

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ,
LESNÍHO A VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ

Veterinární medicína

4

ROČNÍK 9 (XXXVII) — PRAHA, ČERVENEC 1964

CENA 10 Kčs

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ,
LESNÍHO A VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ
V E T E R I N Á R N Í M E D I C Í N A

Rídí 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 Vojaček, MVDr. Ladislav Zima. — Vedoucí redaktor František Němec.

© Ústav vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 1964

Obsah - Содержание - Inhalt - Content - Contenu

Pospíšil J.: Použití antibiotik v léčbě akutní nemoci z ozáření

Использование антибиотиков в лечении острых заболеваний вследствие облучения

The Use of Antibiotics in the Treatment of Acute Irradiation-Disease

Die Anwendung von Antibiotika bei der Therapie der akuten, durch die Bestrahlung hervorgerufenen Krankheit

L'utilisation des antibiotiques dans le traitement de la maladie aiguë provenant de l'irradiation

Aplicación de los antibióticos en el tratamiento de la enfermedad aguda procedente de la irradiación

237

Bartko P.: Metabolismus železa u ošípaných

Метаболизм железа у свиней. — VI. Содержание депо железа в органах поросят при рождении и у взрослых свиней

The Metabolism of Iron in Pigs. VI. The Content of Iron Deposited in the Organs of Piglings at Birth and in Mature Pigs

Der Eisenstoffwechsel bei Schweinen. VI. Der Gehalt an Depoteisen in den Organen neugeborener Ferkel und erwachsener Schweine

Le métabolisme du fer chez les porcs. VI. La teneur en fer de déposition dans les organes des porcelets à la naissance et des porcs adultes

Metabolismo del hierro en el ganado porcino. Contenido del hierro depositado en los órganos de los lechones durante el parto y en los puercos adultos

245

Čižnar I., Krčmery V.: Niektoré fyzikálne-chemické metódy stanovenia chlortetracyklínu v krmných zmesiach

Некоторые физико-химические методы определения хлортетрациклина в кормовых смесях

Some physico-chemical Methods for the Determination of Chlortetracyclin in Feed Mixtures

Einige physikalisch-chemische Methoden zur Bestimmung von Chlortetracyclin in Mischfutter

Certaines méthodes physico-chimiques de la détermination de chlortétracycline dans les aliments composés

Algunos métodos físico-químicos de la determinación de clortetraciclina en los piensos compósitos

253

Použití antibiotik v léčbě akutní nemoci z ozáření

Использование антибиотиков в лечении острых заболеваний вследствие облучения

The Use of Antibiotics in the Treatment of Acute Irradiation-Disease

Die Anwendung von Antibiotika bei der Therapie der akuten, durch die Bestrahlung hervorgerufenen Krankheit

L'utilisation des antibiotiques dans le traitement de la maladie aiguë, provenant de l'irradiation

Aplicación de los antibióticos en el tratamiento de la enfermedad aguda procedente de la radioterapia

MVDr. Jan POSPÍŠIL

Veterinární výzkumné středisko Praha

MUDr. Zdeněk DIENSTBIER

Biofyzikální ústav fakulty všeobecného lékařství KU Praha

Ú v o d

Smrt, která nastane po jednorázovém celotělovém ozáření organismu ionizujícím zářením, má řadu příčin. Tyto spolu úzce souvisí a do jisté míry se podmiňují, i když některá z nich může převládat. Jako důvod postiradiační smrti možno uvažovat též snížení, nebo naprosté selhání obranných schopností organismu, a to jak vrozených, tak získaných. Tento důvod přichází v úvahu zvláště při středně smrtných dávkách celotělového ozáření jednotlivých druhů experimentálních zvířat a dávkách těmto blízkých.

V průběhu vlastní nemoci z ozáření dochází k porušení kůže následkem vznikajících patologickoanatomických změn (projevy hemoragické diatézy). Kůže je první obrannou linií a brání mechanicky prostupu mikroorganismů. Snižuje se neprostupnost sliznic, to je zvláště aktuální u sliznice zažívacího traktu. Klesá baktericidní schopnost krve, snižuje se přirozená hladina properdinu, dochází k poruše buněčné obrany organismu poškozením aktivního mesenchymu. Současně se snižují obranné vlastnosti leukocytů, a to jak vzniklou postiradiační leukopenií jako následku postiradiačního poškození hematopoézy, ale i poškozením funkčních schopností — pohyblivosti a fagocytózy.

Snížení obranyschopnosti organismu má za následek pronikání mikroorganismů do těla poškozeného zářením, jejich úsilovné množení s následným vznikem bakteriémie. Zde nejzávažnější úlohu hraje pronikání střevní mikroflóry porušenou sliznicí střeva. Uvádí se, že ve většině případů (90 %) jsou příčinou vzniklé bakteriémie střevní mikroby (26, 47, 49). Zde převládá bakteriémie působená jen jedním druhem mikrobů a tento může být u každého zvířete jiný. Kvalita bakteriémie je jistě v závislosti jak na specifičnosti jednotlivých druhů použitých experimentálních zvířat, tak na řadě dalších individuálních faktorů ovlivňujících kvantitu i kvalitu střevní mikroflóry. Řada pracovníků se zabývala identifikací nejčastějších původců postiradiační bakteriémie a v této věci se principiálně shodují a uvádějí nález mikroorganismů ze skupiny *E. coli*, *paracoli*, *proteus*, *pseudomonas* a jiné: *alfa streptokoky*, gramnegativní tyčinky, *B. alcaligenes*.

Dynamiku pronikání mikroorganismů v ozářeném organismu možno na podkladě prací R. V. Petrové (26) rozdělit do čtyř stadií:

1. Období bez nálezů mikroorganismů, které trvá přibližně jeden den po ozáření.
2. Období nálezů mikroorganismů v regionálních mízních uzlinách v období 2–3 dnů po ozáření.
3. Období relativní kompenzace retikuloendoteliálním systémem. Obranná schopnost retikuloendoteliálního systému je dosud dostatečná. Bakterie v krvi nacházíme ojedinele a v malém množství. Toto období trvá přibližně od 3. do 7. dne po ozáření.
4. Období selhání obranných mechanismů charakterizované častým nálezem mikroorganismů v orgánech a v krvi. V tomto období dochází nejčastěji k uhynutí zvířete.

Z toho vyplývá, že při středně smrtných dávkách celotělového ozáření a dávkách těmto blízkých dochází k největší vnímavosti k infekci kolem 7. dne. U takto poškozeného organismu nutno počítat téměř vždy s invazí střevních mikroorganismů do organismu a rozsah této invaze bude v celé řadě případů rozhodujícím faktorem, který ovlivní přežití či nepřežití pokusného zvířete. Je však samozřejmé, že zářením poškozený organismus je maximálně vnímavý i k infekci jinými mikroorganismy než těmi, které jsou obsaženy v zaživacím traktu.

Je třeba menšího počtu choroboplodných zárodků k vyvolání infekce. Patogenními se mohou stát i mikroby, které jsou u zdravého zvířete podmíněně patogenní, nebo apatogenní. Ozářený mikroorganismus je velice obtížně ničí, nebo není schopen mikroorganismy ničit, takže se mohou v tkáních a v krvi daleko snadněji rozmnožovat.

Snížení obranyschopnosti organismu a vážná role mikroorganismů jako příčiny těžkých, nezřídka smrtelných komplikací akutní nemoci z ozáření, vzniklé po poškození organismu ionisujícím zářením v dávkách blízkých poloviční smrtné dávce, zákonitě vede k ověřování léčebného efektu veškerých látek, které zvyšují obranyschopnost organismu, nebo takových látek, které jsou schopny mikroorganismy vniklé do oslabeného organismu ničit, nebo zabránit jejich dalšímu množení. Tak byl řadou autorů prověřován léčebný účinek antibiotik. Zde lze předpokládat, že při použití antibiotik u organismu, jehož reaktivita byla vlivem celotělového ozáření změněna, se vyskytnou určité zvláštnosti oproti použití antibiotik u organismu, který nebyl zářením alterován, a to jak pokud se týká účinku na mikroorganismy, tak může být více nebo méně pozměněno působení antibiotik přímo na zářením poškozený makroorganismus.

Metodika

K pokusům bylo použito psů a fen, u kterých byla zachována kriteria, jak jsou uvedena v předchozím sdělení (52). Ozáření psů bylo provedeno ve speciálním ozařovacím zařízení, kde zdrojem byl ^{60}Co . Byla to ozařovací studna na jejímž dně byla umístěna řada zářičů. Příliv byl 5 r/min.

Zvířata byla rozdělena do tří skupin:

1. skupina kontrolní, složená z 20 jedinců ozářených neléčených.
2. skupina pokusná, složená ze 14 zvířat ozářených, kterým byl každý den podáván s. c. penicilin (Procainpenicilin) 300 000 m. j. a streptomycin 0,5 g.
3. skupina pokusná, složená z 10 zvířat ozářených, kterým byl každý den podáván i. m. tetracyklín 0,4 g/10 kg ž. v.

U všech psů byl hodnocen klinický stav a doba přežití. U 8 psů z každé skupiny bylo prováděno vyšetření periferního krevního obrazu tak, jak je uvedeno v našem předešlém sdělení (52). Sledování bylo prováděno až do 120 dne po ozáření. Bakteriologická kontrola nebyla během pokusu prováděna.

V ý s l e d k y

Ve skupinách psů ozářených léčených antibiotiky došlo k menší úmrtnosti při porovnání se skupinou kontrolní. Zatímco ze skupiny ozářených neléčených uhynulo 90 %, ze skupiny která dostávala penicilín a streptomycin, uhynulo 58 % a ze skupiny léčené tetracyklínem 70 %.

Klinický průběh nemoci z ozáření u psů léčených antibiotiky byl poněkud odchylný proti průběhu u skupiny kontrolní. Zvířata kontrolní skupiny měla výrazný obraz zaplavení organismu infekcí, projevující se přibližně od 10. dne hnisavými záněty kůže, sliznic, hnilobným zápachem z dutiny ústní. Zvířata léčená antibiotiky měla výrazný obraz hemoragické diatézy, projevující se krváceninami různého rozsahu na viditelných sliznicích, výtokem krve z otvorů nosních a z dutiny ústní. U psů z této skupiny docházelo při každodenním podávání antibiotik nejčastěji v 2. a 3. týdnu onemocnění k výtoku krve z místa vpichu, popřípadě k utvoření hematomu.

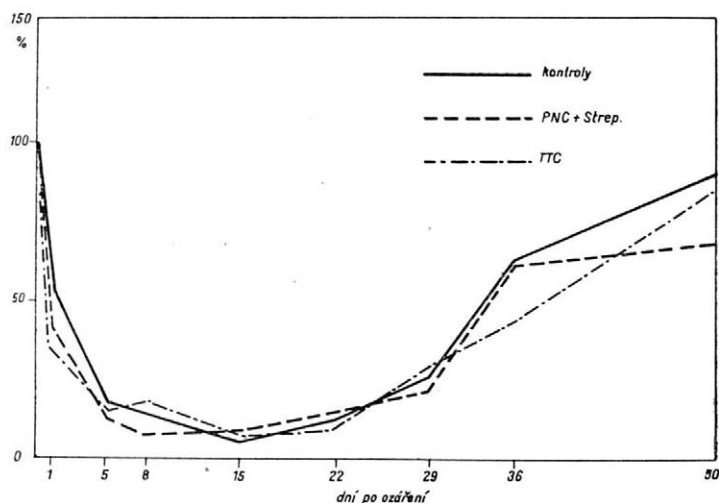
Dynamika periferních krevních změn byla u všech skupin obdobná a charakteristická pro akutní nemoc z ozáření (viz graf č. 1 + 2).

D i s k u s e

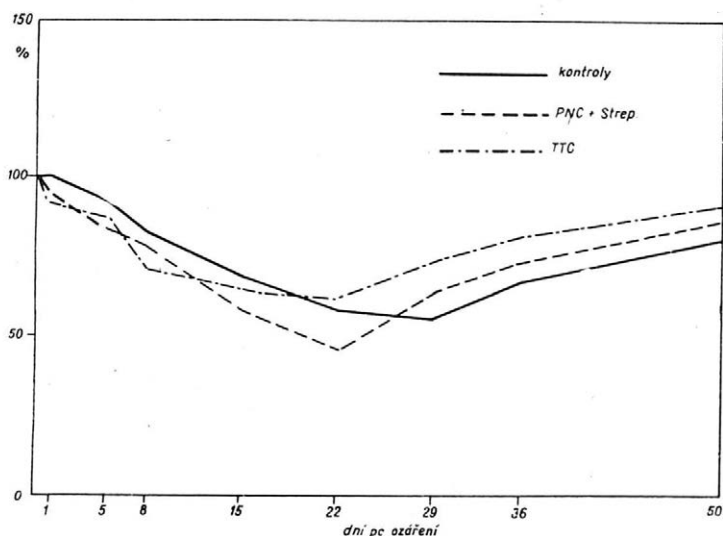
Penicilín zasahuje svým účinkem hlavně grampozitivní koky (streptokoky a stafylokoky) a grampozitivní bakterie. Mimo jeho spektrum účinnosti jsou právě mikroorganismy, uváděné jako důležité v průběhu akutní nemoci z ozáření (*E. coli*, *pseudomonas*, *proteus*). Tato neúčinnost právě na tyto druhy mikroorganismů je jistě jedním z hlavních důvodů, proč terapeutický účinek tohoto antibiotika samotného je podle prací řady autorů při léčbě akutní nemoci z ozáření negativní (3, 5, 25, 31, 42, 43).

Streptomycin je účinný proti gramnegativním bakteriím, z nichž při akutní nemoci z ozáření je nejpodstatnější *E. coli*. Nezasahuje však další

Graf 1.



Bílé krvinky



Graf 2.

řadu mikroorganismů nebezpečných v průběhu akutní nemoci z ozáření (*pseudomonas*, *proteus*). Podstata antimikrobiálního účinku streptomycinu není dosud dostatečně jasná. Podle některých názorů zasahuje streptomycin do uhlovodanového metabolismu mikrobiální buňky tím, že znemožňuje oxydaci kys. pyrohroznové (38). Nověji se prokazuje, že streptomycin snad specificky ovlivňuje i včleňování některých aminokyselin, vázaných na kys. ribonukleinovou, do bílkovin. V malých dávkách účinkuje streptomycin bakteriostaticky, ve velkých dávkách baktericidně.

Při porovnání účinnosti jednotlivých druhů antibiotik použitých experimentálně při léčbě akutní nemoci z ozáření je streptomycin hodnocen na podkladě řady pokusů různých autorů nejkladněji, velice často s průkazným léčebným efektem u zvířat ozářených dávkou blízkou poloviční smrtné dávce (1, 11, 16, 18, 21, 22, 23, 30, 35, 37, 44, 45, 48).

Vzhledem k účinnosti streptomycinu na jednotlivé druhy mikroorganismů je zajímavá práce Gonscheryho a Marstona (17), kteří ozářili myši celotělově dávkou 500 r a podávali streptomycin od 3. do 20. dne a mikro-

I.

Skupina zvířat	Počet zvířat v pokuse	Uhynulo	Bakteriologické vyšetření neg.	Bakteriologické vyšetření poz.	Mikrobiologický nálezn					
					<i>pseudomonas</i>	<i>E. coli</i>	<i>proteus</i>	<i>streptokok</i>	<i>stafylokok</i>	druhé
Kontroly	446	363	156	207	35	48	35	44	19	26
Léčené	446	300	213	87	31	11	6	9	7	23

biologickým vyšetřením sledovali výskyt jednotlivých druhů mikroorganismů. Výsledky jsou uvedeny v tabulce I.

V další práci (32) titíž autoři infikovali myši ozářené dávkou 250–475 r stafylokokem *aureus*, *pseudomonas*, *proteus* a alfa streptokokem. Šest hodin po infekci aplikovali streptomycin (1,25–5 mg denně v průběhu 3–8 dní). Infikované myši měly větší smrtelnost proti pouze ozářeným. Streptomycin byl efektivní při léčbě infekcí způsobených stafylokokem *aureus*, proteem, nebyl však účinný při infekci *pseudomonas*. Aplikace 1,25 mg streptomycinu měla stejný efekt jako aplikace vyšších dávek. Efektivnost streptomycinu při nižších dávkách celotělového ozáření byla větší, než při vyšších dávkách.

Metter (33) porovnávala účinek streptomycinu s řadou dalších antibiotik a prokázala opětovně jeho optimální účinek. Současně v dalším pokusu prokázala, že efektivnost streptomycinu klesá vzhledem ke stoupající dávce celotělového ozáření a že nejlépe se projevila léčba streptomycinem započatá den po ozáření a prováděná v dostatečných dávkách a pravidelných intervalech.

Prověřován byl též účinek dihydrostreptomycinu; byl zjištěn podobný účinek jako u streptomycinu.

Chloramfenikol. Antimikrobiální spektrum tohoto antibiotika je široké. Zahrnuje především gramnegativní koky a grampozitivní bakterie, dále riketsie a některé velké viry. Do spektra jeho účinnosti patří též grampozitivní koky a grampozitivní bakterie; na tyto mikroorganismy však působí o něco slaběji, než antibiotika tetracyklínové řady a mnohem slaběji než penicilín.

Značnou nevýhodou chloramfenikolu je, že vyvolává mnohdy závažnější toxické reakce. Za nejtěžší je právě označován útlum krvetvorby, postihující jak červené, tak bílé krvinky a destičky (38). To je nutno hodnotit zvláště významně právě pro průběh akutní nemoci z ozáření, pro kterou je charakteristický jako jeden z hlavních příznaků celkový útlum hematopoézy. Z těchto důvodů by jistě bylo podávání chloramfenikolu značně nevhodné.

Účinek chloramfenikolu na průběh akutní nemoci z ozáření, pokud byl prověřován, byl negativní (3, 31, 35).

Tetracyklínová řada. Do této řady patří chlortetracyklín, oxytetracyklín, tetracyklín. Tetracyklínová antibiotika mají řadu společných vlastností; jsou si svou chemickou strukturou velmi blízká, mají téměř shodné antimikrobiální spektrum, liší se od sebe hlavně svými rozdílnými farmakologickými vlastnostmi. Chlortetracyklín tlumí aktivitu pankreatické alfa amylázy a lipázy (40, 41). Tento účinek je reverzibilní a dá se odstranit některými organickými kyselinami, hlavně kys. citrónovou. Chlortetracyklín snižuje krevní srážlivost, oxytetracyklín a tetracyklín tento vliv nemají (50). Nejzávažnější jsou biologické komplikace, které se projevují při delším perorálním podávání. Jde tu hlavně o mikrobiální superinfekci, která postihuje střevní sliznici. Zvláště nebezpečné je přerůstávání zlatých stafylokoků, rezistentních na základní antibiotika, což může vyvolat těžkou pseudomembranózní enterokolitidu. Mimo mikrobiální superinfekce se v patogenézi komplikace tetracyklínové terapie mohou v různé míře uplatňovat i poruchy metabolismu vitamínů skupiny B a vitamínů skupiny K, zaviněné potlačením střevní flóry produkující tyto vitamíny.

Antibiotika tetracyklínové řady byla při léčbě nemoci z ozáření prověřována na řadě pokusů. Při použití chlortetracyklínu nebyl zjištěn většinou autorů žádný

terapeutický efekt (12, 14, 15, 35). Oproti těmto výsledkům jsou závěry prací (12, 13, 29, 37), které přisuzují tomuto antibiotiku určitý kladný význam v průběhu akutní nemoci z ozáření. Poněkud jednoznačněji vyznívají pokusy, provedené k prověření léčebného vlivu oxytetracyklínu. Zde při vyhodnocování převládají výsledky, které svědčí pro léčebný význam tohoto antibiotika (7, 8, 12, 19, 37). Kolektiv shromážděný kolem Macha (53, 54) sledoval vliv oxytetracyklínu na krevní obraz kuřat celotělově ozářených. Bylo zjištěno, že oxytetracyklín podstatně neovlivnil postiradiační změny v červeném krevním obraze (46), ale potencoval účinek některých hemoplastik (10). Proti tomu zkrmování oxytetracyklínu mělo kladný vliv na úpravu leukopenie (24).

Gustafson a Koletsky (19) pozorovali u krys ozářených celotělově dávkou 660 r léčebný účinek po podání oxytetracyklínu. Zde bylo snížení hynutí závislé na dávce antibiotika, dávka 0,2 mg byla naprosto neúčinná a dávka 200 mg výrazně snížila hynutí i při porovnání s dávkou 2 mg a 20 mg. Závislost účinku podaného antibiotika na době ozáření sledoval Bradner a Hald (4), kteří zjistili, že oxytetracyklín má tím menší účinek, čím později byl aplikován po ozáření.

Méně pokusů bylo provedeno s tetracyklínem (39), u kterého bylo též prokázáno kladné ovlivnění postiradiačního syndromu.

Pokud byla prověřována další méně obvyklá antibiotika — Viomycin (43), Bacitracin (21), Neomycin (37) — nebyl zjištěn takový léčebný efekt, aby převyšoval účinek streptomycinu nebo oxytetracyklínu, naopak byl zjištěn účinek spíše nižší. V řadě dalších prací byla řešena otázka použití kombinace jednotlivých antibiotik při léčbě akutní nemoci z ozáření. V první řadě šlo o kombinaci základních antibiotik, penicilínu a streptomycinu (9, 20, 27, 30, 36, 37). Dosažený výsledek se ve většině případů rovnal účinku, který byl pozorován po použití samotného streptomycinu. Obdobně tomu bylo při dalších kombinacích druhých antibiotik se streptomycinem (21, 22, 28, 34, 37, 43, 51).

Souhrn

U psů celotělově ozářených dávkou 600 r ^{60}Co byl zjištěn léčebný efekt při podávání penicilínu a streptomycinu. Nebyl zjištěn rozdíl v postiradiačních změnách v periferním krevním obraze mezi skupinou psů léčených antibiotiky a skupinou psů kontrolních. V diskusi je probrána efektivnost léčby antibiotiky v průběhu akutní nemoci z ozáření.

Došlo dne 30. 11. 1963

Literatura

1. Baxter H., Drummond J. A., Stephensnewslam L. G., Randall R. G.: Ann. Surg. 137, 450, 1959. — 2. Bloodworth J. M. B., Morton J. L.: Cancer 10, 884, 1957. — 3. Beaumariage M. L.: Int. J. appl. Rad. 4, 69, 1958. — 4. Bradner W. T., Hald A. M.: Bact. Proc. 85, 432, 1955. — 5. Brooks J. W., Evans E. J., Ham W. T., Reid J. D.: Ann. Surg. 196, 533, 1952. — 6. Cole L. J., Habermeyer J. G., Nowel P. C.: Rad. Research 7, 139, 1957. — 7. Coulter M. D., Furth F. W.: Am. J. Path. 28, 875, 1962. — 8. Coulter M. D., Furth F. W., Howland J. W.: Am. J. Path. 28, 325, 1955. — 9. Dolgov E. G.: Antibiotiki 6, 402, 1961. — 10. Dressler J.: VI. studentská vědecká konference veterinární fakulty VŠZ Brno, 29. - 30. 11. 1960. — 11. Ettlinger L.: Antibiot. Chemother. Fortschritte 4, 46, 1957. — 12. Furth F. W., Coulter M. P., Howland J. W.: Am. J. Path. 28, 25, 1952. — 13. Furth F. W., Coulter M. P., Howland J. W.: Am. J. Path. 28, 185, 1952. — 14. Furth F. W., Coulter M. P., Howland J. W.: Am. J. Path. 28, 171, 1952. — 15. Furth F. W., Coulter M. P., Miller R. W., Howland J. W., Swisher S. N.: Fed. Proc. 11, 416, 1952. — 16. Genaud P. E.,

Meot H.: C. R. Acad. Sci. 236, 2004, 1953. — 17. Gonshery L. M., Marston R.: Am. J. Physiol. 172, 359, 1953. — 18. Gordon L. E., Miller C. P., Hahne H. J.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 83, 85, 1953. — 19. Gustafson G. E., Koletsky S.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 84, 266, 1953. — 20. Hammond C. W., Vogel H. H., Clark J. W., Cooper D. B., Miller C. P.: Rad. Research 2, 354, 1955. — 21. Hammond C. W., Miller C. P.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 53, 303, 1950. — 22. Howland J. W., Furth F. W., Coulter M. P.: Fed. Proc. 9, 334, 1950. — 23. Howland J. W., Furth F. W., Coulter M. P.: Fed. Proc. 10, 67, 1951. — 24. Jandl V.: VI. studentská vědecká konference veterinární fakulty VŠZ Brno, 29. — 30. 11. 1960. — 25. Kaplan H. S., Speck R. S., Jawetz E.: J. lab. clin. Med. 40, 682, 1952. — 26. Klemparskaja A. N., Aleksejeva O. G., Petrov R. V., Kosova V. P.: „Voprosy infekcii, immuniteta i allergii pro ostroj lučevoj bolezni“. Moskva, Medgiz 1958. — 27. Kiselev P. N., Sivercova V. N., Buzini P. A.: Zur. mikrob. epidem. immunobiol. 12, 54, 1955. — 28. Korner B.: Peaceful Uses of Atomic Energy (II. Conf.) 23, 84, 1958. — 29. Lambert G., Maisin J., Mandart M., Pluygers E., Podio G.: C. R. Soc. Biol. (Paris) 144, 1558, 1950. — 30. Laurell G., Philipson L.: Acta path. microb. Scand. 38, 58, 1956. — 31. Maisin J., Mandart M., Pluygers E., Lambert G., Podio G.: C. R. Soc. Biol. (Paris) 144, 1560, 1950. — 32. Marston R., Gonshery L.: Am. J. Physiol. 172, 365, 1952. — 33. Meter I. D.: Voprosy radiobiologii, t. 3, 360, 1960. — 34. Michaelson S. M., Howland J. W.: Antibiotics Ann. 936, 1956-57. — 35. Miller C. P., Hammond C. W., Tompkins M.: Science 111, 719, 1950. — 36. Miller C. P., Hammond C. W.: Trans. As. Am. Phys. 63, 1955, 1950. — 37. Miller C. P., Hammond C. W., Tompkins M., Shorter G.: J. lab. clin. Med. 39, 462, 1952. — 38. Modr Z.: „Antibiotika a jejich užití v terapii“. Spofa 1962. — 39. Porter K. A., Murray J. E.: J. nat. Cancer inst. 20, 189, 1958. — 40. Rokos J.: Čs. mikrobiol. 3, 217, 1958. — 41. Rokos J.: Nature 181, 1201, 1958. — 42. Santos G. W., Cole L. J., Roan P. L.: Am. J. Physiol. 194, 23, 1958. — 43. Smith W. W., Smith F., Ruth J., Canter H. V.: Am. J. Physiol. 172, 351, 1953. — 44. Smith W. W., Anderson E., Ashwell G.: Am. J. Physiol. 178, 471, 1954. — 45. Smith W. W., Marston R. Q., Gonshery L.: Rad. Research 1, 229, 1954. — 46. Skolný L.: VI. studentská vědecká konference veterinární fakulty VŠZ Brno, 29.-30. 11. 1960. — 47. Trojickij V. L., Tumanjan M. A.: „Vlijanije ionizirujuščego izlučenijsa na immunitet“. Moskva, Medgiz 1958. — 48. Vogel H. H., Clark J. W., Hammond C. W., Cooper D. B., Miller C. P.: Fed. Proc. 13, 445, 1954. — 49. Wagner V.: „Základy imunologie“. Praha, SZN 1959. — 50. Zolotuchin S. I.: Antibiotiki 4/3, 70, 1959. — 51. Tumanjan M. A., Izvekova A. V.: Med. radiologija 4/7, 52, 1959. — 52. Kolektiv: „Experimentální postiradiační syndrom“. Praha, SZN - v tisku. — 53. Mach P., Surynek J., Krul J.: Nature (London) 1962, 459. — 54. Surynek J., Mach P., Dressler J.: Rad. terap. 4, 1963, 125.

