predošlých bielych krviniek, tak ani u týchto bunečných elementov sme nepozorovali zvláštnych morfológických zmien. Len v posledných dňoch života sa objavovali ojedinele jaderné tieňe v prevádzaných diferencálnych rozpočtoch.

V prirodzenom ohnisku nákazy sme vyšetrili jednorázove krv 51 prasiat chorých na mor. U 24 kusov sme zaznamenali počet červených krviniek pod 4 milióny v 1 cmm, u 19 prasiat v počte do 5 miliónov a u 8 ošípaných počet erytrocytov presahoval hranicu 6 miliónov. Hodnoty krvného farbiva sa pohybovali medzi 40 a 50 %. Reakcia sedimentácie červených krviniek dala v priemere tieto výsledky: 49, 91, 124, 129. Prítom však u 10 kusov sa len mierne odchyľila od fyziologickej normy.

U 14 prasiat došlo k silnej leukopénii s priemerom 7400 Lc v 1 cmm. Vo väčšine prípadov (31 prasiat) sa leukocyty pohybovali medzi 12 a 19 tisícami a u 6 pacientov prekračovali úroveň 20 tisíc.

Komplexné charakteristické zmeny pre mor ošípaných sme našli len u 22 prasiat s výraznou lymfocytózou (nad 77 %) a neutropéniou (1—2 %) s posunom jadra vľavo. U ďalších 15 prasiat výsledky diferencálneho rozpočtu boli veľmi rozdielne v nálezoch, a u 14 kusov leukogram bol takmer v medziach normy.

Diskusia

Väčšina autorov ako Kudrjavcev (1953), Andrejev (1951), Nikitin (1956) a pod. neprikladá vážnejší dôraz na zmeny v červených krvinkách a v krvnom farbive. Všetci uvedení jednoducho uzavierajú, že pri more ošípaných môže dojsť k prejavom anémie, ktorá sa prejaví poklesom počtu červených krviniek a hodnot hemoglobínu. Viac v tejto krvnej zložke podčiarkujú morfológické zmeny ako je polychromatofília, anizocytóza a nález erytroblastov. V našich pozorovaniach zase viac prichádzajú do popredia kvantitatívne zmeny erytrocytov, hoci i registrovanie poikilocytov až schizocytov nebolo zriedkavé. V diagnostike tohto ochorenia zdá sa nám byť erytopenia (pokles Ec pod 4 milióny v cmm) hodnovernejším a trvanlivejším prejavom.

Retikulocyty v našich pozorovaniach nedávali takú charakteristickú hodnotu ako ju popisuje Andrejev (1951), Mathias a Schmidt (1957). Vysvetľujeme to tým, že sme do našich pokusov zaradili prasatá staršie ako tri mesiace, u ktorých už pred infikovaním sme zaznamenávali len 3—4 % retikulocytov v priemere.

Počty leukocytov bývajú v literatúre považované za najvýznamnejší ukazovateľ k podopretiu diagnózy moru ošipaných. Niektorí autori pritom udávajú veľmi nízke hodnoty k vyjadreniu leukopénie, priamo v absolútnych číslach. Naše skúsenosti nabádajú k percentuálnemu hodnoteniu ubúdania počtu bielych krviniek, pretože fyziologická norma bielych krviniek u prasiat kolíše v značnom rozpätí.

Výsledky našich prác sú v podstate zhodné s uzávermi, ktoré podáva Stepanov (1958), Smirnov (1936), Nikitin (1956), Andrejev (1951) a Kudrjavcev (1953). Všetci popisujú lymfocytózu, eozinopéniu a neutropéniu s posunom jadra vľavo. Nezaznamenali sme však bazofiliu ako o tom referuje Andrejev (1951). Aj v otázke kvalitatívnych zmien neutrofilov chýbajú v našej práci tak početné záznamy ako ich podčiarkuje Nikitin (1956).

Vasiljev (1948) sa len všeobecne zmieňuje o RSE pri more ošipaných, podobne ako Sanchez, Franco (1957). Černomordik (1939) udáva výšky sedimentačného stĺpca diferencované podľa foriem priebehu choroby v kolmom prevedení. Sme toho názoru, že RSE pod uhlom 50° môže byť dôležitou zložkou hematologického vyšetrenia v súvislosti s morom ošipaných.

Súhrn

Podávame výsledky hematologických vyšetrení 47 kusov prasiat umele infikovaných vírusom moru ošipaných (kmeň Washington a Ši-min), a 51 ošipaných z prirodzeného ohniska nákazy.

V krvnom obraze dochádzalo zpravidla na 5. deň po nakazení k poklesu počtu červených krviniek k hranici 4 miliónov. Zároveň sme registrovali poikilocytózu a niekoľko dní pred exitom i pokles hodnôt hemoglobínu v priemere pod 40 %.

Reakcia sedimentácie erytrocytov (prevádzaná pod 50° uhlom) zaznamenala u väčšiny prípadov už do 5. dňa po infikovaní: 79, 124, 133, 141 dielkov sedimentačného stĺpca (odčítané za 30, 60, 120 min. a 24 hodín).

V bielom krvnom obraze došlo k leukopénii zpravidla na 6.—7. deň po aplikácii vírusu moru ošipaných, keď hodnoty leukocytov u 87,3 % pacientov z počtu vyšetrených činili v priemere 8900 v 1 cmm.

Leukogram sa vyznačoval lymfocytózou s maximom v priemere 86 % na 10. deň. Neutrofilia z prvých 5 dní od nakazenia prešla v neutropéniu s miernym náznakom posunu jadra vľavo.

K získaniu diagnostiky významných výsledkov je potrebný čím rozsiahlejší počet hematologických vyšetrení. Dokumentujú to i uzávěry z prirodzeného ohniska tejto nákazy.

Došlo dňa 20. 1. 1964

Literatúra

1. Abreu J. A.: Proteus Lisboa. 1, 43, 1955. — 2. Andrejev P. N.: Nákažlivé nemoci prasat. Praha, 1951. — 3. Bjelkov: cit. Nikitin 1956. — 4. Chabr L.: Sborník ČSAZV, Živ. výroba, 28, 147, 1955. — 5. Dräger K.: Vet. Med. Nchr. zoš. 2, 69, 1957. — 6. Dunne H. W., Luedke A. J., Reich C. V., Hokanson J. F.: Am. J. vet. Res., 18, 302, 1957. — 7. Janowski H., Stryszak A.: Roczn. nauk. roln. 4, 315, 1958. — 8. Kudrjavcev A. A.: Issledovanie krovi v veterinárnej diagnostike. Selchozgis. Moskva, 1953. — 9. Lolin M.: Acta vet. Belgrade, 7, 73, 1954. — 10. Mathias D., Schmidt D.: Arch. exp. Vet. Med., 9, 534, 1955. — 11. Mathias D., Klaus H.: Arch. exp. Vet. Med., 13, 157, 1959. — 12. Nikitin

V. N.: Gematologičeskij atlas. Seŭchozgiz. Moskva, 1956. — 13. Oláh P.: Magy. Allatorv. Lap., 10, 363, 1960. — 14. Osborne J. C.: Am. J. vet. Res., 19, 902, 1958. — 15. Pinkewitz E.: Ann. Univ. Mme Curie-Sklodowska, 13, 247, 1958. — 16. Pleva J., Vrtiak J.: Veterinářství 8, 368, 1958. — 17. Sánchez F.: Ann. Fac. Leon. Vet., 3, 59, 1957. — 18. Scheuner H., Rauscher W.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 69, 145, 1956. — 19. Stepanov A. A.: Elementy semiotiki i kliničeskaja ocenka laboratornyh analizov v epizootologii. Seŭchozgiz. Moskva, 1958.

Картина крови в диагностике чумы свиней

Мы приводим результаты гематологических обследований 47 голов свиней, искусственно инфицированных вирусом чумы свиней (штамм Вашингтон и Ши-мин), и 51 свиньи из естественного очага заражения.

Картина крови, как правило, на 5-й день после заражения показывала понижение числа красных кровяных телец до границы 4 миллионов. Одновременно мы зарегистрировали пойкилоцитоз, и за несколько дней до смерти и понижение величин гемоглобина в среднем ниже 40 %.

Реакция седиментации эритроцитов (проводимая под углом 50°) в большинстве случаев уже раньше, чем на 5-й день инфекции показала: 79, 124, 133, 141 делений седиментного столбца (отсчитываемые через 30, 60, 120 мин. и 24 часа). В белой картине крови лейкопения появлялась, как правило, на 6—7-й день после применения вируса чумы свиней, причем величины лейкоцитов у 87,3 % пациентов из числа обследуемых составляли в среднем 8900 в 1 см³.

Лейкограмма отличалась лимфоцитозом с максимумом в среднем 86 % на 10-й день. Нейтрофилия первых 5 дней от заражения перешла в нейтропению со слабым признаком перемещения ядра влево.

Для получения диагностически значимых результатов необходимо как можно большее число гематологических исследований. Это подтверждают и выводы естественного очага этой болезни.

The Blood Count in the Diagnosing of Hog Cholera

In this paper we submit the results obtained in a hematological examination of 47 pigs that had been artificially infected with the hog cholera virus (the Washington and Shi-min strain), and of 51 pigs with natural infection.

On the 5th day after infection the blood count usually revealed a decreasing of the number of red blood corpuscles down to the limit of 4 millions. Simultaneously we ascertained poikilocytosis and, several days before the exit, also a sinking of the values of hemoglobin on an average to below 40 per cent. Reaction by sedimentation of erythrocytes (carried out under an angle of 50°) showed in a majority of cases already up to the 5th day after infection: 79, 124, 133, and 141 grades of the sedimentation scale (read in 30, 60, and 120 minutes and in 24 hours). In the white blood count leucopenia occurred generally on the 6th—7th day after application of the virus of hog cholera, in which case the values of leucocytes in 87,3 per cent of the examined patients amounted to an average 8900 in 1 cu.mm. The leucogram revealed lymphocytosis with a maximum of an average 86 per cent on the 10th day. The neutrophilia of the first 5 days after infection changed into neutropenia with a mild indication of a shifting of the nucleus to the left.

So as to obtain diagnostically important results it is necessary to carry out the largest possible number of hematological examinations. This fact has been proved also by the conclusions derived from a natural focus of this infection.

Das Blutbild bei der Diagnostik der Schweinepest

Wir bringen die Ergebnisse der hämatologischen Untersuchung von 47 künstlich mit dem Schweinepestvirus (Stämme Washington und Shi-min) angesteckten Schweinen und von 51 Schweinen aus einem natürlichen Seuchenherd.

Im Blutbild war in der Regel am 5. Tag nach der Ansteckung ein Absinken

der Anzahl der roten Blutkörperchen bis zur Grenze von vier Millionen zu beobachten. Gleichzeitig stellten wir eine Poikilozytose und einige Tage vor dem Exitus eine Senkung der Hämoglobinwerte im Durchschnitt unter 40 % fest.

Die Reaktion der Erythrozytensedimentation, die unter einem Winkel von 50° durchgeführt wurde, zeigte bei den meisten Fällen bereits bis zum 5. Tag nach der Infektion folgende Werte: 79, 124, 133, 141 Teilstriche des Sedimentationsröhrchens (Ablesung nach 30, 60, 120 Minuten und 24 Stunden). Im Blutbild der weißen Blutkörperchen kam es in der Regel schon am 6. bis 7. Tag nach der Applikation des Schweinepestvirus, wenn die Leukozytenwerte bei 87,3 % der untersuchten Tiere im Durchschnitt je mm² 8.900 waren, zu einer Leukopenie. Das Leukogramm war durch eine Lymphozytose mit einem im Mittel bei 86 % der Patienten am 10. Tag auftretendem Maximum gekennzeichnet. Die in den ersten fünf Tagen nach der Infektion auftretende Neutrophilie ging in eine Neutropenie mit einer mäßigen Andeutung einer Linksverschiebung der Kerne über.

Zur Erzielung diagnostisch beweiskräftiger Ergebnisse ist eine immer größere Anzahl von hämatologischen Untersuchungen notwendig. Das beweisen auch die an den natürlichen Infektionsherd gewonnenen Schlußfolgerungen.

Hodnocení funkčního stavu kůry nadledvin u anemických selat Thornovým testem

Оценка функционального состояния коры надпочечников у анемичных поросят при помощи теста Торна

Evaluation of the Functional State of the Adrenal Cortex in Anemic Piglings by Means of the Thorn Test

Die Wertung des funktionellen Zustands der Nebennierenrinde bei anämischen Ferkeln durch den Thorn-Test

L'évaluation de l'état fonctionnel de la couche corticale des surrénales par le test de Thorn chez des porcelets anémiques

Evaluación del estado funcional de la curación de las glándulas suprarrenales en el caso de lechones anémicos con ayuda del test de Thorn

Dr. M. DVOŘÁK, C. Sc.

Technická spolupráce H. Hornichová a S. Adamíková

*Výzkumný ústav veterinárního lékařství v Brně-Medlánkách,
ředitel doc. dr. inž. J. Vlček*

Úvod

Ve svém dřívějším sledování (Dvořák 1964) jsme zjistili, že v hospodářstvích, kde se vyskytovaly značné potíže v odchovu selat, snížilo ošetření selat Ferridextranem Spofa mortalitu o 71 %. Byla vyslovena domněnka, že zabráněním vzniku anémie nejsou zachráněna jen ta selata, která by uhynula pouze v důsledku této choroby, nekomplikované dalšími poruchami, nýbrž i selata onemocnělá chorobami vyvolanými spolupůsobením nepříznivých podmínek prostředí. Mnohdy bývá udáváno, že anémie selat se uplatňuje též jako faktor oslabující organismus do té míry, že se stává méně odolným vůči infekčním, toxickým a dalším nepříznivým vlivům. Craig (1930), Adersen (1931), Ivkin (1956), Dvořák (1958), Sheffy (1958), Neundorff a kol. (1960) a další referovali o nízké odolnosti anemických selat k různým infekčním chorobám.

V odpovědi na otázku, které orgány jsou zodpovědné za úspěšné vykonávání obranných funkcí organismu, je třeba v první řadě uvést koordinační systém, který jednotlivé organické dílčí výkony spojuje. Je všeobecně uznáváno, že tuto úlohu přebírají v první řadě neurohumorální reakce. Z možností, kterými mohou být adaptační pochody zprostředkovány, stojí v popředí zájmu kůra nadledvin, aktivovaná ke zvýšené činnosti adrenokortikotropním hormonem předního laloku hypofýzy (ACTH) po podnětech vycházejících z hypothalamu.

Selye (1946), který je se svojí školou tvůrcem pojmu „všeobecný adaptační syndrom“, udává, že určité fyziologické mechanismy, v nichž endo-

krinní systém hraje význačnou úlohu, pomáhají zvýšit odolnost vůči poškození bez ohledu na specifickou povahu škodícího agens. Během první obrané fáze, alarmové reakce, je v krvi nadbytek kortikotropního hormonu a kůra nadledvin jeví příznaky zvýšené aktivity, charakterizované celou řadou funkčních i anatomických změn. Jednou z nich je zvýšení celkového počtu bílých krvinek, způsobené neutrofilní leukocytózou s relativní lymfopenií.

Často sledovaným projevem zvýšené adrenokortikální sekrece je pokles cirkulujících eosinofilních leukocytů (Eo) (Hills a kol. 1948, Thorn a kol. 1948, Jennings 1951, Jakobson a Hortling 1954 a, b, Hernberg a Lamberg 1957). Doe a kol. (1956) zjistili, že kolísání počtu Eo je v těsném vztahu s kolísáním hladin 17 — hydroxykortikoidů v plasmě.

Sledování počtu Eo po aplikaci ACTH navrhli Thorn a kol. (1948) jako test pro zjištění adrenokortikální insuficience. Pokles hladiny Eo o 50 nebo více procent udává dostatečnou odpověď kůry nadledvin a se vši pravděpodobností vylučuje její nedostatečnost. Thornův test včetně jeho modifikací se stal pro svoji prakticky snadnou proveditelnost nejvíce rozšířenou metodou stanovení funkčního stavu kůry nadledvin (Charvát a kol. 1950, Jailer a kol. 1951, Perloff a kol. 1952, Büchsel 1957, Štukovský 1960, Gitter a Heilmeyer 1960, Heni 1961, Pirališvili 1962, Sampson a kol. 1962).

V poslední době se objevují též ve veterinárním písemnictví častěji zprávy o významu kůry nadledvin v patogenezi chorob domácích zvířat (Bronsch 1956, 1958, Kolb a kol. 1962a, Lindt 1962) a o vztazích kůry k váhovým přírůstkům i konstituci zvířat (Koch 1959, Willer 1961, Unshelm 1963). K objasnění významu kůry nadledvin u prasat přispěli Brügemann a kol. 1953, Bronsch 1956, Matthias 1957, Černá 1961, Mach a Surynek 1961, Sokol a Hrudka 1962 a jiní. O Thornovu testu u prasat referovali Karg (1955), Reichel (1961), Jowtscheff (1961), Kolb a kol. 1962 b, c. Podle výsledků Reichelových (1961) dochází u zdravých selat, běhounů i chovných prasat se spolehlivostí nepozorovanou u jiných zvířecích druhů ani u člověka po aplikaci depotního ACTH k maximální eosinopenii; za 3—5 hodin klesne průměrný počet Eo o více než 90 %.

Materiál a metody

V pokusech bylo použito 97 selat ústavního chovu a 44 selat v JZD M. Podle stáří byla rozdělena na selata sající (27—49 dní) a selata kolem odstavu (50—87 dní).

Byla chována ve stájích bez možností výběhu a krmena, příp. příkrmována obvyklým způsobem; zpočátku suchou směsí, poté šroty s mlékem. U části vrhu byla prováděna prevenční opatření proti anémii selat a to aplikací komplexu železa s dextranem (Ferridextran, Imposil, Myofer) v dávce 150 mg Fe, perorálně redukováným železem, případně v kombinaci s přísadkou hydroxydu železitého se sacharózou do krmiva (Dvořák 1963). Hranicí mezi selaty anemickými a selaty s fyziologickým krevním obrazem byla hladina hemoglobinu (Hb) u mladších 5,6 g %, u starších 8 g %.

Selatům byla odebírána krev k hematologickému vyšetření nabodnutím ušní vény v 8 hodin ráno, načež bylo pokusným aplikováno *i. m.* 8 m. j.

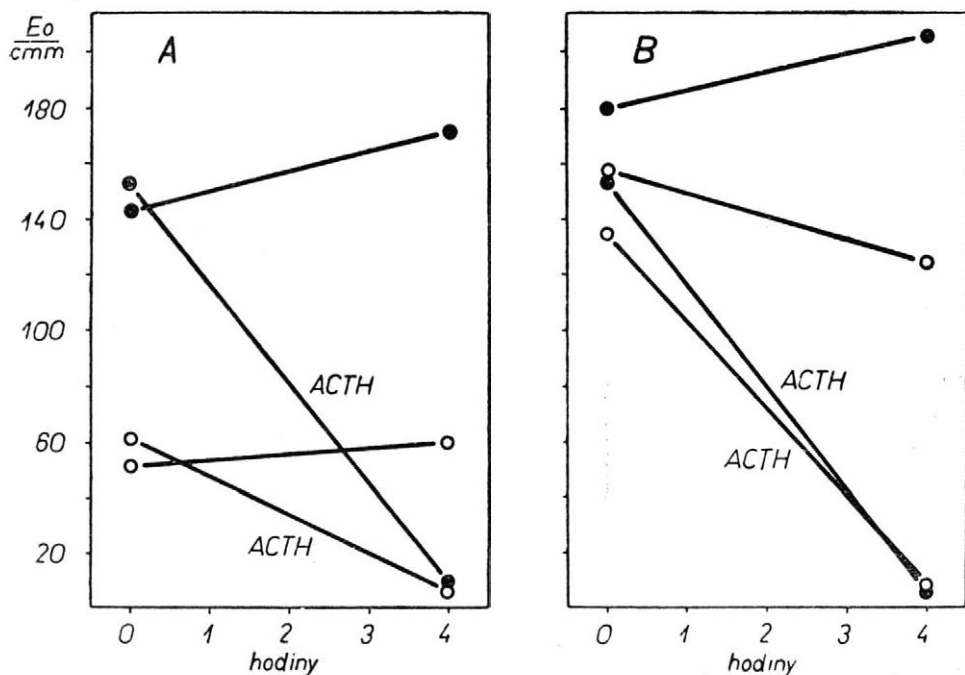
Corticotrophinu Spofa. Druhé vyšetření bylo konáno za 4 hodiny poté. Do té doby nebylo v ten den podáváno selatům krmivo; naposled bylo krmeno večer předcházejícího dne. V příjmu mateřského mléka omezována nebyla. U převážné většiny selat byl sledován počet Eo jak po aplikaci ACTH tak i obdobně bez jeho podání (kontroly) v intervalu několika dní.

Krevní obraz byl stanoven obvyklým způsobem (Dvořák 1960). Eo byly počítány ve 4 Bürkerových komůrkách po přenesení krve leukocytovou pipetkou do baničky s tekutinou podle Pirališviliho (1962). Leukogram byl zhotoven z krevního nátěru obarveného podle Pappenheima vyšetřením 200 bílých krvinek. Při statistickém hodnocení bylo použito následujících charakteristik: aritmetický průměr ($\bar{x}$) a střední chyba průměru ($s\bar{x}$). Ke stanovení průkaznosti rozdílů průměrů byl použit t test.

Výsledky

U sajících selat starých 27–49 dní bylo provedeno 37 Thornových testů a 31 kontrolních sledování Eo u anemických případů (průměrné hladiny Hb 3,9 a 4,2 g%), a 47 testů a 45 kontrolních sledování u zvířat s fyziologickým červeným krevním obrazem (Hb 8,5 a 8,6 g%). Průměrné stáří bylo u všech 4 skupin téměř stejné, 38,1 až 39,7 dní.

Počáteční hodnoty Eo jevíly značné difference. Počet kolísal u anemických skupin v hranicích 5–250 a 11–222/cmm, u neanemických v hranicích



Graf 1. Počet eosinofilních leukocytů u sajících selat (A) a u starších selat kolem odstavu (B) trpících anémií (prázdné kroužky) a s fyziologickým červeným krevním obrazem (vyplněné kroužky) po aplikaci ACTH a při kontrolním sledování.

22–533 a 11–1.433/cmm. U anemických selat byl počet Eo ($61,7 \pm 8,7$ a $51,6 \pm 8,6$ /cmm) více než o polovinu nižší než u selat s fyziologickým červeným krevním obrazem ($155,9 \pm 17,5$ a $144,8 \pm 30,4$ /cmm). Rozdíly průměrů byly průkazné ($P < 0,05$) až vysoce průkazné ($P < 0,01$).

Hodnoty Eo a jejich změny po ACTH a při kontrolních sledováních ukazuje graf 1A. Výsledkem aplikace kortikotropního hormonu u selat anemických bylo snížení počtu Eo v průměru o 86,1 %, u ostatních o 93,8 %. U jednotlivých případů anémie byl pokles u 6 testů menší než o 75 %: Jedenkrát ke snížení hladiny cirkulujících Eo vůbec nedošlo; výchozí počet však byl pouze 11/cmm. V dalších případech kdy došlo k poklesu pouze o 44–61,4 %, byly počáteční hodnoty Eo též nízké: 44–61/cmm. K podobným situacím docházelo též u selat s fyziologickým červeným krevním obrazem, avšak mnohem řidčeji. Pouze u 2 selat, u nichž počáteční hodnoty Eo byly 55 a 33/cmm, došlo za 4 hodiny ke snížení jen o 60 a 66,7 %.

Naproti tomu kontrolní sledování cirkulujících Eo u selat jimž nebyl podán ACTH, ukázalo u anemických i neanemických sajících selat za 4 hodiny v průměru mírný vzestup. Ojediněle však byl zaznamenán též pokles, a to i větší než o 50 %. U prvních to bylo v 5 případech snížení o 50,6–74 % při počáteční hladině Eo 17–150/cmm, u druhých v 6 případech nastalo snížení o 54,6–100 % při počáteční hladině Eo 11–50/cmm.

Podobné výsledky byly získány u selat kolem odstavu, starých 50–87 dní. Počáteční hodnoty Eo u anemických zvířat (Hb 7,4 a 7,2 g%) byly $136,1 \pm 31,9$ a $156 \pm 32,5$ /cmm, tedy vyšší než u selat mladších, a významně se nelišily od hladin u zvířat normálních (Hb 9,0 a 9,3 g%): $154,6 \pm 21,6$ a $173,6 \pm 26,3$ /cmm). U obou byl též nacházen nízký počet Eo; minimálně 11/cmm. Výsledky získané po provedení 12 Thornových testů u anemických a 29 testů u normálních selat a 15 kontrolních sledování Eo u anemických a 28 u normálních selat ukazuje graf 1B. Po aplikaci ACTH došlo u anemických k průměrnému poklesu Eo o 94,4 %, u normálních selat o 96,5 %. Podobně jako u mladších selat byly za 4 hodiny po aplikaci zjišťovány v mnohých případech nulové hodnoty Eo. Ty nebyly při kontrolních sledováních nikdy zjištěny, přesto že též u některých selat, jimž nebyl podán kortikotropní hormon, klesl počet Eo za 4 hodiny o více než 50 %. U kontrolních starších

I. Výsledky Thornova testu a kontrolních sledování u sajících selat s počátečními hodnotami Eo 80–600/cmm.

Skupina	Ošetř.	Počet selat	Stáří dny	Hb g%	Eo/cmm		% počát. počtu Eo
					počáteč.	za 4 hod.	
1. anémie	ACTH	7	$\bar{x}$ 41,1	4,3	152,2	13,5	10,1
			$s_{\bar{x}}$ 2,1	0,5	20,5	4,6	4,2
2. anémie	kontr.	8	$\bar{x}$ 40,7	4,4	116,6	105,3	85,6
			$s_{\bar{x}}$ 1,6	0,4	16,8	32,3	15,0
3. norm.	ACTH	33	$\bar{x}$ 33,1	8,7	197,2	9,1	4,7
			$s_{\bar{x}}$ 1,2	0,2	20,2	2,0	0,9
4. norm.	kontr.	19	$\bar{x}$ 38,0	8,8	176,0	237,6	134,4
			$s_{\bar{x}}$ 1,1	0,3	20,8	38,5	10,3

II. Výsledky Thornova testu a kontrolních sledování u selat kol odstavu s počátečními hodnotami Eo 80-600/cmm.

Skupina	Ošetř.	Počet selat	Stáří dny	Hb g %	Eo/cmm		% počát. počtu Eo
					počáteč.	za 4 hod.	
1. anémie	ACTH	7	$\bar{x}$ 58,4	7,5	204,8	11,0	6,8
			$s_{\bar{x}}$ 1,4	0,2	35,6	4,2	3,9
2. anémie	kontr.	10	$\bar{x}$ 57,0	7,5	215,3	138,7	74,0
			$s_{\bar{x}}$ 1,4	0,1	41,9	26,0	12,9
3. norm.	ACTH	24	$\bar{x}$ 62,0	9,0	177,1	6,8	4,2
			$s_{\bar{x}}$ 2,1	0,1	23,6	1,5	1,4
4. norm.	kontr.	23	$\bar{x}$ 62,5	9,4	204,2	233,2	140,5
			$s_{\bar{x}}$ 1,9	0,1	24,8	25,5	19,0

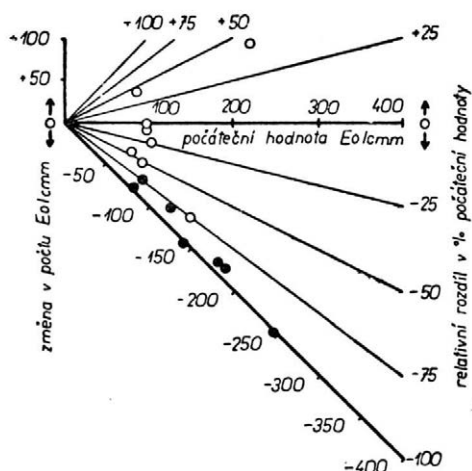
selat k tomu docházelo pouze při anémii, a to u 33,3 % případů; maximální pokles byl o 75 % při počáteční hladině Eo 44/cmm.

Vzhledem k tomu, že při výchozích hodnotách Eo pod 80 a nad 600/cmm je Thornův test nehodnovitelný (Gitter a Heilmeyer 1960), byly vybrány případy u nichž se počet Eo pohyboval v uvedených hranicích. Výsledky ukazuje tab. I a II.

U selat s fyziologickým červeným krevním obrazem byla po aplikaci ACTH redukce počtu cirkulujících Eo vždy větší než o 75 %; nejmenší snížení — o 75,3 % — bylo zjištěno u 2 starších selat. Při kontrolních sledováních docházelo za 4 hodiny k poklesu Eo jen ojediněle a snížení nepřesahovalo 50 %.

Graf 2 udává grafické zhodnocení změn v počtu Eo (podle Š t u k o v s k é - h o 1960) u jednotlivých Thornových testů a kontrolních sledováních sajících anemických selat. Jak lze vidět, pouze u jednoho případu nepřesáhlo snížení Eo po ACTH 75 % a činilo 70,2 %. Avšak redukce Eo nastávala často i v kontrolních sledováních a přesáhla jednou i 50 % (74 %). Podobně tomu bylo i u anemických selat kolem odstavu, u nichž činil nejmenší pokles Eo při testu 70,3 %. Při kontrolních sledováních bylo snížení Eo pod 50 % zaznamenáno třikrát, největší o 71,7 procent.

Tyto výsledky lze shrnout následovně: U všech selat s výchozím počtem Eo 80–600/cmm došlo za 4 hodiny po aplikaci ACTH ke snížení Eo minimálně o 70,2 %. U anemických selat byla tato redukce v průměrných i minimálních hodnotách nepříkaze menší. Při kontrolních sle-



Graf 2. Grafické zhodnocení změn počtu eosinofilních leukocytů u sajících anemických selat za 4 hodiny po ACTH (vyplněné kroužky) a v kontrolních sledováních (nevyplněné kroužky).

III. Změny bílého krevního obrazu selat po aplikaci ACTH

Skupina	Ošetř.	Počet selat	Počáteční hodnoty							Hodnoty za 4 hodiny						
			BK	Ns	Nt	Ly	Mo	Eo	Ba	BK	Ns	Nt	Ly	Mo	Eo	Ba
1. anémie	ACTH	31 $\bar{x}$	11 361	21,8	7,2	65,3	4,6	0,9	0,2	11 893	31,4	14,8	48,5	5,0	0,2	0,1
		$s_{\bar{x}}$	961	1,94	1,17	2,30	0,37	0,12	0,07	995	1,78	1,60	1,91	0,55	0,07	0,05
2. anémie	kontr.	23 $\bar{x}$	13 995	24,7	6,9	63,0	3,7	1,4	0,3	13 969	21,4	9,9	63,3	4,2	0,9	0,3
		$s_{\bar{x}}$	1 341	2,54	1,43	2,85	0,52	0,27	0,08	1 345	1,95	1,66	2,72	0,60	0,20	0,10
3. norm.	ACTH	33 $\bar{x}$	13 124	26,7	3,5	64,3	3,4	1,4	0,7	13 560	41,5	7,7	47,3	3,1	0,1	0,3
		$s_{\bar{x}}$	768	1,70	0,56	1,94	0,29	0,21	0,17	795	1,68	0,89	2,08	0,40	0,03	0,07
4. norm.	kontr.	27 $\bar{x}$	12 959	24,4	3,4	66,6	3,0	1,9	0,7	12 844	25,2	4,1	63,2	4,5	2,4	0,6
		$s_{\bar{x}}$	902	2,15	0,57	2,23	0,30	0,27	0,21	783	1,86	0,59	1,82	0,50	0,55	0,17

Hodnoty leukogramu jsou vyjádřeny v %.

dováních nebylo u selat s normálním červeným krevním obrazem pozorováno za 4 hodiny snížení Eo přesahující 50 %; u anemických tomu tak bylo u 22 % případů a činilo až 74 %. Přitom nebylo podstatných rozdílů mezi selaty sajícími a staršími.

Za účelem zjištění, zda je možné hodnotit hematologicky reakci organismu na aplikaci kortikotropního hormonu i u selat s nižšími počátečními hladinami cirkulujících Eo, byl u části selat zjišťován též počet bílých krvinek a leukogram. Výsledky ukazuje tabulka III.

Exogenní ACTH vyvolal zvýšení průměrného počtu leukocytů, které však nebylo průkazné a nebylo zjištěno ve všech jednotlivých případech. Vedle redukce počtu Eo, výrazné zvláště u normálních selat, došlo k neutrofilii, k lymfopenii a k basofilopenii. U neutrofilních leukocytů (Ns a Nt) došlo ke zvýšení z 29,0 % na 46,2 % u anemických, a z 30,2 % na 49,2 % u selat s normálním červeným krevním obrazem. Zastoupení lymfocytů (Ly) v leukogramu se snížilo o 16,8 % u anemických a o 17,0 % u normálních selat. Nebylo tedy v hematologické odezvě diferencí mezi selaty s rozdílným stavem červené krevní složky.

Změny v procentuálním zastoupení eosinofilních i neutrofilních leukocytů a lymfocytů po aplikaci ACTH byly statisticky vysoce průkazné; při kontrolních sledováních pak nevýznamné. Pokud však jde o diagnostickou hodnotu rozpočtu bílých krvinek v jednotlivých případech, nelze udat spolehlivé měřítko. Ke zvýšení N a snížení Ly došlo při Thornově testu sice ve všech případech, rozdíl však někdy činil jen několik málo procent. Naopak při kontrolních sledováních docházelo mnohdy též k podobným změnám, s maximálním zvýšením N v leukogramu o 16 % a se snížením Ly až o 17 %, ačkoliv současně nebyla vždy zaznamenána redukce Eo.

Diskuse

Kůře nadledvin je připisována důležitá úloha v regulaci význačných pochodů buněčné látkové výměny a v přizpůsobení organismu na změny vnějších i vnitřních životních podmínek. Zvláštní klinický význam má adaptační schopnost kůry nadledvin reagovat na neobvyklé zátěže (stresy), ať fyziologického rázu, jako je zvýšená svalová práce, chlad, horko atd., nebo ve formě různých noxi.

Bronsch (1956), Kolb a kol. (1962 b) upozorňují, že výkonnost systému hypofýza — nadledviny je závislá jak na dědičném založení, tak na podmínkách krmení a ustájení. Zvláště nedostatky v posledně uvedených mohou mít negativní vliv na jeho výkon a tím na schopnost organismu adaptovat se. Naproti tomu kvantitativně a kvalitativně vyhovující výživa může hormonální funkce udržet v optimálních hranicích.

V dřívější práci (Dvořák 1964) byl účinku železa u sajících selat připsán význam pro celkovou nespecifickou odolnost. Byla vyslovena domněnka, že přitom hraje asi rozhodující roli zajištění fyziologických funkcí těch orgánů zvířete, na něž má nedostatek železa, případně anemický stav nepříznivý vliv. V tomto smyslu byla opodstatněna studie funkce kůry nadledvin u anemických selat.

Posouzením výsledků získaných po aplikaci ACTH nebyly mezi anemickými selaty a selaty s fyziologickým červeným krevním obrazem zjištěny podstatné rozdíly. Thornovy testy byly normální, při výchozích hladinách Eo 80–600/cmm došlo vždy k jejich redukcí o více než 50 %. Ani ve změnách celého bílého krevního obrazu nebyly difference. To znamená, že u sledovaných případů anémie se nevyskytovala pravá insuficience kůry nadledvin ve smyslu organického poškození kůry. Avšak to, že nebyla zjištěna skutečná endokrinopatie, nemusí ještě znamenat, že u anemických selat nemohou být adrenokortikální funkce narušeny. Jistě to nelze bezpečně zjistit z pouhých hematologických nálezů, přestože K a r g (1955) udává, že krevní obraz a zvláště eosinofilní granulocyty skýtají velmi citlivé kritérium ke studiu hormonální odpovědi organismu na dráždění a umožňují pohled do adaptačního dění organismu. Eosinofilový test, jak uvádí H e n i (1961), je diagnosticky použitelný jen při velkých rozdílech proti normálním poměrům. Nelze jeho pomocí diagnostikovat funkční primární nebo sekundární hypokortikoidismus.

Diagnostický význam nižšího počátečního počtu Eo zjištěného u anemických selat se pokusíme zhodnotit po dalších studiích. Nápadné jsou též rozdíly v hladinách Eo při kontrolních sledováních. Zatím co u selat s fyziologickým červeným krevním obrazem se hladina Eo za 4 hodiny po prvním stanovení zvyšovala a k redukcí docházelo jen ojediněle a ta při výchozím počtu Eo 80–600/cmm nepřesáhla 50 %, bylo tomu při anémii jinak. Velmi často docházelo k poklesu Eo, a to až o 74 %. Je známo, že k eosinopenii dochází v souvislosti s endogenním vylučováním ACTH, a že je projevem stresu. K a r g (1955) ukázal redukcí Eo o více než o 50 % po transportu prasat, R e i c h e l (1961) po fixaci, K o l b a kol. (1962 b) po zneklidnění prasat ve spojení s odběrem krve z *V. cava cran.*

Při našich odběrech krve z ušní vény jistě též docházelo k určitému zneklidnění zvířete; dá se však předpokládat, že u všech selat bylo přibližně stejné. A přece anemická reagovala hematologicky více. Svědčí to o zvýšené drážditelnosti, která zřejmě není příznivým zjevem. Neboť, jak uvádí C h a r v á t (1960), nejlepší výkony byly zjišťovány u lidí, kteří na určitou zkušební zátěž reagovali svými nadledvinami jen středně nebo málo. Uvolňování metabolicky velmi aktivních kortikoidů je výhodné pro organismus jen v případech jeho skutečného ohrožení.

Jak udává B ü c h s e l (1957), může být kůra nadledvin častou stimulací velmi oslabena. Již T h o r n a kol. (1948) hovoří v této souvislosti o dočasné adrenokortikální depleci. Na základě eosinofilového testu nelze hodnotit funkční rezervu kůry. Teoreticky, jak uvádí H e n i (1961), musí i při destrukci kůry nadledvin existovat fáze, v níž zbytek funkční tkáně produkuje ještě hormon a na vysokou exogenní dávku ACTH odpovídá zvýšeným výkonem, i když neplnohodnotným. Při této relativní insuficienci mohou Eo po aplikaci ACTH klesnout o více než 50 %. K výrazné eosinopenii stačí u prasat jen takové množství kortikosteroidů, které dovede vyrobít jediná nadledvina, jak ukazují pokusy K o l b a a kol. (1962 b, c) při Thornově testu po jednostranné adrenalektomii. Uvedení autoři usuzují, že snadné vyvolání poklesu Eo u prasat lze hodnotit jako příznak zvláštní reaktivní schopnosti nadledvin na dráždění z okolí; případně ji lze považovat za určitou vegetativní labilitu.

H e n i (1961) uvádí pokusy S p e i r s e, který u adrenalektomovaných myší zjistil korelaci rozsahu redukce Eo s dávkou podaného kortisonu. U ane-

mických selat by tak bylo možné považovat nižší pokles Eo při Thornově testu za důsledek určitého vyčerpání nadledvin po dřívějších různých stresech na které silně reagují. Takový stav by asi snadno mohl vést k přechodné korové nedostatečnosti, známé v pediatrii, kdy akutní krize se obvykle dostavují při interkurentních infekcích. Bylo by též možné usuzovat, že infekční a toxické noxy mohou při anémii vést ke slabosti nadledvin snadněji než u zdravých jedinců.

Souhrn

U selat ve stáří 27–87 dní byly zjišťovány změny v počtu cirkulujících eosinofilních leukocytů (Eo) za 4 hodiny po injekci ACTH a bez jeho aplikace.

Ranní hladina Eo u anemických selat starých 27–49 dní byla významně nižší než u selat s fyziologickým červeným krevním obrazem.

Při počáteční hladině Eo 80–600/cmm se při kontrolních sledováních u normálních selat počet Eo zvyšoval, v individuálních případech nebyla zjištěna redukce Eo přesahující 50 %. U anemických selat klesly Eo pod tuto hranici u 22 % případů, a to až o 74 %. Po aplikaci ACTH došlo u všech selat ke snížení Eo minimálně o 70 %. U anemických selat byla redukce Eo neprůkazně menší. Ve stupni neutrofilie a lymfopenie nebylo diferencí mezi selaty s rozdílným stavem červené krevní složky.

V práci se diskutuje o možném narušení adrenokortikálních funkcí v důsledku pravděpodobně zvýšené reaktivity anemických selat na různé zátěže. Práce upozorňuje na to, že normální Thornův test nevylučuje funkční hypokortikoidismus.

Došlo dne 13. 12. 1963

Literatúra

1. Adersen V.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 39, 741, 1931. — 2. Brüggemann J., Bronsch K., Schmitt H.: Zbl. Vet. med. 1, 63, 1953. — 3. Bronsch K.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 65, 5, 1958. — 4. Bronsch K.: Zbl. Vet. med. 3, 515, 1956. — 5. Büchsel H.: Zschr. ges. inn. Med. 12, 808, 1957. — 6. Craig R. A.: J. A. V. M. A. 76, 538, 1930. — 7. Černá J.: Sborník ČSAZV, Vet. med. 6, 899, 1961. — 8. Doe R. P., Flink E. B., Goodsell M. G.: J. Clin. Endocrinol. Metab. 16, 196, 1956. — 9. Dvořák M.: Sborník VŠZL, Spisy fak. vet. 6, 33, 1958. — 10. Dvořák M.: Sborník ČSAZV, Vet. med. 5, 257, 1960. — 11. Dvořák M.: Sborník VŠZ, Spisy fak. vet. 11, 1, 1963. — 12. Dvořák M.: Vet. med. 9, 19, 1964. — 13. Gitter A., Heilmeyer L.: Taschenbuch klinischer Funktionsprüfungen. Jena 1960. — 14. Heni F.: Acta neuroveget. 23, 88, 1961. — 15. Hernberg C. A., Lamberg B. A.: Acta Endocrinol. 26, 236, 1957. — 16. Hills A. G., Forsham P. H., Finch C. H.: Blood 3, 755, 1948. — 17. Charvát J., Chytil F., Kandrác M., Soyka O., Šonka J.: Sborník lék. 52, 51, 1950. — 18. Charvát J.: Čas. lék. čes. 99, 905, 1960. — 19. Ivkin E. A.: Veterinarija 33, č. 5, 61, 1956. — 20. Jailer J. W., Wong A. S. H., Engle E. T.: J. Clin. Endocrinol. 11, 186, 1951. — 21. Jakobson T., Hortling H.: Acta Endocrinol. 15, 265, 1954 a. — 22. Jakobson T., Hortling H.: Acta Endocrinol. 15, 368, 1954 b. — 23. Jennings P. B.: J. Clin. Endocrinol. 11, 793, 1951. — 24. Jowtscheff E.: Mh. Vet. med. 16, 216, 1961. — 25. Karg H.: Zbl. Vet. med. 2, 682, 1955. — 26. Koch W.: De Zootechnia 8, 210,

1959. — 27. Kolb E., Müller I., Seidel H.: Zbl. Vet. med. 9, 463, 1962 a. — 28. Kolb E., Müller I., Seidel H., Ellrich Th.: Zbl. Vet. med. 9, 664, 1962 b. — 29. Kolb E., Seidel H., Müller I., Gürtler H., Grün E., Ellrich Th.: Arch. Exp. Vet. med. 16, 327, 1962 c. — 30. Lindt S.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 69, 1, 1962. — 31. Mach P., Surynek J.: Sborník ČSAZV, Vet. med. 6, 895, 1961. — 32. Matthias D.: Arch. exp. Vet. med. 11, 959, 1957. — 33. Neundorff R., Rauch H., Elze K.: Mh. Vet. med. 15, 285, 1960. — 34. Perloff W. H., Lewy L. M., Despopoulos A.: J. Clin. Endocrinol. 12, 36, 1952. — 35. Pirališvili I. S.: Labor. dělo 8, č. 3, 20, 1962. — 36. Reichel K.: Zbl. Vet. med. 8, 809, 1961. — 37. Sampson P. A. a kol.: Lancet II, 322, 1962. Ref.: Exc. pharm. 17, 197/4, 1963. — 38. Selye H.: J. Clin. Endocrinol. 6, 117, 1946. — 39. Sheffy B. E.: Proceedings. Symposium on baby pig anemia, Chicago 1958. — 40. Sokol A., Hrudka F.: Souhrny přednášek. Konference o nadledvinkách, Ostrava 1962. — 41. Štukovský R.: Čas. lék. čes. 99, 980, 1960. — 42. Thorn G. W., Forsham P. H., Prunty F. T., Hills A. G.: J. A. M. A. 137, 1005, 1948. — 43. Thorn G. W., Forsham P. H.: Rec. Progr. Hormone Res. 4, 268, 1949. — 44. Unshelm J.: Tierärztl. Umschau 18, 225, 1963. — 45. Willer S.: Arch. Exp. Vet. med. 15, 951, 1961.

Оценка функционального состояния коры надпочечников у анемичных поросят при помощи теста Торна

У поросят в возрасте 27—87 дней устанавливались изменения числа циркулирующих эозинофильных лейкоцитов (Ео) спустя 4 часа после инъекции АСТН и без нее.

Утренний уровень Ео у анемичных поросят в возрасте 27—49 дней был значительно ниже, чем у поросят с физиологической красной картиной крови.

При начальном уровне Ео 80—600/см³ при контрольном исследовании число Ео у нормальных поросят повышалось, в индивидуальных случаях не было установлено редукции Ео, превышающей 50 %. У анемичных поросят Ео были ниже этой границы в 22 % случаев, причем даже на 74 %. После применения АСТН у всех поросят Ео понизились минимально на 70 %. У анемичных поросят редукция Ео была недостоверно меньше. В степени нейтрофилии и лимфопении не было различий между поросятами с разным состоянием красного кровяного компонента.

В работе обсуждается возможное нарушение адренокортикальных функций вследствие вероятно повышенной реактивности анемичных поросят к разной нагрузке. Работа обращает внимание на то, что нормальный тест Торна не исключает функциональный гипокортикоидизм.

Evaluation of the Functional State of the Adrenal Cortex in Anemic Piglings by Means of the Thorn Test

In piglings of an age of from 27 to 87 days changes in the number of circulating eosinophil leucocytes (Eo) 4 hours after an injection of ACTH and without its application were determined.

The morning level of Eo in anemic piglings of an age of from 27 to 49 days was significantly lower than it was in piglings with a physiological red blood count.

In the case of an initial Eo level of 80—600/cu. mm. checking investigations revealed an increasing of the number in normal piglings, in individual cases no reduction of Eo exceeding 50 per cent was ascertained. In anemic piglings the num-

bers of Eo sank below this limit in 22 per cent of cases, and that by up to 74 per cent. After application of ACTH there occurred in all piglings a sinking of Eo by a minimum of 70 per cent. In anemic piglings the reduction of Eo was insignificantly smaller. At the stage of neutrophilia and lymphopenia there was no difference between piglings with a different state of the red blood component.

In this paper the author discusses the possibility of a disturbing of the adrenocortical function in consequence of a probably increased reaction of anemic piglings to different stresses. The author points out that the normal Thorn test does not exclude functional hypocorticism.

Die Wertung des funktionellen Zustands der Nebennierenrinde bei anämischen Ferkeln durch den Thorn-Test

Wir bestimmten bei Ferkeln in einem Alter von 27 bis 87 Tagen die Veränderungen der Anzahl der zirkulierenden eosinophilen Leukozyten (Eo), und zwar 4 Stunden nach der Injektion von ACTH und ohne seine Applikation.

In der Früh war der Eo-Spiegel bei 27 bis 49 Tage alten, anämischen Ferkeln wesentlich niedriger als bei Ferkeln mit einem physiologischen roten Blutbild. Bei einem Anfangsspiegel der Eo von 80—600/cmm erhöhte sich bei Kontrolluntersuchungen die Eo-Anzahl bei normalen Ferkeln, in individuellen Fällen wurde keine höhere Eo-Reduktion als 50 % festgestellt. Bei anämischen Ferkeln sank die Eo-Anzahl bei 22 % der Fälle unter diese Grenze, und zwar bis um 74 %. Nach der ACTH-Applikation kam es bei allen Ferkeln zu einer Senkung der Eo-Anzahl um mindestens 70 %. Bei anämischen Ferkeln war die Eo-Reduktion unsignifikant kleiner. In bezug auf die Stufe der Neutrophilie und Lymphopenie waren zwischen den Ferkeln mit verschiedenem Zustand der roten Blutkomponente keine Unterschiede.

In der Arbeit wird die Möglichkeit einer Störung der Adrenokortikalfunktionen infolge der wahrscheinlich erhöhten Reaktivität der anämischen Ferkel auf verschiedene Belastungen besprochen. Die Arbeit macht darauf aufmerksam, daß ein normaler Thorn-Test einen funktionellen Hypokortikoidismus nicht ausschließt.

L'évaluation de l'état fonctionnel de la couche corticale des surrénales par le test de Thorn chez des porcelets anémiques

On vérifiait chez les porcelets à l'âge de 27—87 jours les modifications dans le nombre des leucocytes éosinophiles circulants (Eo) dans quatre heures après l'injection d'ACTH et sans son application.

Le niveau du matin des Eo chez des porcelets anémiques âgés de 27—49 jours fut essentiellement moins élevé que celui des porcelets avec la formule sanguine physiologique rouge.

Pour le niveau initial des Eo égal à 80—600/smm, le nombre de ces derniers augmentait chez les porcelets normaux au cours des vérifications témoins; dans les cas individuels on n'a pas constaté une réduction des Eo dépassant 50 p. 100. Chez les porcelets anémiques les Eo sont tombés au dessous de cette limite en 22 p. 100 de cas et cela de 74 p. 100. Après l'application d'ACTH il s'est produit chez tous les porcelets un abaissement des Eo de 70 p. 100 au minimum. Chez les porcelets anémiques la réduction des Eo fut moins importante, d'une façon cependant peu probante. En ce qui concerne le degré de neutrophilie et de lymphopénie, il n'y

avait pas de différence entre les porcelets avec l'état différent de l'élément hématologique rouge.

Dans le travail on discute la possibilité d'altération des fonctions adrénocorticales par suite d'une réaction probablement augmentée des porcelets anémiques sur les différentes charges. Le travail fait remarquer le fait que le test de Thorn normal n'élimine pas le cas de l'hypocorticoïdisme.

Evaluación del estado funcional de la curación de las glándulas suprarrenales en el caso de lechones anémicos con ayuda del test de Thorn

En el caso de lechones de 27—87 días de vida fueron averiguados cambios en el número de leucocitos eosinófilos (Eo) cuatro horas después de la aplicación de la inyección ACTH y sin la aplicación de ésta.

El nivel de Eo verificado por la mañana en el caso de lechones de 27—49 días de vida fué considerablemente más bajo que el de los lechones con cuadro sanguíneo fisiológico rojo.

Al nivel inicial de Eo 80—600 cmm, en el caso de lechones normales el número de Eo iba aumentando durante la observación de control; en casos individuales no fué averiguada la reducción de Eo que pasaría más allá de 50 %. En cuanto a los lechones anémicos los Eo descendieron bajo este límite en 22 % de los casos, a saber, hasta los 74 %. Después de la aplicación de ACTH, todos los lechones manifestaron un descenso de Eo de 70 % como mínimo. En el caso de lechones anémicos la reducción de Eo fué notablemente menor. En cuanto al grado de neutrofilia y limfopenia no había diferencia alguna entre lechones con diferente estado del factor sanguíneo rojo.

En el tratado se discute acerca de la eventual perturbación de las funciones adrenocorticales por consecuencia de la reactividad probablemente aumentada de los lechones anémicos a diferentes cargas. Además, el tratado llama la atención al hecho que el test corriente de Thorn no excluye el hypocorticoïdismo funcional.

Z materiálu Studijně dokumentačního střediska Ústavu vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 2, Slezská 7

Seidel H., Müller I.: Kritische Betrachtungen zur Deutung nebennieren-physiologischer Untersuchungsergebnisse. (Kritické zhodnocení významu výsledků fyziologického studia kory nadledvinek).

V poslední době spatřuje řada autorů příčinu mnoha chorob v insuficienci kory. Skutečně podložených případů spjatých s insuficiencí je však popsáno velmi málo. Kriticky se hodnotí názor na podíl kory v etiologii poporodní parézy a onemocnění mléčné žlázy. U běhounů nebyly po jednostranné adrenalectomii, resp. po regeneraci kory z nepatrného povrchového ostrůvku zjištěny laboratorně ani klinicky poruchy, které by svědčily o insuficienci. (Vet. physiol. chem. Inst., K. Marx-Univ., Leipzig.) 1964, Mh. Vet. Med., sv. 18, č. 24, str. 941-943.

Vliv různého tepelného režimu při odchovu kuřat na změny hladiny krevního cukru v prvních týdnech po vylíhnutí

Влияние различного температурного режима при выращивании цыплят на изменения уровня кровяного сахара в первые недели после вылупления

The Influence of Different Thermal Regimes in Chicken Breeding on the Changes in the Blood Sugar Level in the First Weeks after Hatching

Der Einfluß verschiedener Wärmeregime bei der Kükenaufzucht auf die Veränderungen des Blutzuckerspiegels in den ersten Wochen nach dem Schlüpfen

Inž. Alexandra ŠIMKOVÁ, CSc., inž. Lubor ŠIMEK, CSc.
Mikrobiologický ústav ČSAV v Praze,

Úvod

Biochemickouází energetického metabolismu u homoiotermních živočichů jsou uhlohydráty. Věnovali jsme proto pozornost změnám hladiny krevního cukru u kuřat, odchovávaných v různých tepelných podmínkách. Měli jsme na zřeteli schopnost kuřat vyrovnávat při snížených teplotách prostředí tepelné ztráty mobilizováním energetických rezerv. Předcházející naše práce, na které navazujeme, se zabývaly vývojem tělesné teploty kuřat z různých tepelných podmínek odchovu a jejich změnami pod vlivem krátkodobého ochlazení, jako jedním z projevů vývoje termoregulace (Šimková 1960, 1962).

Literární přehled

Změnám obsahu krevního cukru v závislosti na vnějších teplotách bylo zatím věnováno málo pozornosti. Rodbard (1947) v pokusech s kuřaty plemene leghorna bílá ve stáří od 10 do 16 týdnů zjistil nepravidelné změny hladiny glukózy v krvi kuřat při normální tělesné teplotě. Hodinové průměry se pohybovaly od 177 do 182 mg%. Ochlazování kuřat mělo za následek klesání hladiny krevního cukru. Při poklesu tělesné teploty kuřat na spodní kritickou hranici 25°C vykazovala hladina glukózy 65 % hodnoty získané při normální tělesné teplotě. Znovuzahřátím kuřat úroveň glukózy v krvi opět stoupala. Autor také zjistil, že změny hladiny krevního cukru se opožďují přibližně o 30 minut za změnami vnější teploty.

Vývoj úrovně krevního cukru po vylíhnutí sledovali na velkých sýkorách Šilov a spol. (1960). Autoři zjistili značné stoupání obsahu glukózy v krvi mláďat

v prvních dnech po vylíhnutí s následujícím pozvolnějším vzestupem. Uvádí se, že v době prvních projevů termoregulace je tato energetická báze připravena a zajišťuje možnost zapojení všech funkcí chemické termoregulace, jakmile se to stane biologicky nutné.

Metodika a pokusný materiál

Pokusným materiálem byli kohoutci plemene vlašská koroptví z plemenného chovu Výzkumného ústavu pro chov prasat v Kostelci nad Orlicí. Kuřata byla odchována od vylíhnutí do stáří 40 dní ve čtyřech skupinách. Každá skupina kuřat byla odchována v podmínkách jiného tepelného režimu v současné době v praxi zavedeného nebo doporučeného (Šimková 1960):

I.

Tepelný režim (skupina)	Počáteční teplota u tepelného zdroje °C	Postupné snížení na teplotu místnosti °C	Ve stáří kuřat dny
A	30–29	20–18	30
B	30–28	20–18	10
		16–14	30
C	26–25	16–14	30
D	22–20	15–13	30

Skupina B byla odchována při tepelném režimu námi sestaveném.

Před odběry vzorků krve byla kuřata umístěna individuálně v klecích na dobu 25–30 minut při teplotě prostředí 20–22° C a pak byla za stejných podmínek přemístěna do prostředí 12–14° C k odběrům vzorků krve po ochlazení. Krev jsme odebírali z loketní žíly v prvních 24 hodinách po vylíhnutí a dále ve stáří 5, 10, 15, 20, 25, 30 a 40 dní. K určení hodnot krevního cukru jsme zvolili metodu Hagedorna-Jensena.

Změny hladiny krevního cukru jsme sledovali ve třech pokusech, z nichž první byl zahájen v říjnu 1958, druhý v únoru 1959 a třetí v lednu 1960. Protože výsledky pokusů byly shodné, hodnotili jsme je v jejich souhrnu. Rozdíly v hodnotách získaných z jednotlivých pokusů bylo možno přičíst biologické proměnlivosti materiálu.

Počet kuřat, u nichž byla v různém stáří glykemie sledována, se vesměs pohyboval u skupiny A od 18 do 28 kusů, u skupiny B od 15 do 27 kusů, u skupiny C od 18 do 26 kusů a u skupiny D od 18 do 23 kusů. Pouze ve stáří 15 a 25 dní a u skupiny D také ve stáří 10 dní jsme zaznamenali úroveň krevního cukru u 8–10 kuřat.

Výsledky jsme hodnotili statisticky analýzou variancí (F-testem).