Использование антибиотиков в лечении острых заболеваний вследствие облучения

У собак облученных по всему телу дозой 600 r ^{60}Co , был установлен лечебный эффект при даче пенициллина и стрептомицина. Не было установлено различия в пост-радиационных изменениях в периферийной картине крови между группой собак, лечившихся антибиотиками, и группой контрольных собак. В дискуссии обсуждается эффективность лечения антибиотиками в ходе острых заболеваний вследствие облучения.

The Use of Antibiotics in the Treatment of Acute Irradiation-Disease

In dogs irradiated with a whole — body dose of 600 r ^{60}Co a curative effect in the case of an application of penicillin and streptomycin was found. There was no difference in the post-irradiation changes in the peripheral blood - count between the group treated with antibiotics and the control group. The effectiveness of antibiotic - treatment in the course of acute irradiation disease is discussed.

Die Anwendung von Antibiotika bei der Therapie der akuten, durch die Bestrahlung hervorgerufenen Krankheit

Bei der Bestrahlung des ganzen Körpers der Hunde durch eine Dosis von 600 r ^{60}Co wurde ein Heilungseffekt beim Verabreichen von Penizillin und Streptomycin festgestellt. Ein Unterschied der Postradiations-Änderungen des peripheren Blutbildes zwischen den mit Antibiotika behandelten und Kontrollhunden konnte nicht festgestellt werden. In der Diskussion wird die Effektivität der Antibiotika-Therapie im Verlaufe der akuten, durch die Bestrahlung hervorgerufenen Krankheit behandelt.

L'utilisation des antibiotiques dans le traitement de la maladie aiguë, provenant de l'irradiation

On a vérifié chez les chiens, irradiés sur tout leur corps, au moyen d'une dose de 600 r ^{60}Co , un effet curatif, lorsqu'on administrait la pénicilline et la streptomycine. On n'a pas constaté de différences en ce qui concerne les modifications postirradiatives dans la formule sanguine périphérique, entre le groupe de chiens traités par les antibiotiques et le groupe de chiens témoins. Dans la discussion, on a examiné l'efficacité du traitement au moyen des antibiotiques au cours d'une maladie aiguë, provenant de l'irradiation.

Aplicación de los antibióticos en el tratamiento de la enfermedad aguda procedente de la radioterapia

En los perros totalmente irradiados con la dosis de 600 r ^{60}Co se comprobó efecto curativo a la administración de penicilina y estreptomicina. No fue comprobada diferencia alguna en los cambios postirradiales en el hemograma periférico entre el grupo de perros tratados con los antibióticos y el grupo de control. En la discusión se trató de la efectividad del tratamiento con los antibióticos en el transcurso de la enfermedad aguda procedente de la irradiación.

Metabolizmus železa u ošípaných

VI. Obsah depotného železa v orgánoch prasiatok pri narodení a u dospelých ošípaných

Метаболизм желез у свиней

VI. Содержание депо железа в органах поросят при рождении и у взрослых свиней

The Metabolism of Iron in Pigs

VI. The Content of Iron Deposited in the Organs of Piglings at Birth and in Mature Pigs

Der Eisenstoffwechsel bei Schweinen.

VI. Der Gehalt an Depoteisen in den Organen neugeborener Ferkel und erwachsener Schweine

Le métabolisme du fer chez les porcs. VI. La teneur en fer de déposition dans les organes des porcelets à la naissance et des porcs adultes

Prom. vet. lekár Pavol BARTKO, C. Sc.

Katedra vnútorných chorôb párnokopytníkov. Veterinárska fakulta VŠP, Košice,
vedúci: Prof. Dr. T. Gdovin

Úvod

V predchádzajúcej práci (Bartko 1963) sme sa zaoberali štúdiom koncentrácie depotného železa v jednotlivých orgánoch u prasiatok a dospelých ošípaných. V tejto práci pojednávame o obsahu depotného železa v jednotlivých orgánoch. Zaujala nás predovšetkým otázka, koľko železa získava prasiatko počas intrauterinného života a či s rastom orgánov v prvých týždňoch života prasiatok paralelne stúpa aj množstvo depotného železa v nich obsažené. Ďalej nás zaujala otázka, ktorý orgán je hlavnou zásobárňou depotného železa u odrastlých ošípaných.

Literárne údaje o tejto problematike sú veľmi skromné. Iba Venn a spol. (1947) a Radev (1956) určili, koľko železa obsahuje novorodené prasiatko a ako sa mení obsah depotného železa v orgánoch počas rastu ošípaných.

Materiál a metodika

Bola vyšetrená koncentrácia depotného železa a vypočítaný obsah železa v jednotlivých orgánoch u 33 ks ošípaných, z toho u 10 prasiatok pri narodení, u 6 vo veku 8 dní, u 6 vo veku 15 dní a u 11 ks ošípaných odporazených na bitúнку o váhe okolo 100 kg. Prasiatka boli odchované na klinike v kotcoch, s tehlovou podlahou, od 5 dňa im bola podávaná pitná voda, šrot (jačmený, ovosný, a kukuričný) v suchom stave. Prasiatka boli pravidelne vážené a bol u nich robený krvný obraz.

Pokusné ošípané boli pred odporazením odvážene, ihneď po porážke zvažované orgány a boli z nich odobraté vzorky. Vzorky sme spracovali do 4 hodín po odobratí v čerstvom stave. Obsah celkového železa sme určovali spaľovaním vlhkou cestou metódou podľa H e m m e l e r a (1951). Od celkového železa sme odpočítali hemoglobínové železo určené metódou podľa S c h ä f e r a (1940) čím sme určili obsah depotného železa, ktorý sme potom prepočítali na celý orgán. Získané výsledky sme zhodnotili bežne používaným studentovým t testom (W e b e r 1956). V tabuľkách uvádzame priemerné hodnoty $\bar{x}$, smerodátne odchyľky s a stredné chyby aritmetického priemeru $s_{\bar{x}}$.

V ý s l e d k y

Výsledky sú spracované do tabuliek I–V.

Prasiatka o priemernej váhe 1,20 kg pri narodení obsahovali 46,87 mg železa, z toho 4,059 mg v depotných orgánoch (pečeň, slezina, obličky, srdce, pľúca). Okrem uvedených prípadov vyšetrili sme obsah všetkého železa u dvoch prasiatok, ktoré mali pomerne nízku váhu pri narodení. U prasiatka s váhou 0,85 kg sme zistili 36,32 mg železa a u prasiatka s váhou 0,8 kg iba 27,78 mg železa. I keď koncentrácia železa v orgánoch uvedených prasiatok bola podobná ako u prasiatok s normálnou váhou, predsa ich nebolo možné zaradiť do študovaného súboru. Pokiaľ ide o jednotlivé orgány najviac depotného železa bolo obsažené v pečeni 3,408 mg, kým v ostatných orgánoch sa pohyboval obsah depotného železa od 0,069 do 0,317 mg (tabuľka I a II).

I. Celkový obsah železa u prasiatok pri narodení

	Počet zvierat	Obsah železa v mg				
		$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	min.	max.
Živá váha v kg	8	1,20	$\pm 0,071$	0,025	1,10	1,30
Železo v depotných orgánoch*	8	4,059	$\pm 0,671$	0,237	2,916	5,096
Železo v ostatných orgánoch	8	24,142	$\pm 1,305$	0,461	22,375	26,251
Železo v krvi	8	18,685	$\pm 2,496$	0,882	15,544	22,780
Celkové železo v celom organizme	8	46,874	$\pm 1,921$	0,679	44,751	49,399

* pečeň, slezina, srdce, pľúca, obličky

2. U prasiatok ktoré boli odporazené v 8. deň života váha pečene stúpala dvojnásobne, obsah železa v nej poklesol na 0,983 mg, teda viac ako o 2 tretiny. V ostatných orgánoch stúpol obsah depotného železa ovšem nie priamo úmerne k váhe orgánov (tabuľka III).

3. U prasiatok ktoré boli odporazené pri strojnásobení živej váhy v 15. dni života sme v pečeni zistili 1,062 mg depotného železa, čo je iba jedna tretina v porovnaní s pomermi pri narodení. V ostatných orgánoch s výnimkou srdca obsah železa stúpol. V srdci sme však zaznamenali pokles koncentrácie železa, čo malo za následok zníženie celkového množstva depotného železa (tabuľka IV).

II. Celkové množství depotního železa v orgánech novorodených prasiatok

	Počet zvierat	Váha v g					Obsah depotního železa v mg				
		$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	min.	max.	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	min.	max.
Slezina	8	0,87	$\pm 0,177$	0,052	0,71	1,18	0,069	$\pm 0,014$	0,005	0,045	0,090
Pečeň	8	33,73	$\pm 6,483$	2,291	25,93	40,90	3,408	$\pm 0,696$	0,246	2,367	4,454
Plúca	8	13,85	$\pm 1,505$	0,532	11,91	16,75	0,317	$\pm 0,099$	0,035	0,241	0,581
Obličky	8	7,56	$\pm 0,068$	0,024	6,85	8,99	0,092	$\pm 0,023$	0,008	0,073	0,132
Srdce	8	8,11	$\pm 1,007$	0,356	7,07	10,00	0,171	$\pm 0,028$	0,010	0,144	0,227

III. Celkové množství depotního železa v orgánech prasiatok vo veku 8 dní

	Počet zvierat	Váha v g					Obsah depotního železa v mg				
		$\bar{x}$	σ	$s_{\bar{x}}$	min.	max.	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	min.	max.
Slezina	6	5,04	$\pm 1,737$	0,709	3,17	7,86	0,217	$\pm 0,076$	0,031	0,132	0,339
Pečeň	6	77,77	$\pm 6,404$	2,614	70,81	86,72	0,983	$\pm 0,135$	0,055	0,777	1,113
Plúca	6	34,24	$\pm 2,849$	1,163	31,00	38,87	0,424	$\pm 0,071$	0,029	0,365	0,558
Srdce	6	18,48	$\pm 2,553$	1,042	13,75	20,93	0,310	$\pm 0,058$	0,024	0,257	0,393
Obličky	6	15,46	$\pm 4,464$	1,822	13,81	17,38	0,158	$\pm 0,029$	0,012	0,124	0,212

IV. Celkové množství depotního železa v orgánech prasítek vo věku 15 dní

	Počet zvířat	Váha v g					Obsah depotního železa v mg				
		$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	min.	max.	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	min.	max.
Slezina	6	5,01	$\pm 1,39$	0,57	3,40	6,55	0,320	$\pm 0,108$	0,044	0,169	0,535
Pečeň	6	96,39	$\pm 11,49$	4,69	82,38	111,15	1,062	$\pm 0,360$	0,147	0,789	1,667
Plúca	6	37,94	$\pm 4,38$	1,79	33,57	43,43	0,544	$\pm 0,112$	0,046	0,430	0,736
Obličky	6	20,74	$\pm 3,82$	1,56	14,56	24,90	0,162	$\pm 0,063$	0,026	0,092	0,206
Srdce	6	19,68	$\pm 5,14$	2,10	10,38	24,62	0,161	$\pm 0,031$	0,013	0,093	1,85

V. Obsah železa v mg v celých orgánech ošipáných odporážených na bitúnku

Orgán	Počet	Váha orgánu v kg					Obsah železa v celom orgáne				
		$\bar{x}$	S	$s_{\bar{x}}$	min.	max.	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	min.	max.
Pečeň	11	1,813	$\pm 0,24$	0,073	1,40	2,35	243,529	$\pm 43,76$	13,22	13,664	48,845
Slezina	11	0,136	$\pm 0,04$	0,012	0,082	0,182	27,095	$\pm 11,45$	3,46	176,583	312,669
Plúca	11	0,563	$\pm 0,11$	0,033	0,45	0,70	19,831	$\pm 5,79$	1,75	11,533	27,965
Srdce	11	0,358	$\pm 0,01$	0,003	0,317	0,425	10,431	$\pm 2,58$	0,78	8,486	17,162
Obličky	11	0,274	$\pm 0,91$	0,276	0,186	0,340	11,473	$\pm 2,94$	0,89	6,420	17,646
Živá váha ošipáných	11	104,7	$\pm 7,88$	2,38	95	122					

4. U ošípaných odporazených vo váhe okolo 100 kg, i keď najvyššia koncentrácia depotného železa bola v slezine najviac železa (243,529 mg) obsahovala pečeň, kým ostatné orgány (slezina, pľúca, obličky, srdce) spolu obsahovali ani nie 70 mg železa (tabuľka V).

Zhodnotenie výsledkov a diskusia

V depotných orgánoch sa nachádza asi jedna pätina všetkého železa a je uložené buď vo forme ferritínu alebo hemosiderínu Laufberger (1937), Hemmeler (1951), Wöhler a spol. (1957), Heilmeyer (1957). V prípade nedostatku železa, organizmus používa depotné železo k výstavbe funkčných zlúčenín železa, hlavne fermentov a hemoglobínu, čo má potom za následok pokles depotného železa v orgánoch. Preto vyšetrenie obsahu depotného železa nás môže dobre informovať o zásobách a potrebe železa v organizme.

Výsledky našich vyšetrení ukázali, že normálne vyvinuté prasiatko s váhou 1—1,3 kg získava počas intrateurinného života 46,87 mg železa. Táto časť výsledkov sa úplne zhoduje s údajmi Venn a spol. (1947), ktorí u prasiatok pri narodení zistili 47,2 mg železa. Radev (1956) študoval obsah železa u novorodených mláďat rôznych druhov zvierat. Najviac železa zistil u králikov 101,3 mg na kg váhy, menej u šteniat 79,4 mg a u prasiatka iba 24,9 mg, čo je menej ako sme my zistili u prasiatka o váhe 0,8 kg.

Podobne sú udávané rozdielne hodnoty obsahu depotného železa v pečeni prasiatok pri narodení. Venn a spol. (1947) zistil v pečeni a slezine 4,6 mg depotného železa, Radev (1956) 6,4 mg v pečeni, teda skoro dvojnásobok, ako bolo zistené v našich pokusoch. V slezine sme zistili takmer rovnaký obsah železa ako Radev (1956).

V prvých dvoch týždňoch po narodení došlo nielen k poklesu relatívneho, ale aj absolútneho množstva depotného železa v pečeni. Kým pri narodení prasiatka v pečeni o váhe 33,7 g bolo obsažené 3,40 mg depotného železa u prasiatok 8 dňových v 77,7 g pečeni bolo obsažené iba 0,983 mg depotného železa a v 96,4 g pečeni u 15 dňových prasiatok bolo obsažené 1,06 mg depotného železa. Podobný pokles depotného železa v pečeni u prasiatok po narodení zistil Venn a spol. (1947) (1,8 mg Fe u prasiatok 21 dňových) a Radev (1956) u prasiatok 12 dňových dokonca 0,16 mg.

V ostatných orgánoch so zväčšovaním objemu orgánov pribúda v nich aj obsahu depotného železa, ovšem obsah železa sa nezväčšuje priamo úmerne s objemom orgánov.

Z prevedených pokusov zhodne s literárnymi údajmi vyplýva, že v prvých týždňoch extrauterinného života prasiatok dochádza takmer k úplnému vyčerpaniu zásobného železa hlavne v pečeni, z ktorej je železo odsunutú pravdepodobne do kostnej drene, kde je využité k výstavbe hemoglobínu alebo sa použije k tvorbe železo obsahujúcich oxydoredukčných fermentov. S podobnými stavmi vyčerpania depotného železa sa stretávame aj u detí v období pól až jedného roku (Betke 1959).

Najviac depotného železa je uložené v pečeni, u dospelých ošípaných 243,53 mg, kým v pľúcach, obličkách, slezine a srdci je uložené ani nie 70 mg depotného železa. V porovnaní s pomermi u dospelého človeka v pečeni na 100 kg ošípaných je obsažené asi polovičné množstvo depotného železa a v slezine zhruba jedna tretina. Heilmeyer (1944) udáva, že v pečeni človeka sa nachádza 540 mg a v slezine 80 mg depotného železa. Pečeň preto predstavuje najväčšiu zásobáreň železa. Podľa Brückmanna (1939) v pečeni sú uložené tri štvrtiny všetkého depotného železa.

V organizme je depotné železo uložené hlavne vo fixovaných bunkách RES-u, v makrofágoch, ale aj v ostatných bunkách, ktoré majú fagocytárnu schopnosť (Martin 1958, Goetz 1959). Po stránke histochemickej depotné železo sa nachádza v orgánoch hlavne vo forme granulovanej, ktorá je pokladaná za hemosiderín, alebo vo forme difúznej, pokladanej za ferritín (Zemaník 1954, Wöhler a spol. 1957). V pečeni je depotné železo uložené hlavne v Kupferových bunkách a endoteliálnych bunkách sínusov. Pri zvýšenom prívode železa do organizmu možno ho zistiť aj v parenchýme pečeňových buniek vo forme drobných granúl. V slezine je

železo uložené v bunkách RES-u najviac perifolikulárne, pri zvýšenom prívode se ukladá aj extracelulárne hlavne okolo ciev.

Okrem toho, že depotné železo slúži ako potrebná zásoba železa v organizme, má veľký význam pri nešpecifickej obrane organizmu voči rôznym infekčným a toxinfekčným vplyvom (Keiderling 1959).

Súhrn

Bola vyšetrená koncentrácia depotného železa a bol vypočítaný obsah depotného železa v celých orgánoch u 33 ks ošipáných. Obsah depotného železa sme určovali spaľovaním čerstvých orgánov vlhkou cestou metódou podľa Hemmela (1951) po odpočítaní hemoglobínového železa určeného metódou podľa Schäfera (1940).

1. U prasiatok pri narodení o váhe 1,20 kg sme zistili celkom 46,87 mg železa. Z toho v depotných orgánoch (pečeň, srdce, pľúca, slezina) bolo obsažené 4,059 mg. Najviac depotného železa sa nachádzalo v pečeni 3,408 mg, v ostatných orgánoch sa pohyboval obsah depotného železa od 0,069 do 0,317 mg.

2. Pri zdvojnásobení živej váhy prasiatok (ku ktorému došlo na 8 deň života) poklesol obsah depotného železa v pečeni na 0,983 mg.

3. Pri strojnásobení váhy prasiatok na 15 deň sme zistili v pečeni 1,062 mg depotného železa.

4. U dospelých ošipáných v pečeni bolo zistené 243,529 mg, v slezine 27,095 mg, v pľúcach 19,831 mg, v obličkách 10,431 mg a v srdci 11,473 mg depotného železa.

5. Pečeň predstavuje najväčšiu zásobárňu depotného železa, preto pre posúdenie zásob depotného železa v organizme stačí vyšetriť jeho obsah v tomto orgáne.

Došlo dňa 11. 2. 1964

Literatura

1. Bartko P.: Niektoré problémy metabolismu železa u ošipáných. Kand. diz. práca. Vet. fakulta, Košice, 1963. — 2. Betke K.: Staf v knihe: Eisenstoffwechsel, Stuttgart, 1959. — 3. Brückmann G., Zondek S. G.: Biochem. Z. 33, 1845, 1939. — 4. Goetz R. W.: J. Exp. Med. 109, 197, 1959. — 5. Heilmeyer L.: Die Eisen-therapie und ihre Grundlagen, Leipzig 1944. — 6. Heilmeyer L.: Clin. Chem. Acta 2, 159, 1957. — 7. Hemmela G.: Metabolisme du fer, Masson, Paris 1951. — 8. Keiderling W.: Eisenstoffwechsel, Stuttgart 1959. — 9. Laufberger V.: Čas. lek. českých 86, 1527, 1937. — 10. Martin W.: Virginia Med. Monthly 85, 124, 1958. — 11. Radev T.: Poľnohospodárstvo 3, 377, 1956. — 12. Schäfer K. H.: Biolog. Ztschr. 304, 417, 1940. — 13. Venn J. A. J., McCance R. A., Widdowson E. M.: J. comp. Path. Therap. 57, 314, 1947. — 14. Weber E.: Grundriß der biologischen Statistik für Naturwissenschaftler, Landwirte und Mediziner, G. Fischer, Jena 1956. — 15. Wöhler F., Heilmeyer L., Emrich D., Shin Ho Kang: Arch. exp. Path. Pharmacol. 230, 107, 1957. — 16. Zemaník J.: Intravenózne železo. Záv. zpráva. Chem. ústav SAV, Bratislava 1954.

Метаболизм желез у свиней

VI. Содержание депо железа в органах поросят при рождении и у взрослых свиней

Была изучена концентрация депо железа и вычислено депо железа в целых органах 33 голов свиней. Содержание депо железа мы определяли с помощью сжигания свежих органов влажным путем по методу Геммлера (1951 г.) после отчисления железа гемоглобина, определенного по методу Шефера (1940 г.)

1. У поросят при рождении весом в 1,20 кг мы установили в общем 46,87 мг железа. В том числе в депо органах (печени, сердце, легких, селезенке) содержалось 4,059 мг. Больше всего депо железа содержалось в печени — 3,408 мг, в остальных органах его содержание колебалось от 0,069 до 0,317 мг.

2. При удвоении живого веса поросят (которое произошло на 8 день их жизни) содержание депо железа в печени понизилось до 0,983 мг.

3. При утроении веса поросят на 15 день мы установили в печени 1,062 мг депо железа.

4. У взрослых свиней в печени было установлено 243,529 мг, в селезенке 27,095 мг, в легких 19,831 мг, в почках 10,431 мг и в сердце 11,473 мг депо железа.

5. Печень представляет самую крупную кладовую депо железа, ввиду чего для определения запасов депо железа в организме достаточно обследовать его содержание в этом органе.

The Metabolism of Iron in Pigs

VI. The Content of Iron Deposited in the Organs of Piglings at Birth and in Mature Pigs

The concentration of iron deposits was examined and the content of deposited iron in the whole organs of 33 pigs were calculated. We determined the content of deposit iron by burning the fresh organs according to Hemmeler's (1951) method after deduction of the hemoglobin iron determined according to Schäfer's (1940) method.

1. In newly-born piglings of a weight of 1,20 kg we found a total of 46,87 mg of iron. Of these 4,059 mg were contained in the deposit organs (liver, heart, lungs, and spleen). The greatest quantity of deposit iron was found in the liver, 3,408 mg, in the other organs the content of deposit iron ranged between 0,069 and 0,317 mg.

2. In the case of a doubled liveweight of the piglings (at an age of 8 days of the piglings) the content of deposit iron in the liver decreased to 0,983 mg.

3. In the case of a threefold weight of the piglings on the 15th day we found 1,062 mg of deposit iron in the liver.

4. In the liver of mature pigs 243,529 mg were found, in the spleen 27,095 mg, in the lungs 19,831 mg, in the kidneys 10,431 mg, and in the heart 11,473 mg of deposit iron.

5. The liver constitutes the largest store of deposit iron, and therefore, for the evaluation of the supplies of deposit iron in the organism, it is sufficient to examine its content in this organ.

Der Eisenstoffwechsel bei Schweinen.

VI. Der Gehalt an Depoteisen in den Organen neugeborener Ferkel und erwachsener Schweine

In der vorliegenden Arbeit wurde die Konzentration des Depoteisens untersucht und der Gehalt an Depoteisen in den ganzen Organen bei 33 Schweinen errechnet. Den Gehalt an Depoteisen ermittelten wir mittels Verbrennung auf feuchtem Wege nach Hemmeler (1951) nach Abzug des Hämoglobineisens, bestimmt nach der Methode von Schäfer (1940).

1. Bei neugeborenen Ferkeln im Gewicht von 1,0 kg fanden wir 46,87 mg Eisen. Davon waren in den Depotorganen (Leber, Herz, Lunge, Milz) 4,059 mg. Das meiste Depoteisen war in der Leber (3,408 mg), in den übrigen Organen schwankte der Gehalt an Depoteisen zwischen 0,069 und 0,317 mg.

2. Bei doppeltem Lebendgewicht (am 8. Lebenstage) sank der Gehalt an Depoteisen der Leber auf 0,983 mg.

3. Bei dreifachem Ausgangsgewicht (am 15. Tag) fanden wir in der Leber 1,062 mg Depoteisen.

4. Bei erwachsenen Schweinen fanden wir in der Leber 243,529 mg, in der Milz 27,095 mg, in der Lunge 19,831 mg, in den Nieren 10,431 mg und im Herzen 11,473 mg Depoteisen.

5. Die Leber ist der größte Speicherherd des Depoteisens; deshalb genügt zur Beurteilung des Vorrates an Depoteisen eine Untersuchung der Leber auf den Gehalt an Depoteisen.

Le métabolisme du fer chez les porcs. VI. La teneur en fer de déposition dans les organes des porcelets à la naissance et des porcs adultes

On a examiné la concentration du fer de déposition et on a calculé la teneur en fer de déposition dans les organes entiers de 33 porcs. La teneur en fer de déposition fut déterminée par la combustion des organes frais par voie humide, d'après la méthode de Hemmeler (1951) en soustrayant le fer de l'hémoglobine, déterminé par la méthode de Schäfer (1940).

1. Nous avons constaté à la naissance des porcelets, ayant un poids de 1,20 kg, dans l'ensemble 46,87 mg de fer, dont dans les organes de déposition (foie, coeur, poumons, rate) il a été trouvé 4,059 mg. La plus grande quantité de fer de déposition fut constatée dans le foie — 3,408 mg, la teneur en fer de déposition dans les autres organes variant de 0,069 à 0,317 mg.

2. Le poids vif des porcelets ayant doublé (cette augmentation avait lieu le 5e jour de la vie), la teneur en fer de déposition s'est abaissée dans le foie, ne faisant plus que 0,983 mg.