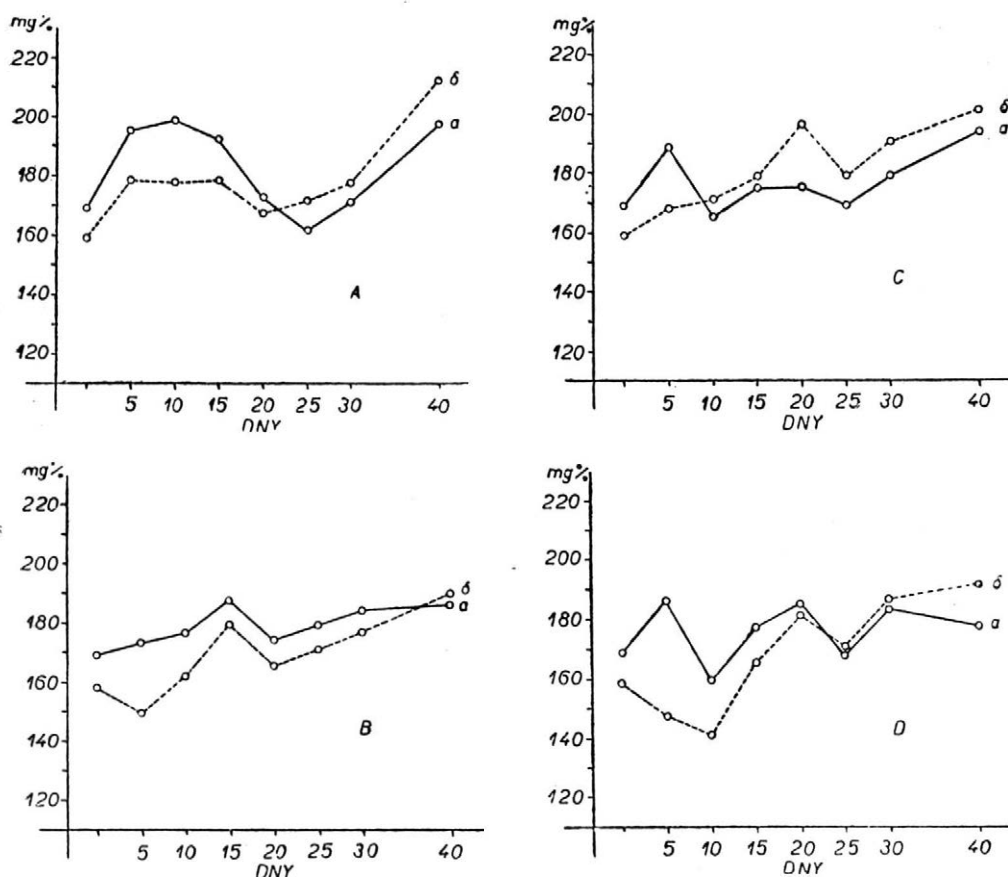
V ý s l e d k y

Během 40 dní po vylíhnutí hladina krevního cukru u kohoutků krátkodobě adaptovaných na teplotu prostředí 20–22° C dosti kolísala (graf 1, tab. II). Možno říci, že v prvních dnech po vylíhnutí měla úroveň glukózy v krvi vše-

obecně vzestupnou tendenci, po které následoval pokles kolem stáří 10 dní a pak opět stoupání k hodnotám ve stáří 40 dní. Úroveň krevního cukru byla ve stáří 40 dní průkazně a vysoce průkazně v jednotlivých skupinách vyšší ve srovnání s hodnotami, zjištěnými po vylíhnutí.

Vcelku velmi vyrovnaný vývoj hladiny glukózy v krvi byl patrný u skupiny B. U této skupiny nebyl zaznamenán prudký vzestup v prvních 5 dnech po vylíhnutí, jako tomu bylo u skupin ostatních. Počáteční stoupání hodnot krevního cukru bylo pozvolné. Rozdíl mezi prvním a 15. dnem stáří byl vysoce průkazný. U skupiny D, v níž byli kohoutci odchováni při značně snížených teplotách prostředí, vysoce průkazný vzestup hladiny krevního cukru mezi 10. až 20. dnem stáří ukazuje na podstatně zlepšenou funkci vybavování energetických rezerv.

Vliv tepelného režimu na úroveň hladiny krevního cukru u kuřat krátkodobě adaptovaných na vnější teplotu 20–22°C se projevil především v prvních 10–15 dnech života kuřat (graf 1, tab. II). Kohoutci, odchováni při snížených teplotách prostředí (skupiny B, C, D), měli vysoce průkazně nižší hodnoty krevního cukru ve stáří 10 dní, než kohoutci ze skupiny A, odchovávané při teplotách prostředí vyšších. Rozdíly mezi skupinami v období od 20. do 40. dne stáří nebyly již tak závažné.



Graf 1. Reakce hladiny krevního cukru kohoutků na ochlazení při teplotě prostředí 12–14°C (b) po předchozí adaptaci na teplotu prostředí 20–22°C (a). A, B, C, D = tepelný režim.

II. Průměrné hodnoty krevního cukru (mg%) u kohoutků odchovávaných při různém tepelném režimu

Tepelný režim (skupina)	Stáří kohoutků (dny)							
	po vyhlášení	5	10	15	20	25	30	40
Po krátkodobé adaptaci na vnější teplotu 20–22 °C								
A	168,78	195,17	198,73	192,20	172,52	161,40	171,14	197,46
B	168,78	173,00	176,27	187,40	173,70	179,00	183,93	185,68
C	168,78	188,39	164,70	174,60	175,04	169,00	179,00	194,50
D	168,78	186,56	159,56	177,56	185,22	167,67	183,22	177,52
Po krátkodobé adaptaci na vnější teplotu 12–14 °C								
A	158,67	178,24	177,80	178,20	167,36	171,20	177,36	212,48
B	158,67	149,28	161,87	179,20	164,96	170,25	176,44	189,04
C	158,67	167,88	170,82	178,60	196,54	179,00	190,48	201,73
D	158,67	147,13	141,00	165,56	181,45	170,78	186,96	191,96

Kuřata, odchovávaná při nižších teplotách prostředí měla v období od 20 do 30 dní vyšší obsah cukru v krvi, než kuřata z vyšších odchovných teplot, což bylo pro toto období charakteristické.

Vliv tepelného režimu a stáří kuřat na úroveň krevního cukru zřejměj výnikl po krátkodobé expozici kuřat teplotám prostředí 12–14 °C (graf 1, tab. II). V těchto podmínkách jsme zaznamenali vzestupnou tendenci úrovně krevního cukru s přibývajícím stářím kohoutků. U skupin B a D byla rovnoměrnost stoupání hladiny krevního cukru narušena v prvních 5 dnech stáří poklesem, který u skupiny B nebyl významný, ale u skupiny D trval průkazně až do 10. dne stáří. V období od 10. dne došlo ve vývoji kohoutků skupiny D k obratu, kdy se hladina krevního cukru vysoce průkazně zvýšila. Potvrzují se tak naše dřívější pozorování, že kuřata skupiny D, odchovávaná při nízkých teplotách prostředí jsou opožděna ve vývoji a nejsou do 10. dne stáří schopna vytvořit si zvýšením hladiny krevního cukru předpoklady pro zachování tělesné teploty. Tato schopnost nastává až v období od 10. do 15. dne stáří kuřat.

U skupiny C se výrazně projevila tendence k vyšším hodnotám krevního cukru v podmínkách krátkodobé adaptace na teplotu prostředí 12–14 °C a stoupající charakter těchto hodnot s přibývajícím stářím kuřat.

Při hodnocení vlivu různého tepelného režimu na obsah krevního cukru u kohoutků krátkodobě adaptovaných na teplotu prostředí 12–14 °C jsme zjistili zvláště výrazné rozdíly ve stáří 10 dní (graf 1, tab. II.). Skupina A si udržovala hodnoty krevního cukru nejvyšší, po ní následovala skupina C a jako třetí skupina B. Skupina D zaznamenala hluboký pokles obsahu cukru v krvi do stáří 10 dní.

K pátému dni stáří byly rozdíly mezi skupinou A a skupinami B, D vysoce průkazné a mezi skupinou C a skupinami B, D průkazné ve prospěch skupin A a C. V 10 dnech stáří nebylo mezi skupinami A, B, C významných rozdílů, avšak byla u nich statisticky významně vyšší hladina krevního cukru oproti opožděné skupině D. Statisticky významný rozdíl se udržel i ve stáří 15 dní.

V období od 20. do 30. dne stáří měla skupina C hodnoty krevního cukru nejvyšší a skupina A společně se skupinou B se udržovala na průkazně nižší úrovni. V tomto období se na druhé místo zařadila skupina D, která měla ve stáří 20 dní statisticky významně více glukózy v krvi po ochlazení, než skupiny A a B. Obdobně tomu bylo i ve 30 dnech stáří, i když rozdíly nedosáhly průkaznosti. Ve stáří 40 dní měly skupiny A a C vyšší úroveň krevního cukru.

Změny hladiny krevního cukru u kohoutků po krátkodobé adaptaci na teplotu prostředí 12–14°C proti hodnotám získaným při teplotě prostředí 20–22°C nám potvrdily, že vývoj termoregulačních funkcí organismu kuřat, odchovávaných při snížených teplotách prostředí (skupiny B, C, D) je intensivnější (graf 1, tab. II. a III.). Každá pokusná skupina projevila charakteristickou reakci na podstatně sníženou teplotu prostředí.

U skupiny A do stáří 20 dní úroveň krevního cukru po ochlazení průkazně klesala. Po 20. dni stáří hodnoty krevního cukru po ochlazení byly vyšší, než před ochlazením kuřat. Toto zvýšení obsahu krevního cukru bylo ve stáří 25 dní vysoce průkazné, ve stáří 40 dní průkazné.

U skupiny B došlo ke zvýšení hladiny krevního cukru po ochlazení až ve stáří 40 dní. U této skupiny je pozoruhodné, že i když hladina krevního cukru až do stáří 30 dní klesala po ochlazení kuřat, v období od 10 do 30 dní hodnoty poklesu nebyly zdaleka průkazné.

Skupina C zvýšila hladinu krevního cukru po ochlazení již ve stáří 10 dní. Toto zvyšování se vytrvale opakovalo až do stáří 40 dní a bylo ve 20 a 25 dnech vysoce průkazné. U skupiny C reagovala hladina krevního cukru na ochlazení stoupáním nejdříve a nejdůsledněji po celou dobu vývoje do stáří 40 dní ve srovnání s ostatními pokusnými skupinami.

U skupiny D, odchovávané při nízkých teplotách prostředí, hluboce klesala úroveň krevního cukru po ochlazení ve stáří 5 a 10 dní, kdy se zvláště výrazně projevil nepříznivý účinek nízkých teplot prostředí při odchovu. Tento nepříznivý účinek začali kohoutci překonávat v období dalších 10 dní života. Ke zvýšení hladiny krevního cukru po ochlazení kuřat došlo u této pokusné skupiny až ve stáří 25 dní, i když ne průkazně. Od tohoto stáří se po ochlazení obsah cukru v krvi vždy zvýšil. Zvýšení bylo ve stáří 40 dní vysoce průkazné.

III. Přehled průkaznosti rozdílů mezi hodnotami hladiny krevního cukru (mg%) u kohoutků různého stáří před ochlazením, po adaptaci na teplotu prostředí 20–22°C a po ochlazení při teplotě prostředí 12–14°C

Teplotný režim (skupina)	Stáří kohoutků (dny)							
	po vylihnutí	5	10	15	20	25	30	40
A	10,11*	16,93*	20,93**	14,00*	5,16	9,80**	6,22	15,02*
B	10,11*	23,72**	14,40	8,20	8,74	8,75	7,49	3,36
C	10,11*	20,51*	6,12	4,00	21,50**	10,00**	11,48	7,23
D	10,11*	39,43**	18,56	11,77*	3,77	3,11	3,74	14,44**

* P < 0,05

** P < 0,01

Diskuse

Šilov a spol. (1960) zaznamenali značný vzestup hladiny glukózy v krvi mláďat sýkor v prvních dnech po vylihnutí s následujícím pozvolnějším stoupáním. V našich pokusech s kuřaty jsme zjistili obdobnou tendenci, kterou je možno vysvětlit zdokonalujícím se systémem termoregulace v prvních týdnech života kuřat. Typicky prudký vzestup tělesné teploty zejména v prvních 2 dnech života kuřat a dále až do stáří 10 dní s následujícím pozvolným stoupáním ke konečným hodnotám kolem stáří 40 dní, jak jsme v souhlase s jinými autory zjistili v dřívějších pracích, je v korelaci se změnami úrovně krevního cukru, zaznamenanými v předkládané práci.

Rodbard (1947) zjistil, že kuřata napřed zahřívána jsou více rezistentní vůči ochlazení, než kuřata ochlazená bez předebrání. Zjistil také, že se změny v úrovni krevního cukru opožďují přibližně 30 minut za změnami vnější teploty. Bylo by snad možno přičítat těmto zjištěním to, že v našich pokusech úroveň krevního cukru u kuřat z podmínek vyšších odchovných teplot (skupina A) byla do stáří 10–15 dní vždy vyšší, než u ostatních pokusných skupin. V této skupině měla kuřata na příklad kolem stáří 10 dní o 5–10° C vyšší teploty prostředí proti skupinám, odchovávaným při snížených teplotách prostředí.

Nejevila se tedy u kuřat pokusné skupiny A potřeba odčerpávat energetické rezervy pro zachování normálních životních funkcí tak, jak tomu bylo u kuřat, odchovávaných při snížených teplotách prostředí (B, C, D). U kuřat z nižších odchovných teplot se také výrazněji snížila hladina krevního cukru po krátkodobém ochlazení.

Domníváme se, že z tohoto však nelze soudit na pomaleji se vyvíjející schopnost termoregulace u kuřat skupin B, C a případně i D a na dokonalejší vývin termoregulace u kuřat z vyšších teplot odchovu. Výsledky pokusů, zabývajících se úrovní tělesných teplot a glykemií u kuřat před a po ochlazení v různém stáří, právě ukazují na rychlejší vývin termoregulačních funkcí u kuřat, odchovávaných při snížených teplotách prostředí.

U skupiny D, odchovávané při počátečních teplotách u tepelného zdroje 22–20° C s poměrně rychlým postupným snižováním na teplotu místnosti 15–13° C, silný pokles hladiny cukru v krvi zvláště po ochlazení v prvních 10 dnech života ukazuje na to, že stále působení těchto teplot prostředí na kuřata mělo za následek příliš nedostatečné ukládání rezervních energetických látek. Je pravděpodobné, že potřeba energie tu nebyla již dostatečně zajištěna příivodem.

Souhrn

Pokusně jsme sledovali vliv různého tepelného režimu při odchovu kuřat na úroveň krevního cukru a změny hladiny krevního cukru po krátkodobé adaptaci kuřat na sníženou teplotu prostředí. Hodnotili jsme z tohoto hlediska schopnost kuřat jednotlivých pokusných skupin zachovat si v podmínkách snížených teplot prostředí normální životní funkce. Pokusným materiálem byli kohoutci plemene vlaška koroptví ve stáří od vylíhnutí do 40 dní.

Zjistili jsme, že hladina krevního cukru u kuřat nepravidelně kolísá, avšak celkově má stoupající tendenci. Byl patrný rychlý vzestup u většiny pokusných skupin v prvních 5 dnech po vylíhnutí. Celková vzestupná tendence úrovně hladiny krevního cukru s přibývajícím stářím kuřat byla zvláště zřejmá v podmínkách krátkodobé adaptace na teplotu prostředí 12–14° C.

Kuřata z odchovu při snížených teplotách prostředí měla zejména do stáří 10 dní vysoce průkazně méně krevního cukru, než kuřata z vyšších odchovných teplot. Kolem 15–20 dní stáří se poměry upravily natolik, že nebylo tak závažných rozdílů. Pro období od 20 do 30 dní stáří je charakteristický vyšší obsah krevního cukru u těch skupin kuřat, které byly odchovávány při snížených teplotách prostředí. Obdobně tomu bylo v podmínkách krátkodobého ochlazení při teplotě prostředí 12–14° C.

Skupina D, v níž byla kuřata odchována při nízkých teplotách prostředí, ukazuje vysoce průkazným vzestupem hladiny krevního cukru mezi 10. a 20. dnem stáří na podstatné zlepšení vybavování energetických rezerv.

Na základě srovnání úrovně krevního cukru u kuřat jednotlivých pokusných skupin před a po ochlazení můžeme konstatovat, že kuřata odchovávaná v podmínkách nižších teplot prostředí lépe mobilizují energetické rezervy po ochlazení, než kuřata odchovávaná při vyšších teplotách prostředí.

Nejlepších výsledků bylo dosaženo u skupiny C, odchovávané při počáteční teplotě prostředí 26–25° C s postupným snižováním do stáří 30 dní na teplotu místnosti 16–14° C.

Došlo dne 13. 3. 1963

Literatura

1. Rodbard S.: Relationship between body temperature and blood sugar in the chicken. American journal of physiology, 150, 67, 1947. — 2. Šilov I. A., Rozanov S. I., Ametěvskaja E. I.: O některých mechanismech stanovení chemické termoregulace v ontogeneze mělkých vorobiných ptic. Žurnal obščej biologii, XXI (1): 74–76, 1960. — 3. Šimková A.: Vývoj tělesné teploty kuřat ve vztahu k různému tepelnému režimu při odchovu. Sborník ČSAZV, Živ. výr., 5 (XXXIII): 449–460, 1960. — 4. Šimková A., Šimek L.: Změny tělesné teploty kuřat, odchovávaných při různém tepelném režimu, pod vlivem krátkodobého působení snížené teploty prostředí. Veterinársky časopis, XI (5): 522, 1962.

Влияние различного температурного режима при выращивании цыплят на изменения уровня кровяного сахара в первые недели после вылупления

В порядке опыта мы изучали влияние различного температурного режима при выращивании цыплят на уровень кровяного сахара после кратковременной адаптации цыплят к пониженной температуре среды. С этой точки зрения мы оценивали способность цыплят отдельных опытных групп сохранять в условиях пониженных температур среды нормальные жизненные функции. В качестве опытного материала служили петушки породы бурый леггорн в возрасте от вылупления до 40 дней.

Мы установили, что уровень кровяного сахара у цыплят неравномерно колеблется, но в общем проявляет повышающуюся тенденцию. Заметно быстрое повышение у большинства опытных групп наблюдалось в первые 5 дней после вылупления. Общая повышающаяся тенденция уровня кровяного сахара с увеличивающимся возрастом цыплят была особенно заметна в условиях кратковременной адаптации к температуре среды 12–14° C.

Цыплята, выращиваемые при пониженной температуре среды, особенно в возрасте 10 дней имели высокостойчиво меньше кровяного сахара, чем цыплята, выращиваемые при более высоких температурах. Около 15–20-дневного возраста эти отношения настолько выравнились, что не было таких значительных различий. Для периода от 20

до 30-дневного возраста характерно повышенное содержание кровяного сахара у тех групп цыплят, которые выращивались при пониженной температуре среды. Аналогичное явление наблюдалось в условиях кратковременного охлаждения при температуре среды 12—14° Ц. Группа Д, цыплята которой выращивались при низкой температуре среды, своим высокодостоверным повышением уровня кровяного сахара в возрасте от 10—20 дней показывает существенное улучшение в образовании энергетических резервов. На основе сравнения уровня кровяного сахара у цыплят отдельных опытных групп до и после охлаждения можно констатировать, что цыплята, выращиваемые в условиях пониженной температуры среды, лучше мобилизуют энергетические резервы после охлаждения, чем цыплята, выращиваемые при повышенных температурах среды.

Самые лучшие результаты были получены у группы Ц, выращиваемой при начальной температуре среды 26—25° Ц с постепенным понижением (до 30-дневного возраста) до температуры помещения 16—14° Ц.

The Influence of Different Thermal Regimes in Chicken Breeding on the Changes in the Blood Sugar Level in the First Weeks after Hatching

In experiments we investigated the influence of different thermal regimes in chicken breeding on the blood sugar level and on changes of the blood sugar level after a short-term adaptation of the chicken to a lowered temperature of the environment. From this point of view we evaluated the ability of the chicken of the individual test groups to maintain their normal life functions under the conditions of the lowered temperatures of the environment. As test material served cockerels of the brown leghorn's breed of an age of up to 40 days.

We found that in the chicks there is an irregular fluctuation of the blood sugar level, but that, on the whole, there is a rising tendency. A rapid rising could be observed in a majority of the test groups in the first five days after hatching. The total ascending tendency of the blood sugar level together with the increasing age of the chicken was particularly visible under the conditions of short-term adaptation to a temperature of the environment of 12—14° C.

In the rearing at lowered temperatures of the environment the chicken, particularly of an age of up to ten days, had highly significantly less blood sugar than had chicken reared at higher temperatures. At an age of about 15—20 days conditions levelled out to such an extent that there were no serious differences. At the period of from 20 to 30 days of age there was a characteristically higher content of blood sugar in those groups of chicken that had been reared at lowered temperatures of the environment. Similar was the case also under conditions of short-term lowering of the temperature of the environment down to 12—14° C. Group D, the chicken of which had been reared at lower temperatures of the environment, showed a highly significant rise of the blood sugar level between the

10th and 20th day of age, indicating a considerable improvement with regard to their energetic reserves. On the basis of a comparison of the blood sugar levels in the chicken of the individual groups before and after the lowering of temperatures we may state that the chicken reared under conditions of lower temperatures of the environment are more capable of mobilizing their energetic reserves after a falling of temperatures than are chicken reared at higher temperatures of the environment.

The best results were obtained in group C reared at an initial temperature of the environment of 26—25° C with a gradual lowering, up to an age of 30 days, of the room temperature down to 16—14° C.

Der Einfluß verschiedener Wärmeregime bei der Kükenaufzucht auf die Veränderungen des Blutzuckerspiegels in den ersten Wochen nach dem Schlüpfen

Wir verfolgten in Versuchen den Einfluß verschiedener Wärmeregime bei der Kükenaufzucht auf das Niveau des Blutzuckers und die Veränderungen des Blutzuckerspiegels nach kurzfristiger Adaptation der Küken an eine gesenkte Umwelttemperatur. Wir werteten von diesem Gesichtspunkt die Fähigkeit der Küken in den einzelnen Versuchsgruppen, sich unter den Bedingungen einer gesenkten Umwelttemperatur eine normale Lebensfunktion zu erhalten. Als Versuchsmaterial verwendeten wir Rebhuhnfarbige Italienerhähnchen vom Schlüpfen bis zum 40. Lebenstag.

Wir stellten fest, daß der Blutzuckerspiegel bei den Küken unregelmäßig schwankt, aber im allgemeinen eine steigende Tendenz aufweist. Bei den meisten Versuchsgruppen war ein schneller Anstieg in den ersten fünf Tagen nach dem Schlüpfen zu beobachten. Die allgemein steigende Tendenz des Blutzuckerspiegels mit zunehmendem Alter der Küken war besonders bei einer kurzfristigen Adaptation an eine Umwelttemperatur von 12 bis 14° C deutlich ersichtlich. Bei niedrigeren Umwelttemperaturen aufgezogene Küken hatten besonders bis zu einem Alter von 10 Tagen einen hochsignifikant niedrigeren Blutzuckerspiegel als Küken bei höheren Aufzuchttemperaturen. Bei einem Alter von 15 bis 20 Tagen glichen sich die Werte soweit aus, daß keine starken Unterschiede bestanden. Für den Zeitraum von 20. bis zum 30. Lebenstag ist ein höherer Blutzuckergehalt bei den Kükengruppen charakteristisch, die bei niedrigeren Umwelttemperaturen aufgezogen wurden. Ähnliche Ergebnisse erhielten wir bei einer kurzfristigen Abkühlung auf eine Umwelttemperatur von 12 bis 14° C. Die Gruppe D, in der die Küken bei den niedrigen Umwelttemperaturen aufgezogen wurden, verweist durch den hochsignifikanten Anstieg des Blutzuckerspiegels zwischen dem 10. und 20. Lebenstag auf eine wesentliche Verbesserung der Auslösung der Energiereserven. Auf Grund eines Vergleiches des Blutzuckerniveaus bei den Küken der einzelnen Versuchsgruppen vor und nach der Abkühlung können wir feststellen, daß die in niedrigeren Umwelttemperaturen auf-

gezogenen Küken nach dem Abkühlen die Energiereserven besser mobilisieren, als Küken, die bei höheren Umwelttemperaturen aufgezogen wurden.

Die besten Ergebnisse wurden bei der Gruppe C erzielt, die anfänglich bei einer Umwelttemperatur von 26 bis 25⁰ C aufgezogen wurde und bei der die Raumtemperatur bis zu einem Alter von 30 Tagen nach und nach auf 16 bis 14⁰ C gesenkt wurde.

Z materiálů Studijně dokumentačního střediska Ústavu vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 2, Slezská 7

Tournut J., Lacaze B., Montlaur-Ferradou P.: Étude de quelques constantes biochimiques du sang des poulets de chair. (Vyšetřování některých biochemických hodnot v krvi brojlerů. Vliv stáří a krmení). 1963, Rev. Méd. vétérin. 26, č. 5, str. 321-343.

Marion J. E., Edwards jun. H. M., Driggers J. C.: Influence of diet on serum cholesterol in the chick. (Vliv krmné dávky na hladinu cholesterolu v séru u kuřat). 1961, J. Nutrit. 74, č. 2, str. 171-175.

Juszkiewicz T.: Niektóre wskaźniki fizjologiczne u kurcząt rasy Polbar. (Některé fyziologické znaky u kuřat plemena Polbar). 1962, Med. weteryn. 18, č. 12, str. 744-746.

Zmeny akosti a mikroflóry bravčového mäsa pri rozmrazovaní

Изменения качества и микрофлоры свинины при размораживании

Changes in the Quality and in the Microflora of Pork in the Case of Defreezing

Die Veränderung der Qualität und der Mikroflora von Schweinefleisch beim Auftauen

Dr. Ján ÁRPAI CSc.

Výskumný ústav pre konzerváciu potravín, Bratislava)*

Ú v o d

Rozmrazené mäso sa líši od čerstvého takou mierou, akou prebiehajú fyzikálne, chemické a prípadne mikrobiologické, resp. enzymatické procesy pri zmrazovaní, skladovaní a rozmrazovaní. Vplyvy, ktoré pôsobia počas zmrazovania a skladovania, prípadne ešte za intravitálnych podmienok, sme sledovali v predchádzajúcich prácach. Ukázali sme v nich, ako je akosť a hygienická nezávadnosť mrazeného mäsa závislá od celej reťaze podmienok, ktorá sa začína pri zootekniky, menovite spôsobom kŕmenia a pokračuje cez jatočnú technológiu až po jednotlivé mraziarenské operácie (1, 2, 3, 4). V predloženej práci sa zameriavame na hodnotenie posledného úseku technológie mraziarenskej konzervácie mäsa, t. j. na rozmrazovanie a to zvlášť z hľadiska mikrobiológie. Pri rozmrazovaní sa totiž najvýraznejšie môžu meniť štruktúrne ako aj koloidnochemické vlastnosti mäsa a môže dôjsť k zvýšenej enzymatickej a mikrobiologickej aktivite (5, 6). Za týchto okolností sa nám zdalo potrebným zaoberať sa pokusným sledovaním vhodnosti rôznych spôsobov rozmrazovania (7), pri čom sme popri obvyklých fyzikálnych a chemických ukazovateľoch (8) stanovovali najmä mikrobiologické pomery pri a po rozmrazení, ktorým — ako o tom svedčia rôzne údaje (9, 10, 11) a najmä materiály zo zasadnutia IV. komisie Medzinárodného mraziarenského ústavu (I. I. F.) v Moskve v r. 1958 — sa doposiaľ nevenovali skoro žiadne výskumné práce.

Materiál a metódy

Ako materiál sme k pokusom použili delené bravčové mäso, mrazené v kartónoch, ktoré sa vyskladňovalo v mraziarne za bežných prevádzkových podmienok. Teplota mäsa bola pri tom v jadre pod -15°C . Hovädzie mäso rovnakej adjustácie sme brali len k orientačnej porovnávacej skúške.

*) Predtým VÚ mraziarenský.

a) Pokusy s rozmrazovaním na vzduchu sme robili v chladiacom boxe. Na jeden pokus sme použili vždy jeden kartón mäsa, t. j. 25 kg.

Stálosť zvolenej teploty sa udržiavala v hraniciach: 0–20°C — ako najnižšia prakticky použiteľná teplota rozmrazovania; 6 až 8°C — ako teplota, ktorá — na základe prieskumu — je najčastejšie v bratislavských chladiarenských miestnostiach v lete a v nechladených skladoch v ostatnom ročnom období; 18 až 20°C — ako teplota v nechladených skladoch v teplejšom ročnom období. Vlhkosť vzduchu pri rozmrazovaní sme nastavili na 90 až 95 % r. v. podchladením navlhčeného prostredia s nasledujúcim oteplením na požadovaný stupeň teploty. Spodná hranica vlhkosti, ktorá ležala pri 55 až 60 % r. v. sa dosiahla umiestnením pokusu nad roztok CaCl₂ príslušnej koncentrácie (12).

b) Pokusy s rozmrazovaním mäsa v o v o d e sa robili tým spôsobom, že sa pokusná dávka mäsa dala do mäsiarskeho koryta a zaliala jednak stojatou vodou a jednak vodou pretekajúcou. K orientačným pokusom sa použil zriedený, čerstvý lág (NaNO₃ v konc. 8°Bé); lág rovnakého druhu, avšak už použitý, t. j. s mikrobiálne redukovanou soľou; a lág obsahujúci štvrtďávkou (2°Bé) rýchlopeklovej dusitanovej nakladacej zmesi, zn. „Praganda“. Ďalej sa pokusne skúšali protimikróbne účinky týchto prísad k rozmrazovacej vode: 1.) benzoan sodný, 0,3 %; 2.) kyselina citrónová, 0,5 %; 3.) kyselina octová, 0,5 %; 4.) kyselina mliečna 1 %; 5.) kyselina sorbová, 0,1 %; 6.) zmes 3+4+5; 7.) chlórétetracyklín 1 mg %; 8.) zmes 5+7; 9.) NaCl 7,5 %; 10.) chlórovanie (s obsahom voľného Cl 1 mg %). Teplota vody sa nastavila na 10 a 20°C (s výkyvmi ± 2°C).

Ako sť rozmrazeného mäsa vyjadřili: 1.) Výsledky organoleptických skúšok (farba, vôňa a pružnosť mäsa) s použitím bodovacieho systému (13). 2.) Zmeny na váhe vyjadřené v %. 3.) Výsledky skúšok tepelnej koagulácie, vyjadřené %-ným úbytkom váhy po uvarení štandardnej vzorky (9). 4.) Výsledky skúšok napučievania, t. j. schopnosti mäsa pohlcovať vodu, ktorá sa merala na základe prírastku váhy štandardnej vzorky (o hrúbke 1 cm a váhe 100 g) po 24 hodinách ponorenia do destilovanej vody 25°C teplej. 5.) Výsledky stanovovania úbytku mäsovej šťavy pod tlakom, používajúc pritom metódy podľa Graua a Hamma (14) v úprave, ktorú sme opísali v predošlej práci (15). 6.) Hodnoty elektrického odporu mäsa, ktoré podľa Ingama (16) charakterizujú zmeny v štruktúre a celkový rozsah biologických zmien tkaniva. Použili sme aparáturu zostavenú inž. J. Birtókom. Merania sa robili na približne súhlasných miestach vzoriek s prihliadnutím na práce Kryšpína (21). Výsledky sa vyjadřili v ohmoch. 7.) Hodnoty pH, stanovené elektrometrickým meraním. Na prípravu extraktu sa brala 50 g vzorka, rozkúskovala sa na drobno a vytrepala v 200 ml destilovanej vode po 15 min. 8.) Výsledky nefelometrického merania zákalu mäsového extraktu, vyjadřené v % absorpcie.

Mikrobiologické pomery na mäse sa vyjadřili stanovením: 1.) Celkového počtu zárodkov na 2X10 g vzorkách, obvyklou technikou (17). 2.) Pomeru mezofilov k fakultatívnym psychrofilom pomocou selektívnej inkubačnej teploty 37 a 22°C. 3.) Počtu *Escherichia coli* na laktózo-dezoxycholátových pôdach inkubovaných pri 40°C. 4.) Množstva fekálnych streptokokov na platniach obsahujúcich kalium tellurit (1:15 000) podľa Tannera (18). 5.) Výskytu klostridií s výraznou redukčnou schopnosťou (Verge a spolupracovníci) (19). Postupovali sme pri tom cestou tepelnej selekcie klostridií (pri 80°C po 20 min.), kultiváciou v agarovej V_f — pôde s glukózou (19) a počítaním v dvojvrstvových platniach zaliatých parafínom (20).

Z celkového počtu zárodkov pred rozmrazovaním (x) a po ukončení rozmrazovania (x') sa počítala priemerná generačná doba (g), resp. priemerná rýchlosť delenia (r) v sledovanom časovom úseku $t_2 - t_1$, používajúc rovnice

$$g = \frac{1}{r}, \text{ resp. } r = \frac{\log_2 x' - \log_2 x}{t_2 - t_1}$$

Generačná doba sa udávala v minútach.

Vlastné výsledky a vyhodnotenia

Z tabuľky I. vidieť predovšetkým to, že zpomedzi stanovených ukazovateľov zmena váhy, vytekanie šťavy a napučievanie mäsa najvýraznejšie odzrkadľuje vhodnosť spôsobu rozmrazovania. Tieto ukazovatele sú v priamej korelácii k vý-

Podmienky rozmrazovania	Teplota v °C	Relatívne vlhkosti vzduchu v %	Ø výsledky stanovovania								
			doby rozmrazovania v hodinách	organo-leptického hodnotenia v bodoch	tepelnej koagulácie v %	bobtnavosti v %	výtoku šťavy pod tlakom v %	zmien vo váhe v %	elektrického odporu v ohmoch	pH	zákalu extraktu (absorbcia v %)
1. v kartóne na vzduchu	0— 2	90—95	90	96	47,2	+1,5	2,5	+1,3	460	5,6	48
2. v kartóne na vzduchu	0— 2	55—60	100	87	47,5	+2,2	3,3	—1,8	480	5,7	46
3. v kartóne na vzduchu	6— 8	90—95	30	88	46,3	+4,1	4,2	+0,8	465	5,9	44
4. v kartóne na vzduchu	6— 8	55—60	36	82	44,8	+4,5	5,1	—2,5	480	5,8	39
5. v kartóne na vzduchu	18—20	90—95	12	71	45,7	+5,8	4,5	—0,9	420	6,0	40
6. v kartóne na vzduchu	18—20	55—60	15	66	45,2	+5,1	6,3	+5,3	460	5,7	38
7. vo vode stojatej	10(±1)	—	12	92	49,5	+5,5	3,8	+4,0	450	5,8	47
8. vo vode stojatej	20 (±2)	—	8	88	47,5	+4,6	4,3	+4,5	480	6,0	42
9. vo vode tečúcej	10 (±1)	—	9,5	94	48,1	+4,2	4,4	+3,2	455	5,8	45
10. vo vode tečúcej	20 (±2)	—	6	81	46,1	+4,3	4,9	+4,1	490	5,9	40

II.

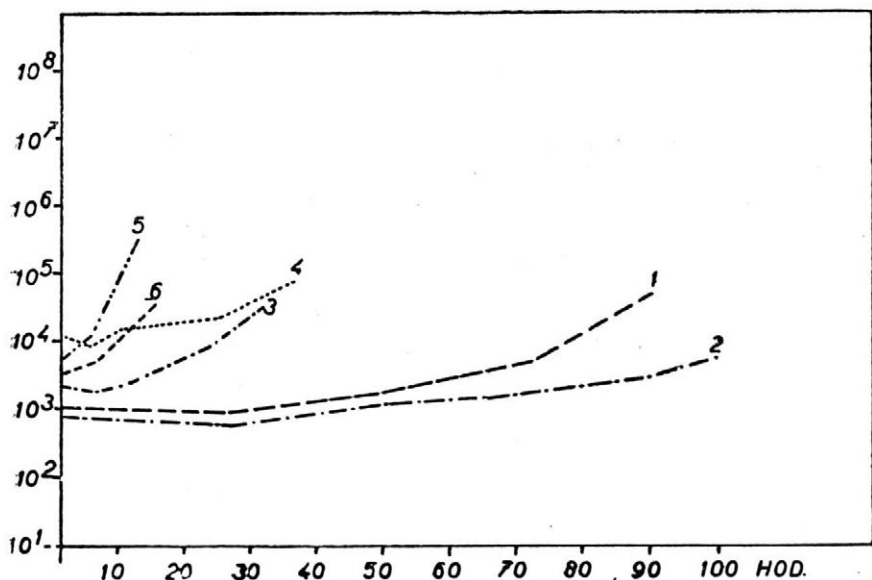
Podmienky rozmrazovania	Mikrobiologické ukazovatele rozmrazeného mäsa					Teoretická generačná doba v hod.
	celkový počet zárodkov	podiel psychrofilov v %	Coli titer	Streptokokový titer	Clostridiový titer	
1. v kartóne na vzduchu	$7,1 \times 10^4$	83	0,8	0,0003	0,5	6,3
2. v kartóne na vzduchu	$0,7 \times 10^4$	75	10,0	0,0025	10,0	7,6
3. v kartóne na vzduchu	$4,4 \times 10^4$	46	0,1	0,0008	0,2	2,9
4. v kartóne na vzduchu	$8,5 \times 10^4$	38	1,0	0,0005	0,07	3,5
5. v kartóne na vzduchu	$5,1 \times 10^4$	12	0,03	0,00009	0,06	1,3
6. v kartóne na vzduchu	$6,6 \times 10^4$	15	0,05	0,0006	0,10	1,9
7. vo vode stojatej	$22,3 \times 10^4$	18	0,02	0,0003	0,08	2,1
8. vo vode stojatej	$406,0 \times 10^4$	4	0,009	0,00002	0,01	0,9
9. vo vode tečúcej	$1,6 \times 10^4$	11	0,15	0,001	0,10	4,8
10. vo vode tečúcej	$60,1 \times 10^4$	2	0,03	0,00007	0,05	0,8

sledkom zmyslových skúšok. Nasvedčujú známej skutočnosti, že mäso rozmrazené na vzduchu pri nižšej teplote je lepšej akosti ako mäso rýchlejšie rozmrazované. Také mäso má predovšetkým vyššiu údržnosť štavu, čo sa prejavuje nepriamo aj na vplyve vlhkosti vzduchu na váhové zmeny mäsa pri rozmrazovaní. Výsledkom stanovovania váhových zmien je totiž výslednicou prírastku váhy následkom zarosenia a úbytku následkom straty štavu. Výsledky stanovovania napučievania treba hodnotiť s prihliadnutím na dvojstrannú závislosť tohto procesu a to od stupňa dehydratácie a denaturácie bielkovinného tkaniva; z nich prvý pôsobí kladne na schopnosť mäsa pohlcovať vodu, druhý záporne. Podobne sa uplatňujú zložité vzťahy aj pri skúškach tepelnej koagulácie. Pri danej metodike možno vyšší %-álny výsledok hodnotiť v kladnom smere. Zistené rozdiely sú však len málo výrazné. To isté platí aj pre namerané hodnoty pH a zákalu mäsového extraktu. Tieto hodnoty spadajú do všeobecného „trendu“ výsledkov, ktorý ukazuje, že stúpajúcou teplotou vzduchu sa zhoršuje akosť rozmrazeného mäsa. Výnimku tvoria výsledky merania elektrického odporu, z ktorých — zrejme pre metodické nedostatky — možno vyčítať len toľko, že mäso rozmrazované pri vysokej vlhkosti má väčšiu kondukciu, než v suchom prostredí.

Akosťné ukazovatele mäsa rozmrazeného vo vode sú zvlášť priaznivé z hľadiska váhových zmien. Pri tom je zaujímavé, že vo vode rozmrazené mäso napriek tomu, že výrazným spôsobom zväčšilo svoju váhu, má ešte vo vysokej miere zachovanú schopnosť viazať vodu. Záporný vplyv zvyšovania teploty sa prejavuje aj pri mokrom spôsobe rozmrazovania. Vidieť to nielen na výsledkoch zmyslových skúšok, ale aj na stupni tepelnej koagulácie, elektrického odporu, pH a zákalu mäsového výťažku. Z výsledkov možno tiež vyčítať, že pri použití tečúcej vody nedôjde k výraznému zvýšeniu vyľuhovania mäsa, lebo zistené rozdiely, napríklad v zákale výťažku alebo v tepelnej koagulácii, sú štatisticky len málo významné. Z hľadiska organoleptiky je mäso rozmrazené vo vode prinajmenej rovnocenné mäsu rozmrazenému na vzduchu — až na farbu.

Mikrobiologické sledovania celkového počtu zárodkov na mäse počas rozmrazovacieho procesu na vzduchu sú graficky znázornené na obraze 1. Tam je vidieť, že kladne vplyva na rozmnožovanie mikroorganizmov na mäse najmä rýchlosť rozmrazovania, t. j. zvyšovanie teploty. V rovnakom smere pôsobí pri rozmrazovaní na suchu aj stupeň vlhkosti. Naproti tomu skracovanie dĺžky doby rozmrazovania pôsobí opačne, t. j. záporne na celkový počet mikroorganizmov. Pri posudzovaní polohy, resp. priebehu rastových kriviek mikróbov počas rozmrazovania, treba prihliadať aj na východiskové hodnoty, t. j. na počet zárodkov na mäse pred rozmrazovaním. Mikrobiologické pomery na mäse počas rozmrazovania vo vode ukazuje graf na obr. 2. Popri určujúcom vplyve teploty, zisťujeme z grafu najmä podstatný rozdiel medzi rozmrazovaním v tečúcej a stojatej vode. Akostný rozbor mikroflóry, ako sa nám javí z tabuľky II. ukazuje nakoľko nízke teploty poskytujú za daných pokusných podmienok selekčnú výhodu rozvoju psychrofilov. Proporcionálna závislosť výšky coli titru od teploty ukázala striktné teplotné nároky tejto skupiny baktérií. Pri teplote vzduchu 0—20°C sa mezofily vôbec nepomnožili, čo má veľký hygienický význam, keďže do tejto skupiny patrí prevážna väčšina choroboplodných zárodkov. Množstvo zachytených streptokokov, patriacich prevážne medzi druhu fekálneho pôvodu, potvrdilo literárne údaje o ich častom výskyte na mäse (22) ako aj o ich vysokej psychrorezistencii (23). Z našich výsledkov sa javí, že streptokoky tvoria relatívne konštantný a typický podiel celkovej mikroflóry rozmrazeného mäsa (25).

Mikrobiologické výsledky odhaľujú isté rozpory medzi požiadavkami technológie a hygieny. Protiklady záležia v tom, že z hľadiska technológie je žiaduca vyššia vlhkosť rozmrazovacieho prostredia, poprípade sa ukazuje vhodným aj rozmrazovanie vo vode, zatiaľ čo z hľadiska hygieny sú tieto podmienky nevhodné pre ne-



Graf 1. Rozmnožovanie mikroorganizmov v priebehu rozmrazovania mäsa na vzduchu. Označenie kriviek zodpovedá očíslovaniu jednotlivých podmienok rozmrazovania v tabuľke I.

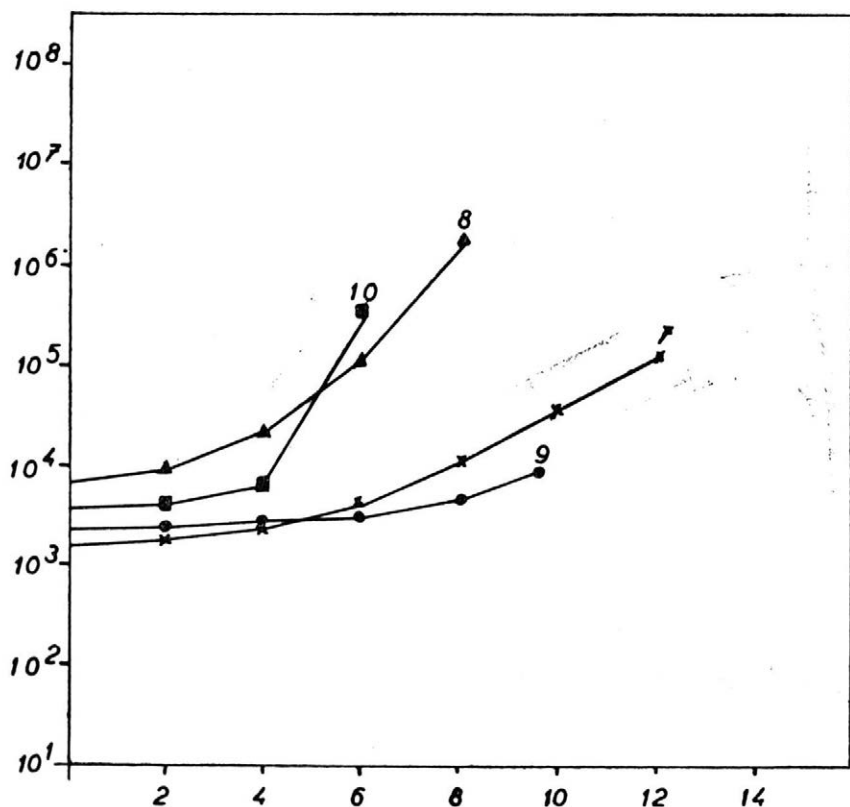
Na osi úsečiek je čas rozmrazovania v hodinách, na osi súradníc je počet mikroorganizmov na 1 g vzorky odobratej z povrchu mäsa.

bezpečie intenzívnejšieho rastu kontaminujúcej mikroflóry. Podobne je to aj s teplotou. Prevádzkove, resp. ekonomicky výhodnejšie je rýchlejšie rozmrazovanie. To si vyžaduje vyššiu teplotu, ktorá opäť vytvára hygienicky nebezpečnú situáciu, keďže umožní rast mikroflóry a to aj patogennej. Riešenie týchto rozporov je — medzi iným — možné aplikáciou protimikróbných činidiel pri rozmrazovaní. Na stĺpcovom grafe obr. 3. vidieť, do akej miery sa podarilo znížiť priemerný počet mikroflóry mäsa po rozmrazovaní vo vode pridaním jednotlivých dezinfekčných činidiel. Najsilnejší dezinfekčný účinok mal chlór-tetracyklín, ktorý sa použil v extrémnej koncentrácii 1 mg % a to aj v kombinácii s 0,1%-nou kyselinou sorbovou. Samotná kyselina sorbová — vzhľadom na jej špecifickú antifungálnu vlastnosť — mala len veľmi slabý účinok. Vhodne však doplnila obvyklé potravinárske konzervovadlá a to najmä zmes kyseliny mliečnej a octovej. Pomerne malá účinnosť konzervačných prostriedkov, najmä ak sa použili jednotlivé, je vysvetliteľná aktuálnou aciditou prostredia, ktorá inhibuje mechanizmus ich účinnosti. Soľné roztoky boli pri sledovanej koncentrácii účinné, to isté platí aj pre láky. Voľný chlór sa z roztoku veľmi rýchle strácal, preto bola koncentrácia 1 mg % ťažko udržiavateľná, čo sa za našich pokusov prejavovalo malou dezinfekčnou účinnosťou.

Pokusy, ktoré sa robili so zameraním zlepšiť vyfarbenie vo vode rozmrazeného mäsa ukázali, že starší lák, t. j. mikrobiálne redukovaný môže čiastočne zlepšiť farbu mäsa; má však nevýhodu, že obsahuje početnú ťažko kontrolovateľnú mikroflóru. Pomocou rýchlopeklovej soli sa dosiahlo krajšie, i keď nie celkom prirodzené a rovnomerné vyfarbenie mäsa.

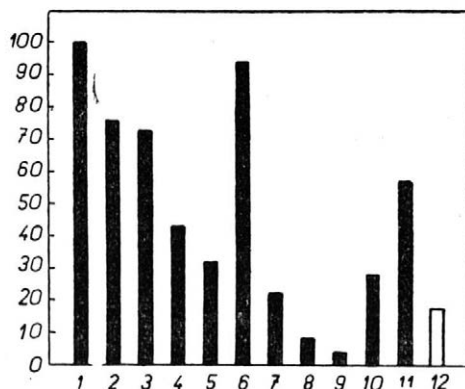
Na základe uvedených pokusov sme došli k celkovému záveru, že v prípadoch, kde si to prevádzkové podmienky vyžadujú, je možné bez zvýšených strát a ujmy na hygiene aj rýchle rozmrazovať tzv. mokrym spôsobom za použitia vhodných dekontaminačných prostriedkov. Spomedzi konvenčných potravinárskych dekontaminačných prostriedkov možno odporúčať predovšetkým kyselinu mliečnu, ktorá je fyziologicky veľmi blízka mäsu a má široké protibaktériové spektrum (26). V prípade, že sa priaznivo vyrieši stanovisko hygienikov, bude sa môcť použiť vhodné antibiotikum, ktoré by malo podobne silné účinky, ako CTC v našich pokusoch.

Vzhľadom na to, že mokrú cestou rozmrazené mäso ide na solenie, resp. ďalšie spracovanie, nie sú potraviny hygienicky ohrozené aktívnymi zbytkami CTC. Poznamenáva sa, že ani pri extrémne vysokej koncentrácii CTC, akej sa použilo za týchto pokusov neabsorbovalo sa počas rozmrazovania na povrch mäsa viac než 5 p. p. m. a v hĺbke 4 až 5 mm sa už nenašli dokazateľné stopy antibiotika (27). Vplyv reziduálií CTC na mikrobiálne procesy v láku, t. j. v priebehu solenia by sa však musel experimentálne objasniť.



Graf 2. Údaje ako na obraze 1 pre rozmrazovanie vo vode.

Graf 3. Účinky dekontaminačných prostriedkov použitých pri rozmrazovaní vo vode stojatej. Na osi úsečiek druh protimikróbnej látky: 1 — voda; 2 — benzoan sodný (0,3%); 3 — kyselina citrónová (0,5%); 4 — kyselina octová (0,5%); 5 — kyselina mliečna (1,0%); 6 — kyselina sorbová (0,1%); 7 — zmes 4+5+6; 8 — CTC (1 mg%); 9 — CTC+6; 10 — NaCl (7,5%); 11 — chlór (1 mg%); 12 — rozmrazované na vzduchu. Na osi poradnic percentuálna stupnica poklesu mikroflóry (100 % značí celkový počet mikróbov pri rozmrazovaní vo vode).



Na základe organoleptických, fyzikálnych, chemických a mikrobiologických ukazateľov sa sledovala akosť a hygienické vlastnosti mäsa rozmrazovaného rôznou technológiou na vzduchu a vo vode. Bol stanovený vplyv teploty a vlhkosti rozmrazovacieho prostredia na priebeh rozmnožovania mikroorganizmov počas rozmrazovania s osobitným zreteľom na význam mikrobiologickej čistoty mäsa prichádzajúceho na rozmrazovanie.

Zistilo sa, že v prípadoch, kde prevádzkové príčiny nedovoľujú rozmrazovať pomaly, t. j. pri teplotách málo nad bodom mrazu, je možné použiť rýchle rozmrazovanie vo vode prúdiacej, poprípade aj stojatej, pričom rozmnožovanie kontaminujúcej mikroflóry možno zabrzdiť prídavkom rôznych potravinársky nezávadných dezinfekčných prostriedkov, predovšetkým 1% kyselinou mliečnou, resp. jej kombináciou s 0,4% kyselinou octovou a 0,1% kyselinou sorbovou.

Z výsledkov práce vyplývajú optimálne podmienky pre rozmrazovanie na vzduchu, ako aj vo vode a spôsoby, ktorými možno zlaadiť požiadavky technológie, resp. prevádzky s hygienou.

*

Došlo dňa 15. 8. 1963

Podakovanie

Ďakujem za obetavú spoluprácu všetkým pracovníkom nášho oddelenia, menovite s. Marte Bánhegyiovej, ako aj s. Mikulášovi Kolomanovi, pracovníkovi Bratislavského mäso priemyslu.

Literatúra

1. Árpai J. a kolektív: Mikrobiológia a biochémia mrazených potravín. Záv. zpráva VÚM, Bratislava, 1959. — 2. Árpai J.: Hodnotenie technologických postupov rozmrazovania mäsa z hľadiska hygieny. Referát na XVII. Celoštátnom chemickom sjazde v Olomouci, september, 1960. — 3. Árpai J., Behúň M., Duchoň T.: Čsl. hygiena, 5, 429, 1960. — 4. Árpai J., Bánhegyi M.: Průmysl potravin 10, 493, 1959. — 5. Kotek J.: Dílčím záv. zpráva na VÚM, Bratislava 1956. — 6. Plank R.: Handbuch d. Kältetechnik. Springer Verlag, Berlin, 1960. — 7. Árpai J., Bánhegyi M.: Průmysl potravin 11, 212, 1960. — 8. Golovkin N. A., Čižov G., Škořínková Je., Šagan O., Malačenko M.: Mjasnaja industrija 3, 13, 1951. — 9. Golovkin N. A., Čižov G., Škořínková Je., Šagan O., Malačenko M.: Mjasnaja industrija 4, 14, 1951. — 10. Gakičko S. I., Borodin V. D.: Razmoraživanie blokov melkoj ryby, Gostorgizdat, Moskva, 1959. — 11. Manerberger A. A., Mirkin E. J.: Technologija mjaso i mjasoproduktov, Piščepromizdat, Moskva, 1949. — 12. Árpai J.: Poľnohospodárstvo 3, 239, 1956. — 13. Tilgner D. J.: Analiza organoleptyczna żywności. Wydaw. Przm. Lek. i Spozyw., Warszawa, 1957. — 14. Grau R., Hamm R.: Die Fleischwirtschaft, 4, 295, 1952. — 15. Árpai J., Behúň M., Lifková Z., Vrablicová D.: Živočišná výroba (Sborník ČSAZV) 5, 725, 1960. — 16. Ingram M.: Ann. Inst. Pasteur, 75, 139, 1948. — 17. Árpai J.: Veterinársky časopis 9, 379, 1959. — 18. Tanner F. W.: The Microbiology of foods. Gerrard Press, Champaign, 1944. — 19. Raška K., Sedlák J., Ma-

šek J.: Náklady a otravy alimentárního původu. Thomayerova Sbírká, Praha, 1951. — 20. Leistner L.: Die Fleischwirtschaft 7, 109, 1955. — 21. Kryšpin J.: Podstata některých změn elektrické vodivosti tkání. SZN, Praha, 1959. — 22. Arpai J.: Biológia 16, 34, 1961. — 23. Barnes E., Ingram M.: Ann. Inst. Pasteur. Lille, 7, 115, 1955. — 24. Stille B.: Arch. f. Mikrobiologie 14, 554, 1950. — 25. Arpai J.: Časť I. Veterinársky časopis 9, 186, 1960. Časť II. Veterinársky časopis 9, 270, 1960. — 26. Zelinka J., Zelinková E.: Průmysl potravin 8, 261, 1957. — 27. Arpai J., Behúň M.: Průmysl potravin 11, 231, 1960.

Изменения качества и микрофлоры свинины при размораживании

На основе органолептических, физических, химических и микробиологических показателей изучались качество и санитарные свойства мяса, размораживаемого различной технологией на воздухе и в воде. Определялось влияние температуры и влажности размораживающей среды на процесс размножения микроорганизмов в течение размораживания с особым учетом значения микробиологической чистоты мяса, поступающего в размораживание.

Было установлено, что в случаях, когда по производственным причинам нельзя размораживать медленно, т. е. при температурах, немного ниже 0°C , можно применить быстрое размораживание в проточной, при случае в стоячей воде, причем размножение контаминирующей микрофлоры можно задержать добавлением различных, в пищевом отношении безвредных дезинфицирующих средств, прежде всего 1 % молочной кислоты, или же ее комбинации с 0,4 % уксусной кислоты и 0,1 % сорбиновой кислоты ($\text{C}_6\text{H}_5 - \text{CH} = \text{CH} - \text{COOH}$).

Из результатов работы вытекают оптимальные условия для размораживания как на воздухе, так и в воде и способы, которыми можно увязать требования технологии или производства с гигиеной.

Changes in the Quality and in the Microflora of Pork in the Case of Defreezing

On the basis of organoleptic, physical, chemical, and microbiological indices the quality and the hygienic properties of meat that had been defrozen by means of different technologies in the air and in water were examined. Determined were the influence of temperature and moisture of the defreezing medium on the course of the defreezing of microorganisms during the defreezing with special regard to the importance of microbiological cleanliness of meat supplied for defreezing.

It was found that in cases where operational reasons do not allow a slow defreezing, i. e. at temperatures a little below the freezing point, it is possible to apply rapid defreezing in flowing water, or also in standing water, in which case a propagation of the contaminating microflora may be controlled by means of an

addition of different harmless disinfectants, above all of 1% lactic acid, or of its combination with 0,4% acetic acid and 0,1% sorbic acid.

The results obtained in this work reveal optimum conditions for defreezing in air as well as in water, and methods by means of which it is possible to meet the technical requirements as well as those of hygiene.

Die Veränderung der Qualität und der Mikroflora von Schweinefleisch beim Auftauen

Bei nach verschiedenen Technologien an der Luft und im Wasser aufgetauten Schweinefleisch wurden auf Grund organoleptischer, physikalischer, chemischer und mikrobieller Kennwerte die hygienischen Eigenschaften verfolgt. Es wurde der Einfluß der Temperatur und der Feuchtigkeit des Auftauungsmediums auf den Verlauf der Mikroorganismenvermehrung während des Auftauens bestimmt, und zwar mit besonderer Berücksichtigung der Bedeutung der mikrobiologischen Reinheit des zum Auftauen gelangenden Fleisches.

Der Autor stellte fest, daß in solchen Fällen, wo aus Betriebsgründen nicht langsam, d. h. bei Temperaturen etwas unter dem Gefrierpunkt, aufgetaut werden kann, ein schnelles Auftauen in fließendem, gegebenenfalls in stehendem Wasser verwendet werden kann. Hierbei kann die Vermehrung der kontaminierenden Mikroflora durch den Zusatz verschiedener für Lebensmittel zulässiger Desinfektionsmittel, vor allem einprozentiger Milchsäure respektive ihrer Kombination mit 0,4 % Essigsäure und 0,1 % Sorbinsäure, gehemmt werden. Aus den Ergebnissen der Arbeit folgern sich die optimalen Bedingungen für das Auftauen an der Luft sowie im Wasser und die Methoden, durch die es möglich ist, die Anforderungen der Technologie, die Betriebsanforderungen und die Anforderungen der Hygiene in Einklang zu bringen.

Hexózamin v krevním séru a v jeho sulfosalicylových filtrátech u morčat po podání CCl_4 .