3. Lorsque le poids vif des porcelets a triplé le 15e jour, nous avons constaté dans le foie 1,062 mg de fer de déposition.

4. Chez les porcs adultes, on a vérifié dans le foie 243,529 mg, dans la rate 27,095 mg, dans les poumons 19,831 mg, dans les reins 10,431 mg et dans le coeur 11,473 mg de fer de déposition.

5. C'est le foie qui représente le stock le plus important en fer de déposition et c'est pourquoi lorsqu'on veut apprécier les réserves en fer de déposition dans l'organisme, il suffit d'examiner sa teneur dans l'organe mentionné.

Niektoré fyzikálne-chemické metódy stanovenia chlórtetracyklínu v krmných zmesiach

Некоторые физико-химические методы определения хлортетрациклина
в кормовых смесях

Some physico-chemical Methods for the Determination of Chlortetracyclin in Feed
Mixtures

Einige physikalisch-chemische Methoden zur Bestimmung von Chlortetrazyklin
in Mischfutter

Certaines méthodes physico-chimiques de la détermination de la chlortétracycline
dans les aliments composés

Algunos métodos físico-químicos de la determinación de clortetraciclina en los
piensos compósitos

Inž. Ivan ČIŽNÁR, Inž. Vladimír KRČMĚRY, C. Sc.

Ústav epidemiológie a mikrobiológie, riaditeľ doc. Dr. Ján Karolček, a Oblastný
ústav hygieny v Bratislave, riaditeľ prof. Dr. Pavol Macúch

Ú v o d

Stanovenie obsahu chlórtetracyklínu (-CTC) možno dnes považovať za najjednoduchšiu a najadekvátnejšiu kontrolnú metódu na zistenie, či a v akej miere sú krmné zmesi fortifikované vitamínovým a antibiotickým doplnkom (-VAD), alebo bielkovinným koncentrátom (-BK). Pomocou stanovenia CTC možno tiež zistiť, najmä ak sa nájdú výraznejšie rozdiely medzi výsledkami mikrobiologického a chemického stanovenia, či pridaný fortifikát biokatalyzátorov nepodlieha rozkladným, alebo inaktivačným procesom.

Okrem mikrobiologických metód (1), ktoré, i pri svojej značnej citlivosti mávajú strednú chybu stanovenia CTC v krmných zmesiach až okolo 20 % (2) a dávajú výsledky obyčajne až za 24 hodín, boli vypracované početné chemické metódy na kvantitatívne stanovenie CTC v rôznych druhoch krmív pre hosp. zvieratá. Použitie mikrobiologických a chemických metód vedľa seba má okrem už spomenutej možnosti zisťovania podielu biologicky aktívneho antibiotika v celkove chemicky stanovenom množstve ešte i tú výhodu, že je tu možnosť vzájomného overovania a konfrontovania výsledkov, najmä ak sa pozorujú sústavné nedostatky v určitom veľkochove, resp. poľnohospodárskom závide. Okrem toho, nie všetky laboratória veterinárnej služby, ktoré robia kontrolu a hodnotenie krmív, podávaných priamo vykrmovaným zvieratám, majú materiálne a kádrové vybavenie na rutínne prevádzanie mikrobiologických testov.

Preskúšali sme niektoré metódy chemického, lepšie, fyzikálne-chemického stanovenia CTC v krmivách, a pokúsili sme sa upraviť a zjednodušiť niektoré postupy tak, aby sa dali použiť na rýchle stanovenie CTC v krmných zmesiach (-KZ), ktoré obsahujú obvykle 10–30 mg/kg antibiotika, a to buď samostatne,

alebo súčasne s nami opísanou mikrobiologickou metódou (1). Referujeme tu hlavne o jednoduchých metodikách stanovenia CTC v krmivách pomocou

1. papierovej chromatografie
2. vysokovoltovej papierovej elektroforézy
3. chromatografie na tenkých vrstvách
4. fluorometrie po chromatografii na Al_2O_3 .

Literárne údaje budú prehľadne uvedené v našej nasledujúcej práci (3). V tomto príspevku sa zaoberáme výhradne posudzovaním metodických postupov a ich použiteľnosťou v analytike krmných zmesí. Obídeme preto vypracované a dobre známe chemické a fyzikálne-chemické metodiky stanovenia CTC, uvedené v Technických podmienkach pre VAD a BK. Tieto sa nehodia dobre pre KZ (ani jednoduchá fluorometria po vymytí riboflavínu, ani kolorimetrická v prostredí 2 N minerálnej kyseliny), kde extrakty bývajú značne znečistené, zafarbené a sprevádzané „bočnou fluorescenciou“, a kde obsah CTC býva značne pod hranicou citlivosti stanovenia (napríklad fluorimetrická metóda v Techn. podmienkach pracuje s navážkou asi 10 mg CTC — kolorimetrická metóda s navážkou dokonca 20 mg CTC — čo zodpovedá navážke vzorky asi 100 g BK a 1000 g KZ!).

Metodika

1. Papierová chromatografia

Upravili sme metodiku Selzera a Wrighta (4).

Extrakcia CTC z krmiva sa robila kyslým acetónom [400 ml acetónu + 575 ml dest. vody + 25 ml konc. HCl — (2)] alebo kyslým metanolom [500 ml metanolu + 100 ml 1 N HCl — (5)].

20 g krmnej zmesi (s obsahom asi 200 mikrogr. CTC) sa extrahuje na trepačke, alebo intenzívnym miešaním, resp. rozotieraním, 30 minút v 30 ml extrahovadla. Po dôkladnej centrifugácii sa odoberie 5 ml supernatantu a vo vákuu pri teplote do 30°C sa objem zredukuje na 0,5 ml, z ktorého nanesieme na papier Whatman 1 0,1–0,25 ml pri stálom vysušovaní. Papier sa predtým impregnoval pretiahnutím v Mc Ilvainovom citrátovom pufrí o pH asi 3,5, po čom sa nevysušil úplne, ale tak, aby bol na ohmat ešte vlhký, čo je vec určitej praxe. Súčasne sa na papier nanesú i štandardy CTC v množstve 20, 10, 5 a 1 mikrogram v 0,1 ml. Použije sa buď čistý CTC-hydrochlorid, alebo Aureomykoin SPOFA, injekčný preparát, riedi sa extrahovadlom. Chromatografuje sa vzostupne (možno použiť to najjednoduchšie zariadenie) v sústave chloroform (10) nitrometan (2) pyridín (3). Sústava vzlína veľmi rýchlo, takže chromatografia je hotová behom 40–60 minút. Chromatogramy sa opatrne vysušia v prúde vzduchu a posudzujú sa pod UV svetlom, alebo sa postriekajú roztokom 0,05% FeCl_3 v 0,01 N HCl (6).

Tento chromatografický postup, pôvodne určený na vzájomné delenie všetkých tetracyklínových antibiotík, ich derivátov a epimérov, nám pomáha odhaliť prítomnosť určitých degradačných produktov antibiotika v krmivách, čím možno získať určitý obraz o chemickej stabilite a tým do istej miery aj o akosti a stave antibiotika v krmive. Ak neide o túto diferenciáciu, je možné znížiť obsah nitrometanu, ktorý silne brzdí putovanie CTC s čelom, až na 5 dielov. Prípadné fluoreskujúce prímеси sa odlišia na papieri podľa polohy škvŕn štandardných roztokov CTC.

Táto metodika sa dobre hodí aj na stanovenie CTC vo VAD. 1 g VAD sa ex-

trahuje v 5–10 ml extrahovadla. Po centrifugácii dostávame roztok, ktorý má obsahovať 1–2 mg CTC/ml. Tento nanášame na papier priamo v množstve 0,05–0,1 ml, chromatografia prebieha rýchlo. Detekcia sa robí v UV svetle, a ak vzorky boli rýchlo spracované, i mikrobiologicky.

2. Vysokovoltová papierová elektroforéza

Pomocou tejto je možné rýchlo oddeliť CTC od sprevádzajúcich nečistôt v extrakte z krmiva, a stanoviť v UV svetle, postriekaním (pretiahnutím) v FeCl_3 , alebo biochromatografiou.

Vie sa (7), že aj nepatrné koncentrácie CTC (napríklad v sére), možno oddeliť a identifikovať i bežnou elektroforézou, táto však trvá 18–20 hodín. Vo veronálovom pufrí pri pH 8,6 majú všetky tetracyklíny negatívny náboj.

Veľmi rýchle delenie CTC v extraktach z rôznych druhov krmív, vrátane krmných zmesí (behom 1 hodiny) sme docielili pomocou vysokovoltovej papierovej elektroforézy. 20 g krmnej zmesi (u VAD stačí 0,2–1,0 g, u BK okolo 5 g) sa extrahovalo pomocou 30 ml extrahovadla 30 minút. Po dôkladnom centrifugovaní sa odobrálo presne 5 ml supernatantu a vo vákuu za zmierného zohrievania sa redukoval objem na 0,5–1,0 ml. Z neho sa nanášalo 0,1–0,25 ml do stredu papierového pásiku o rozmeroch 3×30 cm. Podobne sa nanášali i zodpovedajúce štandardné roztoky. Ako pufer sme použili 0,01 M wolframan sodný $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (9), vkladané napätie bolo 1200 V, intenzita prúdu 20–35 mA. Po 15 minútach elektroforézy sa papierové pružky mohli priamo ešte vlhké podrobiť detekcii v UV svetle, alebo po vysušení s FeCl_3 . Štandardné pružky, vysušené a zabalené v tmavom papieri, sa dajú dobre používať asi dva mesiace (len pre UV detekciu).

3. Tenké vrstvy Al_2O_3

Všetky tetracyklíny sa adsorbujú a dobre delia na celulóze (8) a na Al_2O_3 (2). Ako veľmi rýchlu orientačnú metódu približného stanovenia obsahu CTC v rôznych druhoch krmív používali sme tenké vrstvy kyslíčnika hlinitého v tomto mikro-usporiadaní: Na podložné mikroskopovacie skličko sa navrství vrstva Al_2O_3 a na štart sa opatrne nanesie 0,05 ml extraktu krmiva. Skličko sa potom vo veľmi mierne šikmej polohe vloží do Petriho misky o priemere 10 cm jedným koncom do rozpúšťadlovej sústavy etanol (2), etylacetát (1), chloroform (1), citrátový pufer Mc Ilvayna, pH–3,5 až 4,0 (1). Behom 5–8 minút rozpúšťadlo dotečie až k vyvýšenému okraju sklička. Súčasne sa vyvíjajú sklička so štandardnými roztokmi CTC, alebo sa tieto, vyvinuté už predtým, priložia k sklíčkam so vzorkami. Sklička sa teraz ožiaria UV zdrojom a odhadne sa koncentrácia CTC na jednotlivých sklíčkach. Je možná i detekcia opatrným poprášením roztokom FeCl_3 .

Pre VAD navažujeme 1 g a extrahujeme s 99 ml extrahovadla (v 0,05 ml máme približne 5 mikrogramov CTC), pre BK navažujeme 5 g a extrahujeme s 10 ml (v 0,05 ml je potom asi 2,5 mikrogramov. Pre KZ navažujeme 5 g (asi 50 mikrogramov CTC), centrifugujeme, 3 ml supernatantu sa vo vákuu zredukuje na 5 ml – potom v 0,05 ml by malo byť asi 1–2 mikrogramov CTC. Porovnávacie štandardy na sklíčkach majú obvykle 5, 2,5 a 1 mikrogram CTC, pre UV detekciu pri opatrnej manipulácii vydržia asi 2 mesiace.

Výhodou detekcie CTC na tenkých vrstvách je veľká rýchlosť, nevýhodou je pomerne malá presnosť, pomerne ťažkopádna manipulácia so sklíčkami a pri nanášaní vzorky. Nepotrebujeme však žiadne zvláštne zariadenia, sklička sa dajú v ďalšom použití, spotreba Al_2O_3 je minimálna. Pochopiteľne, lepších výsledkov sa dosahuje pri použití väčších sklenených platní, pre rutínne a hromadné vyšetrenie sa však toto mikro-usporiadanie dobre osvedčuje.

4. Fluorometrické stanovenie CTC po stĺpcovej chromatografii na Al_2O_3 podľa Dresslera (2)

Už v úvode tejto práce bolo spomenuté, že sa bežná fluorometria nedá dobre použiť na stanovenie CTC v krmných zmesiach jednak pre ich značný obsah farebných balastných a fluoreskujúcich látok, jednak pre malé koncentrácie antibiotika,

ktoré vyžadujú nepraktickú manipuláciu s väčšími navážkami. Chromatografické čistenie a koncentrovanie extraktov CTC z krmív na stĺpci Al_2O_3 znamená síce určité komplikovanie metódy, avšak je možné previesť obidva tieto úkony pomerne rýchlo a v jednoduchšej úprave. Tým sa otvára cesta pre stanovenie i malých množstiev CTC v krmných zmesiach. Metodika sa čiastočne hodí i na stanovenie CTC vo VAD a BK (tu berieme iba 1/10—1/50 udanej navážky). Po stĺpcovej chromatografii, veľmi jednoducho usporiadanej, nie je nutné fluorometrické stanovenie, ale i stanovenie pomocou FeCl_3 , ba i mikrobiologicky.

Metódu možno dobre použiť na porovnanie s výsledkami mikrobiologickej metódy.

10—25 g krmiva (aby navážka obsahovala okolo 100—250 mikrogramov CTC) sa naváži do 100 ml odmerky a extrahuje sa 60 mililitrami kyslého acetónu 90 minút za stáleho miešania, alebo 30 minút na trepačke. Doplní sa po značku vodou, centrifuguje a ešte filtruje. V 50 ml filtrátu sa upraví pH na 4,0—4,5 pomocou 10 % NaOH (množstvá filtrátu pod 5 ml — napr. pri VAD — nemusia byť upravované) a presaje sa cez kolónku Al_2O_3 . Je to sklená trubica, dlhá 25 cm, široká asi 2 cm, hore so zábrusom na nasadenie pretlaku (N_2 , CO_2). Na spodek trubice sa na kus vaty dá prúžok filtr. papieru, naň sa nasype 30 g adsorbčnej zmesi (kyslíčnik hlinitý, zmiešaný s morským pieskom v pomere 1 : 1), na ňu sa dá prúžok filtr. papieru, naň príde 2 cm vrstva morského piesku a na vrch príde zas prúžok filtr. papieru.

Pred presatím extraktu zapojíme spodok trubice na vodnú výevu a za mierného podtlaku presajeme trubicou 100 ml premývacieho roztoku (30 g KH_2PO_4 rozp. v 1 litri vody, pH sa upraví kyselinou fosforečnou na 3,5—4,0). Hneď nato sa presaje vzorka i s prípadným zákalom. Medzi obidvomi roztokmi nesmie byť presávaný vzduch. Optimálna rýchlosť presávania je 100 ml/10—12 min. Po presatí vzorky sa odoberie horná 2 cm vrstva piesku, kde je zachytená prevážna časť nečistôt a antibiotikum sa eluuje pomalším presatím, (ale tak, aby elúcia netrvala dlhšie, ako 8 min.) za použitia pretlaku, 50 ml elučného roztoku (970 ml premývacieho roztoku + 30 ml konc. H_3PO_4 85 %). Elúcia má účinnosť, ako sme sa presvedčili s roztokmi čistého CTC, 85—92 %. Objem eluovaného antibiotika sa doplní v odmerke na 50 ml a filtruje sa, aby bol úplne číry, zafarbený slabo na žltó. 1,0 ml vzorky (má byť asi 2,5 mikrogramov CTC) sa spracuje fluorometricky (na Pulfrichovom fotometri s nefelometrickou hlavicou, kotúče hlavice C-5, filter L-3a metódou štandardného prídavku 2,5 a 5,0 mikrogramov CTC (0,1 ml, pH sa pred fluorometriou upraví na 7,6), alebo sa kolorimetruje s FeCl_3 takto (6): K 10 ml filtrátu okysleného 0,2 ml 5 N HCl, sa pridá 10 ml 0,05 % FeCl_3 v 0,01 N HCl. Po 10 min. sa fotometruje na Pulfrichovom fotometri pri použití filtrov S-49, alebo S-51. (Roztok FeCl_3 : 5 g sa rozpustí v 50 ml 0,1 N HCl. Pred použitím sa 1 ml doplní do 200 ml s 0,01 N HCl.)

V tabuľke I porovnáваме hodnoty obsahu CTC v krmných zmesiach, získané mikrobiologickou (1) a Dresslerovou metódou (vo fluorometrickom usporiadaní). Vidieť, že Dresslerova metóda dáva asi o 10 % vyššie hodnoty, ako mikrobiologická metóda.

Ako sme sa presvedčili, optimálne množstvo CTC na stanovenie je 100 až 300 mikrogramov. Táto skutočnosť je významná pre aplikáciu uvedenej metódy pre VAD (menej pre BK), pretože pri použití veľkých pomerných objemov extrahovadla, nutného vzhľadom k vysokým obsahom antibiotika vo VAD, je množstvo balastov a nečistôt relatívne malé.

I. Výsledky porovnávacích stanovení obsahu CTC v krmivách mikrobiologicky a fluorometricky podľa Dressela

Č. vzorky	Druh krmiva	Obsah CTC v mg/kg	
		mikrobiologicky	fluorometricky
1	Kompl. zmes pre ošip. do 25 kg	22,0	24,0
2	Kompl. zmes pre ošip. do 25 kg	27,5	29,0
3	Kompl. zmes pre ošip. do 25 kg	28,0	28,0
4	Kompl. zmes pre ošip. do 25 kg	30,0	34,5
5	Kompl. zmes pre ošip. do 50 kg	16,5	18,5
6	Kompl. zmes pre ošip. do 50 kg	16,5	18,0
7	Kompl. zmes pre ošip. do 50 kg	19,0	20,0
8	Bielk. koncentrát	135	155
9	Bielk. koncentrát	160	180
10	Bielk. koncentrát	175	185
11	Aureovit	14 500	17 000
12	Aureovit	14 500	15 500
13	Aureovit	16 000	16 500

Diskusia

Prvé tri opísané metodické postupy na detekciu a približné stanovenie obsahu CTC v krmných zmesiach majú viac spoločných rysov: obdobná extrakcia, obdobná detekcia UV-svetlom, alebo FeCl_3 , redukcia objemu extraktu pri nanášaní, a pod. Poskytujú široké možnosti improvizácie a úpravy podmienok jednotlivých postupov podľa konkrétnych vlastností vyšetrovaného materiálu, cieľa vyšetrenia, alebo podľa možností a zariadenia, ktoré je k dispozícii. Štvrtá metóda, Dresslerova, je hotová precízna metóda s preskúmanými a definovanými podmienkami chromatografie, elúcie a stanovenia. Je však potrebné, aby štandardné roztoky CTC boli spracované celým pracovným postupom, tak, ako vzorky. Najvhodnejšie je pridať známe množstvo CTC do krmiva obdobných vlastností a zloženia, ako to, ktoré bežne vyšetrujeme, a urobiť celé stanovenie s takto umele obohateným krmivom. Takýmto spôsobom boli robené i naše porovnávacie skúmania s mikrobiologickou metódou.

Najjednoduchším postupom je nesporne stanovenie na tenkých vrstvách, ktoré je súčasne i veľmi rýchle a pri získaní určitej zručnosti dosahujú sa s ním pomerne presné výsledky. Veľmi rýchle a jednoduché je i stanovenie pomocou vysokovoltovej elektroforézy, toto však je viazané na usmerňovač.

Pri detekcii dávame prednosť UV-detekcii, ktorá je veľmi citlivá a špecifická pre CTC. Treba, aby štandardné roztoky boli rovnako dlhú dobu rozpustené v roztoku extrahovadla, ktoré používame na extrakciu krmív, ako vzorky.

S ú h r n

Stanovenie CTC umožňuje najjednoduchšie zistiť, či do krmív boli pridané fortifikačné prísady, konkrétne vitamínový a antibiotický doplnok, bielkovinný koncentrát a pod. Preto sa stanovenie CTC začína zavádzať do širokej praxe kontrolnej analytiky krmív. V tejto práci sú opísané jednoduché metódy detekcie a stanovenia obsahu chlór-tetracyklínu v rôznych druhoch krmív, vrátane hotových krmných zmesí, a to pomocou papierovej chromatografie, vysokovoltovej elektroforézy a chromatografie na tenkých vrstvách. Opisujú sa tiež skúsenosti s metódou kvantitatívneho fluorometrického (alebo fotokolorimetrického) stanovenia CTC v krmivách po stĺpcovej chromatografii na Al_2O_3 . Pri úprave metodických postupov sa vychádzalo zo snahy zjednodušiť ich tak, aby sa hodili pre hromadné kontrolné vyšetřovania krmív. Mikrousporiadanie stanovenia na tenkých vrstvách a vysokovoltová elektroforéza sú veľmi rýchle a jednoduché metódy, umožňujú spracovať i väčší počet vzoriek s dostatočnou presnosťou. Papierová chromatografia nevyžaduje žiadnych zariadení a pomáha detegovať i rozkladné produkty CTC. Veľmi dobrých výsledkov sa dosiahlo pomocou úpravy Dresslerovej fluorometrickej (kolorimetrickej) metódy po chromatografii na kysl. hlinitom. Táto metóda sa dobre osvedčila ako doplnková a kontrolná metóda mikrobiologického stanovenia.

Došlo dňa 22. 2. 1964

L i t e r a t u r a

1. Krčméry V. a spol.: Jednoduché mikrobiologické stanovenie chlór-tetracyklínu a vitamínu B₁₂ v krmných zmesiach. Vet. medicina č. 2, 1964, str. 123. — 2. Dressler D.: Die chromatographische Bestimmung von Chlor- und Oxytetracyklins in Mischfuttermitteln. Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk. 15, 101, 1960. — 3. Krčméry V.: Základy analytiky niektorých biokatalyzátorov v krmných zmesiach. Vet. medicina (v tlači). — 4. Selzer G. B., Wright W. W.: Paper chromatography of the Tetracycline antibiotics and their epimers. Antibiot. Chemother. 7, 292, 1957. — 5. Sztericskai F.: Detm. of oxytetracyclin by paper chromatography in the presence of acidic decomposition products. Acta pharm. Hung. 32, 63, 1962. — 6. Monastero F. a spol.: Terramycin, chemical methods of assay and identification. J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed. 40, 241, 1951. — 7. Jakobson L. M., Grigorjeva V. M.: Issledovanie tetracyklinov v syvorotke krvi metodom elektroforeza. Antibiotiki 5, 3, 60, 1960. — 8. Hrdý O., Veselý P.: Delenie tetracyklinových antibiotik na stĺpci celulózy. Čs. farm. 10, 126, 1961. — 9. Jay J. M. a spol.: Studies on the mode of action of CTC in preservation of beef. Appl. Microbiol. 5, 400, 1957.

Некоторые физико-химические методы определения хлортетрациклина в кормовых смесях

Определение CTC помогает проще всего установить, добавляли ли в корм фортификационные присадки, конкретно витаминную и антибиотическую примесь, белковый концентрат и т. п. Поэтому определение CTC начинают внедрять в широкую практику

контрольного анализа кормов. В этой работе описываются простые методы детектирования и определения содержания хлортетрациклина в различных видах кормов, в том числе готовых кормовых смесей при помощи хроматографии на бумаге высоковольтного электрофореза и хроматографии на тонких слоях. Описан также опыт с методом квантитативного флуорометрического (или фотоколориметрического) определения CTC в кормах по адсорбционной хроматографии на Al_2O_3 . При упорядочении методических процессов исходили из стремления упростить их таким образом, чтобы они годились для массового контрольного исследования кормов. Микроустройство установки на тонких слоях и высоковольтный электрофорез очень скорые и простые методы, помогающие обработать и большее число образцов с достаточной точностью. Бумажная хроматография не требует никакой аппаратуры и помогает установить продукты разложения CTC. Очень хорошие результаты были достигнуты при помощи модификации флуорометрического (колориметрического) метода Дресслера после хроматографии на окиси алюминия. Этот метод хорошо себя оправдал как дополнительный и контрольный метод микробиологического анализа.

Some physico-chemical Methods for the Determination of Chlortetracyclin in Feed Mixtures

Determination of the CTC is the simplest way of finding out whether feeds have been complemented with fortification admixtures, i. e. vitamin and antibiotic complements, proteinic concentrates, etc. Therefore the determination of CTC is being introduced into the wide practice of the analytics of feeds. In this paper there are described simple methods of detection and determination of the chlortetracyclin content in different kinds of feeds, in industrial feed mixtures, and that by means of paper chromatography, high-voltage electrophoresis, and by means of chromatography in thin layers. There is also a description of experiences gained with the method of quantitative fluorometric (or photocolometric) determination of CTC in feeds after column chromatography on Al_2O_3 . When arranging the methodical procedures the authors tried to simplify them in a way that would make them suitable for a large-scale checking of feeds. The microarrangement of the determination on thin layers and high-voltage electrophoresis are very quick and simple methods making possible the elaboration also of a larger number of samples with sufficient accuracy. Paper chromatography requires no equipment and helps to detect also decomposing products of CTC. Very good results have been obtained by means of an adaptation of Dressler's fluorometric (colorimetric) method after chromatography on alumina. This method has proved satisfactory as a complementing and checking method of microbiological determination.

Einige physikalisch-chemische Methoden zur Bestimmung von Chlortetrazyklin in Mischfutter

Die Bestimmung des CTC ermöglicht es, auf die einfachste Art festzustellen, ob zum Futter stärkende Zugaben hinzugefügt worden waren, vor allem Vitamine, Antibiotika, Eiweißkonzentrat u. a. Deshalb gewinnt die Bestimmung des CTC in der praktischen Futtermittelkontrolle immer mehr an Bedeutung. In dieser Arbeit sind einfache Methoden zur Feststellung und quantitativen Bestimmung des CTC in verschiedenen Futterarten, einschließlich Mischfutter, beschrieben, u. zw. mit Hilfe der Papierchromatographie, hochvoltiger Elektrophorese und Chromatographie in dünnen Schichten. Beschrieben sind auch die Erfahrungen mit der Methode der quantitativen fluorometrischen (oder photokolorimetrischen) Bestimmung des CTC in Futtermitteln nach Säulenchromatographie auf Al_2O_3 . Bei der Ermittlung des methodischen Vorgangs ging man davon aus, den Vorgang derart zu vereinfachen, daß er sich für eine Massenuntersuchung von Futtermitteln eignet. Die Mikromethode in dünnen Schichten und die hochvoltige Elektrophorese sind sehr rasche und einfache Methoden, die es ermöglichen, auch eine größere Anzahl von Futterproben mit genügender Genauigkeit zu untersuchen. Die Papierchromato-

graphie bedarf keiner Einrichtung und ist befähigt, auch Zersetzungsprodukte von CTC festzustellen. Sehr gute Ergebnisse lieferte die Modifikation der Dresslerschen fluorometrischen (kolorimetrischen) Methode nach Chromatographie auf Al_2O_3 . Diese Methode hat sich bewährt als Ergänzung und Kontrolle der mikrobiologischen Ermittlung.

Certaines méthodes physico-chimiques de la détermination de la chlortétracycline dans les aliments composés

La détermination de la chlortétracycline (CTC) permet de vérifier d'une façon la plus simple si les aliments furent additionnés d'adjuvants de fortification, plus spécialement de complément vitaminé et antibiotique, de concentrat albuminoïde et a. s. C'est pourquoi on commence à introduire sur une grande échelle la détermination de CTC dans la pratique, concernant le contrôle et l'analyse des aliments. Dans le présent travail on trouve exposées des méthodes simples de détection et de détermination de la teneur en chlortétracycline, dans les différentes sortes d'aliments, y compris les aliments composés complets et cela à l'aide de l'électrophorèse sur papier, de l'électrophorèse à haut voltage et de chromatographie sur couches minces. On signale également les expériences obtenues avec la méthode de détermination quantitative fluorométrique (ou photolorimétrique) de CTC dans les aliments, après avoir utilisé tout d'abord la chromatographie en colonnes sur Al_2O_3 . Au cours de l'aménagement des procédés méthodiques on partait de l'effort consistant dans leur simplification de manière à ce qu'ils puissent être bien utilisés aux examens collectifs de contrôle des fourrages. Le micro-aménagement de la détermination sur des couches minces et l'électrophorèse à haut voltage constituent des méthodes rapides et simples, permettant de traiter même un nombre plus grand d'échantillons avec une précision suffisante. La chromatographie sur papier n'exige aucun dispositif spécial, aidant à détecter même des produits de décomposition de la CTC. On a obtenu des résultats très remarquables au moyen de la méthode fluorométrique (colorimétrique) modifiée de Dressler, après la chromatographie sur oxyde d'aluminium. Cette méthode a fait bien ses preuves comme méthode complémentaire et de contrôle de la détermination microbiologique.

Algunos métodos físico-químicos de la determinación de clortetraciclina en los piensos compuestos

La determinación de clortetraciclina facilita comprobar sensiblemente si se han agregado aditamentos fortificantes, concretamente complemento de vitamina y antibiótico, el concentrado de proteína y otros. Por esta razón la determinación de clortetraciclina se comienza a introducir a la amplia práctica de la analítica de control de los piensos. En este tratado se describen métodos simples de detección y determinación del contenido de clortetraciclina en diferentes clases de piensos incluso los piensos concentrados hechos a saber por medio de la electroforesis de papel, electroforesis de alto voltaje y cromatografía sobre capas delgadas. Se describen así mismo las experiencias con el método de la determinación cuantitativa fluorimétrica (fotolorimétrica) de clortetraciclina en los piensos después de la cromatografía de columna de absorbente de óxido de aluminio (Al_2O_3). En el acondicionamiento de los procedimientos metódicos se ha partido del esfuerzo simplificarlos de modo que los mismos estaran convenientes para la investigación de control en masa de los piensos. La microdisposición de determinación en capas delgadas y la electroforesis de alto voltaje son métodos muy rápidos y simples y facilitan tratar hasta considerable cantidad de muestras con bastante exactitud.

La cromatografía de papel no está exigiendo ningunos equipos y ayuda localizar hasta los productos de desintegración de clortetraciclina. Resultados muy buenos se lograron con ayuda del acondicionamiento del método fluorimétrico de Dresler (colorimétrico) después de la cromatografía en óxido de aluminio. Este método se confirmó como adicional y método de control de la determinación microbiológica.

Studium výskytu protilátek proti tuberkulóze u krav v chovech s různou epizootickou situací

Изучение наличия антител против туберкулеза у коров
в стадах с различной эпизоотической ситуацией

**The Study of the Occurrence of Antibodies against Tuberculosis in Cows of Herds
with a Different Epizootic Situation**

**Über das Auftreten von Antikörpern gegen Tuberkulose bei Kühen aus Zuchten
mit verschiedener epizootischer Situation**

Karel HEJLIČEK, prom. vet. lékař

*Katedra epizootologie a vnitřních chorob veterinární fakulty VŠZ v Brně, vedoucí
doc. MVDr. Jaroslav Dražan*

Úvod

Problému serologické diagnostiky tuberkulózy skotu je věnována již dlouho značná výzkumná pozornost. Byly zkoušeny různé serologické vyšetřovací metody, avšak nebylo dosaženo té spolehlivosti jako při jiných infekčních chorobách. Poměrně nejslibnější výsledky měl komplementfixiční test (KFT) a později hemaglutinační reakce (HA) podle Middlebrooka a Dubose a hemolytická reakce (HL). Avšak i těmito serologickými reakcemi byla zjišťována pouze část tuberkulózního skotu a naopak u zdravých zvířat, i když jen v malém procentu, byl zjišťován nespecifický titr protilátek proti tuberkulóze.

Literární přehled

Podle Karstena (1926) již v r. 1901 Bordet a Gengou vyšetřovali komplementfixačním testem séra tuberkulózních zvířat i lidí. Po nich celá řada badatelů se zabývala možností využít KFT k diagnostice tuberkulózy skotu, i když s různými výsledky. Při hodnocení těchto výsledků nutno mít na mysli, že bylo pracováno s různými metodikami. Zejména velmi se lišily antigény, s nimiž bylo pracováno, neboť v kvalitě antigenů byla spatřována hlavní podmínka dobrých výsledků při KFT. Záhy se však zjistilo, že při srovnání s patologickoanatomickým nálezem jsou výsledky málo spolehlivé. Shodně však bylo konstatováno, že procento pozitivních výsledků KFT stoupá s pokročilostí tuberkulózního onemocnění a zejména při tuberkulóze serózní a generalizované tuberkulóze dosahuje KFT vysoké spolehlivosti. (Hruska a Pfeninger - 1921, George - 1922, Beller - 1928, Tilgner - 1949, Feils - 1954, Vardaman a Larsen - 1962). Tento poznatek vedl k myšlence využít KFT k diagnostice tzv. otevřených forem tuberkulózy (hlavně tuberkulózy plic), kdy je předpokladem výskyt pokročilého tuberkulózního procesu. Avšak již Karsten (1926) a Beller (1930) zjistili, že ne všechna zvířata, u nichž bylo

mikroskopické vyšetření sputa pozitivní, mají i pozitivní KFT. Karsten (1926) vyšetřil séra 84 zvířat klinicky podezřelých z pokročilé tuberkulózy plic. U 41 byl výsledek KFT negativní, při čemž u 16 z těchto 41 zvířat byly mikrobiologicky prokázány ve sputu zárodky tuberkulózy. Podobně i Beller (1930) konstatoval souhlas KFT s výsledky mikrobiologického vyšetření sputa pouze u 1/3—2/3 zvířat s pokročilou tuberkulózou plic.

V roce 1948 Middlebrook a Dubos popsali novou serologickou metodu k diagnostice tuberkulózy — hemaglutinační reakci. Jejím principem je aglutinace beraních krvinek sensibilizovaných extraktem z tuberkulózních kultur nebo tuberkulínem — protilátkami obsaženými v krevním séru organismů nemocných tuberkulózou. Původní Middlebrookova a Dubosova metoda doznala sice různé úpravy a rovněž bylo použito k sensibilizaci krvinek řady antigenů. To však jen částečně vysvětluje různé výsledky, jichž bylo dosaženo jednak při zjišťování spolehlivosti této reakce, jednak při určení hranice pozitivních, resp. negativních titrů. Tak Sohier (1950) považuje za specifický pro tuberkulózní onemocnění HA titr 1:8, Gentile a Cavrini (1960), Sohier, Simintzis a Juillard (1950), D'Ascani, Menasée, Micozzi a Testi (1959) titr 1:16, Brodhage a Bourgeois (1954) titr 1:20, Simintzis, Sohiera a Peres (1951), Weinhold (1953), Tacu a Tacu (1958) titr 1:32. Při zjišťování spolehlivosti HA reakce byly sledovány poměry jednak u zdravého, jednak u tuberkulózního skotu. Sohier, Simintzis a Juillard (1950) zjistili u 64 tuberkulózy prostých zvířat pozitivní HA reakci pouze v 4,6 %, zatímco u 118 tuberkulózních zvířat výsledky kolísaly podle rozsahu tuberkulózního procesu v organismu. U zvířat s tuberkulózou více orgánů nebo generalizovanou tuberkulózou byla HA reakce pozitivní v 87,3 %, u zvířat s pleuropulmonálními ložisky ve 100 %, se změnami v plicích a v plicích mizních uzlinách jen v 50 % a u zvířat s kaseózně kalcifikovanými změnami jen v plicích mizních uzlinách byla HA reakce pozitivní pouze v 10,5 %. Simintzis, Sohiera a Peres (1951) zjistili u tuberkulózního skotu při změnách pouze v mizních uzlinách pozitivní HA reakci ve 14 %, při změnách v plicích v 36 %, při pleuropulmonálních změnách v 75 % a při generalizaci procesu v 84 %. Ze 77 zdravých zvířat 9 % dosáhlo hraniční hodnoty pozitivního HA titru. Weinhold (1953) vyšetřil HA reakci 127 tuberkulózy prostých kusů jatečného skotu a zjistil 95,27 % negativních reakcí. U 106 tuberkulózních zvířat výsledky kolísaly podle stupně tuberkulózního procesu: při tuberkulóze nízkého stupně 44,45 % pozitivních výsledků, při tuberkulóze středního stupně 95,14 % a při tuberkulóze vysokého stupně 100 % pozitivních výsledků. Brodhage a Bourgeois (1954) sledovali HA titr protilátek v krevním séru u 200 kusů skotu reagujícího na tuberkulín. U zvířat bez makroskopických tuberkulózních změn zjišťovali průměrný titr 1:4, u zvířat s tuberkulózními změnami jen v mizních uzlinách 1:14, při tuberkulóze plic a korespondujících mizních uzlin 1:30, při tuberkulóze plic, mizních uzlin a seróz 1:48 a při generalizaci procesu průměrný titr 1:250. Tacu a Tacu (1958) z 35 kusů zdravého skotu pouze u 1 zvířete našli pozitivní HA titr protilátek. Z 46 zvířat s tuberkulózními změnami po porážce mělo HA reakci pozitivní pouze 30, tj. 65,1 %, Gentile a Cavrini (1960) u 82 kusů skotu bez makroskopických tuberkulózních změn po porážce zjistili v 7,32 % pozitivní HA titr. Dále sledovali 112 zvířat s tuberkulózními změnami různého stupně. Zvířata pouze s primárním komplexem měla pozitivní HA titr protilátek v 30,43 % případů. U protrahovaných generalizovaných onemocnění byla HA reakce pozitivní v 62,96 %, u chronických orgánových tuberkulóz v 51,66 %.

Z uvedených výsledků jak KFT, tak HA reakce tedy celkem shodně vyplývá, že poměrně největší diagnostická spolehlivost obou těchto reakcí je u zvířat s pokročilým tuberkulózním onemocněním, zatímco při málo rozsáhlých tuberkulózních změnách procento spolehlivosti značně kolísá.

V rámci studia sérologických poměrů při tuberkulóze skotu jsme vyšetřovali orientačně séra krav z chovů s různou epizootickou situací s cílem zjistit poměrný výskyt různé výše titrů specifických protilátek.

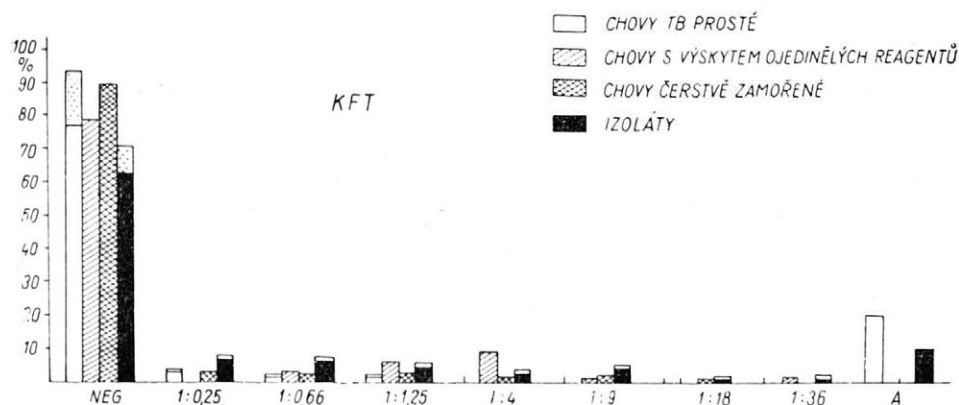
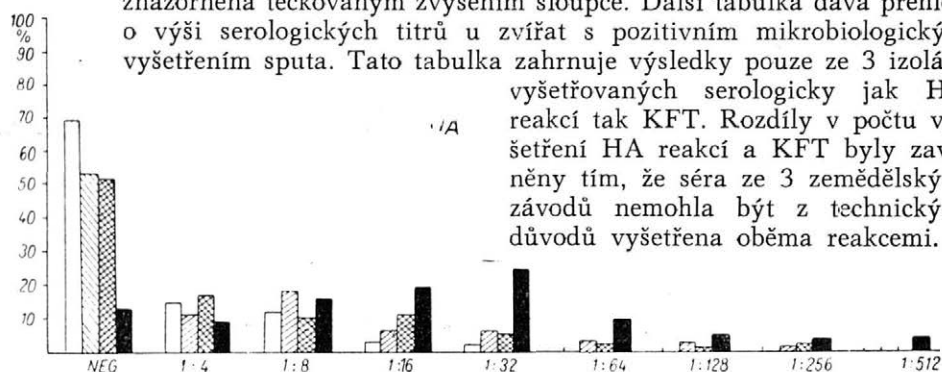
Metodika

HA reakci a KFT jsme vyšetřovali séra krav z 10 zemědělských závodů. Podle epizootické situace jsme tyto závody rozdělili do 4 skupin. I. skupina: zemědělské závody tuberkulózy skotu prosté, v nichž po několik posledních let

nebyli zjištěni reagenti na tuberkulín. II. skupina: zemědělské závody s ojedinělým výskytem reagentů. III. skupina: zemědělské závody čerstvě zamořené tuberkulózou (k zamoření došlo asi před jedním rokem). IV. skupina: izoláty, v nichž několik let byl chován tuberkulózní skot. U krav v těchto izolátech jsme též odebírali sputum, které bylo mikrobiologicky vyšetřeno na přítomnost *Myc. bovis*. V I. skupině jsme vyšetřili HA reakcí 312 a KFT 310 sér krav, ve II. skupině HA reakcí 224 a KFT 103 sér krav, ve III. skupině HA reakcí 208 a KFT 76 sér krav. Každá z těchto tří skupin zahrnuje vždy dva zemědělské závody. Ve IV. skupině (4 zemědělské závody) jsme vyšetřili HA reakcí 317 a KFT 360 sér krav. Serologické vyšetření KFT a HA reakcí jsme prováděli stejným způsobem jak je popsáno v časopisu Veterinární medicína 1963, čís. 5.

V ý s l e d k y

Výsledky jsou uvedeny v tabulkách souhrnně podle skupin, do nichž byly zemědělské závody zařazeny s ohledem na stupeň výskytu tuberkulózy. Vzájemné srovnání všech 4 skupin zahrnuje graf HA reakcí a KFT. Dvojí procentické znázornění KFT u I. a IV. skupiny obsahuje v nižším procentu skutečný poměr výskytu titrů a ve vyšším procentu totéž po odečtení sér, která měla antikomplementární účinek. V grafu pak tato vyšší hodnota je znázorněna tečkovaným zvýšením sloupce. Další tabulka dává přehled o výši serologických titrů u zvířat s pozitivním mikrobiologickým vyšetřením sputa. Tato tabulka zahrnuje výsledky pouze ze 3 izolátů



Počty zvířat v % s HA a KFT protilátkami pro tuberkulózu v chovech s různou epizootickou situací

I. skupina: zemědělské závody tuberkulózy skotu prosté

Počet zvířat		Titř								
HA	312	—	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
		213 68,4%	47 15,1%	37 11,7%	9 2,0%	6 1,9%				
KFT	310	—	1:0,25	1:0,66	1:1,25	1:4	1:19	1:18	1:36	A
		94,8%	1,6%	2,9%	1,6%					
		238	4	5	4					59
		76,8%	1,3%	1,6%	1,3%					19,0%

II. skupina: zemědělské závody s ojedinělým výskytem reagentů

Počet zvířat		Titř								
HA	224	—	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
		120 53,6%	26 11,6%	40 17,8%	14 6,3%	14 6,3%	5 2,2%	4 1,8%	1 0,5%	
KFT	103	—	1:0,25	1:0,66	1:1,25	1:4	1:9	1:18	1:36	A
		82 79,5%	0	3 2,9%	6 5,9%	10 9,7%	1 1,0%	0	1 1,0%	

III. skupina: zemědělské závody čerstvě zamořené

Počet zvířat		Titř								
HA	208	—	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
		108 52,0%	36 17,2%	19 9,2%	23 11,1%	12 5,7%	4 1,9%	3 1,4%	3 1,4%	
KFT	76	—	1:0,25	1:0,66	1:1,25	1:4	1:9	1:18	1:36	A
		67 88,3%	2 2,6%	2 2,6%	2 2,6%	1 1,3%	1 1,3%	1 1,3%		

Diskuse

Jak z uvedených výsledků vyplývá ve skupině krav z chovů tuberkulózy skotu prostých nebyl HA reakcí zjištěn titř větší než 1:32 a KFT větší než 1:1,25. Tyto titry se vyskytovaly mimo to ještě pouze ve velmi malém procentu případů (HA titř 1:32 v 1,9 %, titř KFT 1:1,25 v 1,3 %). Lze tedy tyto

IV. skupina: izoláty

Počet zvířat		Titř								
HA	317	—	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
		41	28	53	59	76	29	15	7	9
		12,9%	8,8%	16,8%	18,8%	24,8%	9,2%	3,7%	2,2%	2,8%
KFT	360	—	1:0,25	1:0,66	1:1,25	1:4	1:9	1:18	1:36	A
		71,7%	7,5%	7,2%	5,0%	3,5%	3,7%	1,2%	1,2%	
		230	24	22	16	11	12	4	4	37
		63,9%	6,7%	6,1%	4,4%	3,1%	3,3%	1,1%	1,1%	10,3%

V. Titry u krav s mikrobiologicky zjištěnou pokročilou tuberkulózou plic

Počet zvířat		Titř								
HA	12	—	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:516
		2	0	1	1	1	1	1	1	4
KFT	12		1:0,25	1:0,66	1:1,25	1:4	1:9	1:18	1:36	A
		4	0	1	0	0	3	2	0	2

hodnoty považovat za hraniční při posuzování pozitivního a negativního výsledku. Toto naše zjištění při HA reakci se celkem shoduje s těmi autory, kteří připouštějí možnost výskytu nespecifických HA protilátek do vyšších titrů. Výsledek KFT se shoduje s názorem Feilse (1954), který považuje za specifický KFT v titru 1:5. U skupiny krav z chovů s občasným výskytem reagentů a z chovů čerstvě zamořených výskyt většího procenta vyšších serologických titrů celkem odpovídá předpokladu, totiž, že u těchto zvířat lze očekávat již výskyt tuberkulózních změn i když většinou ne příliš pokročilých. Výskyt nejvyšších titrů u krav z izolátů jen doplňuje zmíněný předpoklad. Zajímavé však jsou serologické titry u 12 krav z izolátů u nichž mikrobiologickým vyšetřením byla zjištěna pokročilá tuberkulóza plic. U 5 z nich byla HA reakce negativní právě tak jako KFT. V tom se naše výsledky zcela shodují se zjištěními Karstena (1926) a Beller (1930) stejně jako se shodují v opačném poznatku, totiž že ne všechna zvířata s vysokým titrem protilátek mají tzv. otevřenou tuberkulózu.

S o u h r n

Serologickým vyšetřením na tuberkulózu krav pocházejících z chovů s různou epizootickou situací jsme zjistili:

1. u krav z chovů tuberkulózy skotu prostých HA titr protilátek nepřesáhl 1:32 a titr KFT 1:1,25;

2. s předpokládaným pokročilejším stupněm zamoření chovu tuberkulózou stoupá i podíl zjišťovaných vyšších HA a KFT titrů;

3. u 41,8 % zvířat s mikrobiologicky zjištěnou pokročilou tuberkulózou byla HA reakce negativní. U stejného počtu zvířat byl negativní i KFT.

Došlo dne 24. 2. 1964

Literatura

D'Ascani E., Menasée I., Micozzi G., Testi B.: Zooprofilassi, 1959, 14, 825-840. — Beller K.: Arch. f. Thk., 1928, 58, 222-246. — Beller K.: Arch. f. Thk., 1930, 62, 237-247. — Brodhage H. a Bourgeois E.: Mh. Thk. 1954, 3, 78-83. (Die Rindertuberkulose.) — Feils G.: Zblt. Vet. Med., 1954, 1, 828-842. — George E.: Arch. f. Thk., 1922, 47, 438-445. — Gentile G., Cavrini C.: Zooprofilassi, 1960, 15, 467-485. — Hruška K. a Pfenninger W.: Ann. Inst. Past., 1921, 35, 96. — Karsten: DTW, 1926, 34, 38-43. — Sohler R.: Ann. Inst. Past., 1950, 78, 283-285. — Sohler R., Simintzis G., Juillard J.: Bull. Acad. vét. France, 1950, 23, 293-297. — Simintzis G., Sohler R., Peres G.: Bull. Acad. vét. France, 1951, 24, 387-392. — Tacu D., Tacu A.: Probleme zootehnice si veterinare, 1958, 1, 60-63. — Tilgner K.: Mh. Thk., 1949, 1, 221-233. — Vardaman T. H., Larsen A. B.: Am. J. Vet. Res., 1962, 23, 274-276. — Weinhold E.: Dis. Berlin 1953.

Изучение наличия антител против туберкулеза у коров в стадах с различной эпизоотической ситуацией

Путем серологического обследования на туберкулез коров, происходящих из стад с различной эпизоотической ситуацией, мы установили:

1. у коров из незараженных туберкулезом стад HA титр антител не превысил 1 : 32 и титр KFT 1 : 1,25,

2. по мере возрастающей предполагаемой степени заражения стада туберкулезом повышается и процент устанавливаемых высших HA- и KFT-титров,

3. у 41,8 % животных с микробиологическим путем, установленным развитым туберкулезом, реакция HA была отрицательной. У такого же числа животных отрицательным был и KFT.

The Study of the Occurrence of Antibodies against Tuberculosis in Cows of Herds with a Different Epizootic Situation

By means of serological examination for tuberculosis of cows of herd with different epizootic situations we found:

1. in cows from herds free from M. tuberculosis var. bovis the HA titre of antibodies did not exceed 1 : 32 and the KFT titre 1 : 1,25;

2. together with the assumed advanced degree of the contamination of the herd with tuberculosis also the proportion of the ascertained higher HA and KFT titres rises;

3. in 41,8 per cent of the animals with a microbiologically ascertained advanced tuberculosis the HA reaction was negative. In an equal number of animals also the KFT was negative.

Über das Auftreten von Antikörpern gegen Tuberkulose bei Kühen aus Zuchten mit verschiedener epizootischer Situation

Mittels serologischer Untersuchung auf Tuberkulose bei Kühen, stammend aus Zuchten mit verschiedener epizootischer Situation, konnten wir feststellen:

1. Bei Kühen aus tuberkulosefreien Zuchten überschritt der HA-Titer der Antikörper 1 : 3 und der KFT-Titer 1 : 1,25.

2. Mit dem vorausgesetzten fortgeschrittener Stadium der Verseuchung der Zucht mit Tuberkulose steigt auch der Anteil der festgestellten höheren HA und KFT Titer.

3. Bei 41,8 % der mit mikroskopisch festgestellter Tuberkulose behafteten Tiere war die HA negativ. Bei einer gleichen Anzahl war auch der KFT negativ.

Infekční zánět jater psů (Rubarth)

Isolace a kultivace viru

Инфекционный гепатит собак (Рубарт)

Изоляция и культивация вируса

Infectious Canine Hepatitis (Rubarth). Isolation and Cultivation of the Virus

Infektiöse Leberentzündung der Hunde (Rubarth). Isolierung und Kultivierung des Virus

MVDr. Eduard JIRAN

Bioveta v Terezíně, n. p. Terezín, ředitel MVDr. Rudolf Dombek

Technická spolupráce Hana Junková

Úvod

Poprvé byl infekční zánět jater psů, *hepatitis contagiosa canis* (HCC) souborně popsán Rubarthem v r. 1947 (15). Potom se objevila ve světové odborné literatuře celá řada publikací, které se touto virovou chorobou zabývají z různých hledisek. Vedle prací o klinickém, patologicko-anatomickém a histologickém obrazu, o epizootologii, vyšlo mnoho prací zaměřených především na studium vlastností původce tohoto infekčního onemocnění. Záhy po zavedení běžných rutinních metodik kultivace tkání ve virologii vyšly i práce o izolaci a kultivaci viru HCC na tkáňových kulturách. Tím byl dán podnět k řadě prací o podrobném a základním studiu viru HCC.

V r. 1954 popisují Cabasso a spol. (3) úspěšnou kultivaci viru HCC na tkáňových kulturách psích ledvinných buněk. Ve stejném roce publikují rovněž Fieldsteel a spol. (7) práci o izolaci a kultivaci viru a o modifikaci viru. Virus HCC ztratil po 51 pasážích na tkáňových kulturách psích ledvinných buněk virulenci pro psy, třebaže si plně uchoval antigenní vlastnosti a tak imunizoval infikované psy. Autoři rovněž popisují neutralizační test na tkáňových kulturách pro diagnostiku HCC. V další práci se Fieldsteel a spol. (8), podobně jako jiní autoři, zabývají kultivací a imunogenními vlastnostmi viru HCC z tkáňových kultur.

O kultivaci viru HCC na tkáňových kulturách buněk fretčích a prasečích ledvin referují Fieldsteel a spol. (9). Dále popisují kultivaci viru HCC na tkáňových kulturách z buněk ledvin selat Emery a spol. v r. 1958 (6), Popescu v r. 1961 (12), o použití modifikovaného viru HCC pro aktivní imunizaci referují Lee (11), Burgherová a spol. (2) a Cabasso a spol. (4). Autorům se zdařilo virus HCC z tkáňových kultur psích ledvinných buněk adaptovat na kultury ledvinných buněk selat. Tento modifikovaný virus byl vhodný pro použití k aktivní imunizaci buď v monovalentní vakcině nebo ve vakcinách vícevalentních, např. ve spojení s živou vakcinou proti psince.