Гексозамин в кровяной сыворотке и в ее сульфосалициловых фильтратах
у морских свинок после подачи CCl_4

Hexosamin in the Blood Serum and in its Sulfosalicylic Filtrates in Guinea Pigs
after Administration of CCl_4

Hexosamin im Blutserum und in seinen Sulfosalizylfiltraten bei Meerschweinchen
nach der Verabreichung von CCl_4

L'hexosamine dans le sérum sanguin et dans ses filtrats de sulfosalicycle des cobayes
après l'administration de CCl_4

Hexozamina en el suero sanguíneo y en sus filtrados sulfosalicilicos de cobayos
después de la aplicación de CCl_4

Doc. MVDr. Vojtěch NEUMAN

*Katedra lékařské chemie, fyziky a toxikologie Veterinární fakulty VŠZ v Brně,
vedoucí katedry prof. MVDr. A. Janeček*

Úvod a literární přehled

Studium látkové podstaty Brdičkovy reakce ukázalo, že se na polarografické aktivitě sulfosalicylových filtrátů séra převážně podílejí látky mukoproteidové povahy, zejména mukoproteid MP-1 a částečně rozpustné alfa₂ — glykoproteidy (1—9) a kromě nich pravděpodobně také látky povahy albumóz nebo vyšších polypeptidů (10). Kočent se spolupracovníky (11, 12) dokázal, že alkalizací lidského séra se mění látkové složení sulfosalicylového filtrátu a to tak, že v něm ubývá látek mukoproteidové povahy a naopak, že do něho přecházejí polarograficky aktivní látky, především asi bílkoviny, neobsahující hexózamin.

O tyto základní poznatky se opírala naše dřívější sdělení (13, 14), v nichž bylo pojednáno o Brdičkově reakci séra morčat s experimentálně vyvolaným toxickým poškozením jater. Při některých jaterních chorobách klesá totiž hladina mukoproteidů v séru a tomu by mělo odpovídat také snížení filtrátové reakce. Předpokládali jsme však, že očekávané snížení bílkovinné dvojvlny filtrátové reakce alkalizovaného séra (při standardním provedení Brdičkovy reakce), by mohlo být zčásti vykompenzováno látkami nemukoproteidové povahy, na které upozornil Kočent se spol., a že by tím byl zkreslen výsledek reakce. Se séry pokusných zvířat jsme proto zároveň prováděli také filtrátovou reakci s vynecháním alkalické denaturace séra louhem. Ukázalo se, že snížení bílkovinné dvojvlny filtrátu nealkalizovaného séra pokusných zvířat bylo mnohem podstatnější než u séra alkalizovaného a proto také výrazněji charakterizovalo rozdíl mezi séry kontrolních a pokusných zvířat. Vysvětlili jsme to tak, že filtrátová reakce nealkalizovaného séra je v lepším souladu se skutečným stavem sérových mukoproteidů.

Abychom tento závěr dokázali, doplňujeme naše dřívější sdělení o určování hexózaminu v krevním séru a v sulfosalicylových filtrátech. Získáme tak obraz o stavu sérových mukoproteidů při experimentálním poškození jater morčat a zá-

roveň bude umožněno posoudit, jak se u pokusných zvířat projeví vliv alkalizace séra na látkové složení filtrátu. Z takto získaných výsledků bude možno dedukovat závěry pro použití filtrátové reakce jednak k diagnostice jaterních chorob a jednak k stanovení mukoproteidů, kterým je v poslední době věnována pozornost nejen z hlediska klinicko-diagnostického, ale také při studiu imunizačních procesů a tvorby protilátek (15–17).

Materiál a metodika

V pokuse bylo 90 morčat, která byla převedena na standardní Larsenovu dietu. Byla rozdělena na skupinu kontrolní, čítající 15 zvířat a na skupinu pokusnou. U morčat pokusné skupiny byla vyvolána experimentální toxická hepatitida jednorázovou podkožní injekcí 0,2 ml chloridu uhličitého na 100 g živé váhy. Zvířata byla utrácena v časových intervalech 24, 48, 72, 96 a 120 hodin po aplikaci látky. Jejich vykrvení bylo provedeno po preparaci a protěti *A. carotis*. Získané sérum bylo analyzováno do 24 hodin po utrácení zvířat.

Hexózámin byl stanoven v krevním séru všech zvířat a dále v sulfosalicylovém filtrátu alkalizovaného a nealkalizovaného séra 8 kontrolních a 32 pokusných morčat, utrácených za 24–96 hodin od aplikace chloridu uhličitého.

Hexózámin v séru a v sulfosalicylových filtrátech byl určován metodou podle Elsona a Morgana (18), modifikovanou Blixem (19) a upravenou Kočentem a Boškovou (11). Podstata reakce záleží v tom, že acetylací hexózáminu acetylacetonelem v uhličitane sodném se vytvářejí pyrolové deriváty, které poskytují s p-dimethylaminobenzaldehydem barevné kondenzační produkty, jejichž množství určujeme fotokolorimetry. Měření bylo prováděno na Pulfrichově fotokolorimetru s filtrem S₅₃. Sulfosalicylové filtráty byly připravovány způsobem popsáným v našem dřívějším sdělení (13). Každý vzorek séra byl hydrolyzován paralelně ve dvou ampulkách. Z každé ampulky byly připraveny k vlastní analýze dva vzorky, takže hodnoty hexózáminu u každého zvířete byly vypočteny z výsledku čtyř paralelních měření.

V ý s l e d k y

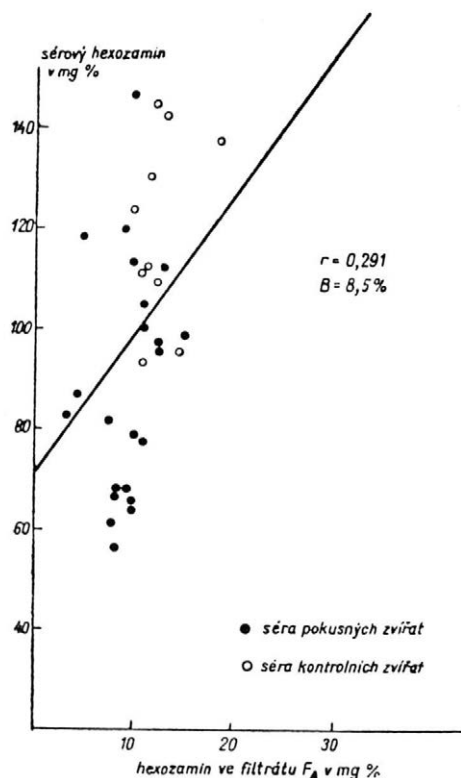
Hodnoty hexózáminu v krevním séru kontrolních a pokusných zvířat utrácených v časovém rozmezí 24–120 hodin po podání chloridu uhličitého jsou uvedeny v tab. I. V závislosti na čase utrácení pokusných zvířat, hladina hexózáminu v krevním séru prakticky soustavně klesá. U jednotlivých zvířat, utrácených po 24 hod. od aplikace CCl₄ je hladina hexózáminu dosti variabilní. Průměrná hodnota je však proti hladině kontrolních zvířat snížena o 16 % a toto snížení je velmi významné ($P < 0,01$). Po 48 hod. od aplikace CCl₄ je hladina sérového hexózáminu snížena v průměru o 31,9 % a pátý den po podání CCl₄ představuje pouze 51,3 % z hodnoty kontrolních zvířat.

I. Hladina hexózáminu v krevním séru morčat po aplikaci 0,2 ml CCl₄/100 g

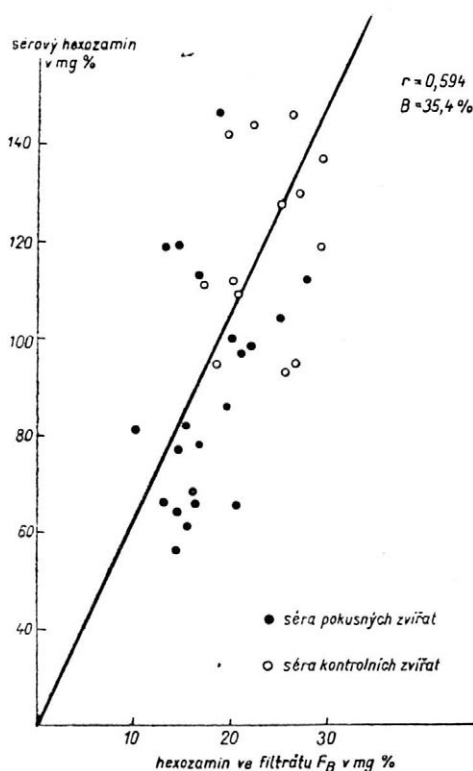
Trvání pokusu v hod.	Hexózámin v mg%
24	107,2 ± 4,5
48	86,9 ± 5,0
72	87,1 ± 3,2
96	69,0 ± 2,0
120	65,5 ± 2,2
Kontrolní skupina	127,6 ± 4,0

II. Hladina hexozaminu v sulfosalicylovém filtrátu alkalizovaného a nealkalizovaného séra morčat po aplikaci 0,2 ml CCl₄/100 g

Trvání pokusu v hod.	Hexozamin v mg% v sulfosalicylovém filtrátu ze 100 ml séra	
	alkalizovaného	nealkalizovaného
24	9,2 ± 1,5	18,5 ± 2,3
48	9,7 ± 0,9	17,9 ± 1,6
72	10,1 ± 1,4	18,2 ± 2,3
96	9,1 ± 0,6	16,0 ± 1,2
Kontrolní skupina	12,3 ± 2,3	23,1 ± 1,2



Graf 1. Regresní přímka pro vztah mezi hexózaminem v sulfosalicylovém filtrátu alkalizovaného séra (F_A) a hladinou sérového hexózinu.



Graf 2. Regresní přímka pro vztah mezi hexózaminem v sulfosalicylovém filtrátu nealkalizovaného séra (F_B) a hladinou sérového hexózinu.

V tab. č. II. jsou uvedeny hodnoty hexózáminu v mg % v sulfosalicylovém filtrátu ze 100 ml séra. U zdravých (kontrolních) morčat přechází do sulfosalicylového filtrátu alkalizovaného séra 9,9 % z celkového sérového hexózáminu; do filtrátu nealkalizovaného séra naproti tomu 18,7 %. Filtrát nealkalizovaného séra morčat obsahuje tedy asi o 88 % více hexózáminu než sulfosalicylový filtrát alkalizovaného séra. Tento rozdíl v množství hexózáminu je patrný také u pokusných morčat. Sulfosalicylový filtrát nealkalizovaného séra morčat utracených po 24 hod. od podání CCl_4 obsahuje o 101 %, po 48 hod. o 84,5 %, po 72 hod. o 80,1 % a po 96 hod. od aplikace CCl_4 o 75,5 % více hexózáminu než sulfosalicylový filtrát alkalizovaného séra těchto zvířat.

Porovnáme-li navzájem hodnoty, uvedené v tab. I a II, vidíme, že s poklesem hexózáminu v krevním séru se snižuje také jeho množství v sulfosalicylovém filtrátu zejména nealkalizovaného séra; tento vztah však není přísně lineární. Absolutní snížení množství hexózáminu ve filtrátu alkalizovaného séra pokusných morčat, utracených po 1—3 dnech od aplikace CCl_4 je vcelku malé a není signifikantní. Čtvrtý den dále klesá podobně jako hladina sérového hexózáminu.

Ve filtrátu nealkalizovaného séra těchto pokusných morčat je absolutní snížení hexózáminu výraznější a toto snížení je od druhého dne po podání CCl_4 signifikantní. Časový průběh těchto změn se více blíží časovému průběhu změn hladiny krevního hexózáminu. Toto zjištění je dalším důkazem toho, že pro posouzení stavu celkových mukoproteidů je u morčat výhodnější analyzovat nealkalizované sérum. Vyplyvá to konečně i z grafů 1 a 2, na nichž jsou regresní přímky pro vztah mezi hladinou sérového hexózáminu a jeho množstvím v sulfosalicylových filtrátech alkalizovaného a nealkalizovaného séra.

Mezi hexózáminem v krevním séru a množstvím hexózáminu v sulfosalicylovém filtrátu alkalizovaného séra není prakticky žádný vztah. Korelační koeficient $r = 0,291$ a $B = 8,5 \%$ je statisticky bezvýznamný. Velmi těsný je naproti tomu vztah mezi hexózáminem v sulfosalicylovém filtrátu nealkalizovaného séra a hladinou sérového hexózáminu; korelační koeficient $r = 0,594$, $B = 35,4 \%$ je statisticky vysoce významný.

Diskuse

Pokles hladiny hexózáminu v séru a v sulfosalicylových filtrátech u pokusných zvířat nasvědčuje tomu, že po podání CCl_4 došlo ke snížení sérového mukoproteidu. Tento závěr souhlasí s údaji Greenspana a Dreilinga (20), Poppi a Galettiho (21), Ningra a Továrka (22), kteří shodně udávají snížení mukoproteidů při jaterních lezích lidí. Všichni autoři opírají své výsledky o velký počet analýz, provedených u hospitalizovaných pacientů. Jen zcela ojediněle se vyskytují údaje o zvýšení mukoproteidů při jaterních chorobách. Tak např. Hiroshi Mizumuma (23) zjistil u králíků po podkožní aplikaci 0,6 ml $\text{CCl}_4/1000$ g, zvýšení mukoproteidů. Původní práce uvedeného autora nebyla přístupná a proto chybí nutné podklady pro její zhodnocení. V této souvislosti je však třeba poukázat na to, že množství mukoproteidů bývá posuzováno z různých hledisek a že k jejich stanovení je používáno různých metod (Brdičkovy reakce, stanovení tyrosinu, bílkovinných hexóz, kyseliny sialové, hexózáminu aj.). Pokud jde např. o bílkovinné hexózy vede jejich stanovení při jaterních chorobách k zdánlivému rozporu v hodnocení mukoproteidů. To proto, že při těchto stavech se zvyšuje poměr hexóz k bílkovinné komponentě mukoproteidu. Když pak z množství hexóz usuzujeme na množství mukoproteidů, pak jsou při jaterních chorobách zvýšeny.

Shodně s výsledky prací Kočenta a spol. (11, 12) bylo zjištěno, že také u morčat se vlivem alkalické denaturace séra louhem mění látkové složení sulfosalicylového filtrátu a to tak, že v něm ubývá mukoproteidových komponentů. Filtrát nealkalizovaného séra obsahoval podstatně více hexózáminu, než sulfosalicylový

filtrát alkalizovaného séra. Tento jev lze vysvětlit koprecipitací rozpustných bílkovin, jak na to poukázal Turek (24).

Velmi těsná a statisticky významná korelace mezi množstvím hexózáminu v krevním séru a v sulfosalicylovém filtrátu nealkalizovaného séra ($r = 0,594$) a na druhé straně prakticky žádný vztah mezi hladinou hexózáminu v krevním séru a ve filtrátu alkalizovaného séra ($r = 0,291$) nasvědčuje tomu, že množství hexózáminu, zjištěné ve filtrátu s vynecháním alkalické denaturace séra, lépe odráží skutečný stav sérových mukoproteidů. Dosažené výsledky vhodně doplňují a objasňují závěry našich dřívějších prací (13, 14), zabývajících se Brdičkovou reakcí při poškození jater. Je zřejmé, že lepší výsledky s polarografickou reakcí séra bez jeho alkalizace jsou podmíněny dobrým souladem mezi snížením výšky bílkovinné dvojvlny a poklesem hladiny mukoproteidů. Toto zjištění má důležitý význam pro diagnostiku jaterních chorob i pro stanovení mukoproteidů a bude třeba ověřit jeho platnost u hospodářských zvířat.

Souhrn

U morčat po podání chloridu uhličitého v dávce 0,2 ml na 100 g živé váhy byla zjišťována hladina hexózáminu v krevním séru a v sulfosalicylových filtrátech alkalizovaného a nealkalizovaného séra. Byl zjištěn pokles hexózáminu v séru a ve filtrátech, který nasvědčuje tomu, že u pokusných zvířat s poškozenými játry došlo k snížení množství sérového mukoproteidu.

Filtrát nealkalizovaného séra obsahoval podstatně více hexózáminu než filtrát alkalizovaného séra. Pokles hladiny hexózáminu ve filtrátu nealkalizovaného séra pokusných zvířat byl statisticky vysoce významný a lépe odpovídal časovému průběhu poškození jaterní tkáně a skutečnému stavu sérového mukoproteidu, než změny v množství hexózáminu ve filtrátu alkalizovaného séra. Dokazuje to také velmi těsná a statisticky významná korelace mezi hexózáminem v séru a v sulfosalicylovém filtrátu nealkalizovaného séra; naproti tomu mezi hexózáminem v séru a ve filtrátu alkalizovaného séra nebyl prokázán prakticky žádný vztah.

Dosažené výsledky doplňují a objasňují závěry našich dřívějších prací (13, 14) o úspěšném použití Brdičkovy filtrátové reakci nealkalizovaného séra při toxické hepatitidě morčat.

Došlo dne 7. 2. 1964

Literatura

1. Winzler R. J., Devor A. W., Mehl J. W., Smyth I. M.: J. clin. Invest. 27, 609, 1948. — 2. Winzler R. J., Smyth I. M.: J. clin. Invest. 27, 617, 1948. — 3. Mehl J. W., Golden F., Winzler R. J.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 72, 110, 1949. — 4. Kalous V.: Chem. listy 48, 747, 1954; Acta Chem. Acad. Sci. Hungar. 9, 301, 1956. — 5. Kalous V.: Kand. dis. práce, katedra fys. chemie KU Praha, 1958. — 6. Kalous V.: Chem. listy 49, 171, 1955. — 7. Weimer H. E., Mehl J. W., Winzler R. J.: J. biol. Chem. 185, 561, 1950. — 8. Schmid K. J.: J. Am. Chem. Soc. 75, 60, 1953. — 9. Schultze H. E., Göllner I., Heide K., Schönenberger M., Schwick G.: Z. Naturforsch. 10b, 463, 1955. — 10. Brdička R.: Klin. Wschr. 18, 305, 1939. — 11. Kočent A., Bošková I.: Chem. listy 51, 861, 1957. — 12. Kočent A., Brada Z., Bošková I.: Clin. Chim. Acta 2, 508, 1957. — 13. Neuman V., Zendulka M.: Sb. ČSAZV-Vet. med. 7 (XXXV), 809, 1962. — 14. Neuman V., Zendulka M.: Sb. ČSAZV-Vet. med. 7 (XXXV), 819, 1962. — 15. Weimer H. E., Redlich Moshin J., Quinne F. A., Nelson E. L.: J. Immunol. 78, 1, 1957. — 16. Weimer H. E., Winzler R. J.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med.

90, 458, 1955. — 17. Neuman V., Skalka B., Maděrová V., Šindelářová K.: Spisy Vet. fak. — v tisku. — 18. Elson L. A., Morgan W. T. J.: Biochem. J. 27, 1824, 1933. — 19. Blix G.: Acta Chem. Scand. 2, 467, 1948. — 20. Greenspan E. M., Dreiling D. A.: Arch. intern. Med. 91, 474, 1953. — 21. Poppi A., Galletti F.: C. A. 52, 3114, 1958. — 22. Ninger E., Továrek J.: Čsl. gastroenterologie a výživa 9, 191, 1955. — 23. Hiroshi Mizumuma: C. A. 52, 14869, 1958. — 24. Turek S.: Clin. Chim. Acta 5, 689, 1960.

Гексозамин в кровяной сыворотке и в ее сульфосалициловых фильтратах у морских свинок после подачи CCl_4

У морских свинок после подачи четыреххлористого углерода в дозе 0,2 мл на 100 г живого веса определялся уровень гексозамина в кровяной сыворотке и в сульфосалициловых фильтратах алкализированной и неалкализированной сыворотки. Было установлено понижение гексозамина в сыворотке и в фильтратах, что свидетельствует о том, что у подопытных животных с поврежденной печенью количество мукопротеида сыворотки понизилось.

Фильтрат неалкализированной сыворотки содержал существенно больше гексозамина, чем фильтрат алкализированной сыворотки. Понижение уровня гексозамина в фильтрате неалкализированной сыворотки подопытных животных было статистически высоко значимо и лучше отвечало продолжительности процесса повреждения ткани печени и фактическому состоянию сывороточного мукопротеида, чем изменения количества гексозамина в фильтрате алкализированной сыворотки. Это доказывает и очень узкая и статистически значимая корреляция между гексозином в сыворотке и в сульфосалициловом фильтрате неалкализированной сыворотки; наоборот, между гексозином в сыворотке и в фильтрате алкализированной сыворотки не было доказано практически никакой связи.

Полученные результаты дополняют и объясняют заключения наших прежних работ (13, 14) об успешном применении фильтратной реакции неалкализированной сыворотки Брдижки при токсическом гепатите морских свинок.

Hexosamin in the Blood Serum and in its Sulfosalicylic Filtrates in Guinea Pigs after Administration of CCl_4

After administration of tetrachlormethane in doses of 0,2 ml per 100 gs of live-weight to guinea-pigs the hexosamin level in the blood serum and in the sulfosalicylic filtrates of alkalized and of non-alkalized serum was determined. A sinking of the hexosamin level in the serum and in the filtrates was found, which indicates that in the test animals with injured livers there occurred a decreasing of the quantity of serum mucoproteid.

The filtrate of non-alkalized serum contained considerably more hexosamin than did the filtrate of alkalized serum. The sinking of the hexosamin level in the filtrate of non-alkalized serum from test animals was statistically highly significant and conformed better to the course, with regard to time, of the injury of the liver tissue and to the actual state of the serum mucoproteid than did the changes in the quantity of hexosamin in the filtrates of alkalized serum. This proves also a very close and statistically significant correlation between the hexosamin in the serum and in the sulfosalicylic filtrate of non-alkalized serum. Between the hexosamin in

the serum and in the filtrate of alkalized serum, on the other hand, practically no relation was proved.

The results obtained complement and illustrate the conclusions of our earlier works (13, 14) regarding the successful application of Brdička's filtrate reaction of non-alkalized serum in the case of toxic hepatitis of guinea-pigs.

Hexosamin im Blutserum und in seinen Sulfosalizylfiltraten bei Meerschweinchen nach der Verabreichung von CCl_4

Bei Meerschweinchen wurde nach der Verabreichung von Tetrachlorkohlenstoff in einer Dosis von 0,2 ml je 100 g Lebendgewicht der Hexosaminspiegel im Blutserum und in Sulfosalizylfiltraten von alkalisiertem und nicht alkalisiertem Serum festgestellt. Hierbei wurde eine Abnahme des Hexosamins im Serum und in den Filtraten beobachtet, die dafür spricht, daß es bei den Versuchstieren mit beschädigter Leber zu einer Senkung der Menge an Serummukoproteid kam.

Das Filtrat des unalkalisierten Serums enthielt wesentlich mehr Hexosamin als das Filtrat des alkalisierten Serums. Die Senkung des Hexosaminspiegels im Filtrat des unalkalisierten Serums der Versuchstiere war statistisch hoch signifikant und entsprach dem zeitlichen Ablauf der Beschädigung des Lebergewebes und dem tatsächlichen Stand des Serummukoproteids besser, als die Veränderungen der Hexosaminmenge im Filtrat des alkalisierten Serums. Das beweist auch die sehr enge und statistisch signifikante Korrelation zwischen dem Hexosamin im Serum und im Sulfosalizylfiltrat des nicht alkalisierten Serums. Zwischen dem Hexosamin im Serum und im Filtrat des alkalisierten Serums konnte dagegen praktisch keine Beziehung nachgewiesen werden. Die erzielten Ergebnisse ergänzen und aufklären die Schlüsse unserer früheren Arbeiten (13, 14) über die erfolgreiche Verwendung der Filtratreaktion von nicht alkalisiertem Serum nach Brdička bei toxischen Hepatiden der Meerschweinchen.

L'hexosamine dans le sérum sanguin et dans ses filtrats de sulfosalicylate des cobayes après l'administration de CCl_4

On vérifiait chez les cobayes après l'administration du tétrachlorure de carbone à la dose de 0,2 ml pour 100 g de poids vif, le niveau de l'hexosamine dans le sérum sanguin et dans les filtrats de sulfosalicylate du sérum alcalisé et non alcalisé. On a constaté un abaissement de l'hexosamine dans le sérum et dans les filtrats qui témoigne du fait qu'il s'est produit chez des animaux d'essai avec le foie endommagé un abaissement du volume de la muco-protéide du sérum.

Le filtrat du sérum non alcalisé comprenait essentiellement plus d'hexosamine que le filtrat du sérum alcalisé. L'abaissement du niveau de l'hexosamine dans le filtrat du sérum non alcalisé des animaux d'essai fut extrêmement important au point de vue statistique, répondant mieux au cours de l'endommagement du tissu de foie dans le temps et à l'état réel de la muco-protéide du sérum que les modifications quant au volume de l'hexosamine dans le filtrat du sérum alcalisé. Ce fait est également prouvé par une corrélation très étroite et au point de vue statistique très importante entre l'hexosamine dans le sérum et dans le filtrat de sulfosalicylate du sérum non alcalisé; au contraire, on n'a pu pratiquement prouver aucune relation entre l'hexosamine dans le sérum et le filtrat du sérum alcalisé.

Les résultats atteints complètent et éclaireissent les conclusions de nos travaux antérieurs (13, 14), concernant l'emploi fructueux de la réaction de filtrat de Brdička du sérum non alcalisé au cours de l'hépatite toxique des cobayes.

Hexozamina en el suero sanguíneo y en sus filtrados sulfosalicílicos de cobayos después de la aplicación de CCl_4

Después de administrar a los cobayos clorido carbónico en la dosis de 0,2 ml por 100 kg de peso vivo fué investigado el nivel de hexozamina en el suero sanguíneo y él en los filtrados salicílicos del suero alcalizado y no alcalizado. Fué averiguado el descenso de la hexozamina en el suero y en los filtrados que corrobora el hecho que en el caso de animales de ensayo con hígados dañados tuvo lugar el descenso de la cantidad de mucoproteida de suero.

El filtrado del suero no alcalizado contenía una dosis considerablemente más elevada de hexozamina que el filtrado del suero alcalizado. El descenso del nivel de hexozamina en el filtrado del suero no alcalizado de los animales de ensayo fué muy importante desde el punto de vista estático y respondía mejor al transcurso temporal del dañado del tejido de hígado y al estado real de mucoproteida de suero que los cambios de la cantidad de hexozamina en los filtrados del suero alcalizado. Este hecho demuestra también la correlación muy estrecha e importante desde el punto de vista estático entre la hexozamina en el suero y en el filtrado del suero no alcalizado; por el contrario entre la hexozamina en el suero y en los filtrados del suero alcalizado no fué observada prácticamente relación alguna.

Los resultados logrados hasta entonces complementan y aclaran las conclusiones de nuestros tratados precedentes (13, 14) relativos al empleo exitoso de la reacción filtrática de Brdička del suero no alcalizado en el caso de la hepatitis tóxica de los cobayos.

Z materiálu Studijně dokumentačního střediska Ústavu vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 2, Slezská 7

Koefoed Jensen I.: Electrophoretic studies of normal bovine and guinea-pig serum. (Vyšetřování normálního séra skotu a morčat elektroforézou). 1963, Acta veterin. scand. 4, č. 1, str. 64-84.

Cyanhemoglobin — vhodná metodika k aktivnímu vyhledávání hypochromních anemií hromadně se vyskytujících u domácích zvířat

**Циангемоглобин — пригодная методика для активного обнаружения
гипохромных анемий, массово появляющихся у домашних животных**

**Cyanhemoglobin — a Suitable Method for an Active Looking for Hypochromic
Anemia Occurring Collectively in Domestic Animals**

**Zyanhämoglobin — eine geeignete Methodik zur aktiven Ermittlung von massen-
weise bei Haustieren auftretenden Hypochromanämien**

MVDr. Lubomír ŠLESINGR, Ludvík ŠAŠINKA
Veterinární nemocnice v Senici nad Myjavou

Ú v o d

Stanovení hemoglobinu se provádí v laboratořích vžitou Sahliho metodou. Tato metodika využívá k určení v hemoglobinu přítomného hematinu. Velikou nevýhodou Sahliho metody je nutnost počítat s více než 20% chybou, která ji zatěžuje. Stejně tak jako metoda Siccova a ostatní obsoletní metodiky (stanovení kyslíkové kapacity, určující obsah *Fe*, kolorimetrické metody aj.) se nehodí pro seriová vyšetřování, která jsou nutná při dnešních diagnosticko-hematologických postupech na velkých hospodářských komplexech. Rutinní kontrolní určování hemoglobinu u domácích zvířat, jako důležité preventivně-zdravotní opatření, sloužící k odhalování hypochromních anemií, nabývá stále více na významu. Příčinou anemií bývá často nesprávné složení krmiva nebo špatné krmivo.

Častý výskyt hypochromní anemie u skotu a prasat nás vedl k hledání a zavedení vhodné metodiky stanovení hemoglobinu a to u většího počtu domácích zvířat najednou, s co největší úsporou času, při zachování přesnosti stanovení. Nezbytným požadavkem takové metodiky je, aby umožňovala odběr krve ke stanovení hemoglobinu přímo v terénu a aby neovlivňovala jeho fyzikální a chemické vlastnosti až do doby zpracování v laboratoři.

Podle našich dosavadních šetření vyhovuje uvedeným požadavkům metoda určení cyanhemoglobinu, která patří mezi dosud nejpresnější metody, stanovující hemoglobin. Vyžaduje sice spektrofotometr, který je však dnes už běžným vybavením každé laboratoře veterinárních nemocnic a ošetřoven.