O izolaci viru HCC přímo z primárních kultur psích ledvinných buněk referuje Simonyi (16).

Leader (10) popisuje v podrobné cytologické studii změny na tkáňových kulturách psích ledvinných buněk po infekci virem HCC. Popisuje typické změny na buňkách a jádrech buněk v různých stádiích a uvádí růstovou křivku viru v kultivačním mediu po infekci kultur.

Na uvedené práce navazuje mnoho dalších, zabývajících se řešením řady problémů spojených s infekcí virem HCC.

V posledních letech proběhlo i v naší zemi hromadné onemocnění psů, které působilo mnohdy velmi citelné ztráty, zvláště tam, kde byla tato nákaza spojena s infekcí psů psinkou. Některé veterinární virologické laboratoře úspěšně diagnostikovaly chorobu jako infekční zánět jater psů (HCC), zdařila se izolace viru a byly rovněž provedeny některé základní práce [Potoček, Čupík, Lehký (13), Brož a spol. (1) aj].

I na našem pracovišti se zdařila izolace viru HCC z případu onemocnění psů a tak bylo provedeno několik studií s izolovaným virem a bylo přikročeno k vývojovým pracím pro zavedení vhodných očkovacích látek pro terapii a prevenci a preparátů a metodik pro diagnostiku choroby.

V předloženém příspěvku chceme jen stručně referovat o izolaci a kultivaci viru HCC na tkáňových kulturách a o serologické diagnostice choroby.

Materiál a metodika

Virové kmene. Bylo používáno viru HCC kmene „TEREZÍN“, izolovaného z jater psa na našem ústavě v r. 1959, dále viru HCC kmene „CORNELL I“ adaptovaného na tkáňové kultury psích ledvinných buněk.*)

Tkáňové kultury. Používali jsme jednovrstevné kultury psích ledvinných buněk (TK PSL) po trypsinaci ledvinné tkáně štěnat. Fragmenty kory ledvinné byly tráveny 0,2% trypsinem vlastní výroby.***) Buněčná suspenze byla nasazována v množství asi 2×10^5 buněk na zkumavky, asi 3×10^7 buněk na Rouxovy láhve o obsahu 1200 ml a asi 8×10^6 buněk na Rouxovy láhve o obsahu 500 ml. Růstové medium pro TK PSL: Earleho roztok solí s 0,3% laktalbumín-hydrolyzátem, 10% telecího séra, upravený 7,5% NaHCO_3 na $\text{pH} = 7,4$. K vytvoření souvislého buněčného porostu docházelo většinou během 4–5 dnů po inkubaci při 37°C .

Infekce TK PSL. Byla prováděna převrstvením opláchnutých kultur infekčním materiálem a po 30minutové inkubaci byl tento slit a navrstveno medium stejného složení jako růstové s tím rozdílem, že místo 10% telecího séra jsme používali 2–3% ovčího séra. Infikované kultury byly denně sledovány a po vytvoření typického cytopatického efektu (CPE) v celé kultuře jsme materiál získali slitím media z kultur. Ukládali jsme je v mrazícím pultrě při -35°C .

Titrace viru jsme prováděli na zkumavkách TK PSL, které jsme infikovali 10násobným ředěním viru. Odečet změn byl proveden po 4–5denní inkubaci kultur, výpočet titru byl prováděn podle Reeda a Muencha (14).

Neutralizační test. Prováděli jsme jej způsobem postupného ředění séra a stále dávky viru, kde jsme pro hyperimunní séra používali k neutralizaci asi 2×10^3 a více TK ID₅₀ viru. Inkubace směsi virus + ředění séra

*) Tento virový kmen nám laskavě poskytl dr. Carmichael z Cornell-University, Ithaca, USA.

**) RNDr. G. Petr, Bioveta v Terezíně, n. p. Terezín.

byla prováděna 60 minut při pokojové teplotě. Poté jsme aplikovali po 0,2 ml na zkumavky TK PSL. Odečet byl proveden po 4–5denní inkubaci a titr séra (ND₅₀) byl vypočítán podle Reeda a Muencha (14).

Antiséra. Byla použita séra získaná imunizací psů a séra zasílaná z terénu pro diagnostiku HCC. Pro serologické vyšetření byla séra inaktivována 30 minut při 56° C a ukládána při –35° C, terénní séra při +4° C. Diagnostická séra byla lyofilizována.

Reakce vazby komplementu (RVK). Bylo používáno kapkové modifikace testu na deskách z plexiskla (Potoček, Čupík, Lehký – 13). Jako antigen nám sloužilo medium z infikovaných TK PSL, asi 2–4 jednotky pro titraci séra. Pro titraci antigenu bylo použito pozitivní sérum (2–4 jednotky). Používali jsme lyofilizovaného komplementu, 4 jednotek hemolyzínu, 2,5 % beranních krvinek. Titrace antigenu a antisér byly prováděny za použití 1,0, 1,5 a 2,0 MHD (tj. minimálních hemolytických dávek) komplementu, odečítáno bylo při 1,5 MHD komplementu.

Pokusná zvířata. Pro testovou infekci jsme používali štěňat asi tříměsíčních z naprosto zdravého chovu, která prošla karanténou.

V ý s l e d k y

Izolace viru. Ve vrhu 6 pokusných štěňat došlo k horečnatému onemocnění. Štěňata reagovala silně na palpaci břicha v krajině mečové chrupavky. U 2 štěňat se dostavil zákal rohovky, u jednoho štěněte jednostranný, u jednoho štěněte oboustranný. Dvě štěňata uhynula. Z pitevního nálezu lze uvést především zvětšená játra s degenerativními změnami parenchymu, silně zvětšený žlučník. V dutině břišní transudát s nálepy fibrínu na orgánech, především na játrech.

Byla zhotovena 20% suspenze jater uhynulého štěněte a aplikována na TK PSL. Po inkubaci 30 minut při 37° C byla kultura opláchnuta, převrstvena médiem a inkubována. Třetí den po infekci byly patrné změny na kulturách ve formě zakulacení buněk, v tvorbě ostrůvků světlolomných buněk. Čtvrtý den po infekci se změny prohlubovaly, část buněk se již odlupovala od skla. Pátý den po infekci byla již zachvácená celá kultura, většina buněk byla již odloupena od skla. Medium z kultur bylo slito a zmrazeno. Po aplikaci stejné suspenze, které bylo použito k infekci TK PSL dvěma štěňatům došlo k uhynutí 4. den *p. i.* za značné teplotní reakce s příznačným pitevním nálezem pro HCC.

Průkaz viru a pasáže viru na štěňatech. Aplikací 5,0 ml infekčního media z TK PSL ze zachytu viru na TK štěňatům došlo u nich ke značnému vzestupu teploty (41,0° C a více) a během 3, resp. 4 dnů po infekci došlo k uhynutí. Bylo provedeno dále několik pasáží viru na štěňatech vždy aplikací suspenze jater z předchozí pasáže. Pravidelně docházelo k uhynutí štěňat po horečnatém průběhu onemocnění. Uhynulá štěňata měla značně zvětšená játra, silně zvětšený žlučník (viz obr. č. 1). Z histologického vyšetření*) však nebylo možno získat pozitivní nález inkluzí v játrech ze všech případů, nýbrž pouze u několika pokusných zvířat (viz obr. č. 2). V několika případech infekce starších psů virem HCC nedošlo k uhynutí a u několika psů jsme mohli pozorovat typické zákal rohovky, vždy jednostranné, různého rozsahu, které však během jednoho týdne vymizely většinou beze stopy (viz obr. č. 3).

*) Histologické vyšetření nám laskavě prováděl Ústav pro patologickou anatomii a histologii Veterinární fakulty VŠZL v Brně.

Kultivace viru HCC na TK PSL. Byla provedena řada pasáží izolovaného virového kmene označeného „TEREZÍN“ na TK PSL. Vytvořený CPE je typický a je shodný s nálezy citovaných autorů. Pro srovnání jsme rovněž pasážovali virový kmen „CORNELL I“. Oba virové kmeny se dobře pomnožovaly a titrace virů z jednotlivých pasáží dávaly obsah viru kolem 10^6 – 10^7 TK ID₅₀ v 1,0 ml u kmene TEREZÍN a obsah asi 10^7 – 10^8 TK ID₅₀ v 1,0 ml u viru CORNELL I. Typické změny na tkáňových kulturách jsou vidět na obr. 4.

Průkaz viru HCC z TK PSL na štěňatech. Průkaz viru HCC kmene TEREZÍN byl proveden subkutánně infekcí štěňat neřaděným médiem z tkáňových kultur. Byla testována 1., 4., 8., 9., 10. a 14. pasáž viru. Ve všech případech došlo k uhynutí štěňat po typickém horečnatém onemocnění, takže si tento virový kmen v pasážích na TK PSL dosud udržuje původní patogenitu. Naopak virový kmen CORNELL I nezpůsobil ani v jednom případě klinické onemocnění infikovaných štěňat a lze říci, že pasážemi na TK PSL ztratil virulenci pro psy (je nyní v 76. pasáži).

Identifikace viru. Byla provedena křížovými neutralizačními testy s virem CORNELL I a antisérem TEREZÍN, s virem TEREZÍN a sérem anti-CORNELL I. V tomto testu nám dávaly oba virové kmeny přibližně stejné titry jednotlivých sér a lze říci, že kmeny nejsou antigenně rozdílné. Dále byla provedena reakce vazby komplementu za použití obou antisér a obou antigenů. I zde byla potvrzena antigenní shoda obou virových kmenů.

Dynamika pomnožení virů. Při testování pomnožení jednotlivých složek viru HCC v mediu TK PSL jsme použili kultur na velkých Rouxových lahvích s obsahem přibližně 12×10^6 buněk. Kultury byly po opláchnutí infikovány virem HCC kmene TEREZÍN z 13. pasáže viru, a to 12×10^5 viru, 12×10^4 a 12×10^3 TK ID₅₀ viru. Byly sledovány 5 dní a během této doby došlo k vytvoření typického CPE úměrně k multiplicitě infekce, tj. dávce viru použité k infekci kultur. Z denních odběrů vzorků media byla provedena titrace na TK PSL a v RVK. Výsledky jsou znázorněny v grafech č. 1–3.

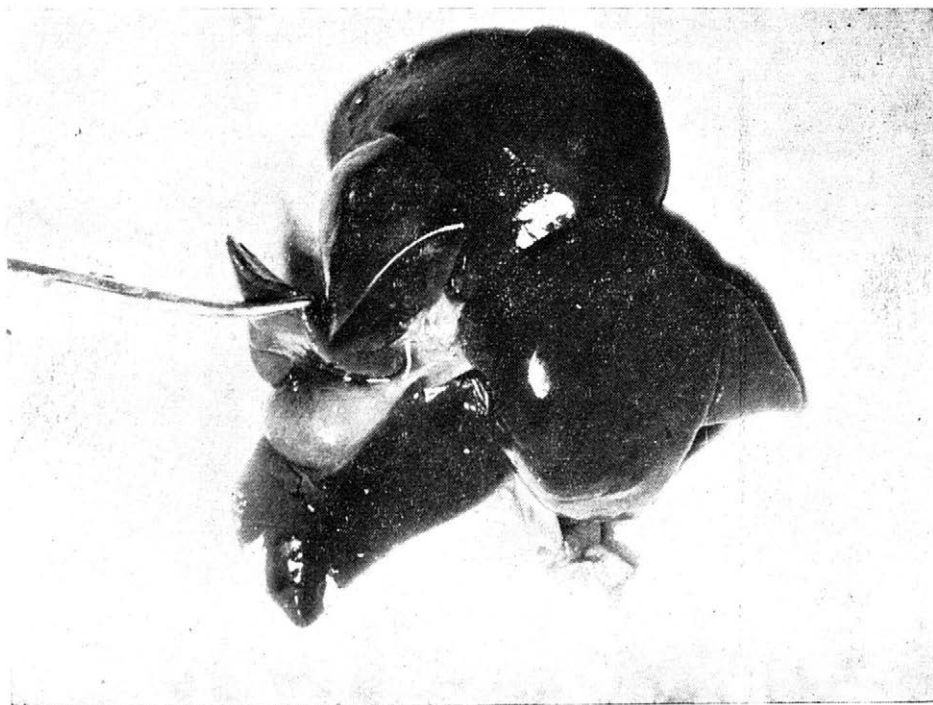
Z dosažených výsledků vyplývá, že množství uvolněného viru do media tkáňových kultur stoupá denně podle toho, jakou dávkou viru byla kultura infikována. Množství antigenu vázajícího komplement uvolněného do media, je nejvyšší při použití větší dávky viru pro infekci kultur, při použití nižší dávky viru se objevuje tento antigen později, 2. resp. 3. den *p. i.* (a nedosáhne té výše, jako při větší multiplicitě infekce TK). Maximum infekční složky se prokazuje 4. resp. 5. den *p. i.*

Reakce vazby komplementu pro HCC. RVK byla zaměřena jednak na sledování KF-antigenů (tj. komplement vázající antigen) z jednotlivých pasáží viru HCC, jednak na diagnostiku protilátek vázajících komplement (KF-protilátky). Infekčního media z TK PSL je možno použít jako antigenu, nedává žádné nespecifické reakce, není antikomplementární ani prokomplementární.

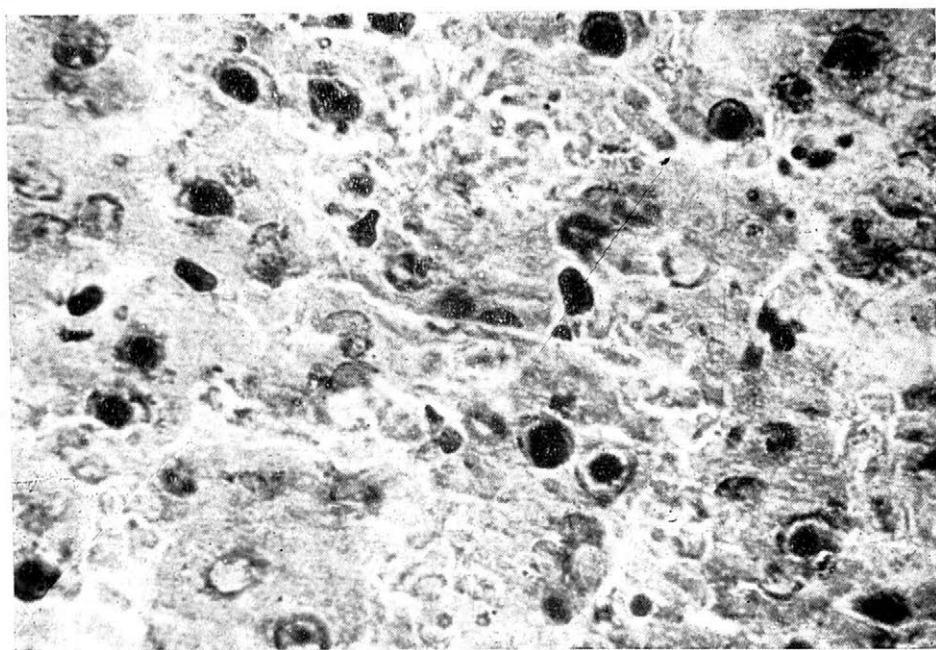
Byla prověřena aktivita infekčního media z pasáží viru TEREZÍN i CORNELL I z TK PSL a bylo zjištěno, že titry KF-antigenů infekčního media se pohybují kolem 1 : 16 i výše.

Dále jsme použili RVK pro hodnocení hyperimunních léčebných sér naší výroby, především pro kontrolu hodnoty sér psů během imunizace a pro diagnostiku HCC z terénních případů. Měli jsme možnost vyšetřit několik set vzorků sér psů z civilních chovů a z chovů ozbrojených složek.

Titry hyperimunních sér se pohybovaly kolem 1 : 40 – 1 : 80 a výše, po-



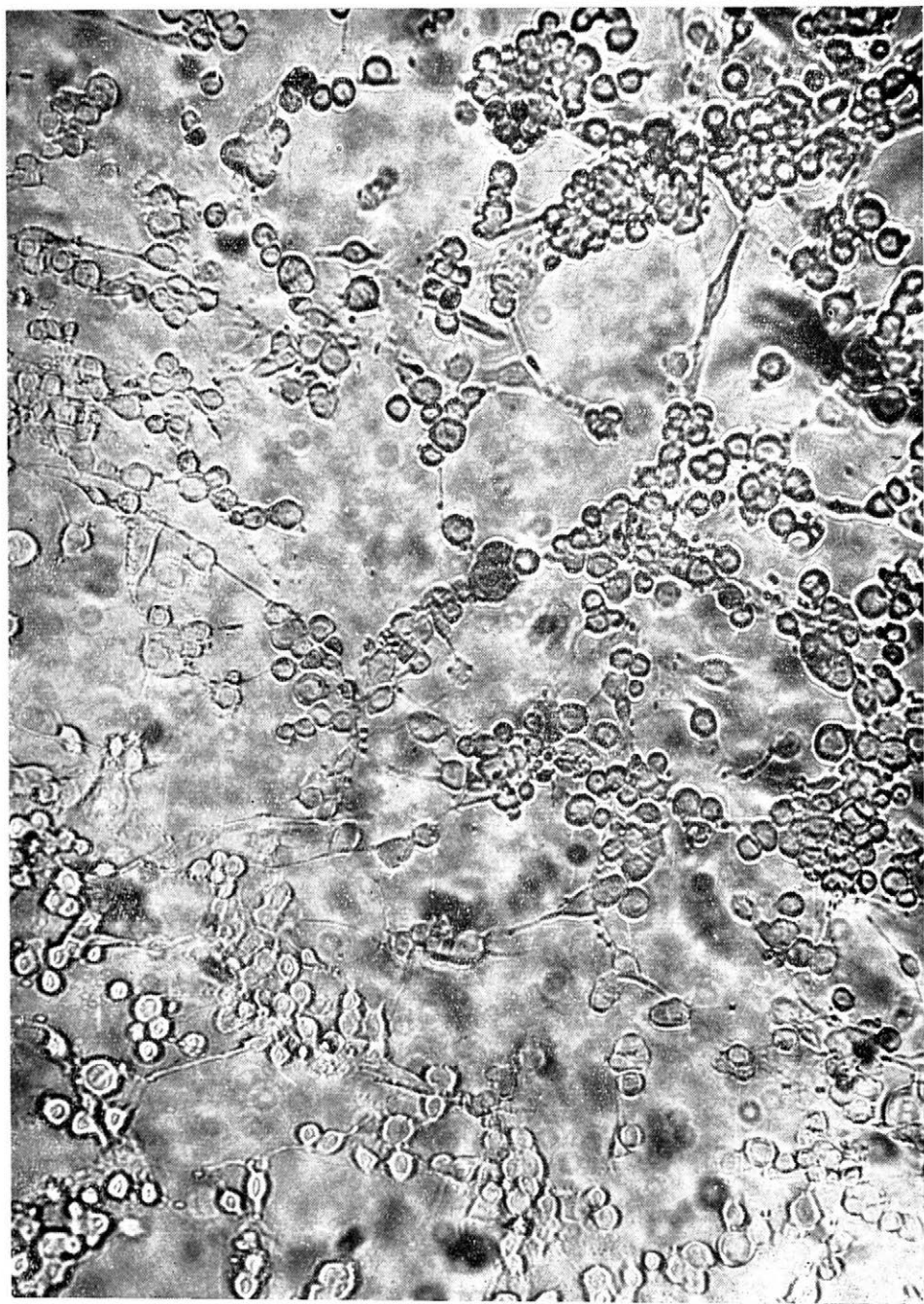
1. Játra psa po infekci virem HCC (edematózně zduřelý žlučník)



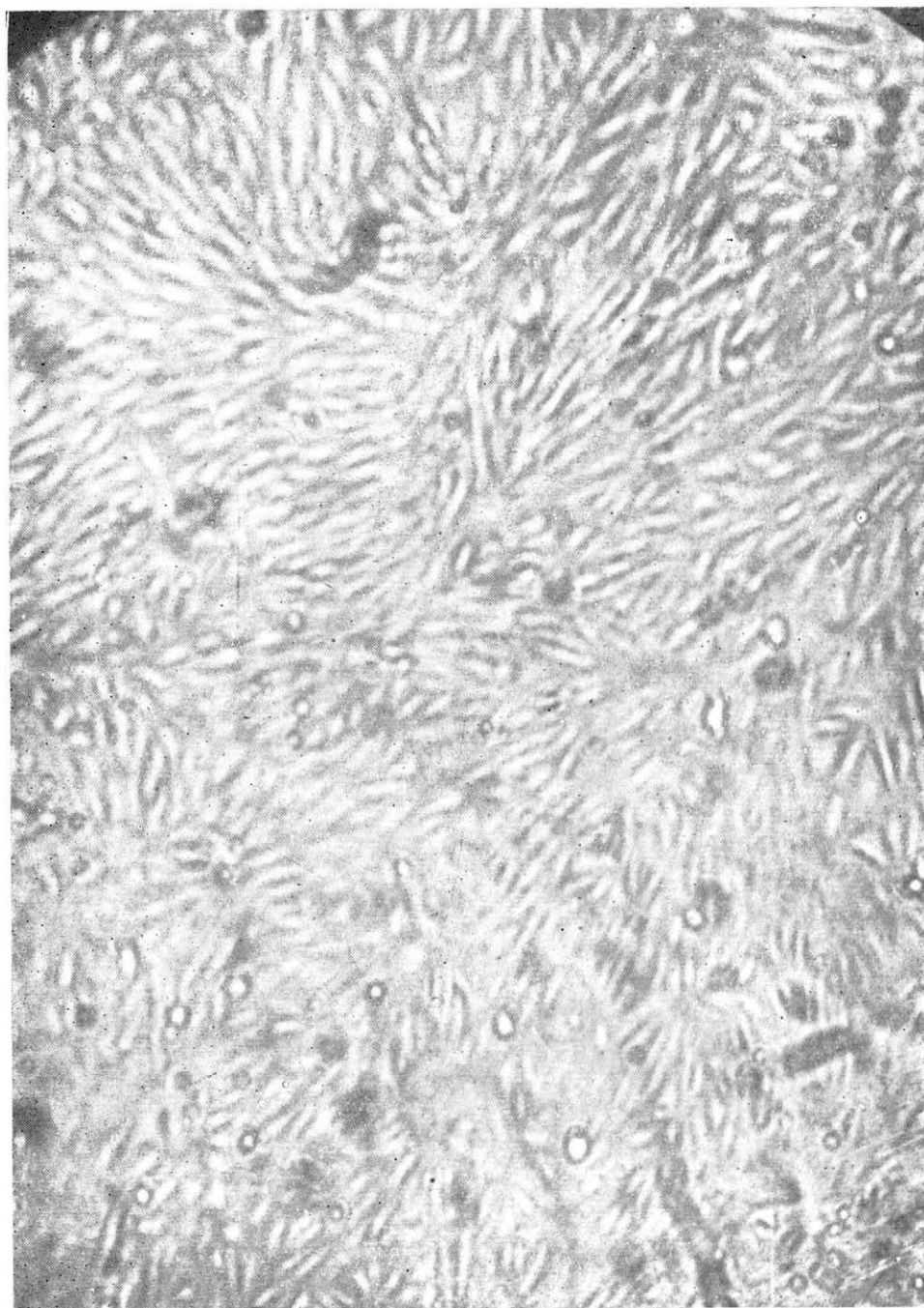
2. Histologický preparát jater psa po infekci virem HCC (intranukleární inkluse).
Barveno hematoxylin-eosinem, zvětšeno 1665X



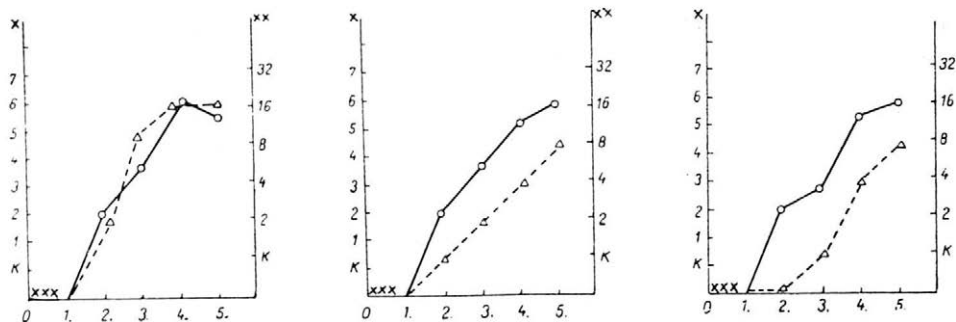
3. Zákal rohovky u psa po infekci virem HCC



4. Tkáňová kultura psích ledvinných buněk po infekci virem HCC. Zvětšeno 150X



5. Kontrolní neinfikovaná tkáňová kultura psích ledvinných buněk. Zvětšeno 100X



Pomnožení složek viru HCC kmene Terezín z 13. pasáže na TK psích ledvin

Graf 1 = Aplikace 12×10^5 ID₅₀ viru
 Graf 2 = Aplikace 12×10^4 ID₅₀ viru
 Graf 3 = Aplikace 12×10^3 ID₅₀ viru

na 12×10^6 buněk

Vysvětlivky:

- * = TK ID₅₀ v log — 10
- ** = titry v RVK
- *** = den odběru media po infekci kultur
- = titry na TK psích ledvin
- △ = titry v RVK S 1,5 MHD komplementu

zitivní titry sér z terénních případů se pohybovaly kolem 1 : 20 — 1 : 40. Za dubiозní nebo slabě pozitivní jsme označovali séra s titrem 1 : 10. Pro diagnostiku doporučujeme odběr a vyšetření dvou vzorků sér z případu onemocnění podezřelého na HCC v intervalu asi 14 dní pro serologické potvrzení nebo vyloučení choroby.

Neutralizační test. Pro zavedení účinné terapie HCC byla zahájena výroba homologního hyperimunního séra. Pro jeho hodnocení bylo rovněž použito neutralizačního testu.

V neutralizačním testu pro diagnostiku terénních vzorků sér se běžně používá 200—400 TK ID₅₀ viru pro neutralizaci. Avšak pro hodnocení hyperimunních sér se při takové dávce viru pro neutralizaci docílí příliš vysokých relativních hodnot. Proto jsme zvýšili uváděnou dávku viru pro neutralizaci a zastavili jsme test pro hodnocení hyperimunních sér s použitím 2×10^3 a více TK ID₅₀ viru. Při použití takové dávky viru jsme obdrželi u našich hyperimunních sér titry od 1 : 320 — 1 : 2560.

Diskuse

Zdařilá izolace viru HCC dala podnět ke studiím na několika úsecích virologické práce. HCC je dnes značně rozšířená a svým mnohdy inaparentním průběhem a tím, že se virus po překonané chorobě vylučuje po dlouhou dobu z organismu je tato nákaza velmi nebezpečná.

Snadná kultivace viru na tkáňových kulturách psích ledvinových buněk, jak jsme měli možnost pozorovat v naší práci, dává možnost podrobněji studovat vlastnosti viru HCC, řešit některé problémy na příklad související s tvorbou imunity a umožňuje nakonec i řešení některých základních virologických otázek.

Hyperimunní sérum proti infekční hepatitidě dává dobrou pasivní ochranu zvířatům, má rovněž dobrý léčebný efekt, ale svým krátkodobým účinkem často nezamezí rozšíření nákazy.

V dohledné době bude zapotřebí přikročit k vývoji očkovací látky pro aktivní imunizaci proti HCC a vyřešit problematiku použití vícevalentních

vakcin za použití atenuovaných virových kmenů (psinka, inf. hepatitida), jak o ní referuje Dräger a spol. (5) aj. Rovněž časná diagnostika choroby by usnadnila specifický boj proti nákaze a mnohdy by uchránila před většími ztrátami. Zdokonalení diagnostických metod, jejich rutinní zavedení a propracování dalších jednoduchých testů pomůže odhalit infikovaná zvířata a umožní účinné tlumení nákazy.

Souhrn

Je popsána izolace a kultivace viru HCC na TK PSL, izolovaný virový kmen, označený TEREZIN je antigenně shodný s kmenem CORNELL I, avšak po aplikaci viru ještě ze 14. pasáže na TK PSL štěňatům dochází k jejich uhynutí po typickém horečnatém průběhu choroby. Byla popsána serologická diagnostika choroby reakcí vazby komplementu a neutralizační test na tkáňových kulturách psích ledvinných buněk.

Došlo dne 13. 3. 1963

Literatura

1. Brož a spol.: Veterinářství 1963. — 2. Burgher a spol.: Cornell Vet. 48, 214-223, 1958. — 3. Cabasso a spol.: PSEBaM 85, 239-245, 1954. — 4. Cabasso a spol.: PSEBaM 99, 46-51, 1958. — 5. Dräger a spol.: Die Blauen Hefte 2, 444-449, 1961. — 6. Emery a spol.: Science 127, 148, 1958. — 7. Fieldsteel a spol.: PSEBaM 86, 819-823, 1954. — 8. Fieldsteel a spol.: AmJ. Vet. Res. 17, 380-388, 1956. — 9. Fieldsteel a spol.: PSEBaM 95, 683-686, 1957. — 10. Leader: Am. J. Vet. Res. 19, 152-158, 1958. — 11. Lee: cit. podle 2. — 12. Popescu: Lucr. sciint. Inst. Past. Buk. 6, 163-170, 1961. — 13. Potoček a spol.: ústní sdělení. — 14. Reed a Muench: Am. J. Hyg. 27, 493, 1938. — 15. Rubarth: Acta Path. et Microb. Scand. 69, 1, 1947. — 16. Simonyi: MAL 17, 161-162, 1962.

Инфекционный гепатит собак (Рубарт) Изоляция и культивация вируса

Описаны изоляция и культивация вируса HCC на ТК ПКС, изолированный вирусный штамм, обозначенный ТЕРЕЗИН, антигенно тождественный со штаммом КОРНЕЛЛ I, но после применения вируса на щенках еще на 14 пассаже на ТК ПКС последние погибают после типичного лихорадочного хода болезни. Описана серодиагностика болезни реакцией связывания комплемента и нейтрализующей тест на тканевых культурах почечных клеток собак.

Infectious Canine Hepatitis (Rubarth). Isolation and Cultivation of the Virus

There is described the oscillation and cultivation of the HCC virus on DK TC. The isolated virus strain, called TEREZIN, is antigenically identical with the CORNELL I strain, however after application of the virus even after its 14th passage on DK TC to pups they die after a typically pyrexial course of the disease. There is a description of the serological diagnostics of the disease by means of the complement-fixation and by means of the neutralization test on tissue cultures of dog kidney cells.

Infektiöse Leberentzündung der Hunde (Rubarth). Isolierung und Kultivierung des Virus

In der Arbeit wird die Isolierung und Kultivierung des Virus HCC auf HN GK beschrieben. Der isolierte Virusstamm, der mit TEREZIN bezeichnet wird, ist antigen mit dem Stamm CORNELL I übereinstimmend. Der Virus verursacht aber noch nach der 14. Passage auf HN GK bei der Applikation an Welpen ihren Exitus, wobei die Krankheit einen typischen, von Fieber begleiteten Verlauf hat. Es wird die serologische Diagnostik der Krankheit mit der Komplementbindungs-Reaktion und der Neutralisationstest auf Hundenieren-Gewebekulturen beschrieben.

Naše zkušenosti s aglutinací při vyšších teplotách (t. zv. Hitze-test) k rozlišení nízkých aglutinačních titrů

Наш опыт с агглютинацией при повышенных температурах (так наз. *Hitze-test*)
для различения низких агглютинирующих титров

Our Experiences with Agglutination at Higher Temperatures (the so-called Heat-Test) for the Differentiation of Low Agglutination Titres

Unsere Erfahrungen mit der Agglutination bei höheren Temperaturen (dem sog. *Hitzetest*) zur Unterscheidung niedriger Agglutinationstiters

Nos expériences avec l'agglutination au cours des températures élevées (le soi-disant test d'*Hitze*) pour pouvoir différencier les titres bas d'agglutination

Nuestras experiencias con aglutinación en las temperaturas más elevadas (así llamado *Hitze-test*) para la diferenciación de las bajas titulaciones de la aglutinación

MVDr. Ivo KUBÍN

*Ústřední státní veterinární ústav Ústí n. L., stanice laboratorní diagnostiky Terežín,
vedoucí MVDr. Jar. Kubelka*

Úvod

Při sérologické diagnostice brucelózy skotu získáme často výsledky, které vzbuzují, zvláště u sér z brucelózy prostých zemědělských závodů, určité pochybnosti o kvalitě pomalé aglutinační reakce. Týká se to především nízkých titrů v rozmezí 1:10 až 1:40, tedy výsledků zasahujících do stupně tzv. dubiálních reakcí, ale i titrů vyšších. V celém světě se usiluje o bližší určení těchto reakcí, protože hlavně v oblastech brucelózy prostých komplikují nejen práci terenní veterinární služby, ale i provoz zemědělských závodů.

Přehled literatury

Většinou je uznáván názor, že nízké titry jsou způsobeny nespecifickou složkou séra, která kromě brucelového antigenu může aglutinovat i antigeny jiných druhů zárodků. Rada autorů se pokoušela vyblokovat tyto nespecifické protilátky aglutinací s jejich homologní bakteriální skupinou, např. Hochstein a Minzel (11), Westphal a Dickel (16), Entel u ovcí (5) nebo Orlov (13) a jiní. Hellmann (7) popisuje bílkovinu, kterou nazval „additivní protein“ a kterou považuje za podklad těchto reakcí. „Additivní protein“ může podle něho být totožný s nespecifickým aglutininem, který popsali Hess a Roepke (10), jímž se podařilo vysytit séra různými antigeny, takže po vysycení jedním z antigenů zmizely titry vůči všem ostatním. Hellmannův „additivní protein“ může být obsažen v séru všeho skotu a je-li ho přebytek, vyvolává aglutinace v nízkých titrech, nepodmíněné specifickými protilátkami.

K odstranění těchto nespecifických protilátek bylo použito různých metod, z nichž se popisuje např. použití okyseleného antigenu — Rodabaugh (14), Alesandri a Geurra (1) a jiní, aglutinace při nízkých teplotách — Andersen (2), vysycení nespecifických protilátek R-formami brucel (Renoux), hlavně pak po-

užití aglutinace při vyšších teplotách. Tento tzv. Hitze-test nebo Heat inactivation Test (dále HT) se stal středem pozornosti ve Spojených státech, NSR a jinde. Hellmann (7) uvádí, že první začali tyto pokusy provádět Manthei a kol. na výzkumné stanici Baltsville k rozlišení postvakcinačních titrů od postinfekčních, ale dlouho je neuveřejnili. To byl asi důvod, proč různí autoři používali různých pracovních postupů.

Všichni citovaní autoři používají vyšší teploty než 50° C, navzájem však se různí. Tak Hellmann a Hein (8) použil 65° C, Hess (9) 70° C, Andersen (2) 50° C, Westphal a Dickel (16), Beinhauer (4) 56° C a Orlov (13) 56 až 60° C atd.

Stejně se různí doba, po kterou je směs séra a antigenu v přehřátém prostředí uchovávána. Tak Hellmann a Hein (8) zahřívá 18 minut, Beinhauer (4) 30 minut, Orlov (13) 15–30 minut a Andersen (2) a Westphal a Dickel (16) dokonce 24 hodin.

Někteří používají k zkvalitnění a urychlení reakce centrifugaci (8, 3), jiní tvrdí, že měli dobré výsledky i bez ní.

Pokud jde o antigen, používají stejného jako pro pomalou aglutinaci nebo se o charakteru antigenu nezmiňují.

Jak jsou rozličné metodické postupy, tak jsou různé i názory na použitelnost reakce. Zatímco Seelemann a Meyer (15) a jiní tuto metodu k rozlišení nízkých titrů pomalé aglutinace nedoporučují, měli Hellmann a Hein (8) dobré výsledky. Podle klíče, že u nespecifických reakcí je titr pomalé aglutinace při HT redukován, zatímco u specifických reakcí je zachován nebo stoupá, mohli např. z 228 sér z očkováných chovů s titry 1:10 až 1:80 prokázat redukci titru u 205 sér tj. 89,9 %. Z 65 sér stejných titrů, která pocházela z chovů brucelózou infikovaných bylo redukováno jen 15 (23,1 %). Autoři se domnívají, že zahřátím séra vyloučili „additivní protein“ resp. nespecifickou protilátku, takže aglutinace nenastala nebo nastala v daleko menší míře. Úkaz, že specifická pozitivní séra při zahřátí po 30 minut na 56° C neztratí aglutinační schopnost, ba u některých se ještě aglutinační titr zvýší, popsal u nás Hajdú (6) při propracování metodiky Coombsova testu. Kóňa (12) proěřoval dobré výsledky Hessovy (9), nedospěl však ke stejným závěrům. Orlov (13) konstatuje, že zahřátím sér nedosáhl žádaných výsledků.

Materiál a metodika

Porovnávali jsme výsledky pomalé aglutinace (dále PA) a Hitze-testu (HT) a jako kontroly ještě navíc použili Coombsův test v modifikaci podle Hajdú (CT).

PA a CT byly prováděny podle předpisu Laboratorních vyšetřovacích metod.

HT jsme prováděli nejprve paralelně při různých teplotách s různou dobou ohřátí, později jsme používali jen následující způsob, který dával nejrychlejší výsledek:

Směs séra s antigenem v 5% roztoku NaCl v řadě ředění jsme zahřáli ve vodní lázni 15 minut při teplotě 65° C. Pak ihned ochladili ve vodovodní vodě a centrifugovali při 2000 ot/min po dobu 5–20 minut, později jen 5 minut, protože se ukázalo, že delší centrifugace ztěžuje roztrpávání sedimentu a na výsledek reakce zásadní vliv nemá. Po slití supernatantu, roztrpání sedimentu v kapce fyziologického roztoku a doplnění týmž roztokem na původní objem jsme posuzovali.

Při negativní reakci se centrifugované zárodky difúzně rozptýlily ve fyziologickém roztoku. Pro pozitivní reakci byl charakteristický vznik vloček. Podle jejich velikosti a podílu na celkovém objemu bylo prováděno hodnocení na + až + + + +. Při stanovení výše titru byly brány v úvahu jen reakce na + + + a + + + +.

Používali jsme antigenu vyrobeného Biovetou n. p. Ivanovice, antiglobulinové sérum z SLD Vratislavice a Biovety n. p. Terezín. Obě antiglobulinová séra měla pracovní titr 1 : 400/1 : 640.

Zkoušená séra pocházela z běžných zásilek vzorků krve skotu z obvodů Severočeského kraje.

V této zprávě jsou shrnuty výsledky z roku 1962 a 1963.

V ý s l e d k y

1. Použitelnost HT k rozlišení nízkých titrů PA

Séra s titry 1 : 10 až 1 : 40 pocházela z chovů brucelózy prostých (77 vzorků), dále z chovů uzavřených pro brucelózu (86 vzorků) a dále z chovů prostých brucelózy, které však jsou ohroženy sousedstvím s infikovanými chovy, kde se dříve brucelóza vyskytovala apod. (53 vzorků). Výsledky ukazuje tabulka I.

U sér z brucelózy prostých chovů došlo ke zvýšení titru u jednoho vzorku. Pocházel od krávy zmetalky čís. prot. 332 a další vývoj reakce u této krávy je zajímavý:

Dne 4. 1. 63	PA 1 : 20 + + +	HT 1 : 40 + + +	CT—	KFR —
Dne 12. 2. 63	PA 1 : 20 + + +	HT 1 : 20 + + +	CT—	KFR X
Dne 25. 3. 63	PA 1 : 40 + + +	HT 1 : 80 + + + +	CT—	KFR X
Dne 26. 3. 63	opakováno se stejným výsledkem KFR —			
Dne 3. 4. 63	PA 1 : 80 + + +	HT 1 : 80 + + + +	CT+	KFR +

Kráva byla odporazena a objekt uzavřen.

V ostatních případech v brucelózy prostých chovech nedošlo k zvýšení titru, naopak všude k úplnému vymizení reakce, vyjma jeden vzorek, kde titr zůstal zachován na 1 : 20. CT byl vždy negativní.

V chovech ohrožených všechna vyšetření HT ukázala pokles nejméně o jeden stupeň; i zde došlo k úplnému zmizení reakce s výjimkou jednoho vzorku, kde byl pokles z 1 : 40 na 1 : 10. CT byl vždy negativní.

Z 86 vzorků s nízkými titry v chovech infikovaných došlo u 35 vzorků (40,7 %) k snížení nebo vymizení titru, u 11 vzorků (12,8 %) zůstal titr zachován. Ve 40 případech došlo k zvýšení titru (46,5 %).

U vzorků, kde došlo k snížení titru byl v 5 případech CT pozitivní. Z 11 vzorků, kde byl titr zachován bylo 6 při CT pozitivní, 5 negativní. Ze 26 vzorků u nichž se z nižších hodnot zvýšil titr nad 1 : 40 byl u 21 (80,7 %) sér titr pozitivní, u pěti sér (19,3 %) negativní.

2. Ovlivnění vyšších titrů PA Hitze-testem

Bylo sledováno 73 sér s titry 1 : 80 a vyššími. U 27 sér (37,0 %) zůstal titr stejný jako při PA. U 37 sér došlo k zvýšení titru o jeden stupeň, u 8 sér o 2 stupně a u 1 séra o 3 stupně. K poklesu došlo u dvou sér (2,7 %) a to z 1 : 160 na 1 : 80. (Tabulka II.)

I. Ovlivnění nízkých titrů pomalé aglutinace Hitze-testem

Chovy	Titr PA	Titr HT							celkem	z toho		
		—	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320		snížení	zachování	zvýšení
prosté BA	1 : 10	25	—	—	—	—	—	—	77	75	1	1
	1 : 20	46	—	1	1	—	—	—				
	1 : 40	4	—	—	—	—	—	—				
ohrožené	1 : 10	30	—	—	—	—	—	—	53	53	—	—
	1 : 20	21	—	—	—	—	—	—				
	1 : 40	1	1	—	—	—	—	—				
infikované	1 : 10	16	1	3	2	1	—	—	86	35	11	40
	1 : 20	6	2	6	9	5	2	3				
	1 : 40	8	—	3	4	13	2	—				
Všechny bez ohledu na nákazovou situaci	1 : 10	71	1	3	2	1	—	—	216	163	12	41
	1 : 20	73	2	7	10	5	2	3				
	1 : 40	13	1	3	4	13	2	—				

II. Ovlivnění vyšších titrů pomalé aglutinace Hitze-testem

PA	HT	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560
1:80		8	14	5	1	—	—
1:160		2	10	10	3	—	—
1:320		—	—	—	10	—	—
1:640		—	—	—	8	1	—
1:1280		—	—	—	—	—	—
1:2560		—	—	—	—	—	1

CT byl negativní pouze u 3 sér, z nichž u dvou shodně zůstal titr stejný 1:640++++, u třetího došlo při HT k vzestupu z 1:80++++ na 1:160++++.

Bohužel jsme neměli možnost zatím pozorovat chování sér s vyššími titry ze zaručeně neinfikovaných chovů skotu.

3. Vztah HT k pomalé aglutinaci v infikovaných chovech

U zásilek, které pocházely z chovů infikovaných brucelózou, prováděli jsme vyšetření pomocí PA, CT a HT u všech zaslaných vzorků. Porovnání výsledků CT a HT v poměru k výsledkům PA je v tabulce III.

Celkem bylo z 834 vzorků při PA pozitivních 103 tj. 12,3 %, při HT 157 tj. 18,8 % a při CT 201 tj. 24,1 %. Hitze-testem bylo zachyceno o 52,4 % víc pozitivních výsledků, Coombs-testem o 95,1 % víc.

Na dosti velkém počtu sér dosáhli jsme těmito metodami signifikantní souhlasnost v 87,3 %, z toho 70,7 % bylo u negativních, 16,6 % u pozitivních výsledků. Při vzájemných vztazích ostatních sérologických metod při diagnostice brucelózy je souhlasnost daleko nižší.

III. Srovnání výsledků pomalé aglutinace Coombsova testu a Hitze-testu u sér z chovů infikovaných brucelózou

	CT + HT —	CT + HT ±	CT + HT +	CT — HT —	CT — HT ±	CT — HT +	Celkem
PA —	32	20	40	575	25	6	698
PA ±	—	6	12	8	—	7	33
PA +	1	3	87	7	—	5	103
Celkem	33 3,9 %	29 3,5 %	139 16,6 %	590 70,7 %	25 3,0 %	18 2,2 %	834 100,0 %

Diskuse

Vycházíme-li ze závěrů Hellmannových, že tzv. „additivní protein“ může být obsažen ve všech sérech, že může — je-li v nadbytku — vyvolat reakce v nízkých titrech pomalé aglutinace a že je méně odolný k vyšším teplotám než specifické aglutininy, je možno s ním souhlasit i v tom že pomocí tzv. Hitze-testu mohou být zmíněné nízké titry vyloučeny. Mluví pro to i naše výsledky. V neinfikovaných chovech byla většina reakcí pomalé aglutinace v titru 1:10 až 1:40 při Hitze-testu redukována do negativních hodnot, nejméně o jeden stupeň ředění, větší reakce zcela zmizela. Výjimku tvořil případ krávy zmetalky, kde na základě zvýšení titru z 1:20+++ na 1:40+++ při HT, při negativní KFR a CT, jsme pojalí podezření na brucelózu, které se při dalších vyšetřeních potvrdilo. Kráva pocházela z chovu, kde dosud byly zjišťovány jen negativní výsledky po několik let.

V chovech ohrožených brucelózou byly zaznamenány shodné výsledky. Nízké titry PA byly při vyšetření HT rovněž redukovány.

V chovech infikovaných nebyly výsledky tak jednoznačné.

Naše výsledky z neinfikovaných chovů ukazují možnost rychlého vyloučení nespecifických výsledků pomalé aglutinace v nízkých titrech 1:10 až 1:40. V chovech infikovaných lze HT k odlišení nízkých titrů těžko upotřebit, jediné snad v těch případech, kdy se tím titr zvýší.

Velmi důležitým se zdá nastavení optimální teploty, kterou podle našich dosud málo početných srovnávacích pokusů se zdá být teplota 65° C. Vyšší teploty specifické aglutininy ve většině případů ničí, což zřejmě ovlivnilo výsledky, které publikoval Kóň a (12).

Proti postupu Orlova (13), který kombinuje vyšetření PA jen s KFR k vyloučení „normálních aglutininů“ a tím tzv. „zkumavkových brucelóz“ je námi popsaná metoda jednodušší, levnější a méně náročná na odbornou kvalitu laborantů. Vzájemný vztah mezi HT a KFR v současné době v naší stanici prověřujeme.

Signifikantní shoda v 87,3 % případů mezi Hitze-testem a Coombsovým testem — metodou, kterou dnes považujeme za nejcitlivější — nabízí optimistické závěry. Podaří-li se prokázat, že naše výsledky prověřením na větším počtu sér nebyly náhodné, bylo by možno metodu Hitze-testu, námi popsanou, běžně zavést do praxe, což by zrychlilo, zlevnilo a zjednodušilo provádění vyšetřování.

V každém případě jsme prokázali daleko vyšší citlivost HT při zachytu pozitivních reakcí (52 %) ze sér pocházejících z brucelózních chovů v porovnání s pomalou aglutinací.

Souhrn

Na 216 vzorcích, kde pomalá aglutinace vykazala titr 1:10 až 1:40 se potvrdilo, že tzv. Hitze-test v neinfikovaných chovech při nespecifické reakci redukuje titr PA.

Při porovnání Coombsova testu v modifikaci podle Hajdů a Hitze-testu postupem popsaným v této zprávě, na 834 vzorcích krve skotu z chovů infikovaných brucelózou bylo dosaženo 87,3 % shodných výsledků.

Titr PA 1:80 a vyšší v 37 % zůstává zachován, v 60,3 % se zvýšil a v 2,7 % klesl o jeden stupeň.

Přednosti CT a HT k vyloučení nízkých titrů a k odhalení co největšího počtu infikovaných zvířat v ohniscích brucelózy jsou proti pomalé aglutinaci nesporné.

V pokusech je nutno pokračovat.

Došlo dne 5. 12. 1963

*

Za neúnavnou spolupráci v mimopracovní době děkuji zejména s. Polívkové a s. Sýkorové.

Literatura

1. Allesandri, Guerra: ref. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 73, 35, 1960.
- 2. Andersen: Nord. Vet. Med., 13, 289, 1961. — 3. Anonym: JAVMA - 138, 547, 1961. — 4. Beinhauer: Mh. Tierhk., 14, RTBC 86, 1962. — 5. Entel: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 72, 388, 1959. — 6. Hajdú: Vet. čas., 5, 194, 1956. — 7. Hellmann: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 74, 47, 1961. — 8. Hellmann, Hein: Dtsch. Tierärztl. Wschr., 67, 459, 1960. — 9. Hess: Am. Jour. vet. Res., 192, 1953. — 10. Hess, Roepke: Proc. soc. Exp. Biol. a. Med., 77, 469, 1951. — 11. Hochstein, Minzel: Mh. Tierhk., 9, RTBC 134, 1957. — 12. Kóna: Vet. časopis, 4, 242, 1954. — 13. Orlov: Veterinarija (Moskva) 11, 34, 1954. — 14. Rodabaugh: Vet. Med. 56, 185, 1961. — 15. Seelemann, Meyer: Mh. Tierhk., 10, RTBC, 109, 1958. — 16. Westphal, Dickel: Dtsch. Tierärztl. Wschr., 67, 645, 1960.

Наш опыт с агглютинацией при повышенных температурах (так наз. Hitze-тест) для различения низких агглютинирующих титров

На 216 образцах, где медленная агглютинация имела титр 1:10 до 1:40, было подтверждено, что так наз. Hitze-тест в незараженных стадах при неспецифической реакции редуцирует титр РА. При сравнении теста Coombs-а в модификации с Hajdú-тестом по методу, описанном в этом сообщении, на 834 образцах крови крупного рогатого скота из стад, зараженных бруцеллезом, было получено 87,3 % одинаковых результатов.

Титр РА 1:80 и выше в 37 % сохраняется, в 60,3 % повышается, а в 2,7 % понижается на одну ступень.

Преимущества СТ и НТ для исключения низких титров и для определения как можно большего числа зараженных животных в очагах бруцеллеза в сравнении с медленной агглютинацией неоспоримы.

Опыты необходимо продолжать.

Our Experiences with Agglutination at Higher Temperatures (the so-called Heat-Test) for the Differentiation of Low Agglutination Titres

In 216 samples, in which slow agglutination showed a titre of from 1:10 to 1:40, it was confirmed that in non-infected cultures in the case of non-specific reaction the so-called heat-test reduces the PA titre. In a comparison of Coombs' test modified according to Hajdú with the heat-test carried out as described in this report, 87,3 per cent of identical results were obtained in 834 samples of blood of cattle from herds infected with brucellosis.

In 37 per cent a PA titer of 1:80 and more is retained, in 60,3 per cent it rose, and in 2,7 per cent it fell by one degree.

The advantages of CT and HT for the elimination of low titres and for the discovery of the largest possible number of infected animals at the foci of brucellosis are, compared with slow agglutination, indisputable.

The tests must be continued.

Unsere Erfahrungen mit der Agglutination bei höheren Temperaturen (dem sog. Hitzetest) zur Unterscheidung niedriger Agglutinationstiters

An 216 Proben, bei denen die Agglutination Titer von 1:10 bis 1:40 ergab, wurde bestätigt, daß der sogenannte Hitzetest in nicht infizierten Zuchten bei unspezifischer Reaktion den Titer der PA reduziert. Beim Vergleich des Coombs-Testes in der Modifikation nach Hajdú mit dem Hitzetest in der hier beschriebenen Ausführung wurden bei 834 Blutproben von mit Brucellose infizierten Rindern 87,3 % übereinstimmende Ergebnisse erzielt.

Der PA-Titer von 1:80 und darüber bleibt in 37 % erhalten, in 60,3 % war er höher, in 2,7 % um eine Stufe niedriger.

Die Vorteile des CT und HT beim Ausschluß niedriger Titer und bei der Entdeckung der Höchstzahl der infizierten Tiere in den Brucelloseherden gegenüber der langsamen Agglutination sind unzweifelhaft. Die Versuche sollten fortgesetzt werden.

Nos expériences avec l'agglutination au cours des températures élevées (le soi-disant test d'Hitze) pour pouvoir différencier les titres bas d'agglutination

On a pu confirmer sur 216 échantillons, où l'agglutination lente a présenté le titre 1:10 — 1:40 que le dit titre de Hitze dans les élevages non infectés, lorsque la réaction n'est pas spécifique, réduit le titre PA. En comparant le test de Coombs, modifié par Hajdú, et le test de Hitze de la façon décrite dans le rapport présent, sur 834 échantillons de sang bovin, provenant des élevages infectés de brucellose, on a atteint 87,3 p. 100 de résultats identiques.

Le titre PA 1:80 et plus élevé reste invariable en 37 p. 100 de cas, augmentant en 60,3 p. 100 de cas et s'abaissant en 2,7 p. 100 de cas de 1 degré.