Vzhledem k novým aspektům v hematologii je nutné podotknout, že na přesné stanovení hemoglobinu se dnes klade čím dále, tím větší důraz. Určení hemoglobinu postačuje při kontrole anemií u domácích zvířat v terénu. U po-

dezřelých případů je nutné věnovat se potom komplexnímu vyšetření krve. Zaváděním stále přesnějších a vhodných metod v laboratořích, v našem případě, stanovení hemoglobinu přes cyanhemoglobin, sledujeme také ekonomisaci provozu v laboratořích.

*

Synoptická bibliografie se zabývá především již dnes vývojem laboratorní techniky překonanými způsoby stanovení hemoglobinu a je velmi početná. Z tohoto důvodu nemá význam ji zde citovat. S použitím cyanhemoglobinu jsme se v dostupné veterinární literatuře dosud nesetkali. V humánní medicíně jsou známy ojedinelé zprávy.

Popis metodiky

Zásadní význam této metodiky spočívá ve stanovení hemoglobinu přes cyanhemoglobin, který je stabilní a nemění barvu ani propustnost po několik měsíců.

K přeměně hemoglobinu v cyanhemoglobin je nutný následující roztok:

KCN	200 mg (kyanid draselný)
K ₃ Fe (CN) ₆	200 mg (kaliumferrikyanid)

Oba kyanidy se rozpustí v 500 ml dest. vody a doplní se do 1000 ml H₂O. Roztok uchováváme ve tmavé lahvi. Jedovatost roztoku je menší než běžně v laboratořích používaného Hayemova roztoku. Je ovšem nutno dbát na to, aby se větší množství roztoku při manipulaci nesetkalo s kyselinou, neboť tím dochází ke vzniku jedovatého kyanovodíku. Roztok, kterého jsme v práci použili měl pH 8 a byl světležluté barvy. Po přidání krve zásaditost roztoku málo poklesla.

Kalibrace stanovení hemoglobinu

Pro kalibraci je nejběžnější postup stanovující celkové železo v krvi a z toho pak výpočtem zjištěný obsah hemoglobinu. Ve vzorku heparinové krve stanovíme železo fotometrií isobutanolového červeného komplexu rhodanidu železitého. Množství zjištěného železa přepočítáme na odpovídající obsah hemoglobinu. Zároveň určíme u téhož vzorku extinkci kyanmethemoglobinového komplexu. Pro nižší koncentrace připravíme roztoky kyanmethemoglobinu příslušně ředěné z roztoku základního vzorku.

Reagencie

Kyselina sírová p. a. H₂SO₄ koncentrovaná.

Roztok persíranu draselného p. a. nasycený (8 g ve 100 ml vody).

Rhodanidové činidlo: 30 g rhodanidu draselného rozpustíme ve 100 ml redestilované vody, přidáme 5 ml acetonu p. a. a 500 ml isobutylalkoholu.

Základní standardní roztok železa: 0,7958 g síranu železnato-amonného p. a. rozpustíme v 40 ml sírové kyseliny ředěné 1:1 vodou a doplníme vodou na 100 ml, 1 ml obsahuje 1,133 mg Fe.

Pracovní standardní roztoky železa: do odměrných baněk obsahu 100 ml postupně odměříme 1, 2, 3, 4, 5 ml základního standardního roztoku železa a doplníme na 100 ml vodou. Koncentrace železa v roztocích odpovídá ekvivalentní koncentraci 4, 8, 12, 16, 20 g% hemoglobinu.

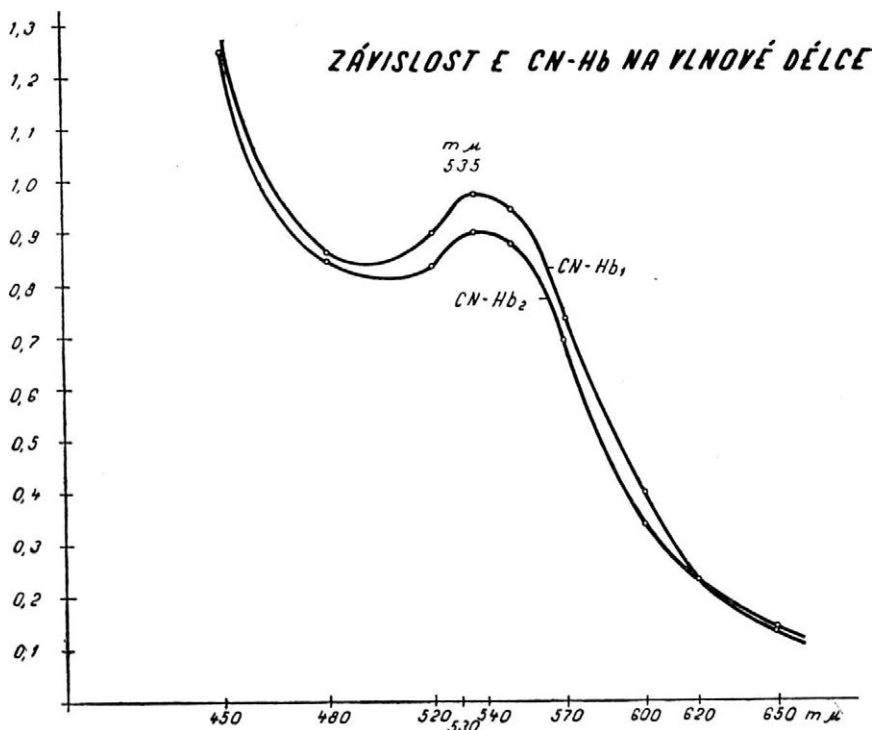
Kyanidové činidlo:

Kyanid draselný	0,2 g
ferrikyanid draselný p. a.	0,2 g
dest. voda ad	1000 ml
S. jed!	

Kalibrační křivka pro stanovení železa v krvi

Do pěti krátkých zkumavek odměříme 0,3 ml zředěných standardních roztoků, do šesté 0,3 ml redistilované vody. Pak přidáme do všech 0,5 ml konc. kyseliny sírové a 0,7 ml nasyceného roztoku persiranu draselného a promícháme. Po vychladnutí odměříme do zkumavek 6 ml rhodanidového činidla, obsah protřepeme a odstředíme 10 min. při 3500 ot./min. Pak odpipetujeme část isobutanolové vrstvy standardních roztoků do kyvety a fotometrujeme proti srovnávacímu roztoku vzorku s vodou při vlnové délce 500 m μ , v kyvetách o průměru 1 cm.

Pomocí naměřených hodnot nakreslíme kalibrační graf 1. jako závislost extinkce na koncentraci hemoglobinu, odpovídající ekvivalentní koncentraci železa pracovních standardních roztoků.



Stanovení hemoglobinu podle zjištěné koncentrace železa v krvi

Předem si připravíme vzorek heparinové krve co možno s největším obsahem hemoglobinu (18—20 g%), v množství 1—2 ml.

Do krátké zkumavky odměříme 0,3 ml redest. vody, vyplachovací pipetou 0,025 ml řádně promíchaného vzorku heparinované krve, 0,3 ml koncentrované kyseliny sírové a 0,5 ml nasyceného roztoku persiranu draselného. Promícháme a necháme vychladnout. Pak přidáme 6 ml rhodanidového činidla, opět promícháme a odstředíme 10 min. při 3500 ot./min. Z isobutanolového podílu odpipetujeme část do kyvety a fotometrujeme proti témuž srovnávacímu roztoku, při stejné vlnové délce a ve stejných kyvetách jako při měření standardních roztoků železa.

Podle naměřené extinkce E , odečteme z kalibračního grafu přímo koncentraci hemoglobinu ve vzorku heparinované krve v g% (xg% Hb). Stanovení provádíme nejméně třikrát. Extinkce se nesmí lišit více než o 0,01.

Kalibrace fotometru pro měření obsahu hemoglobinu v krvi

Do baňky odměříme pipetou 21 ml kyanidového činidla, přidáme 0,2 ml heparinované krve a řádně promícháme. Tak dostaneme základní roztok kyanmethemo-

globinu, odpovídající koncentraci x g % Hb. Pak odměříme byretou do čtyř zkumavek následující množství roztoků:

Základní roztok kyanmethemoglobinu ml	Kyanidové čínidlo ml	Ekviv. konc. hemoglobinu g %
8	2	4/5 x
6	4	3/5 x
4	6	2/5 x
2	8	1/5 x

Takto připravené roztoky promícháme a po 10 min. fotometrujeme spolu s roztokem základním proti srovnávacímu roztoku kyanidového činidla, při 535 m μ , v kyvetách o průměru 1—3 cm. Kalibrační křivku pro stanovení hemoglobinu v krvi kyanidovým činidlem zhotovíme jako závislost vypočtených ekvivalentních koncentrací hemoglobinu na naměřených extinkcích E₁—E₅ roztoků. Pak převedeme koncentrace hemoglobinu v g % na relativní % Hb (16 g % = 100 % relativních) a vyneseme v závislost na extinkci do kalibračního grafu.

Pracovní postup — stanovení hemoglobinu

Z čerstvě odebrané krve nasajeme do pipety o obsahu 0,020 mm³ krev, oťreme špičku pipety do viskosní houby a přesně nasátou krev vyfoukneme do zkumavky, kde je již připraveno 2,1 ml uvedeného roztoku. Pipetu několikrát propláchneme nasátím roztoku a získanou tekutinu promícháme, aby krev hemolyzovala. Fotometrujeme za 10 min. při filtru 535 μ . Uvedený filtr je pro cyanhemoglobin nejvhodnější, jak dokazují dvě sestavené absorbní křivky různých vzorků hemoglobinu na grafu 1.

Výpočet:

$$\text{Hb \%} = E \cdot 100 \cdot K \quad X_g = \frac{= 16 \cdot y \%}{100}$$

Kalibrační křivka byla provedena ředěním standardního roztoku, který odpovídal 100 % Hb. Ze získaných extinkcí a koncentrací byl vypočítán faktor K, který odpovídá u použitého spektrálního fotometru 0,98. Odpovídá téměř faktoru, který se udává pro cyanhemoglobin na Pulfrichově fotometru. (1).

K porovnání uvedené nové metodiky jsme prováděli paralelní měření hemoglobinu podle Sahliho.*)

Metoda cyan-Hb připouští použití jedné pipety pro serii vzorků. Je-li pipeta po použití několikrát propláchnuta a vysušena vyfoukáním, obnáší chyba vypočítaná podle Tomíčka (22) 1,07 %. Při použití čistých pipet obnáší chyba 0,5 %.

I. Hodnoty Hb u zdravých zvířat

Druh	Hb v g	Průměrná hodnota Hb %	Střední odchylka v % v g		Variace	Odchylka od Sahliho
Krávy	10,72	67	4,2	0,64	9,6—12,3	+ 9 %
Prasata	12,48	78	9,3	1,44	9,4—16	+12,5 %
Koně	13,12	82	7,4	1,12	9,9—16,5	+13 %

Výpočty podle (28).

*) Za zapůjčení standardních vzorků Hb děkujeme doc. dr. V. Hulemu.

II. Naměřené množství hemoglobinu u nemocných koní

Č. p.	Č. pr.	Diagnóza	Sahli v g	Cyan-Hb v g	Δ g
1	142	<i>Myasthenia</i>	8,48	13,44	4,96
2	225	<i>Kastratus</i>	8,48	12,16	3,68
3	223	<i>Kastratus</i>	12,16	14,72	2,56
4	219	<i>Kastratus</i>	12,32	14,88	2,56
5	177	<i>Trauma</i>	8,64	11,04	2,40
6	157	<i>Vulnus c.</i>	8,48	10,72	2,24
7	171	<i>Myasthenia</i>	12,96	15,20	2,24
8	220	<i>Kastratus</i>	14,88	16,48	1,6
9	205	<i>Vulnus c.</i>	9,60	11,04	1,44
10	222	<i>Kastratus</i>	12,0	13,12	1,12
11	226	<i>Vulnus c.</i>	9,12	9,92	0,80
12	197	Nášlap	9,60	10,24	0,64
13	221	<i>Kastratus</i>	11,20	11,68	0,48
14	208	<i>Vulnus c.</i>	16,80	14,56	— 2,24
15	185	Hemoglobinurie	13,6	11,68	— 1,92
16	189	<i>Vulnus c.</i>	9,92	8,16	— 1,76
17	207	<i>Vulnus c.</i>	9,76	8,0	— 1,76
18	182	Rakovina k.	8,0	7,36	— 0,64
19	181	<i>Tendinitis</i>	10,24	9,60	— 0,64
20	169	<i>Tendinitis</i>	11,0	10,5	— 0,5

V ý s l e d k y

Abychom získali normální hodnoty hemoglobinu uvedenou metodou, provedli jsme měření u 120 krav, 100 prasat a 80 koní. Všechna zvířata byla bez klinických příznaků a přibližně stejného stáří. Krávy byly březí do 4 měsíců. Výsledky této skupiny zvířat udáváme v průměrných hodnotách v tab. I. za účelem sledování většího pohybu hemoglobinu uvedenou metodou, jsme provedli další šetření u 20 nemocných krav a 20 nemocných koní. Výsledky a porovnání se Sahliho metodou udáváme v tab. II a III.

III. Naměřené množství hemoglobinu u nemocných krav

Č. p.	Č. pr.	Diagnóza	Sahli v g	Cyan-Hb v g	Δ g
1	179	<i>Pneumonia c.</i>	6,24	9,60	3,36
2	178	<i>Pneumonia c.</i>	4,96	7,84	2,88
3	160	<i>Actinomycosis</i>	7,04	9,92	2,56
4	168	Hypochr. anemie	2,56	5,12	2,56
5	166	<i>Pneumonia c.</i>	7,52	9,92	2,40
6	145	<i>Sectio C.</i>	8,48	10,72	2,24
7	139	<i>Sectio C.</i>	7,36	9,44	2,08
8	154	<i>Actinomycosis</i>	8,0	10,08	2,08
9	159	<i>Reticulitis tr.</i>	10,08	11,68	1,60
10	168	Hypochr. anemie	3,2	4,64	1,44
11	170	Hypochr. anemie	3,4	4,7	1,3
12	172	<i>Pneumonia c.</i>	3,84	5,12	1,28
13	196	<i>Actinomycosis</i>	7,68	8,80	1,12
14	173	<i>Pneumonia c.</i>	4,80	5,76	0,96
15	190	<i>Peritonitis diff.</i>	12,48	13,44	0,96
16	216	<i>Actinomycosis</i>	7,84	8,80	0,96
17	188	<i>Vulnus c.</i>	6,72	7,52	0,80
18	174	<i>Pneumonia c.</i>	8,0	8,48	0,48
19	191	<i>Peritonitis circ.</i>	6,4	6,72	0,32
20	202	<i>Sectio C.</i>	7,20	7,36	0,16

Diskuse

V humanní medicíně je metoda stanovení hemoglobinu přes cyan-Hb pokládána za dosud nejpřesnější. Chyba, která se při měření připouští je 2% (Donner). V porovnání se Sahliho metodou připouští Remmer chybu až 30%, čímž se značně snižuje praktické použití metody Sahliho v klinicko-laboratorní praxi. Porovnáváme-li hodnoty paralelně vyšetřované krve obou metod, jsou hodnoty Hb získané Sahliho metodou nižší, nežli hodnoty získané přesným měřením pomocí fotokolorimetru přes cyan-Hb. To odpovídá Donne-

rově tvrzení o inaktivním hemoglobinu v krvi, který se Sahliho metodou nedá zjistit i když je dbáno časového faktoru. Sahliho výsledkům téměř odpovídají hodnoty naměřené metodou Sicca (12). Poměrně značné variace, jak u našich zdravých i nemocných zvířat při Sahliho měření, si vysvětlujeme četnými faktory, které zkoušku ovlivňují.

Porovnáme-li popsanou metodu cyan-Hb s ostatními dosud používanými metodami, zjišťujeme její následující přednosti: metoda je jednoduchá, nenáročná na chemikálie a hodí se dobře k seriovému šetření. Vzniklé barvivo v roztoku kyanidů je stále a udává konstantní hodnoty i po několik měsíců. Hodnoty jsou objektivní, neboť se získávají pomocí spektrofotometrického měření. Pro značnou přesnost je možné metody použít ke standardizaci údajů hemoglobinu u domácích zvířat a tím vyplnit dosud zející mezery. Nmalý význam nabude metodika při odhalování karenních hypochromních anemií u užitkových zvířat.

Souhrn

Popsali a prověřili jsme ve veterinární medicíně dosud málo známou metodu stanovení hemoglobinu přes cyanhemoglobin. Metodu jsme přezkoušeli u skotu, prasat a zdravých koní, jakož i při některých chorobách domácích zvířat.

Fotokolorimetrická metoda za použití roztoku kyanidů je jednoduchá, přesná, hodí se pro seriová vyšetřování Hb. Časový faktor je u popsané metody bezvýznamný.

Došlo dne 12. 11. 1961

Literatura

1. Arbeitsvorschriften für das Pulfrich Photometer. Jena 1956. — 2. Betke K., Savelsberg W.: Biochem. Zschr. 320, 431-439, 1949/1950. — 3. Bürker K.: Münch. med. Wschr. 68, 571, 1921. — 4. Donner L.: Hematologie, St. pedagog. nakl., Praha 1956. — 5. Donner L.: Vnitř. lék. VII-9, 1063, 1961. — 6. Drastich L., Hejda B.: Návod k praktickému použití nového názoru na červený obraz krevní. Babákova sbírka. Stát. zdravot. nakl. Praha 1957. — 7. Dudek J., Daubleský B., Freiová M.: Naše zkušenosti s měřením Hb. Prakt. lék. 1146, 1959/XXIV. — 8. Gdovin T. a spol.: Vliv feridextranu na krevní obraz a váhové přírůstky prasat. Vet. časopis 6, 535, 1960. — 9. Heilmeyer L.: Medizinische Spektrofotometrie. Jena 86, 1933. — 10. Homolka J.: Chemická diagnostika v dětském věku. Stát. zdravot. nakl. 1956. — 11. Hořejší J. a spol.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. Stát. zdravot. nakl., Praha 1957. — 12. Klimeš B.: Dis., Brno 1953. — 13. Klimeš B., Celer V.: Vhodnost metod pro počítání krvinek drůbeže, obsah Hb a leukogram zdravých slepic. Vet. časopis 4, 341, 1960. — 14. Krupski A.: Schw. A. f. Thk. 84, 387, 1942. — 15. Kuderjavcev A. A.: Isledovanie krvi v veterinarnoj diagnostike. Moskva 1948. — 16. Lenec I. A.: K voprosu opredelenija količestva gemoglobina aparatom Sahli. Veterinarija 1, 75, 1960. — 17. Netoušek M.: Nauka o krvi. Zdravot. nakl., Praha 1951. — 18. Pleva J., Kapitančík B.: Krevní obraz počas podkož. tuberkulínace u hovězího dobytka. Vet. med. 7-9, 673, 1959. — 19. Remmer H.: Internist. 6, 232-236, 1960. — 20. Quadrát O., Mašek K.: Metoda a kalibrace stanovení Hb v krvi. Vnitř. lék. 3, 329, 1961. — 21. Soyka O. a spol.: Metodika k aktivnímu vyhledávání těhotenských anemií. Prakt. lékař. 2, 77, 1959. — 22. Tomíček O.: Kvantitativní analýsa. Stát. zdravot. nakl., Praha, 1958. — 23. Crosby W., Houchin D.: Standard Solutions of Cyanmethemoglobine. Blood, 12, 1132, 1957.

Циангемоглобин — пригодная методика для активного обнаружения гипохромных анемий, массово появляющихся у домашних животных

Мы описали и проверили до сих пор малоизвестный в ветеринарии метод установления гемоглобина через циангемоглобин. Метод испытывался на крупном рогатом скоте, на свиньях и здоровых лошадях, а также при некоторых заболеваниях домашних животных.

Фотоколориметрический метод с применением раствора цианидов простой, точный, пригодный для серийного исследования Hb. Фактор времени у описанного метода не играет роли.

Cyanhemoglobin — a Suitable Method for an Active Looking for Hypochromic Anemia Occurring Collectively in Domestic Animals

We have described and checked the hitherto in veterinary medicine little known method of determining hemoglobin via cyanhemoglobin. We have checked this method in cattle, pigs, and in healthy horses, as well as in the case of some diseases of domestic animals.

The photocolorimetric method with the application of a solution of cyanides is simple, accurate, and is suitable for the serial investigation of Hb. In the described method the time factor is insignificant.

Zyanhämoglobin — eine geeignete Methodik zur aktiven Ermittlung von massenweise bei Haustieren auftretenden Hypochromanämien

Wir beschrieben und überprüften die in der Veterinärmedizin bisher wenig bekannte Methode der Hämoglobinbestimmung über Zyanhämoglobin. Wir erprobten diese Methode bei Rindern, Schweinen und gesunden Pferden sowie bei gewissen Krankheiten der Haustiere.

Die photokolorimetrische Methode unter Verwendung einer Lösung von Zyaniden ist einfach, genau und eignet sich für Hb-Serienuntersuchungen. Der Zeitfaktor ist bei der beschriebenen Methode bedeutungslos.

Z materiálů Studijně dokumentačního střediska Ústavu vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 2, Slezská 7

Frei Y. F., Perk K., Danon D.: Correlation between osmotic resistance and fetal hemoglobin in bovine erythrocytes. (Vztah mezi osmotickou odolností a fetálním hemoglobinem erytrocytů skotu.) 1963, Exp. Cell. Res. 30, č. 3, str. 561-568.

Perutz M. F.: X-ray analysis of hemoglobin. (Rozbor hemoglobinu paprsky X.) 1963, Science, 140, č. 3569, str. 863-869.

Vojtkevič V. I.: Vlivanije chroničeskogo kislorodnogo golodaniya na krivye dissociacií oksigemoglobina belych krys v rjadu pokolenij. (Vliv chronického nedostatku kyslíku na křivky disociace oxyhemoglobinu ve více generacích bílých myší.) 1963, Fiziologičeskij žurnal SSSR imeni i. M. Sečenova, 59, č. 5, str. 615-620.

Sirs J. A., Roughton F. J. W.: Stopped-flow measurements of CO and O₂ uptake by hemoglobin in sheep erythrocytes. (Měření příjmu CO a O₂ u hemoglobinu erytrocytů ovcí při omezeném krevním oběhu.) 1963, J. appl. Physiol. 18, č. 1, str. 158-163.

Sirs J. A.: Uptake of O₂ and CO by hemoglobin in sheep erythrocytes at various temperatures. (Příjem O₂ a CO hemoglobinem erytrocytů ovcí při různých teplotách.) 1963, J. appl. Physiol. 18, č. 1, str. 166-170.

Sirs J. A.: Effect of shape-volume changes on uptake of CO and O₂ by hemoglobin in erythrocytes. (Vliv změn tvaru a objemu erytrocytů na příjem CO a O₂ hemoglobinem.) 1963, J. appl. Physiol. 18, č. 1, str. 171-174.

Komplementfixačný test s antigenom pripraveným zo zárodkov podobných brucelóznym a ním dosiahnuté výsledky v ovčích a kozích stádach

Комплементфиксирующий тест с антигеном,
приготовленным из брюцеллоидных зародышей, и достигнутые им результаты
в стадах овец и коз

The Complement Fixation Test with an Antigen Prepared from Bruceloid Germs
and the Results Obtained with it in Sheep and Goat Herds

Der Komplementfixationstest mit einem aus bruzellenähnlichen Erregern zubereite-
ten Antigen und die bei Schaf- und Ziegenherden erzielte Ergebnisse

MVDr. Štefan HAJDU

Ústredný štátny veterinárny ústav, pobočka B. Bystrica
Veterinárna vyšetrovacia stanica vo Zvolene,
vedúci dr. S. Hajdu

Ú v o d

V prvej práci, zameranej na riešenie etiológie epididymitíd baranov hromadne sa vyskytujúcich v niektorých baraních stádach na Slovensku, sme dokázali (Hajdu 1961a), že sú zapríčinené bruceloidným mikróbom. Determinácie tohoto zárodokú nie je definitívne vyriešená. Meyer a Cameron (1956) zaraďujú tento zárodok medzi *Neisserie*, Kennedy, Farzier a McGovan (1956) a Sokol (1959) ho považujú za *Haemophila*, zatiaľ čo Renoux a Mahaffey (1955) a Tudoriu a spol. (1959) sú toho názoru, že zárodok treba zaradiť do rodu *brucel* a to buď ako nový typ, alebo ako nový druh. Táto skutočnosť má za následok, že i pomenovanie choroby je rôzne a nie definitívne. Označenie choroby za *ovčiu brucelozu* sa rodilo podľa zaradenia vyvolávateľa choroby medzi brucely, kým *infekčná epididymida* je odvodená z jedného hlavného symptomu choroby. Hajdu (1961a, b a 1962) navrhol chorobu nazvať *bruceloidozou*.

Pomocou KFT sa nám podarilo bezpečne rozriešiť bruceloidné kmene od pravých brucel, tým sa nám podarilo jednak vypracovať sériodiagnostiku choroby zavinené bruceloidnými zárodkami a jednak dokázať, že bruceloidné zárodky zapríčiňujú u oviec chorobu *sui generis*, ktorá nemá nič spoločného s brucelózou spôsobenou so známymi typami brucel. Nakoľko od roku 1959 robí KFT s bruceloidným antigénom iba naša stanica považujem za potrebné popísať spôsob prípravy antigénu pre KFT a spôsob robenia tejto reakcie;

ďalej referovať o rozšírenosti choroby zapríčinené bruceloidnými zárodkami v jednotlivých krajocho Slovenska a vyhodnotiť výsledky prieskumu z hľadiska šírenia tejto nákazy.

Vlastná práca

Príprava antigénu pre KFT

Na krvný agar o pH 6,9 s obsahom 10 % hovädzej krvi, alebo ešte lepšie na krvný *Albini agar* husto naočkujeme bruceloidné zárodky. Naočkované platne, vložené do exikatora s obsahom cca 20 % CO₂ inkubujeme v termostate pri 37°C do hustého porastu (4–6 dní). Kultúru zmyjeme fyziologickým roztokom kuchynskej soli a zvyšky agaru odstránime filtráciou cez filtračný papier. Bakteriálnu suspenziu centrifugujeme pri cca 4.000 obr./min. tak dlho, kým supernatant nebude čirý. Nato supernatant zlejeme a zo sedimentu pripravíme s destilovanou vodou o pH 7,2 takú hustú suspenziu, ktorá zodpovedá hustote bárium-sulfátového štandardu (97 ml 1%-ná kyselina sírová a 3 ml 1%-ný báriumchlorid). Takto pripravenú bakteriálnu suspenziu zahrievame na elektromagnetickej miešačke za stáleho miešania pri teplote 72–82°C po dobu 1 hodiny. Po tejto termickej extrakcii bakteriálne telá dokonale odcentrifugujeme výše uvedeným spôsobom; mierne opaleskujúci, nažltlý supernatant predstavuje hotový antigén, ktorý po konzervovaní s kyselinou karbolovou (celkový obsah kys. karbolovej 0,5 %) je použiteľný niekoľko mesiacov. Antigén po zhotovení preskúšame na antikomplementaritu a určíme jeho použiteľný titer s pozitívnym sérom známou boxovou titračnou metódou, ktorý je zpravidla 1–3%-ný.

Robenie KFT

Ovčie séra inaktivujeme vo vodnej lázni pri 60°C po dobu 30 min. Každé sérum sa vyšetruje vo dvoch zriedeniach (absolutné množstvo séra 0,1 a 0,02 ml v 2,5 ml systéme) s antigénom, pričom použijeme jednu kontrolu séra bez antigénu (absolutné množstvo séra 0,1 ml) na zistenie antikomplementarity séra. Popis nami používaného spôsobu robenia KFT viď v práci Hajdu (1957). Na určenie titra protilátok zhotovíme zriedenie do predpokladanej výšky obvyklým spôsobom, pričom ako kontrolu séra bez antigénu použijeme to najväčšie a najmenšie zriedenie séra, ktoré sme s antigénom použili.

Prvá fáza reakcie so môže robiť vo vodnej lázni zastavenej na 37°C (inkubačná doba 30 min.), lepšie je ale robiť v termostate pri tej istej teplote (inkubačná doba 1 hod.). Druhú fázu však v každom prípade robíme vo vodnej lázni a za 20 min. po pridaní senzibilizovaných baraných krviniek reakciu odčítame. Výsledky hodnotíme nasledovne: pozitívny výsledok je vtedy, keď v prvej alebo v druhej, respektíve v oboch skúmavkách s antigénom nastane 4 alebo 3 krížová zábrana hemolýzy, dubiozný výsledok je v tom prípade, keď v uvedených skúmavkách je 1 alebo 2 krížová zábrana hemolýzy a keď v oboch skúmavkách nastane úplná hemolýza výsledok je negatívny. Pri posudzovaní treba brať do úvahy prípadnú antikomplementaritu vyšetřovaného séra a aby antikomplementarita bola čím bezpečnejšie odstránená treba dodržiavať pri inaktivácii 60°C.