Les avantages de tests CT et HT, éliminant les titres bas et dévoilant le plus grand nombre possible d'animaux infectés dans les foyers de la brucellose, sont, en comparaison de l'agglutination lente, tout à fait indiscutables. Il est nécessaire de continuer les essais en question.

Nuestras experiencias con aglutinación en las temperaturas más elevadas (así llamado Hitze-test) para la diferenciación de las bajas titulaciones de la aglutinación

En 216 muestras donde la aglutinación lenta ha demostrado la titulación 1:10 hasta 1:40 se comprobó que el así llamado Hitze-test en las crías de ganado durante la reacción no específica está reduciendo la titulación PA. En la comparación de Coombs-test modificado según Hajdú y Hitze-test por medio del procedimiento descrito en esta noticia, en 834 muestras de sangre del ganado bovino de crías contaminadas por la brucelosis se logró 87,3 % de resultados idénticos.

La titulación PA 1:80 y más elevada en 37 % queda conservada, en 60,3 % se había elevado y en 2,7 % bajó de un grado.

Las ventajas de Coombs-test y Hitze-test para la exclusión de las titulaciones bajas y para el descubrimiento del número más elevado posible de animales infectados en los focos de la brucelosis. Las ventajas mencionadas en comparación con las de la aglutinación lenta son indiscutibles. Es indispensable continuar en los experimentos.

Použitelnost vibračního míchadla při hloubkové kultivaci mikrobů

Применимость вибрационной мешалки при глубинной культивации микробов

The Applicability of Vibrator for the Deep Cultivation of Microbes

Die Verwendung des Vibrationsmischers bei der Tiefkultivation der Mikroben

Utilisation de l'agitateur de vibration au cours de la cultivation profonde des microbes

MVDr. Ladislav STAROŠTÍK, Dušan KALÁB, prom. chem.
Biovet, ved. n. p. Ivanovice na Hané, ředitel MVDr. Vl. Marjáněk

Úvod

Hloubková kultivace dnes široce používaná při masovém pomnožování mikrobů se provádí v kultivačních tancích, v nichž jsou bakteriální kultury promíchávány a provzdušňovány. Míchadla jsou různých typů. Ve všech případech jde o rotační míchadla. V následující práci jsme použili vibračního míchadla a srovnávali jsme výsledky hloubkových kultivací některých druhů mikrobů za použití rotačního a vibračního míchání.

Metodika

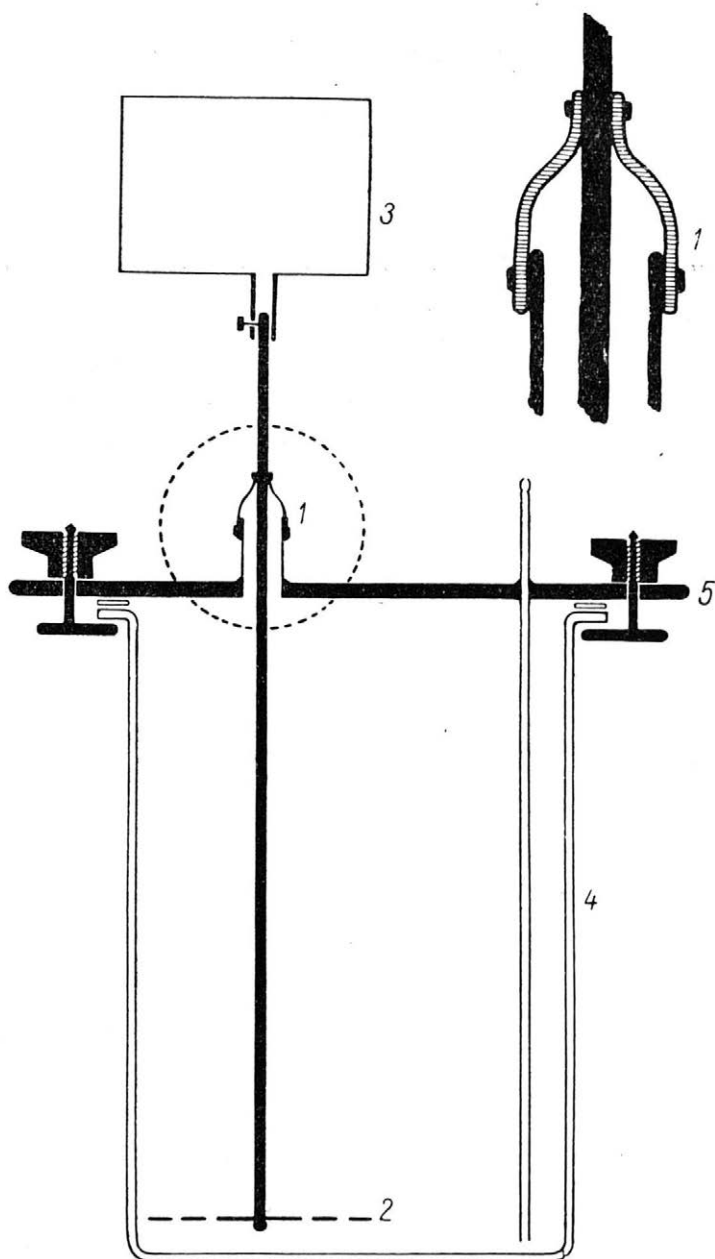
Použité aparatury: V podstatě jsme použili aparatury (1) u níž jsme nahradili rotační míchadlo míchadlem vibračním. Vibrační míchadlo — výrobek Vývojových dílen ČSAV Praha se skládá z elektrického vibrátoru 100 c/s, příkon 25 W, na nějž je pomocí šroubových svěrek a nerezové tyčky uchycena kruhová destička z nerez plechu opatřená konickými otvory (2). Kmity vibrátoru jsou přenášeny dovnitř tanku nerezovou tyčkou jež je utěsněna gumovou manžetou (obr. 1). V aparatuře s uvedeným vibračním míchadlem o obsahu 2 l živné půdy jsme dosáhli převodu 50 m MO₂/litr/hod (3). Během hloubkové kultivace *Pasteurella aviseptica* bylo pH živné půdy upravováno plynným čpavkem (4).

Použité bakteriální kmeny:

Pasteurella aviseptica
Salmonella cholerae suis
Escherichia coli B
Escherichia coli 08
Escherichia coli 0138

Pasteurella tularensis 4
Pasteurella tularensis 62
Pasteurella tularensis 151
Pasteurella tularensis 224

K inokulaci bylo použito splachů z pevných půd.



Obr. 1. Schema laboratorní aparatury pro hloubkovou kultivaci mikrobů s vibračním míchadlem.

1 — utěsnění osy vibračního míchadla gumovou manžetou
2 — destička vibračního míchadla

3 — vibrátor
4 — skleněný laboratorní tank
5 — víko tanku

Živné půdy: Základem všech použitých živných půd byl enzymatický hydrolyzát kaseinu (VÚFB-Praha) pro *Pasteurella aviseptica*, *Salmonella cholerae suis* a *E. coli* v koncentraci 2 %, pro *Pasteurella tularensis* v koncentraci 4 %. Pro kultivaci *Pasteurella aviseptica* byl základ živné půdy obohacen 0,5 % glukózy a 3,5 % kvasnicového extraktu. Dále bylo do půdy přidáno 0,006 g/litr bromthymolové modři, pH půdy bylo upraveno před sterilizací na 7,5. *Salmonella cholerae suis* a *Escherichia coli* byly pomnožovány jen v základní živné půdě. U *Pasteurella tularensis* se nám osvědčila živná půda obohacená přísadkou 0,1 % hydrochloridu cysteinu, 2,5 % glukózy, 5,0 % normálního koňského séra a 2,0 % hrachového nebo sójového extraktu obsahujícího peroxydázy. Tato půda byla sterilizována filtrací, pH půdy činilo 7,0.

Hodnocení výsledků: Mohutnost růstu uvedených bakteriálních kmenů jsme hodnotili podle zákalových standardů Welcome opacity tubes.

V ý s l e d k y

Při použití vibračního i rotačního míchadla bylo dosaženo v přibližně stejném kultivačním čase 15–17 hod. shodné denzity bakteriálního porostu *Pasteurella aviseptica*, jež činila 15 mld/ml. Uvedenými pokusy byla prakticky přezkoušena možnost promíchávání submerzní kultury vibračním míchadlem. Po stránce morfologické se kultury pomnožené hloubkově oběma způsoby vzájemně nelišily. Výsledky pokusů jsou shrnuty v tabulce I.

Dále uvádíme jen výsledky hloubkových kultivací s použitím vibračního míchadla u zárodků *Salmonella cholerae suis*, *Escherichia coli* a *Pasteurella tularensis*. Kultivační doba byla v těchto případech prodloužena na 18–20 hod. Výsledky pokusů shrnuje tabulka II.

I. Hloubková kultivace *Pasteurella aviseptica* s použitím rotačního a vibračního míchadla

Počet kultivací	Kmen	Denzita mld/ml	Průměrný čas kultivace, hod.	Použitá aparatura
3	P. avis.	15	15	4litrový tank s rotačním míchadlem, 2 litry půdy, vzdušnění 2 litry na tank/min.
3	P. avis.	15	17	4litrový tank s vibračním míchadlem, 2 litry půdy, vzdušnění 2 litry na tank/min.

D i s k u s e

Naším úkolem bylo přezkoušet použitelnost vibračního míchání při hloubkové kultivaci mikrobů. Podíváme-li se blíže na konstrukci aparatur používajících k promíchávání kultur rotačních míchadel vidíme, že nejcitlivějším místem je zde právě utěsnění otáčející se osy míchadla. Toto utěsnění musí být skutečně dokonalé, aby

byla zajištěna bezpečná práce s patogenními mikroby. Jelikož při delším provozu dochází k značnému opotřebování těsnících součástí, nelze vyloučit vznik netěsnosti a tím možnost pronikání infekce. K zamezení přestupu infekce z tanku do okolního prostředí a naopak, používá se řady opatření, jako např. parní clony, nebo vyhřívané olejové clony. U aparatur s vibračním míchadlem je utěsnění vibrující tyčky provedeno gumovou manžetou.

Tato je pevně spojená na jedné straně s víkem tanku a na druhé straně s tyčkou vibračního míchadla, takže kmity z vibrátoru mohou být volně přenášeny uzavřeným systémem dovnitř tanku. Odpadá zde problém utěsnění rotující součástky. Z vlastních zkušeností uvádíme, že zmíněný způsob těsnění je dostačující a nevyžaduje zvláštní údržby. Doba použitelnosti je dána kvalitou gumové manžety, jež se opakovanou sterilizací poněkud snižuje. Použitím termostabilního silikonového kaučuku by se tyto nevýhody prakticky odstranily. Náklady na elektrickou energii při použití vibračního způsobu míchání jsou v našem případě minimální, neboť příkon vibrátoru je 25 W. Při hloubkové kultivaci *Pasteurella aviseptica* nebylo rozdílů mezi denzitami narostlých kultur při použití vibračního a rotačního míchadla. Obě kultury *Pasteurella aviseptica* použité v další práci přípravy vakciny měly stejné imunizační schopnosti (5). Jak je patrné z následujících pokusů uvedených v tabulce II, lze vibrační míchadlo použít i k hloubkové kultivaci dalších mikroorganismů. Uvedené druhy mikrobů nejsou kmity míchadla mechanicky poškozovány a hustoty narostlých bakteriálních kultur převyšují řádově desetkrát výtěžky statických kultivací. Popsané zařízení umožňuje bezpečnější a snadnější práci s patogenními mikroby.

II. Hloubková kultivace s použitím vibračního míchadla.

Počet kultivací	Kmen	Denzita mld/ml	Průměrný čas kultivace, hod.	Použitá aparatura
5	<i>E. coli B</i>	20	18	4litrový tank s vibračním míchadlem, 2 litry půdy, vzdušnění 2 litry na tank/min.
2	<i>E. c. 08</i>	24	18	
2	<i>E. c. O 138</i>	20	18	
2	<i>S. chol. suis</i>	22	18	
3	<i>P. tul. 4</i>	30	20	
3	<i>P. tul. 62</i>	32	20	
3	<i>P. tul. 151</i>	28	20	
3	<i>P. tul. 224</i>	43	20	

Souhrn

Je popsána aparatura pro hloubkovou kultivaci mikroorganismů s vibračním míchadlem. Aparatura byla vyvinuta v Biovetě, ved. n. p. Ivanovice na Hané a použité vibrační míchadlo je výrobek Vývojových dílen ČSAV v Praze. V uvedené aparatuře byly hloubkově pomnožovány zárodky *Pasteurella aviseptica*, *Salmonella cholerae suis*, *Escherichia coli* a *Pasteurella tularensis*. Při kulti-

vační době 17–20 hod. bylo dosaženo u *P. aviseptica* hustoty zárodků 15 mld/ml, u *E. coli* 20–24 mld/ml podle kmene, u *Salmonella cholerae suis* 22 mld/ml a u *Past. tularensis* 28–43 mld/ml podle kmene.

Došlo dne 30. 1. 1964

Literatura

1. Kaláb D., Starošík L., Kozák K., 1961: Použití hloubkové kultivace ve veterinární medicíně. Sborník vědeckých prací Biovet, 1, 9–24. — 2. Labora n. p., Naše služba (soubor prospektů), 13, 1961. — 3. Cooper C. M., et. al., 1944: Performance of agitated gas-liquid contactors. Ind. Eng. Chem., 36, 504–509. — 4. Kaláb D., Starošík L., 1963: Biochemické studie o července vepřů. VI. Z imunologie proti července vepřů. Veterinární medicína, 8, 177–184. — 5. Dosud nepublikováno.

Применимость вибрационной мешалки при глубинной культивации микробов

В работе описана аппаратура для глубинной культивации микроорганизмов с вибрационной мешалкой. Аппаратура была сконструирована в Бيوвете, центральном национальном предприятии Ивановице на Гане, а применяемая вибрационная мешалка — изделие конструкторских мастерских ЧСАН в Праге. В приведенной аппаратуре глубинно культивировались зародыши *Pasteurella aviseptica*, *Salmonella cholerae suis*, *Escherichia coli* и *Pasteurella tularensis*. При сроке культивации 17–20 час. у *P. aviseptica* была достигнута плотность зародышей 15 млд/мл, у *E. coli* — 20–24 млд/мл в зависимости от штамма, у *Salmonella cholerae suis* — 22 млд/мл и у *Past. tularensis* — 28–43 млд/мл в зависимости от штамма.

The Applicability of Vibrator for the Deep Cultivation of Microbes

There is a description of an apparatus for the deep cultivation of microorganisms by means of a vibrator. The apparatus was developed at the Bioveta Works at Ivanovice na Hané, and the vibrator used is the product of the development workshop of the Czechoslovak Academy of Sciences in Prague. In the mentioned apparatus deep cultivation was carried out with germs of *Pasteurella aviseptica*, *Salmonella cholerae suis*, *Escherichia coli*, and *Pasteurella tularensis*. In the case of an application of a cultivation period of 17–20 hours, the density of the germs obtained was 15 mld/ml for *P. aviseptica*, 20–24 mld/ml for *E. coli* according to the strain, 22 mld/ml for *Salmonella cholerae suis*, and 28–43 mld/ml for *P. tularensis* according to the strain.

Die Verwendung des Vibrationsmischers bei der Tiefkultivation der Mikroben

Beschrieben ist eine Apparatur zur Tiefkultivation der Mikroorganismen mit Verwendung eines Vibrationsmischers. Die Apparatur wurde im VEB Bioveta, Ivanovice na Hané, entwickelt, der verwendete Vibrationsmischer ist ein Erzeugnis der

Entwicklungswerkstätten der tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften in Prag. Mittels der beschriebenen Apparatur wurden gezüchtet: *Pasteurella aviseptica*, *Salmonella cholerae suis*, *Escherichia coli* und *Pasteurella tularensis*. Bei einer Kultivationsdauer von 17—20 Stunden wurden folgende Erregerdichten erreicht: *P. aviseptica* 15 mld/ml, *W. coli* 20—24 mld/ml, je nach den Stämmen, *S. cholerae suis* 22 mld/ml und *P. tularensis* 28—43 mld/ml je nach dem Stamm.

Utilisation de l'agitateur de vibration au cours de la cultivation profonde des microbes

Dans l'article présent on décrit l'appareil pour la cultivation profonde des microorganismes, avec l'agitateur de vibration. Cet appareil a été développé en Bioveta, l'entreprise nationale principale, Ivanovice à Haná, et l'agitateur de vibration appliqué est le produit des Ateliers d'évolution de l'Académie tchécoslovaque des sciences (ČSAV) à Prague. Dans l'appareil en question on a cultivé au profond les germes de *Pasteurella aviseptica*, *Salmonella cholerae suis*, *Escherichia coli* et *Pasteurella tularensis*. Quand le temps de cultivation durait 17—20 heures, on a atteint chez *Pasteurella aviseptica* la densité de germes 15 mld/ml, chez *Escherichia coli* 20—24 mld/ml selon la souche, chez *Salmonella cholerae suis* 22 mld/ml, et chez *Pasteurella tularensis* 28—43 mld/ml, selon la souche.

Mléčná tělíska v mléce během dojení

Молочные тельца в молоке в процессе доения

Milk-Bodies in Milk in the Course of Milking

Fettkügelchen in Milch während des Melkens

Doc. MVDr. Rudolf BÖHM, CSc. — MVC. Jiří KRUCKÝ
Histologicko-embryologický ústav veterinární fakulty VŠZ v Brně
(vedoucí Doc. MVDr. Evžen Novotný)

Úvod

Ziegler a Mosimann uvádějí Turnerovu teorii o cyklickém průběhu sekrece v buňkách mléčné žlázy a o vztahu sekrece k vyprazdňování mléka ze žlázy při dojení nebo sání. Podle této teorie secernují žlázové buňky apokrinním způsobem hlavně na počátku sekrece, tj. v době, kdy v alveolech není ještě velký tlak, působený nahromaděným mlékem. S tím, jak vzrůstá v alveolech tlak, zabráňuje se vylučování mléčných tělísek (tukových kapének, obklopených tenkou vrstvou plazmy), zprvu jen větších, později všech. V této době secernují buňky tak, že se z nich vylučuje pouze mléčné sérum a tukové kapénky se v buňkách zadržují. Vyrůstá-li tlak dále, zastavuje se sekrece docela. Jakmile se při dojení či sání sníží v alveolech tlak, obnoví se opět apokrinní sekrece a do mléka se tak dostane větší množství mléčných tělísek. Tak Turner zdůvodňuje vyšší tučnost mléka ke konci dojení. Starší názory se domnívají, že se mléčná tělíska obtížně prodírají úzkými mléčnými kanálky (lnou k jejich stěně), nebo že jsou specificky lehčí a vystupují v mléce k povrchu a proto odcházejí s pozdějším mlékem. Autory těchto názorů (z nichž některé jsou z poloviny minulého století) uvádí Reissigová. Sama zkoumala složení mléka ve čtyřech vzorcích, odebraných během dojení. Zjistila, že velikost mléčných tělísek během dojení vzrůstá, ke konci roste počet větších mléčných tělísek, kdežto malých ($1-3\ \mu$) ubývá.

V této práci jsme si dali za cíl zjistit počet mléčných tělísek v mléce během dojení a současně vyjádřit i podíl mléčných tělísek různé velikosti. Nenašli jsme práci, jež by se zabývala oběma hledisky. Podíl mléčných tělísek různé velikosti studovala řada autorů (kupř. Rahn, který vyjadřuje i váhový podíl různě velkých tělísek). Údaje o počtu tělísek v objemové jednotce se v některých případech rozcházejí, případně přihlížejí k plemenné příslušnosti zvířat (Gutzeit). Liškova práce zpřesnila vědomosti o počtu mléčných tělísek během laktace a v závislosti na tučnosti mléka i vyjádřila podíl tělísek jednotlivých velikostních skupin. V práci Böhma a Lišky přistupuje vyjádření podílu objemu různě velkých mléčných tělísek na celkovém objemu (nepodstatný podíl

nejmenších mléčných tělísek aj.). O zjišťování velikosti tělísek je řada prací, které uvádí přehledně Schneck a Kohlhardt, pro zjišťování počtu mléčných tělísek používá Inichov Thomovy komůrky, Liška Bürkerovy komůrky.

Materiál a metodika

K výzkumu jsme použili vzorků mléka 6 tříletých krav (vesměs ve druhé laktaci (z JZD v K.). Dojnice 1 s roční dojivostí 2660 kg mléka, vzorky odebírány ve 20.—28. týdnu laktace; dojnice 2, dojivost 2960 kg, odběr vzorků ve 20.—28. týdnu; dojnice 3, dojivost 2310 kg vzorky odebrány v 8.—16. týdnu; dojnice 4, dojivost 2230 kg, odběr vzorků v 10.—18. týdnu; dojnice 5, dojivost 2530 kg, odběr vzorků v 1.—9. týdnu; dojnice 6, dojivost 2720 kg, odběr ve 24.—32. týdnu. Vzorky byly odebrány v měsíci září až listopadu 1963. První vzorek (začátek dojení) je z prvních stříků ze všech čtvrtí, druhý vzorek (střed dojení) byl odebrán asi po 5 min. ručního dojení tj. po nadojení asi polovičního množství mléka, poslední vzorek (koniec dojení) obsahuje mléko z posledních stříků při dodojování. Obsah tuku v mléce byl stanoven acidobutyrometricky podle Gerbera. Počet mléčných tělísek byl stanoven přímým počítáním v Bürkerově komůrce v mléce dvěstěkrát zředěném podle zásad pro počítání erytrocytů. Poměr velikosti mléčných tělísek byl stanoven vyhodnocením na negativu mikrofotografie po promítnutí na matnici. U přibližně 100—300 mléčných tělísek byl měřen jejich průměr. Podíl počtu mléčných tělísek různé velikosti je vyhodnocen v tabulkách v procentech. Z toho byl vypočítán objem tak, že každé mléčné tělísko je považováno za kouli. Bylo použito shodné metodiky jako v práci Böhma a Lišky.

Vlastní práce

Průměrná tučnost mléka z počátku dojení je 2,2—0,2 %, ze středu dojení 4,9—0,4 %, z konce dojení 6,9—0,6 %.

Pokud jde o počet mléčných tělísek v 1 mm³ v mléce ze tří zkoumaných frakcí mléka, jeví se ve výsledku mezi třemi hodnotami značný rozdíl. V mléce z počátku dojení je v průměru 1 281 830 mléčných tělísek se střední odchylkou 39 722. Nejnižší průměrná hodnota byla 1 050 000 tělísek v mléce krávy 5 a nejvyšší hodnota u krávy 6 (1 390 000). V rámci těchto hodnot jsou u jednotlivých zvířat dílčí výsledky značně rozdílné (od 680 000 do 1 780 000). V 1 mm³ mléka ze středu doby dojení je v průměru 1 683 160 ± 141 503 mléčných tělísek. Nejnižší hodnota je u zvířete 5 (1 493 000), nejvyšší (2 010 000) u zvířete 1. Dílčí hodnoty kolísají od 820 000 po 3 260 000 tělísek v 1 mm³. Mléko z konce doby dojení obsahuje v průměru 1 902 330 ± ± 112 330 tělísek. Nejnižší průměrná hodnota byla zjištěna u zvířete 5 (1 740 000), nejvyšší (2 068 000) u zvířete 1. Dílčí hodnoty kolísají v této skupině 1 360 000 do 2 860 000. Tyto hodnoty jsou uvedeny v tab. I. Považujeme-li hodnotu počtu mléčných tělísek z počátku dojení za 100, je hodnota ze středu dojení 131 a z konce dojení 156.

Průměrné hodnoty velikosti mléčných tělísek se pohybují kolem 2,5 μ. U mléka ze začátku dojení dosahují 2,48 ± 0,06 μ. Průměrné výsledky jsou uvedeny v tabulce II. Je z ní také zřejmé, že u dalších vzorků roste velikost tělísek jen málo (2,56 ± 0,3 μ u mléka ze středu dojení a 2,63 ± 0,08 μ u mléka z konce dojení). Průměrné hodnoty u jednotlivých zvířat jsou poměrně vyrovnané, o čemž svědčí také hodnoty středních odchylek. Hodnoty u tří zkoumaných frakcí mléka se mají k sobě jako 100 : 103 : 106.

I. Průměrný počet mléčných tělísek v 1 mm³ z počátku, středu a konce doby dojení

Dojnice	Mléko		
	ze začátku dojení	ze středu dojení	z konce dojení
1	1,328 570	2,010 000	2,068 080
2	1,250 000	1,781 810	1,981 810
3	1,377 000	1,647 000	1,758 000
4	1,304 000	1,510 000	1,995 450
5	1,050 000	1,493 330	1,740 000
6	1,390 000	1,658 880	1,872 220
Průměr	1,281 830 ± 39 722	1,683 160 ± 141 500	1,902 330 ± 112 330

II. Hodnoty průměrné velikosti mléčných tělísek z počátku, středu a konce doby dojení (v mikronech)

Dojnice	Mléko		
	ze začátku dojení	ze středu dojení	z konce dojení
1	2,46	2,58	2,51
2	2,56	2,45	2,53
3	2,41	2,47	2,63
4	2,56	2,79	2,68
5	2,54	2,77	2,88
6	2,36	2,40	2,63
Průměr	2,48 ± 0,06	2,56 ± 0,13	2,63 ± 0,08

V tabulkách III—V jsou souhrnně uvedeny hodnoty počtu mléčných tělísek různé velikosti v procentech a jim odpovídající hodnoty objemu, který tato tělíska zaujímají. Je z nich patrné, že ve shodě s dřívějším zjištěním je největší počet mléčných tělísek menších rozměrů, kdežto mléčná tělíska větší velikosti jsou v mléce poměrně málo zastoupena. Pokud však jde o objem, podílejí se na něm menší tělíska jen málo, největší objemový podíl tvoří tělíska kolem 2 a 3 μ a velká mléčná tělíska se podílejí na celkovém objemu značně (přesto, že co do počtu tvoří jen desetiny procenta). V tabulce VI jsou přehledně uvedeny průměrné hodnoty počtu a objemu mléčných tělísek z počátku, středu a konce dojení. Ukazuje se, že počet mléčných tělísek menších rozměrů se s dobou dojení poněkud snižuje, kdežto mléčná tělíska větších rozměrů se chovají opačně. Rozdíl je zřetelný u objemu. Mléčná tělíska větších rozměrů ze středu a z konce dojení zaujímají větší objem než v mléce z počátku doby dojení. V tabulce VII jsou shrnuty výsledky počtu i objemu tělísek zařazených zde do tří velikostních skupin (od 1,0 do 2,5 μ , od 3,0 do 5,0 μ a nad 5,5 μ).