Výsledky prieskumu

V rokoch 1960 a 1961 sme vyšetrili s bruceloidným antigénom pomocou KFT 33.575 kusov sér od baranov a bahníc, z čoho 3.292 vzoriek (9,8 %) bolo pozitívnych. Z uvedeného počtu krvných vzoriek 23.228 kusov pochádzalo od baranov a výsledok bol pozitívny u 3.079 vzoriek, t.j. 13,25 %. Od bahníc sme vyšetrili 10.327 vzoriek a výsledok dopadol pozitívne iba 213 vzoriek (2,6 %). Od kôz a capov sme obdržali za uvedené obdobie celkove 587 krvných vzoriek a výsledok dopadol negatívne u všetkých vzoriek (viď tab. č. III).

I. Výsledky KFT s bruceloidným antigénom krvných vzoriek od baranov a oviec vyšetrených na Slovensku v roku 1960.

Kraj Západoslovenský					Kraj Stredoslovenský					Kraj Východoslovenský				
okres	počet vzoriek		počet pozit.		okres	počet vzoriek		počet pozit.		okres	počet vzoriek		počet pozit.	
	O	B	O	B		O	B	O	B		O	B	O	B
Komárno	719	426	—	14	Zvolen	1525	1342	5	10	Košice	—	302	—	94
Nitra	—	31	—	—	Rim. Sobota	459	1923	2	166	Poprad	—	92	—	—
Trenčín	—	320	—	—	Ban. Bystrica	1056	460	4	123	Rožňava	285	574	4	153
Galanta	—	98	—	—	Lučenec	—	1036	—	153	Spiš. Nová Ves	—	360	—	87
Topoľčany	—	81	—	4	Žiar n/Hronom	—	171	—	20	Prešov	—	—	—	—
Trnava	—	14	—	—	Prievidza	50	49	—	—	Bardejov	—	95	—	12
Senica	—	39	—	6	Čadca	27	—	—	—	Humenné	—	—	—	—
Bratislava	—	5	—	—	Lipt. Mikuláš	1353	2265	49	746	Michalovce	418	307	—	1
Dun. Streda	—	16	—	2	Martin	778	1332	19	118	Trebišov	—	387	—	28
Nové Zámky	5	769	—	9	Pov. Bystrica	—	24	—	3					
Levice	—	85	—	—	Žilina	—	39	—	2					
					Dolný Kubín	—	663	—	85					
Spolu :	724	1884	—	35		5248	9304	79	1426		703	2157	4	375
%	100	100	0	1,8		100	100	1,5	15,3		100	100	0,56	17,3

Legenda: O = ovce, B = barany.

II. Výsledky KFT robeného s bruceloidným antigénom krvných vzoriek od baranov a oviec vyšetrených na Slovensku v roku 1961

Kraj Západoslóvenský					Kraj Stredoslóvenský					Kraj Východoslóvenský				
okres	počet vzoriek		počet pozit.		okres	počet vzoriek		počet pozit.		okres	počet vzoriek		počet pozit.	
	O	B	O	B		O	B	O	B		O	B	O	B
Komárno	92	108	—	—	Zvolen	1540	1149	61	36	Košice	—	209	—	29
Bratislava	—	11	—	1	Rim. Sobota	18	1792	1	232	Trebišov	—	478	—	112
Senica	—	56	—	—	Ban. Bystrica	—	755	—	232	Spiš. Nová Ves	188	544	8	153
Galanta	—	170	—	3	Lučenec	17	708	17	57	Michalovce	7	241	—	—
Nové Zámky	39	317	—	10	Žiar n/Hronom	—	152	—	5	Rožňava	170	111	12	11
Trenčín	—	201	—	—	Prievidza	—	64	—	21	Levoča	—	5	—	5
					Lipt. Mikuláš	1037	993	35	118	Poprad	—	391	—	112
					Martin	544	1033	6	66					
					Žilina	—	190	—	8					
					Dolný Kubín	—	205	—	32					
S p o l u	131	863	—	14		3156	7041	110	807		365	1979	20	422
%	100	100	0	1,6		100	100	3,4	11,4		100	100	5,4	21,3

III. Sumárny prehľad o počte vyšetrených krvných vzoriek vyšetrených na Slovensku od oviec a kôz v rokoch 1960 a 1961 pomocou KFT s bruceloidným antigénom

Druh, resp. pohlavie zvieratá	Rok 1960			Rok 1961			Spolu v rokoch 1960 a 1961		
	počet vyšetř. vzoriek	počet pozit.	% pozit.	počet vyšetř. vzoriek	počet pozit.	% pozit.	počet vyšetř. vzoriek	počet pozit.	% pozit.
Ovce a barany	20 020	1919	9,5	13 535	1373	10,1	33 575	3292	9,8
Barany	13 345	1836	13,7	9 883	1243	12,5	23 228	3079	13,25
Ovce	6 675	83	1,2	3 652	130	2,3	10 327	213	2,06
Kozy a capy	247	—	—	340	—	—	587	—	—

IV. Prehľad o počte obcí s bruceloidnými zárodkami podľa jednotlivých krajov a okresov v rokoch 1960 a 1961

Kraj	Okres	Počet zamorených obcí v rokoch	
		1960	1961
Západoslovenský	Komárno	2	—
	Topolčany	1	—
	Bratislava	—	1
	Galanta	—	2
	Senica	1	—
	Dunajská Streda	2	×
	Nové Zámky	2	3
	Trenčín	—	—
Stredoslovenský	Zvolen	4	5
	Rimavská Sobota	7	22
	Banská Bystrica	5	11
	Lučenec	5	11
	Žiar n/Hronom	2	2
	Liptovský Mikuláš	14	16
	Martin	10	14
	Považská Bystrica	1	×
	Žilina	1	2
	Dolný Kubín	4	4
	Prievidza		1
Východoslovenský	Levoča	×	1
	Košice	2	3
	Rožňava	3	3
	Spišská Nová Ves	10	5
	Bardejov	1	×
	Michalovce	1	—
	Trebišov	2	5
	Poprad	—	6
Spolu		80	117

Legenda: X: krvné vzorky sme neobdržali.

Zamorenosť ovčích a baraních stád podľa jednotlivých krajov a okresov v rokoch 1960 a 1961 je zachytená na tabuľkách č. I, II a IV. Z uvedených tabuliek vysvitá, že z troch slovenských krajov najväčšiu zamorenosť má kraj Stredoslovenský a Východoslovenský, kým zamorenosť Západoslovenského kraja je podstatne menšia. Spoľahlivým ukazovateľom je v tomto smere jednak percento pozitívnych baranov a oviec, jednak počet zamorených obcí. Z tabuľky

IV vysvitá ďalej i nerovnaká zamorenosť ovčích stád jednotlivých okresov. Podľa serologického nálezu sme mali v roku 1960 na Slovensku celkove v 16 okresoch 80 zamorených obcí a v roku 1961 v 19 okresoch 117 zamorených obcí.

Zamorenosť okresných barančincov tiež nie je rovnaká. Niektoré barančince sú zamorené pomerne v malom stupni (cca do 14 %), ako je napríklad okresný barančinec L., S. a V. Č., zatiaľ čo iné vykazujú podľa serologického nálezu podstatne väčšiu zamorenosť ako napríklad okresné barančince MĎ. a P., ktoré sú zamorené až na 60 %. Pozitívne nálezy boli zistené nielen u baranov sústredených v okresných barančincoch, ale i u chovných baranov v takom okrese, v ktorých sa barany po skončení pripúšťacieho obdobia nesústreďujú do okresných barančincov. Takýmto okresom je Z. a na JRD B. napriek tomu z roka na rok sa vyskytuje táto nákaza. Zisťujeme ju klinicky i sérologicky tak u plemených baranov, ako aj barančekov chystaných na aukčný trh.

Markantný rozdiel sme zisťovali čo do počtu reagentov v nakazených hospodárstvach podľa pohlavia, pričom bahnice vykazovali pravidelne oveľa nižšiu zamorenosť. Na JRD D. zamorenosť bahníc bola 8,6%-ná a u aukčných barančekov 90%-ná. Sérologická pozitivita sa začala objavovať u barančekov iba v dobe pohlavného dospievania. V krvnom sére mláďat nakazených matiek sme zistili kolostrálne protilátky.

Vyhodnotenie výsledkov prieskumu

Komplementfixačná reakcia nami pripraveným antigénom sa ukázala byť špecifickou reakciou pre zisťovanie oviec nakazených s bruceloidnými zárodkami keďže sme pri relatívne veľkom počte vyšetrovaní nezistili pozitívne reakcie v takých stádach, kde hromadná epididymitída sa neobjavovala. Treba ale mať na mysli, že epididymitída u baranov môže vzniknúť aj na inom podklade, či už infekčnom, alebo neinfekčnom, preto negatívny výsledok KFT pri klinicky pozitívnom náleze nemusí nutne znamenať nedokonalú záchytnosť KFT. Zatiaľ sme mali možnosť spozorovať v baraních stádach ojedinelý výskyt epididymitíd zapríčinených zárodkami *Pasteurella haemolytica*. Hromadná epididymitída sa však v týchto chovoch nešírila a výsledok serologického vyšetrovania s bruceloidným antigénom dopadol i po viacerých rokoch v celom stáde negatívne. Negatívny výsledok KFT s bruceloidným antigénom u 587 kusov sér pochádzajúcich od capov a kôz nasvedčuje tomu, že epididymitídy u capov sa vyvíjajú na inom podklade.

Z hromadného prieskumu (počet vyšetrovaných baraních sér 23.228) baranov z rôznych častí Slovenska sa dá predpokladať, že t. č. hromadné epididymitídy majúce hospodársky význam sú jednotnej etiológie a sú zapríčinené bruceloidným zárodkom: Zatiaľ sme sa ani v jednom prípade nestretli s výskytom hromadných epididymitíd, kde by výsledok KFT s bruceloidným antigénom dopadol negatívne, alebo by výsledok nebol v súlade s klinickým nálezom. To pravda neznamena, že pred našim vyšetrovaním sa nevyskytli hromadné epididymitídy na inom podklade, alebo že sa v budúcnosti takéto nemôžu vyskytnúť.

Z výsledkov nášho sérologického prieskumu môžeme ďalej dedukovať, že brucelóza oviec (vyvolaná typom *melitensis*, resp. *intermedia*) sa t. č. na Slovensku sotva vyskytuje, čomu nasvedčuje aj epizootologická situácia v ovčích stádach. U cca 1 %

ovčích sér zisťované nízke aglutinačné titre (1:10—1:20) s brucelovým antigénom treba považovať za nešpecifické jednak vzhľadom na epizootologickú situáciu, jednak vzhľadom na negatívny výsledok iných špecifickejších reakcií, ako je napríklad KFT a alergia, ktoré dávajú dobré výsledky práve pri chronickej brucelóze, keď aglutinačné titre sú nízke, nehodnotiteľné. Je ale zaujímavé, že tieto nízke aglutinačné titre sme nespozorovali u väčšieho počtu zvierat, alebo vo vyšších titroch v stádach nakazených s bruceloidnými zárodkami, čo by sa dalo predpokladať z výsledkov výskumu antigennej štruktúry bruceloidných zárodkov robených *Renouzmom* a *Tudorimom*, ktorí zistili spoločný antigén pomocou aglutinačnej skúšky medzi bruceloidným zárodkom a *B. abortus* nachádzajúcim sa v R fáze a v malej miere s *B. abortus* v S fáze. Naše výsledky nasvedčujú tomu, že nešpecifické aglutinačné titre v ovčích stádach u nás nie sú zapríčinené bruceloidným mikróboom.

Najväčšiu spoľahlivosť vykazoval KFT u mladých barančekov 7—11 mesačných. V takýchto prípadoch každý klinický pozitívny baranček je súčasne aj sérologický pozitívny a značný počet barančekov reaguje sérologicky pozitívne, ktoré sú klinicky negatívne. Pozitívnu reakciu sme zistili zatiaľ iba u pohlavne dospelých barančekov, čo znamená, že barany sú vnímavé iba po dosiahnutí pohlavnej dospelosti. Nakoľko z pravidiel klinicky ochorejú telesne najvyvinutejšie barančky, dá sa predpokladať, že vývin klinických zmien na genitáliách je podmienený vysokou sekrečnou činnosťou pohlavných žliaz, ktorá je podobným oslabujúcim faktorom pre vznik epididymitídy, ako vysoká sekrečná činnosť mliečnej žľazy u kráv pre vznik streptokokových mastitíd. Pozitívny serologický nález u barančekov pohlavne nezrelých pochádza z kolostra a protilátky z pravidiel vymiznú z krvi do 3—4 mesiacov. O spôsobe nakazenia mladých barančekov sa zmienim v inej práci.

Je do očí bijúce, že v stádach, kde účinkovali nakazené barany podstatne menšie percento oviec reaguje sérologicky pozitívne ako v stáde odchované pohlavne dospelé barančky. Priemerná zamorenosť baranov vyšetrených v posledných dvoch rokoch je na základe výsledku sérologického vyšetrenia 13.25 %, zatiaľ priemerná zamorenosť oviec je iba 2.06 %. Ešte markantnejší rozdiel je vtedy, keď výsledok vzťahujeme na jednotlivé zamorené stáda. V tomto prípade i pri 90 % zamorenosti pohlavne dospelých barančekov bahnice vykazujú iba 1—8,6 % zamorenosť. To znamená, že ovce sú podstatne rezistentnejšie proti tomuto mikróbu. Aborty a sterilita u bahníc zatiaľ u nás bezpečne neboli dokázané a terénne pozorovania nenaviedajú tomu, že by sa v nakazených stádach v pozoruhodnej miere vyskytovali. Z hľadiska tlmenia nákazy je bezpodmienečne nutné objasniť patogenézu tejto nákazy u bahníc v našich podmienkach a zistiť za akých podmienok a v akej miere sú nebezpečné bahnice pri rozširovaní nákazy, čo je predmetom ďalšieho výskumu. Doterajšie naše skúsenosti nenaviedajú tomu, že by ovce mimo prípušťačieho obdobia hrali podstatnú úlohu pri rozširovaní nákazy.

Podľa sérologického nálezu vykazuje silnú zamorenosť kraj stredoslovenský a východoslovenský a to i podľa počtu zamorených obcí a rozsahu zamorenosti jednotlivých ovčích stád, kým západoslovenský kraj je iba v nepatrnej miere zamorený. Je otázne, či to nesúvisí s plemenom, lebo tu sa pestuje v prevládnej miere plemeno merino. Podľa sérologických náleзов najväčšiu zamorenosť vykazuje plemeno valaška a cigája. Táto skutočnosť by nasvedčovala tomu, že jednotlivé plemená nie sú rovnako vnímavé. Proti tomuto svedčí ale tá okolnosť, že i keď celková zamorenosť plemena merino je podstatne menšia, ako u uvedených dvoch plemien, v stredoslovenskom kraji sme zistili vysokú zamorenosť (40 %) u baranov plemena merino (barančinec B.). Nízka zamorenosť západoslovenského kraja sa dá vysvetliť skôr tým, že nákaza vyskytla sa skôr v horských a podhorských oblastiach a jej rozšírenie na plemeno merino brzdila tá okolnosť, že medzičasom sa začalo poukazovať na infekčný charakter hromadných epididymitíd. Barany so zmenenými genitáliami sa začali vyradovať pred alebo na aukčných trhoch, na čom má mimoriadnu zásluhu najmä Chládecký, Gdovín a Nižňanský. Tieto opatrenia ale nestačili na úplné zamedzenie nákazy a vôbec neboli dostačujúce na likvidáciu choroby. To jasne vyplýva z údajov plemenára Juríka, podľa ktorého v roku 1953 sa vyradilo na aukčných trhoch 2.4 % baranov pre zmenené genitálie a v roku 1959 toto % stúplo na 9.9. Táto skutočnosť sa dá vysvetliť jednak tým, že baran môže byť zdrojom nákazy už niekoľko týždňov pred vyvinutím klinických príznakov choroby, jednak tým, že u značného počtu infikovaných baranov sa klinické zmeny neobjavia, pričom sú zdrojom nákazy, čomu nasvedčujú naše serologické nálezy a čo i experimentálne dokázal Tudoriu a spol. (1961). Menovaní autori poukázali na to, že masívnosť vylučovania choroboplodných zárodkov je oveľa častejšia u baranov bez klinických

zmien, avšak sérologicky pozitívnych, ako u baranov s klinickými zmenami. Táto skutočnosť, potvrdená početnými autormi, podčiarkuje význam sérologického vyšetřovania baranov a zdôvodňuje ich vyradenie.

Skutočnosť, že samotné vyradovanie klinicky pozitívnych kusov nie je dostačujúce na zamedzenie šírenia choroby, svedčia i niektoré naše terajšie konkrétne pozorovania. Nákaza sa šíri ďalej i napriek tomu, že sa zaviedla sérodiagnostika a vyradujú sa aj séroreagenty, čo by nasvedčovalo tomu, že KFT nemá dostatočnú spoľahlivosť. Treba mať ale na zreteli, že latentná doba môže byť u tejto nákazy dosť dlhá (až niekoľko mesiacov) a pri vyradovaní klinicky i sérologicky pozitívnych kusov sa robila tá chyba, že sa reagenty nevyradzovali a účinne neodstraňovali ihneď po obdržaní sérologického nálezu. Barančky, ktoré hospodárstva chystali na aukčný trh, i keď sa vyšetrili po dosiahnutí pohlavnej dospelosti viackrát, v mnohých prípadoch zostali nakazené jedince v stáde až do doby aukčných trhov. To isté sa stalo s plemennými baranami, kde sa seroreagenty a klinicky pozitívne kusy vyradujú z pravidla tesne pred začatím pripúšťacieho obdobia, napr. barančince P, D a iné. Tak sa dostali do plemenitby i jedince nachádzajúce sa v latentnom štádiu choroby, nakoľko boli do poslednej chvíle s nakazenými baranami. To je príčinou, že i vyradovanie séroreagentov nemalo za následok podstatné zníženie počtu nakazených zvierat a stád, ba do konca sa zdá, že počet nakazených stád oproti roku 1960 stúpil, čo sa dá čiastočne zdôvodniť aj tým, že oproti roku 1960 stúpil aj počet vyšetrených stád. Treba okrem toho konštatovať, že stúpnutie zamorenosti v poslednej dobe je zapríčinené aj tým, že sa niektorí činitelia i naďalej skepticky dívajú na hospodársky význam nákazy a na diagnostickú hodnotu sérodiagnostiky tejto choroby. Tak sa nerobila sérodiagnostika v žiadúcom rozsahu, ba v niektorých krajoch ustúpili celkom od sérodiagnostiky a vyradujú iba klinicky pozitívne kusy. Z príčin už hore uvedených zatiaľ nie je možné vyhodnotiť spoľahlivosť KFT z hľadiska tlmenia nákazy.

Doposiaľ nám nie je známe, že by sa v niektorých štátoch s výskytom tejto nákazy, boli rozhodli o plánovité vykorenenie tejto choroby. Preto musíme vychádzať z vlastných skúseností. Niektorým autorom sa podarilo pokusne ozdraviť s eliminovaním reagentov iba niekoľko stád ako sa o tom zmieňuje Keogh a spol. (1958) a Clapp a spol. (1959). Posledným autorom sa podarilo z 8 stád 5 ozdraviť a v ostatných troch nákazu podstatne znížiť vybitím baranov pozitívnych pred a po období pripúšťania. Na zavedenie plánovitej eradikácie nákazy v celoštátnom rozsahu je zapotreby ozrejmiť niektoré doteraz neznáme okolnosti ako je napríklad spôsob nakazenia mladých barančiekov v nakazených stádach, úloha oviec pri prenášaní nákazy a niektoré nejasnosti v epizootológii. Po dostatočnom objasnení uvedených otázok bude možné vypracovať všeobecné platné smernice na postupne a plánovite eradikácie nákazy. Predbežne je opodstatnené zaviesť serologické vyšetrenie a robiť ho povinne na každej vyšetřovacej stanici u barančiekov chystaných na aukčný trh. Nepripustiť, aby sa plemenný materiál z chovov nakazených dostal do chovov nezamorených (v niektorých plemenné barany a barančky doma chované sú klinicky i serologicky negatívne), aby sme docielili konsolidáciu nákazy. Ďalej je zdôvodnené trvať na odporazení séroreagentov v plemene merino a v málo zamorených oblastiach aj seroreagentov z iných plemien za účelom zlikvidovania nákazy v plemene merino a docieľiť likvidáciu nákazy v málo zamorených oblastiach. Bolo by žiadúce klinicky i serologicky vyšetriť plemenných baranov po skončení pripúšťacieho obdobia na miestach kde jed-

notlivé barany účinkovali a podľa výsledku sérologického a klinického vyšetrenia sústrediť ich do dvoch barančincov. Do jedného barančínca by sa mali sústrediť barany, u ktorých v celej skupine výsledok sérologického i klinického vyšetrenia dopadol negatívne a do druhého barančínca by sa sústredili barany nakazených skupín. Tak by sa vytvorili nakazené a nenakazené barančince. V nakazených barančincoch by bolo treba všetkých plemenných baranov označiť trvalou značkou a dbať na to, aby sa pri započatí pripúšťacieho obdobia nezaraďovali do chovov nenakazených.

Vzhľadom na to, že mladé barančeky su veľmi vnímavé v dobe dosiahnutia pohlavnej dospelosti je žiadúce zabezpečiť v nakazených hospodárstvach oddelený chov barančiekov, aby tieto neprišli do styku so staršími plemennými baranmi. Je zvykom, že plemenné barany, resp. barany z predošlého roku púšťajú sa spolu na pastvu s odstavenými barančekomami a tak sa tieto majú možnosť nakaziť od starších baranov. Zdá sa, že oddelený odchov baranov bude hrať hlavnú úlohu pri ozdravovaní stád, čo je predmetom nášho ďalšieho výskumu. V chovoch v ktorých sa robí ozdravenie elimináciou séroreagentov, treba vyradiť aj sérologicky pozitívne ovce až do definitívneho vyriešenia otázky akú úlohu hrajú ovce pri prenášaní nákazy.

S ú h r n

V práci sa popisuje príprava antigénu pre KFT, ako i prevedenie tejto reakcie na odhalenie oviec infikovaných zárodkami podobnými brucelám.

Za dva roky vyšetril autor z troch krajov Slovenska touto reakciou 33.575 kusov sér od baranov a oviec. Výsledok bol pozitívny u 13,25 % baraních sér a u 2,06 % ovčích sér. Celkove bola na Slovensku nákaza zistená v 19 okresoch a 117 obciach. Najzamorenejší je kraj východoslovenský a stredoslovenský, kým západoslovenský vykazuje iba nepatrnú zamorenosť. V práci sa poukazuje na príčinu rozdielnej zamorenosti jednotlivých krajov, okresných barančincov, rôznych plemien a pohlavia. Ďalej sa poukazuje na niektoré otázky doposiaľ neúplne vyriešené, najmä čo sa týka patogenézy choroby u bahníc a spôsob infikovania sa mladých barančiekov, na vyriešení ktorých sa pracuje. Na základe doterajších skúseností autor navrhuje zaviesť niektoré opatrenia na zamedzenie šírenia nákazy a na ozdravenie slabo zamorených chovov a oblastí.

Došlo dňa 23. 7. 1962

Literatúra

1. Clapp K. H. a spol.: Ann. Rep. Inst. Med. Vet. Sci. S. Aust. 21, 79, 1959.
- 2. Gdovin T. a spol.: Vet. čas. 5, 161, 1956.
- 3. Hajdu Š.: Arch. exper. Veterinärmed. 11, 976, 1957.
- 4. Hajdu Š.: Vet. čas. 10, 222, 1961 a.
- 5. Hajdu Š.: Etiológia a diagnostika epididymitíd baranov hromadne sa vyskytujúcich na Slovensku. Záverečná zpráva z vedecko-výskumnej práce, Zvolen 1961 b.
- 6. Hajdu Š.: Arch. exper. Veterinärmed., Ergebnisse der serologischen Untersuchung von Schafen auf Brucellose (infektiöse Epididymitis bei Schafböcken, Schafbrucellose) in der Slowakei und die Bekämpfung dieser Krankheit 16, 19, 1962.
- 7. Kennedy P. C. a spol.: Cornell Vet. 303, 319, 1956.
- 8. Keogh J. a spol.: Austral. vet. J. 34, 412, 1958.
- 9. Lawrence W. E.: Brit. vet. J. 117, 435, 1961.
- 10. Meyer M. E., Cameron H. S.: Amer. J. Vet. Res. 17, 495, 1956.
- 11. Renoux G. a spol.: Ann. Inst. Pasteur, 88, 528, 1955.
- 12. Simons G. C. a spol.: Austral. Vet. J. 29, 33, 1953.
- 13. Sokol A. a spol.: Etiológia a podstata epididymitídy baranov

vyskytujúcej sa na Slovensku a návrh na zníženie ekonomických strát. Záverečná zpráva výskumnej úlohy, Košice 1959. — 14. Tudoriu C. D. a spol.: Ann. Inst. patol. ig. Anim. 8, 277, 1959. — 15. Tudoriu C. D. a spol.: Ann. Inst. patol. ig. Anim. 9, 71, 1959. — 16. Tudoriu C. D. a spol.: Ann. Inst. patol. ig. Anim. 11, 61, 1961. — 17. Zápisnica z vedeckej diskusie o infekčnej epididymitíde baranov poriadanej Vet. komisiou ČSAV 12. V. 1960 v Košiciach. — 18. Smernice o tlmení infekčnej epididymitídy baranov, vydané Poverením pôdohospodárstva z 10. VI. 1960, č.: Vet-9, 27, 60.

**Комплементфиксирующий тест с антигеном,
приготовленным из брюцеллоидных зародышей, и достигнутые им результаты
в стадах овец и коз**

В работе описывается приготовление антигена для КФТ, а также проведение этой реакции с целью установления овец, инфицированных брюцеллоидными зародышами.

В продолжение двух лет автор обследовал этой реакцией в трех областях Словакии 33 575 сывороток баранов и овец. Результат был положительный у 13,25 % бараньих сывороток и у 2,06 % овечьих сывороток. В общем в Словакии поражение было установлено в 19 районах и 117 населенных пунктах. Наиболее поражены Восточнословацкая и Среднесловацкая область, тогда как Западнословацкая показывает лишь незначительное поражение. В работе приводятся причины неодинакового поражения отдельных областей, районных племенных станций для баранов, различных пород и поголовий. Далее говорится о некоторых нерешенных до сих пор вопросах, особенно что касается патогенеза болезни у овцематок и способа инфицирования молодых барашков, по окончательному решению которых ведутся работы. На основании имеющегося опыта автор предлагает провести некоторые мероприятия по ограничению распространения инфекции и по оздоровлению слабо пораженных стад и областей.

**The Complement Fixation Test with an Antigen Prepared from Bruceloid Germs
and the Results Obtained with it in Sheep and Goat Herds**

In this paper there is a description of the preparation of an antigen for the CFT as well as of the induction of this reaction for the discovery of sheep infected with bruceloid germs.

In the course of two years, in three districts in Slovakia, the author applied this reaction in the examination of 33,575 sera of rams and ewes. The results obtained were positive in the case of 13.25 per cent of the sera from rams and in 2.06 per cent of the sera obtained from sheep. In Slovakia an infection was ascertained in 19 districts and in 117 communities. The most strongly contaminated districts are the east-Slovakian and central-Slovakian districts, whereas in the west-Slovakian district contamination is only insignificant. In this work the author points out the reason for the different degrees of contamination of the various districts, district insemination stations, breeds, and sexes. He further draws attention to several hitherto incompletely solved problems, as are, for example, the pathogenesis of the disease in ewes and the way of infection of young rams, the solving of which is the subject of work carried out at present. On the basis of his present experiences the author suggests the introduction of some measures aiming at the prevention of a spreading of the disease and at the improvement of the state of health of slightly contaminated flocks and areas.

Der Komplementfixationstest mit einem aus bruzellenähnlichen Erregern zubereiteten Antigen und die bei Schaf- und Ziegenherden erzielte Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wird die Zubereitung eines Antigens für den Komplementfixationstest sowie die Anwendung dieser Reaktion zur Ermittlung von mit Bruzellen infizierten Schafen beschrieben.

Innerhalb zwei Jahren untersuchte der Autor in drei Gebieten der Slowakei mit dieser Reaktion 33 575 Serumproben von Widdern und Schafen. Das Ergebnis war bei 13,25 % der Widderseren und bei 2,06 % der Mutterschafseren positiv. Insgesamt wurde diese Infektion in 19 Kreisen und 117 Gemeinden der Slowakei festgestellt. Am stärksten verseucht ist der Bezirk Ostslowakei und Mittelslowakei, während der Bezirk Westslowakei nur ein geringes Brucellosevorkommen zeigt. In der Arbeit wird auf die Ursachen der unterschiedlichen Verseuchung in den einzelnen Bezirken, in verschiedenen Schafställen der Kreise und auf die Unterschiede zwischen den verschiedenen Rassen und Geschlechtern hingewiesen. Ferner werden einige bisher nicht völlig gelöste Fragen hervorgehoben, besonders in bezug auf die Pathogenität der Krankheit bei Mutterschafen und die Art der Ansteckung junger Widder, an deren Klärung gearbeitet wird. Der Autor schlägt auf Grund seiner bisherigen Erfahrungen vor, einige Maßnahmen durchzuführen, die eine Weiterverbreitung der Seuche verhindern und zu einer Gesundung der schwach verseuchten Herden und Gebiete führen sollen.

Z materiálů Studijně dokumentačního střediska Ústavu vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 2, Slezská 7

Meyer W.: Zur Diagnostik der Rinderbrucellose. (O diagnóze brucelózy skotu.) 1962, Int. Z. Landwirtsch. (Sofia/Berlin) č. 6, str. 61-64.

Aleandri M., Gargani G.: Sulla corrispondenza dei risultati nei bovini fra la reazione di fissazione del complemento con antigeni criolisi solubili specie-specifici (da *Br. melitensis* a da *Br. abortus*) e la tipizzazione sierologica degli stipiti di *Brucella* infettanti. (Shodnost výsledků reakce vazby komplementu kryolizovaným, rozpustným, specif. antigenem (*Br. melitensis* a *Br. abortus*) a sérologické určování typů infekčních kmenů brucel u skotu.) 1963, Zooprofilassi, 19, č. 2, str. 117-120.

Buddle M. B.: Production of immunity on rams against *Brucella ovis* infection. (Vytváření imunity proti infekci *Br. ovis* u beranů.) 1962, New Zealand vet. J. 10, č. 5, str. 111-115.

Sdělení o biopsii mléčné žlázy

Биопсия молочной железы у крупного рогатого скота

Biopsy of the Mammary Gland of Cows

Mitteilung über die Biopsie der Milchdrüse bei Rindern

Doc. dr. Jan BÍLEK a dr. Martin LIS

Laboratoř fyziologie a genetiky živočichů ČSAV v Uhřetěvsi

Úvod

Biopsie je vyšetřovací metodou, často používanou jak v humánní, tak i veterinární medicíně. Její výhodou je exaktnost, nevýhodou pak obtížnost provedení a případné riziko. Ve veterinární diagnostice je hlouběji propracována biopsie jater. Přehled o současném stavu podává Sova Z. (1961 a 1963). Jinak nacházíme jen ojedinělé zmínky jako např. o biopsii endometria u krav (Věžník Z. 1961) nebo o biopsii kostní dřeni (Wilde J. K. H. 1961) apod.

Biopsií mléčné žlázy u skotu se zabý-

vali Krjačko V. T. (1954), Andberg W. G. a Karlson A. G. (1942), Hedstrom H. (1932). Uvedení autoři užívali různé nástroje, převážně založené na principu jehly Vim-Silvermanovy, nebo na principu jehly podle Iversena a Roholma.

Biopsie mléčné žlázy u skotu může mít význam jak pro práce detailněji sledující patogenesi mastitid, tak i pro výzkum fyziologických vlastností tkáně mléčné žlázy v průběhu laktačního procesu.

Vlastní práce

Z celkového počtu 16 biopsií bylo 6 provedeno nástrojem, který je zlepšováním návrhem M. Skalického a byl již popsán pro biopsii jater, ledvin a mízních uzlin u člověka (Hynčík V. a spol. 1962). U nástroje byl proti původnímu upraven hrot pro lepší pronikání silnou kůží u velkých zvířat a průměr trokaru pro odběr dostatečně velkého vzorku tkáně.

Zbývajících 10 biopsií bylo provedeno

rovnými kleštěmi na meziobratlové ploténky, přes strukový kanálek.

Za tímto účelem jsme nejprve vyzkoušeli různé způsoby anaesthesie. Nejlépe se nám osvědčila intramuskulární aplikace chlorpromazinu, doplněná místním znecitlivěním procainem nebo mesocainem. Zákroky byly dělány na stojících zvířatech a aplikován 1 mg chlorpromazinu (plegomazin) na 1 kg živé váhy. Při biopsii Skalického jehlou přes kůži byla

tranquilizace doplněna místním zneclitlivěním 2% procainem v místě vpichu. Při biopsii kleštěmi na meziobratlovou ploténku přes strukový kanálek bylo používáno intracisternální infuse 20 ml 2% mesocainu. Před zavedením do strukového kanálku byly kleště potřeny pateolem, pro snadnější proniknutí strukovým sfinkterem.

Mléko z 10 čtvrtí, kde byla biopsie provedena strukovým kanálkem, bylo zkoušeno bromthymolovými papírky a sledována příměs krve v sedimentu.

Po zákroku provedeném za dodržení zásad asepse byla zvířatům aplikována clona antibiotik sestávající z jednorázové injekce procain-penicilinu a streptomycinu.

Diskuse

Použitému způsobu anaesthesie, tj. kombinace chlorpromazinu s místním zneclitlivěním jsme dali přednost před paravertebrální blokádou doporučovanou k anaesthesii mléčné žlázy. Pro jednoduchost provedení a spolehlivost plně dostačuje, pouze u některých neklidnějších zvířat je třeba dávku chlorpromazinu o něco zvýšit. Zjistili jsme značný rozdíl, je-li podáván chlorpromazin intravenózně nebo intramuskulárně. Při intravenózní aplikaci uvedené dávky dochází často k ulehnutí zvířete a k excitacím. Při intramuskulární aplikaci jsme žádné nepříznivé jevy nepozorovali.

Jehla podle Skalického, kterou jsme užívali, spojuje výhody obou typů dosud užívaných jehel uvedenými autory. Je to jehla založená na principu podle Iversena a Roholma, avšak bez použití podtlaku. Použití je jí možno jak vbodnutím přes kůži, tak i zavést, po výměně hrotu jehly zaobleným mandrénem, strukovým kanálkem. Jde však o náročnější zákrok, který vyvolá vždy, ať je již použito jakékoliv jehly, tvorbu hematomu, buď pod kůží nebo uvnitř v parenchymu. Je třeba věnovat pozornost větším cévám, o je-

jichž topografii je možné si udělat představu podle obr. 1.

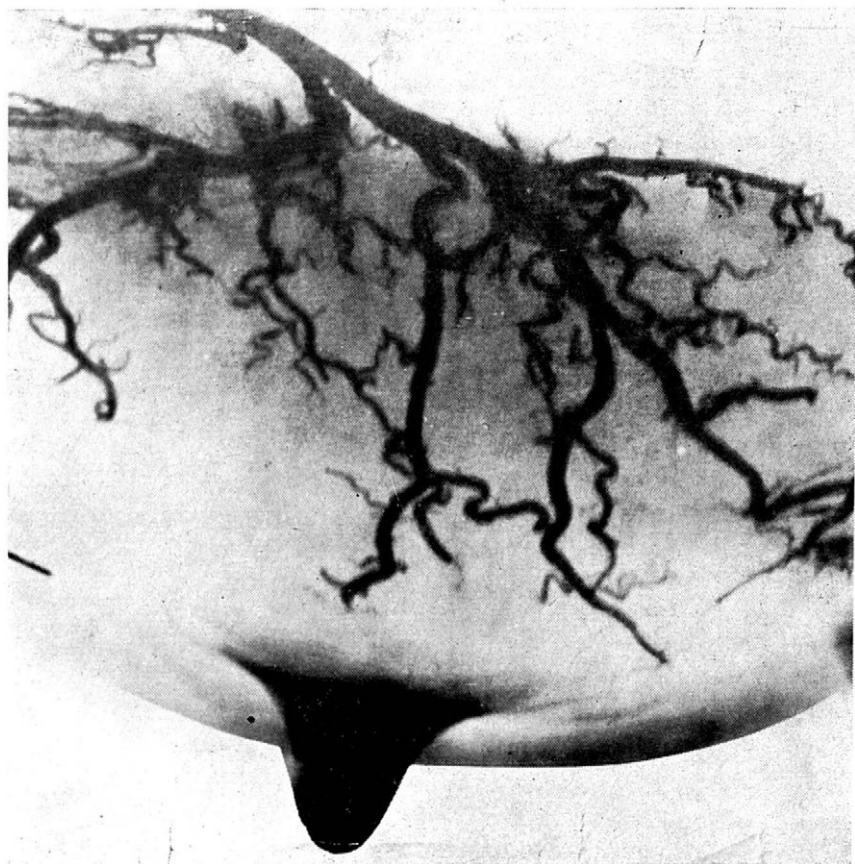
Postačuje-li vzorek tkáně u stropu cisterny s přilehlou částí parenchymu, je vhodné použít metody biopsie kleštěmi na meziobratlovou ploténku, zavedenými strukovým kanálkem. Pro histologické vyšetření je vzorek dostatečné velikosti (obr. 2 a 3). Je to zákrok takřka bez rizika. Jediným následkem je zabarvení mléka krví, které se zpravidla upraví nejpozději do týdne. Z 10 sledovaných biopsií byly 3 případy téměř bez krvácení, 4 se upravily po 3 dnech a 2 případy do týdne. Po jednom zákroku jsme pozorovali lehké zabarvení mléka krví ještě 8. den. Tyto výsledky potvrzují údaje získané Platonowem a Blobelem (1962), obdobnou metodou za použití Jacksonových esofageálních kleští, kteří po 9. dnu nenacházeli u žádné dojnice viditelného zabarvení mléka krví a po 13. dnu jakékoliv stopy krve v mléce.

Změny reakce mléka na bromthymolovou modř, ani příznaky zánětu jsme po žádném ze sledovaných zákroků nepozorovali.

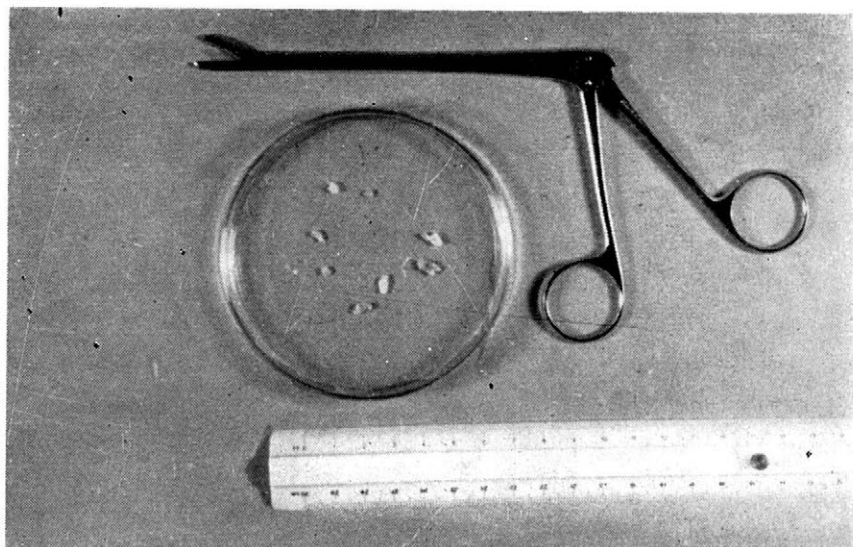
Souhrn

Byly popsány dva vhodné způsoby biopsie mléčné žlázy skotu a nejvhodnější způsob anaesthesie. Náročnější zákrok, prováděný biopstickou jehlou kůží, nebo strukovým kanálkem, sloužící k získání tkáně z určitého předem vybraného mís-

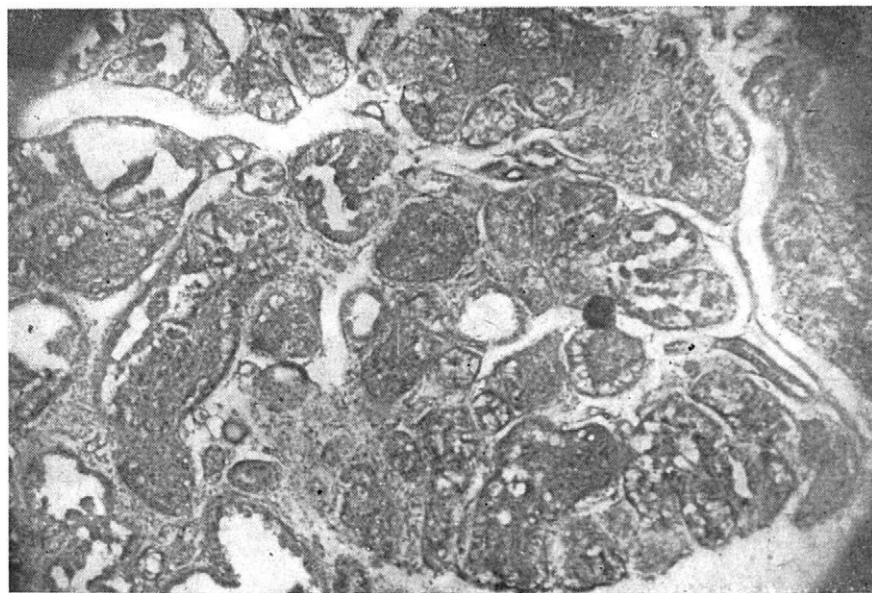
ta a druhý způsob, odebrání tkáně pomocí kleští na meziobratlové ploténky zavedených strukovým kanálkem. Oba způsoby biopsie byly dělány na stojících zvířatech.



Obr. 1. Skiagram arterií vemene skotu. Laterální projekce.



Obr. 2. Kleště na meziobratlovou ploténku a jimi získané vzorky tkáně od stropu cisterny.



Obr. 3. Část parenchymu na řezu odebraném od stropu cisterny. Hematoxylin - eosin.

Literatura

Andberg W. G., Karlson A. G.: (1942) Biopsy of the Bovine Mammary Gland in Connection with Mastitis Studies. *Cornell Vet.* 32, 237-240. — Hedstrom H.: (1932) Tuberculosis in the Cow: An Experimental Study. *Skand. Vet.-tidskr.*, 22, 628-642. — Hynčík V., Chlumský J., Víšek V., Skalický M.: (1962) Předběžné sdělení o užití nové punkční jehly k bioptickému vyšetřování parenchymatosisních orgánů. *Vnitřní lékařství*. 8, 3, 187-89. — Krjačko V. T.: (1954) Biopsija vymeni i izmerenie vnutrivymenovo davlenija pri normalnom i patologičeskom sostojanii moločnoj železy u korov. *Sbornik rabot. Leningrad. vet. institut XIV*, 129-133. — Platonow I., Blobel H.: (1962) Biopsy of the Bovine Mammary Gland. *Am. J. Vet. Res.* 23, 92, 166-167. — Sova Z.: (1962) Laboratorní diagnostika hepatopatií u koní. *Technika a výsledky jaterních biopsií. Vet. časopis*. 11, 4, 375-383. — Sova Z.: (1963) Technika a využití jaterní biopsie ve veterinární medicíně. *Veterinářství*. XIII, 2, 69-72. — Věžník Z.: (1961) Praktické využití biopsie při diagnostice poruch plodnosti u samic. *Veterinářství*. 11, 250-252. — Wilde J. K. H.: (1961) A technique of bone marrow biopsy in cattle. *Res. Veterin. Sci* 2, 4, 315-319.

Биопсия молочной железы у крупного рогатого скота

Описаны два подходящих способа биопсии молочной железы крупного рогатого скота и самый пригодный способ анестезии. Это более сложное вмешательство, проводимое биоптической иглой через кожу или сосковый канал, служащее для получения ткани из определенного, заранее выбранного места. Второй способ — взятие ткани при помощи клещей на межпозвоночных хрящиках, подведенных к сосковому каналу. Оба способа биопсии проводились на стоящих животных.

Biopsy of the Mammary Gland of Cows

There are described two suitable methods of performing the biopsy of the mammary glands of cows, and the most suitable method of anesthesia. The more difficult operation, needle biopsy through the skin or through a galactophorous duct, serves for the obtaining of tissue from a certain predetermined locality, and the second method consists of the taking of tissue by means of tongs for intervertebral plates introduced through the milk duct. Both methods of biopsy were performed in standing animals.

Mitteilung über die Biopsie der Milchdrüse bei Rindern

Es werden zwei vorteilhafte Verfahren zur Biopsie der Milchdrüse bei Rindern und die geeignetste Anästhesiemethode beschrieben. Der anspruchsvollere Eingriff wird mit einer bioptischen Nadel durch die Haut oder durch den Strichkanal durch-

geführt und dient zur Gewinnung des Gewebes von einer bestimmten vorher ausgewählten Stelle. Bei der zweiten Methode wird das Gewebe mit Hilfe einer durch den Strichkanal eingeführten Zwischenwirbelscheibenzange entnommen. Beide Biosiemethoden wurden an stehenden Tieren durchgeführt.

**Nové přírůstky Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI MZLVH
z úseku veterinární medicína**

D 32.169/27/2
Ryckman, Raymond E. Biosystematic and hosts of the *Triatoma protracta* complex in North America. (Hemiptera: Reduviidae) (Rodentia: Cricetidae). Berkeley, Univ. of California press 1962. S. 93-188. obr., tb. 24 obr. tb. (Cricetidae — cizopasnici — *Triatoma* — výzkum — USA / *Triatoma* — systematika).

C 15.329/39/C/63
Morel, Pierre Clauda. Les protozooses des animaux domestiques au Sénégal. Genève, Conference des NU sur l'applic. de la science et de la techn. dans l'intér. des rég. peu développées 1962. 6 s. (Hospodářská zvířata — nemoci — prvoci — Senegal — zprávy OSN)

E 13.401/63H/24
Heras, Félix Talegón. La hipodermosis bovina. Madrid, Min. de agricultura 1963. 16 s. obr. (Střeček hovězí — cizopasník — skot — brožury)

D 24.993/2/1
Roman-Chiriac, Elena. Fauna Republicii populare Romine. Plathelminthes. Vol. 2. Fasc. 1. Clasa Monogenoida. București, Acad. R. P. R. 1960. 147 s. 89 obr. (Motolice — jednorodi — systematika — Rumunsko)

D 33.572/120
Quinn, David O. Fly control on dairy farms. Morgantown, Coop. ext. service West virginia university b. r. 6 s. (Skot — cizopasnici vnější — mouchy — hubení — insekticidy — letáky)

C 15.329/39/C/207 angl.
Leach, T. M. Current research on control measures against trypanosomiasis in Africa. Genève, United nations 1962. 6 s. (Trypanosomiasis — hospodářská zvířata — ochrana — výzkum — Afrika — zprávy OSN)

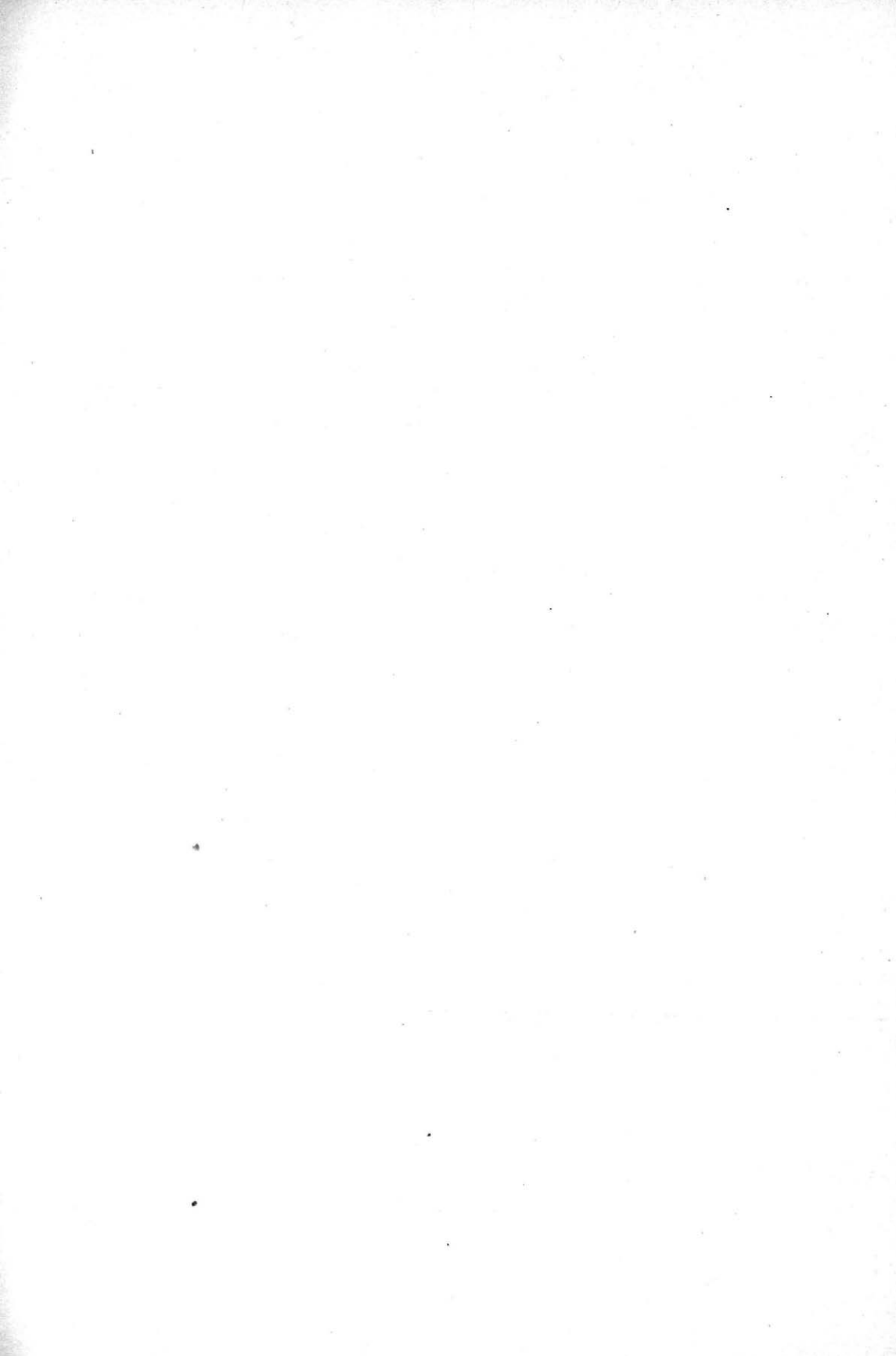
C 15.329/39/C/124 angl.
Wilson, S. G. Use of residual insecticides in the control of Tsetse flies. Genève, United nations 1962. 4 s. (Bodalka Tse-tse — hubení insekticidy residuální — zprávy OSN)

D 31.955/19
Trudy Akademii nauk Latvijas SSR — Instituta mikrobiologii. 19. Faktory opredelajuščeje immunobiologičeskuju reaktivnost organizma. Riga, n. vl. 1963. 142 s. obr., tb. (Imunita živočichů — vlivy — sborníky — SSSR)

C 12.925/22-80
The expanding role of immunology. Washington, U. S. Depart. of agric. 1962. 16 s. (Veterinární imunologie — výzkum — přehledy — USA / Veterinární imunologie — metody)

D 38.004/48
Milk hygiene. Hygiene in milk production, processing and distribution. Geneva, World health organization 1962. 782 s. obr., tb. (Dojnice — chov — hygiena — sborníky — mezinárodní / Mléko — hygiena — sborníky — mezinárodní)

C 15.353/612
Tierpflegegerät Vorwerk-Kobald, Type 17 HL, Modell 115. Wiesenburg a. d. Erlauf, Bundesversuchs- und Prüfungsanstalt für landw. Maschinen u. Geräte 1962. 2 s. (Čisticí strojky — hospodářská zvířata — 17 HL — zkoušení — Rakousko)



Oprava článku Gilka F.: Defekty sliznice slezové u telat onemocnělých toxickou dispepsií v postnatálním údobí života na str. 35 v č. 1/64.

От редакции

Автор и редакция просят читателей извинить ошибку, вкравшуюся в русское название статьи в № 1, года издания 9, настоящего журнала. Вместо «Дефекты слизистой оболочки селезенки у телят . . .» правильно должно быть «Дефекты слизистой оболочки сычуга . . .».

- Pleva J.: Krvný obraz v diagnostike moru ošipáných
 Картина крови в диагностике чумы свиней
 The Blood Count in the Diagnosing of Hog Cholera
 Das Blutbild bei der Diagnostik der Schweinepest
 La formule hématologique dans le diagnostic de la peste porcine
 Cuadro sanguíneo en la diagnosis de la peste de cerdos 167
- Dvořák M.: Hodnocení funkčního stavu kůry nadledvin u anemických selat
 Thornovým testem
 Оценка функционального состояния коры надпочек у анемичных поросят при помощи теста Торна
 Evaluation of the Functional State of the Adrenal Cortex in Anemic Piglets by Means of the Thorn Test
 Die Wertung des funktionellen Zustands der Nebennierenrinde bei anämischen Ferkeln durch den Thorn-Test
 L'évaluation de l'état fonctionnel de la zone corticale des surrénales chez les porcelets anémiques à l'aide du test de Thorn
 Evaluación del estado de función del tratamiento de las glándulas suprarrenales en el caso de porcinos anémicos por medio del test de Thorn 178
- Šimková A., Šimek L.: Vliv různého tepelného režimu při odchovu kuřat na změny hladiny krevního cukru v prvních týdnech po vylíhnutí
 Влияние различного температурного режима при выращивании цыплят на изменения уровня кровяного сахара в первые недели после вылупления
 The Influence of Different Thermal Regimes in Chicken Breeding on the Changes in the Blood Sugar Level in the First Weeks after Hatching
 Der Einfluß verschiedener Wärmeregime bei der Kükenaufzucht auf die Veränderungen des Blutzuckerspiegels in den ersten Wochen nach dem Schlüpfen
 L'influence d'un régime thermique varié au cours de l'élevage des poulets, sur les modifications du niveau du sucre sanguin dans les premières semaines après l'éclosion
 Influencia del diferente régimen térmico durante la cría de pollos sobre el nivel de la sacarosa sanguínea en las primeras semanas después de empollarse 185
- Arpai J.: Zmeny akosti a mikroflóry bravčového mäsa pri rozmrazovaní
 Изменения качества и микрофлоры свинины при размораживании
 Changes in the Quality and in the Microflora of Pork in the Case of De-freezing
 Die Veränderung der Qualität und der Mikroflora von Schweinefleisch beim Auftauen
 Les modifications de qualité et de microflore de la viande porcine au cours du dégel
 Cambios de la calidad y de microflora de la carne porcina en el curso de la descongelación 195
- Neuman V.: Hexóзамин в крeвнiм сeрu a v jeho sulfosalicylových filtrátech u morčat po podání CCl₄
 Гексозамин в кровяной сыворотке и в ее сульфосалициловых фильтрах у морских свинок после подачи CCl₄
 Hexosamin in the Blood Serum and in its Sulfosalicyl Filtrates in Guinea Pigs after Administration of CCl₄
 Hexosamin im Blutserum und in seinen Sulfosalizylfiltraten bei Meer-schweinen nach der Verabreichung von CCl₄

L'héxosamine dans le sérum sanguin et dans ses filtrats de sulfosalicyl
chez les cobayes après l'administration de CCl_4

Hexozamina en el suero sanguíneo y en sus filtrados sulfosalicílicos de
cobayos después de la administración de CCl_4 205

Šlesinger L., Šašínska L.: Cyanhemoglobin — vhodná metodika k aktiv-
nímu vyhledávání hypochromních anemií hromadně se vyskytujících u do-
mácích zvířat

Циангемоглобин — пригодная методика для активного обнаружения гипо-
хромных анемий, массово появляющихся у домашних животных

Cyanhemoglobin — a Suitable Method for an Active Looking for Hypo-
chromic Anemia Occurring Collectively in Domestic Animals

Zyanhämoglobin — eine geeignete Methodik zur aktiven Ermittlung von
massenweise bei Haustieren auftretenden Hypochromanämien

La cyanhémoglobine — une méthode convenable à la recherche active des
anémies hypochromes se rencontrant en masse chez les animaux do-
mestiques

Cyanhemoglobin — método conveniente para la búsqueda de las anemias
hipochrómicas generalmente encontradas en animales domésticos 213

Hajdu Š.: Komplementfixačný test s antigenom pripraveným zo zárodkov
podobných brucelóznym a ním dosiahnuté výsledky v ovčích a kozích
stádach

Комплементфиксирующий тест с антигеном, приготовленным из бруцеллоид-
ных зародышей, и достигнутые им результаты в стадах овец и коз

The Complement Fixation Test with an Antigen Prepared from Brucelloid
Germs and the Results Obtained with it in Sheep and Goat Herds

Der Komplementfixationstest mit einem aus bruzellenähnlichen Erregern
zubereiteten Antigen und die bei Schaf- und Ziegenherden erzielte Er-
gebnisse

Le test de fixation du complément avec l'antigène, préparé à partir des
germes semblables à ceux de brucellose et les résultats obtenus grâce à
lui dans les troupeaux de moutons et de chèvres

Test de fijación completa con antígeno preparado de gérmenes preparados
a los de brucelosis y los resultados logrados con ayuda de dicho test en
las manadas de animales ovinos y cábríos. 221

Bílek J., Lis M.: Sdělení o biopsii mléčné žlázy

Биопсия молочной железы у крупного рогатого скота

Biopsy of the Mammary Gland of Cows

Mitteilung über die Biopsie der Milchdrüse bei Rindern

Communication concernant la biopsie de la glande mammaire des bovins

Relación referente a la biopsis de la glándula láctea de los animales bovinos 233

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká
pojednání o vyřešených úkolech výzkumu v oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav
vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství, lesního a vodního hospo-
dářství. Vychází šestkrát ročně. Celoroční předplatné 60 Kčs. Redakce: Praha 2, Má-
nesova 75, telefon 274551-8. Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a před-
platné přijímá PNS — ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku,
Jindřišská ul. 14, Praha 1. Lze též objednat u každé pošty nebo doručovatele. Ob-
jednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice tisku, odd. vývoz tisku,
Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl Mír, novinářské závody, n. p., závod 2, provozovna
22, Legerova 22, Praha 2. A-25*41269