III. Poměrné zastoupení mléčných tělísek různé velikosti a jejich objemu v mléce z počátku dojení

Dojnice	Tučnost mléka		Velikost mléčných tělísek (v mikronech)														
			1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1	2,3 %	Počet	12,2	14,7	22,5	16,7	12,2	8,1	7,7	2,7	1,9	0,6	0,5	0,1	—	0,1	
		Objem	0,5	2,1	7,4	10,9	13,6	14,3	20,5	9,9	9,5	4,1	4,3	1,2	—	1,7	
2	1,8 %	Počet	10,3	11,4	37,5	14,7	11,4	6,2	4,6	2,7	1,1	0,1					
		Objem	0,5	2,1	16,2	12,3	16,4	15,2	16,2	13,2	7,0	0,9					
3	2,2 %	Počet	8,3	11,9	36,8	12,4	13,0	6,4	5,4	2,8	21,2	0,4	0,2	0,1			
		Objem	0,5	1,8	13,0	8,7	16,0	12,3	15,3	11,3	15,0	3,0	1,9	1,2			
4	2,5 %	Počet	6,9	12,1	30,2	14,1	15,5	8,3	6,9	2,4	2,8	0,5	0,1	0,1	—	0,1	
		Objem	0,2	1,5	8,8	8,0	15,2	16,9	16,9	7,9	12,4	3,1	6,7	1,0	—	1,5	
5	2,2 %	Počet	7,7	13,4	29,8	13,5	15,3	5,9	6,6	2,0	3,0	1,4	0,9	0,4	0,1		
		Objem	0,3	1,7	8,8	7,8	15,2	9,3	15,6	6,7	13,5	8,6	7,2	4,0	1,3		
6	2,4 %	Počet	6,0	12,9	38,4	14,5	13,1	6,9	4,7	2,3	1,0	—	0,2				
		Objem	0,3	2,1	16,3	11,8	18,7	15,6	15,8	11,0	6,3	—	2,1				

IV. Poměrné zastoupení mléčných tělísek různé velikosti a jejich objemu v mléce ze středu dojení

Dojnice	Tučnost mléka		Velikost mléčných tělísek (v mikronech)														
			1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1	4,4 %	Počet	9,0	13,3	26,0	15,3	11,6	9,1	6,9	2,8	3,3	1,2	1,2	0,1	0,1	—	0,1
		Objem	0,3	1,6	7,2	8,2	10,6	13,2	15,0	8,7	13,7	8,6	8,9	1,0	1,2	—	1,8
2	5,0 %	Počet	7,6	10,8	38,1	11,3	13,9	6,2	6,5	2,8	1,7	0,7	0,2	0,1	0,1		
		Objem	0,3	1,5	16,9	7,5	15,4	13,9	14,5	10,6	9,6	5,7	1,8	1,1	1,2		
3	5,0 %	Počet	7,7	14,3	36,4	13,9	11,3	6,6	4,1	3,1	1,3	0,5	0,5	0,2	0,1		
		Objem	0,3	2,3	13,7	10,2	14,2	13,4	12,2	13,2	7,4	3,9	5,1	2,5	1,6		
4	4,2 %	Počet	5,4	9,5	27,5	12,7	15,6	7,3	9,2	4,1	5,4	1,8	0,8	0,6	0,1	—	0,01
		Objem	0,1	0,9	6,4	5,7	12,2	8,9	16,9	10,8	18,9	8,6	4,9	4,7	0,9	—	0,1
5	5,8 %	Počet	4,9	11,5	24,6	16,0	13,9	8,7	6,6	5,5	4,3	2,0	1,6	0,2	0,1	0,05	0,05
		Objem	0,1	1,3	5,6	7,3	10,8	10,7	12,2	14,3	14,9	9,7	8,9	1,6	1,0	0,6	1,0
6	4,8 %	Počet	8,2	12,7	35,2	15,7	10,7	6,8	4,6	3,6	1,7	0,6	0,1	—	0,1		
		Objem	0,4	2,1	13,1	11,4	13,4	13,6	13,7	15,3	9,7	4,7	1,0	—	1,6		

V. Poměrné zastoupení mléčných tělísek různé velikosti a jejich objemu v mléce z konce dojení

Dojnice	Tučnost mléka		Velikost mléčných tělísek (v mikronech)														
			1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1	5,3 %	Počet	9,6	15,9	27,9	11,7	12,8	7,3	6,5	2,9	2,8	0,9	0,7	0,4	0,3	0,2	0,1
		Objem	0,3	1,9	7,9	6,6	11,7	11,2	14,9	9,5	12,3	5,5	5,5	4,0	3,7	3,1	1,9
2	7,7 %	Počet	5,4	11,3	37,2	11,4	14,9	6,2	7,0	3,0	2,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,1	0,05
		Objem	0,2	1,5	11,4	7,4	15,7	7,0	18,5	11,2	15,7	2,6	2,6	2,3	1,4	1,7	0,8
3	7,2 %	Počet	4,6	11,2	33,1	12,4	15,2	6,2	9,2	3,6	2,8	0,6	0,7	0,2	0,1	0,1	
		Objem	0,1	1,4	9,4	6,9	14,6	9,4	20,9	11,6	12,1	3,6	5,4	1,9	1,2	1,5	
4	6,7 %	Počet	3,4	9,3	32,8	14,0	15,9	7,0	8,8	3,9	3,1	1,0	0,4	0,3	0,1		
		Objem	0,1	1,0	8,9	7,4	14,7	10,2	19,3	13,0	12,9	5,7	2,9	2,8	1,1		
5	7,3 %	Počet	4,5	10,0	28,3	11,1	13,9	8,6	8,7	4,0	6,5	1,6	1,4	0,6	0,8		
		Objem	0,1	0,9	5,8	4,5	10,4	9,3	14,1	9,2	20,1	6,8	7,7	4,2	6,9		
6	7,0 %	Počet	6,4	10,2	32,3	14,8	11,7	6,0	5,3	10,7	1,5	0,5	0,4	0,1	0,05	0,05	
		Objem	0,2	1,3	9,1	8,2	11,1	9,1	11,9	34,4	6,5	2,9	3,0	1,0	0,6	0,7	

VI. Poměrné zastoupení mléčných tělísek různé velikosti a jejich objemu u mléka ze začátku, ze středu a z konce doby dojení (průměr ze všech zkoumaných vzorků)

	Velikost mléčných tělísek (v mikronech)														
	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
Mléko ze začátku dojení															
Počet	8,8	12,7	32,5	14,2	13,3	6,8	6,0	2,8	2,0	0,4	0,4	0,1	0,01	0,03	
Objem	0,3	2,0	12,1	10,3	17,0	13,1	11,8	11,9	11,3	3,0	4,0	1,2	1,6	0,4	
Mléko ze středu dojení															
Počet	7,1	12,0	31,3	14,1	12,8	7,5	6,4	3,7	3,0	1,1	0,7	0,2	0,1	0,01	0,01
Objem	0,3	1,5	9,2	8,0	12,6	11,8	14,7	12,3	13,7	6,8	5,5	1,9	1,3	0,1	0,3
Mléko z konce dojení															
Počet	6,1	12,0	28,1	13,1	14,7	7,2	8,0	4,9	3,4	1,0	0,8	0,4	0,2	0,1	0,02
Objem	0,3	1,4	7,3	6,6	12,8	9,8	16,1	14,0	13,1	5,4	5,7	3,6	2,3	1,3	0,3

VII. Počet a objem mléčných tělísek tří velikostních skupin v mléce ze začátku, středu a konce doby dojení

	Mléčná tělíska o velikosti		
	1,0—2,5 mikronu	3,0—5,0 mikronu	5,5 a více mikronu
Mléko ze začátku dojení			
Počet mléčných tělísek	68,2	30,9	0,9
Objem mléčných tělísek	24,7	65,1	10,2
Mléko ze středu dojení			
Počet mléčných tělísek	64,5	33,3	2,1
Objem mléčných tělísek	19,0	65,1	15,9
Mléko z konce dojení			
Počet mléčných tělísek	59,3	38,2	2,5
Objem mléčných tělísek	15,6	65,8	18,6

Zde se jasně ukazuje, že počet nejmenších mléčných tělísek v průběhu dojení klesá, počet mléčných tělísek střední skupiny roste právě tak, jako počet mléčných tělísek třetí velikostní skupiny. Pokud však jde o objem, u nejmenších tělísek v průběhu dojení klesá, u středně velkých zůstává zhruba na stejné výši a objem největších tělísek vzrůstá.

Diskuse

Velikost mléčných tělísek v průběhu dojení roste, rozdíly však nejsou takové, jak by se mohlo usuzovat podle rozdílu tučnosti mléka. Mléčná tělíska ze středu dojení jsou jen o 3 % větší a tělíska z konce dojení jen o 6 % větší než tělíska z počátku dojení. Během dojení vzrůstá počet mléčných tělísek na 5,5 μ , i když tento vzrůst není rovněž zvlášť výrazný. Daleko nápadněji se to projevuje u objemu. Tyto závěry jsou podobné výsledkům Reissigové, přesto však jsme očekávali výraznější rozdíl a zejména pak výskyt nápadně velkých tělísek. Ta se však nevyskytla ani u jediného zkoumaného vzorku.

Zjištěné průměrné hodnoty počtu mléčných tělísek jsou u jednotlivých frakcí značně rozdílné a jejich poměr je 100 : 131 : 156. To potvrzuje, že mezi třemi zkoumanými vzorky mléka je rozdíl především kvantitativní, když počet tělísek v jednotlivých frakcích daleko zatlačuje průměrnou velikost tělíska.

Nelze přehlédnout to, že mléčná tělíska nepřesahují nikdy velikost 8 μ . Vzájemný poměr mléčných tělísek různé velikosti však odpovídá výsledkům Böhma a Lišky i váhového vyhodnocení Rahna aj. Celkové počty tělísek v mm^3 jsou však nižší než v práci Böhma a Lišky (hodnota počtu tělísek v mléce z konce dojení se blíží průměrné hodnotě ze zmíněné práce mléka o tučnosti 3,75 %). Tuto okolnost nemůžeme zatím vysvětlit.

Cílem práce však bylo pokusit se o srovnání s Turnerovou teorií. Výsledky potvrzují, že mléko vyprazdňované na počátku dojení je řídké, že obsahuje málo mléčných tělísek. V dalších frakcích počet mléčných tělísek v objemové jednotce vzrůstá. Výsledné hodnoty počtu jsou signifikantní. Vzrůst počtu mléčných tělísek větší velikosti v mléce ke konci dojení (vyjádřený jednak vyšší hodnotou průměrné velikosti, jednak vzrůstem počtu a objemu největších tělísek) podporuje Turnerovu teorii o obnovené sekreci větších mléčných tělísek během dojení. Přece jen

však chybí výskyt vysloveně větších tělísek z frakce mléka z konce dojení. Ke skutečnému průkazu nezbude než histologické vyšetření samotné mléčné žlázy.

Poměrnou vyrovnanost výsledků u jednotlivých vzorků mléka i celkově u jednotlivých zvířat lze vysvětlit tím, že skupina šesti zvířat byla rovněž vyrovnaná stejným věkem, druhou laktací, stejným krmením a ošetřováním, ruční dojení). Proto nemáme ve výsledcích takových diferencí jako třeba Reissigová.

Souhrn

Práce sleduje počet mléčných tělísek, podíl mléčných tělísek různé velikosti a jejich objem v mléce z počátku, ze středu a z konce doby dojení u 6 krav červenostrakatého skotu ve druhé laktaci. Tučnost mléka byla stanovena acidobutyrometricky podle Gerbera, počet mléčných tělísek přímým počítáním v Bürkerově komůrce a podíl mléčných tělísek různé velikosti mikrometricky na promítnutém negativu mikrofotografie.

V mléce z počátku dojení o průměrné tučnosti 2,2 % je v průměru 1 281 830 mléčných tělísek o průměrné velikosti 2,48 μ . V mléce ze středu doby dojení o průměrné tučnosti 4,9 % je průměrně 1 683 160 mléčných tělísek o průměrné velikosti 2,56 μ . V mléce z konce doby dojení o průměrné tučnosti 6,9 % je v průměru 1 902 330 mléčných tělísek o průměrné velikosti 2,63 μ .

Rozdíl ve složení mléka v průběhu dojení je, tedy především kvantitativní a projevuje se hlavně zvýšeným počtem mléčných tělísek v 1 mm³ (rozdíl mezi mlékem z počátku a z konce dojení je 56 %). Méně výrazný je rozdíl v průměrné velikosti mléčného tělíska (pouhých 6 %).

Počet menších mléčných tělísek v mléce v průběhu dojení mírně klesá, počet větších mléčných tělísek naopak mírně stoupá, což se projevuje jak v počtu, tak zejména v objemu mléčných tělísek (tabulka VII).

Došlo dne 22. 2. 1964

Literatura

1. Böhm R., Liška J.: Vztah mléčných tělísek k tučnosti mléka a k laktaci. Sborník VŠZ Brno, řada B, spis 000, 1964. — 2. Gutzeit E.: Die Schwankungen der mittleren Größe der Fettkügelchen in der Kuhmilch nach Laktation, Fütterung und Rasse sowie über den chemikalischen und physikalischen Unterschied der größten und kleinsten Fettkügelchen. Landw. Jahrb. 24, 539-667, 1895. — 3. Inichov G. S.: Biochemie der Milch und der Milchprodukte. Verlag Technik Berlin, 1958 (překlad z ruštiny). — 4. Liška J.: Počet a velikost mléčných tělísek v mléce skotu. Diplom. práce, VF VŠZ Brno, 1963. — 5. Rahn O.: Die Verteilung des Fettes in der Milch. Milchw. Forsch. 2, 383-405, 1925. — 6. Reissig G.: Untersuchungen über die Veränderungen des MilCHFettes beim gebrochenen Melken während der Laktationsperiode. Milchw. Forsch. 19, 273-291, 1938. — 7. Schneek A., Kohlhardt G.: Dispersoid-chemische Methoden zur Untersuchung der Milch. Milchw. Forsch. 9, 186-235, 1930. — 8. Turner C. W.: The anatomy of the mammary gland of cattle. I. Embryonic development. Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bul. 14, 1930. Cit. z Zieglera a Mosimanna. — 9. Ziegler H., Mosimann W.: Anatomie und Physiologie der Rindermilchdrüse. Parey, Berlin-Hamburg, 1960.

Молочные тельца в молоке в процессе доения

Работа изучает число молочных телец, процент молочных телец различной величины и их объем в молоке в начале, середине и конце доения у 6 коров красно-пестрого крупного рогатого скота во второй лактации. Жириность молока устанавливалась ацидобутирометрическим методом по Герберу, число молочных телец — путем непосредственного подсчета в камере Бюркера, а процент молочных телец различной величины — микрометрически на проектированном негативе микрофотографии.

В начале доения в молоке средней жирности 2,2 % находится в среднем 1,281 830 молочных телец со средней величиной 2,48 μ .

В середине доения в молоке со средней жирностью 4,9 % находится в среднем 1,683 160 молочных телец средней величины 2,56 μ .

В конце доения в молоке со средней жирностью 6,9 % находится в среднем 1,902 330 молочных телец средней величины 2,63 μ .

Следовательно, разница состава молока в ходе доения прежде всего количественная и проявляется главным образом в повышении числа молочных телец в 1 мм³ (разница между молоком в начале и конце доения составляет 56 %).

Менее заметна разница средней величины молочного телца (только 6 %).

Число меньших молочных телец в молоке в ходе доения немного понижается, число более крупных молочных телец, наоборот, несколько повышается, что проявляется как в числе, так особенно в объеме молочных телец (табл. 7).

Milk-Bodies in Milk in the Course of Milking

The article deals with the number of milk-bodies, with the portion of milk-bodies of various sizes, and with their volume in the milk at the beginning, in the middle, and at the end of the milking-time of six cows of the redspotted breed in their second period of lactation. The fat-content of the milk was determined by means of Gerber's acidobutyrometric method, the number of milk-bodies by direct counting in Bürker's chamber, and the portion of variously sized milk-bodies microscopically on a projected negative of a microphotography. At the beginning of milking the milk with an average fat-content of 2,2 % contains on an average 1,281.830 milk-bodies of an average size of 2,48 μ . In the middle of the time of milking the milk with an average fat-content of 4,9 % contains on an average 1,683.160 milk-bodies of an average size of 2,56 μ . At the end of milking the milk with an average fat-content of 6,9 % contains on an average 1,902.330 milk-bodies of an average size of 2,63 μ . The difference in the milk structure in the course of milking is above all quantitative, and shows mainly an increased number of milk-bodies in 1 cu. mm. (the difference between the milk at the beginning and at the end of milking is 56 %). The difference in the average size of the milk-body is less outstanding (as little as 6 %). The number of smaller milk-bodies in milk in the course of milking falls slightly, whereas the number of larger ones slightly increases, which appears both in the number and especially in the volume of the milk-bodies (table 7).

Fettkügelchen in Milch während des Melkens

In der Arbeit wird die Anzahl der Fettkügelchen, der Anteil an Fettkügelchen von verschiedener Größe und ihr Volumen in Milch zu Beginn, in der Mitte und beim Abschluß des Melkens bei sechs rotscheckigen Kühen in zweiter Laktation verfolgt. Der MilCHFettgehalt wurde mittels Gerber's acidobutyrometrischen Methode, die Anzahl der Fettkügelchen durch direkte Zählung in Bürker's Zählkammer und der Anteil der Fettkügelchen verschiedener Größe mikrometrisch auf projiziertem mikrophotographischen Negativ festgestellt.

In Milch zu Beginn des Melkens bei einem durchschnittlichen Fettgehalt von 2,2 % fand man 1,281.830 Fettkügelchen, die eine Durchschnittsgröße von 2,48 μ aufwiesen. Die in der Mitte des Melkens gewonnene Milch mit einem Fettgehalt von 4,9 % enthält durchschnittlich 1,683.160 Fettkügelchen, die eine Durchschnittsgröße von 2,56 μ haben. Die beim Abschluß des Melkens gewonnene Milch hat einen durchschnittlichen Fettgehalt von 6,9 %, die Durchschnittszahl der Fettkügelchen beträgt 1,902.330, die eine Durchschnittsgröße von 2,63 μ aufweisen. Der Unterschied in der Zusammensetzung der Milch im Verlaufe des Melkens ist demnach vor allem ein quantitativer und kommt hauptsächlich durch eine erhöhte Anzahl der Fettkörperchen in 1 mm³ zum Vorschein. (Der Unterschied zwischen der zu Beginn und beim Abschluß des Melkens gewonnenen Milch beträgt 56 %.) Der Unterschied der Durchschnittsgröße der Fettkügelchen ist weniger ausgeprägt (nur 6 %).

Die Anzahl der kleineren Fettkügelchen in Milch senkt sich während des Melkens ein wenig, wogegen die Anzahl der größeren einen mäßigen Anstieg aufweist; dies zeigt sich sowohl in der Anzahl wie auch besonders im Volumen der Fettkügelchen (Tafel VII).

Vztah leptospirózních infekcí koní k iridocyclochorioiditis recidivans

Отношение лептоспирозных инфекций лошадей к *iridocyclochorioiditis recidivans*

The Relation between Leptospirosis Infection of Horses and Iridocyclochorioiditis
recidivans

Die Beziehung der Infektion der Pferde mit Leptospiren zur Mondblindheit

Rapport des infections de leptospiroses des chevaux à l'égard de l'iridocyclo-
chorioiditis recidivans

Doc. MVDr. Zdeněk SOVA, CSc.

Vnitřní a infekční oddělení veterinární nemocnice, Pardubice

Úvod

V humánní medicíně je popsána řada případů, kdy v průběhu leptospirózní infekce či po ní došlo k těžkým zánětům vnitřního oka (Hanno a Cleveland 1949, Alexander et al. 1952 a další). Tato skutečnost dala podnět i ke sledování podobných onemocnění u zvířat, zvláště pak u koní, u nichž se vyskytující zánět vnitřního oka (měsíční slepota, *panphthalmia equi*, *iridocyclochorioiditis recidivans*, dále jen ICCH) byl dlouho bez spolehlivé etiologie.

Literární přehled

ICCH u koní byla dosud vysvětlována jako onemocnění dědičné (Maurer a Jones 1942), byl hledán vztah ICCH k avitaminóze B₂ (Jones et al. 1946), změny byly vysvětlovány účinkem anafylaktickým (Rossi a Kolochine Erber 1952), jako následek intoxikace histaminem (Mintschew 1938), jiní (Böhm a Superer 1954) považují za původce mikrofilarie *Onchocerca cervicalis*. Některé z uvedených teorií byly jinými autory popírány (Almasy et al. 1952, Dimič et al. 1959). Jiní považují za původce choroby bakterie nebo viry. Tak Dor (1906) se domnívá, že původcem je *Stafylokokus pyogenes aureus*, Rosenow (1927) *Flavobacterium ophthalmicae*, Rossi (1952) a Jones (1949) vidí vztah ICCH k brucelóze, Woods a Chesnay (1930) k virózám. Převážná většina pracovníků však považuje za původce ICCH leptospiry. Leptospirózní ICCH u lidí popisují Serr 1958 a další, u kočky Kathe 1953, u psů Veendal 1933 a Klarenbeek 1934) (citováno podle Moro 1953), u telete Hoag a Bell (1954).

Klinické i skryté formy leptospirózních infekcí u koní jsou v současné do-

bě v celém světě uznávány (Ljubašenko a Novikova 1947, Jivoín et all. 1957 — 1958, Zaharija 1952, Kemenes 1958 a další). V ČSSR byly dosud popsány akutní formy leptospiroz těchto sérotypy: *L. icterohaemorrhagiae* (Sova 1962), *L. ballum* (Sova 1958), *L. grippotyphosa* (Sova 1963) a *L. sejro* (Sova 1964). Leptospirozní etiologii u ICCH se zabývali v roce 1947: Rimpau, v roce 1948: Heuser; Sinkovic, v roce 1950: Yager et all.; Wood a Davis, v roce 1951: Schermer; Hilner; Hupka a Behrens, v roce 1952: Kalisch; Kemenes a Tamas; Bohl a Fergusson; Kathe et all.; Greve; Zaharija; Yager a Gochenour, v roce 1954: Rossi a Kolochine Erber; Schebitz, v roce 1955: Yamamoto, v roce 1956: Nicolescu et all., v roce 1957: Jivoín et all.; Gluhovschí et all.; Popovič a Bordjoski; Dimič, v roce 1958: Jivoín et all.; Gaspardis, v roce 1959: Zaharija a Premzl, v roce 1960: Zaharija et all. a v roce 1963: Dimič et all.

Vzhledem k prokázanému výskytu jak klinických, tak i subklinických forem leptospiroz v našich hospodářských podmínkách vzal jsem si za úkol zjistit, do jaké míry se podílejí i u nás leptospiry na etiologii ICCH.

Metodika

V průběžném klinickém materiálu vnitřního a infekčního oddělení veterinární nemocnice byla v letech 1954—1963 sledována problematika leptospiroz u koní. Ve spolupráci s leptospirologickými laboratoři (ÚEI Bratislava, vedoucí doc. dr. E. Kmetý, býv. SVVÚ Praha, vedoucí dr. Pokorný, leptospirologická laboratoř bývalé ČSAZV, vedoucí prof. dr. Jelínek a v menší míře též s OHES Jihlava, vedoucí dr. Šebek,) byli koně vyšetřováni aglutinino-lysinovou reakcí. Na základě poznatků z dřívějších sdělení (Sova 1960) byl u ICCH považován za nejnižší pozitivní titr 1 : 800.

a) Celkem bylo vyšetřeno 997 koní 1419krát, z části šlo o koně, u nichž se vyskytly některé z příznaků, uváděných u leptospiroz koní, část vyšetřených zvířat bylo bez klinických příznaků onemocnění.

b) V osmi ohniscích leptospiroz bylo vyšetřeno celkem 57 koní, nemocných na ICCH a 24 koní z jejich bezprostředního sousedství.

c) U tří pokusných koní byl vyvolán ve dvou případech zánět vnitřního oka aplikací 1 ml *Spirit. vini con.* do přední komory, u 1 případu byl proveden pokus o přenos ICCH z koně, trpícího akutním záchvatem (při titru 1 : 3200 s *L. grippotyphosa*) aplikací komorové tekutiny tohoto koně pokusnému hříběti do přední komory. U všech pokusných zvířat byly opakovaně sledovány leptospirozní titry.

d) Konečně byly sledovány leptospirozní protilátky u šestnácti koní, u nichž došlo k zánětu vnitřního oka po traumatu.

Vlastní práce

Celkem bylo vyšetřeno 997 koní 1419krát na leptospiry. Výsledky jsou shrnuty v tabulce I.

Při opakovaném vyšetření uveden jen výsledek s nejvyšším titrem.

Počet koní	Nejnižší pozitivní titr	Pozitivně reagovalo s následujícími serotypy										Pozitivní koně	
		<i>ictrh.</i>	<i>grip.</i>	<i>sejrö</i>	<i>pom.</i>	<i>austr.</i>	<i>sorex</i>	<i>canic.</i>	<i>mitis</i>	<i>ball.</i>	<i>saxkb.</i>	počet	%
997	1:800	45	93	69	1	14	6	15	1	12	1	257	25,7
	1:1600	15	68	32	1	3	3	10	0	4	0	136	13,6

Z celkového počtu 136 koní, reagujících v titrech 1 : 1600 a vyšších, byla zjištěna akutní klinická leptospiróza u osmnácti koní. Tyto případy byly vesměs publikovány (S o v a 1958, 1962, 1963 a 1964). U pěti z těchto koní došlo v průběhu onemocnění či po něm k projevům ICCH. Příznaky *iridocyclochorioiditis* byly zjištěny 70–350 dní od počátku onemocnění leptospirózou.

V osmi chovech, kde se vyskytla ICCH vždy nejméně u 2 případů, bylo vyšetřeno 57 nemocných koní a 24 koní, kteří s nimi byli bezprostředně ve styku, byli však bez klinických příznaků ICCH. Z těchto 24 suspektních koní byly zjištěny titry 1 : 800 pouze ve dvou případech (jednou *L. grippotyphosa*, jednou *L. australis*). Dále bylo vyšetřeno 24 sporadických případů ICCH. Celkem bylo tak možno vyšetřit 81 koní, nemocných ICCH, z toho pozitivně reagovalo 76 koní (93,7 %). Na pozitivních nálezech (při nejnižším pozitivním titru 1 : 800), se podílejí jednotlivé sérotypy takto: *L. grippotyphosa* v 53 případech (65,4 %), *L. sejrö* ve 14 případech (17,3 %), *L. icterohaemorrhagiae* a *L. australis* po 3 případech (to jest po 3,7 %) a *L. sorex*, *L. ballum* a *L. canicola* po 1 případu (po 1,2 %).

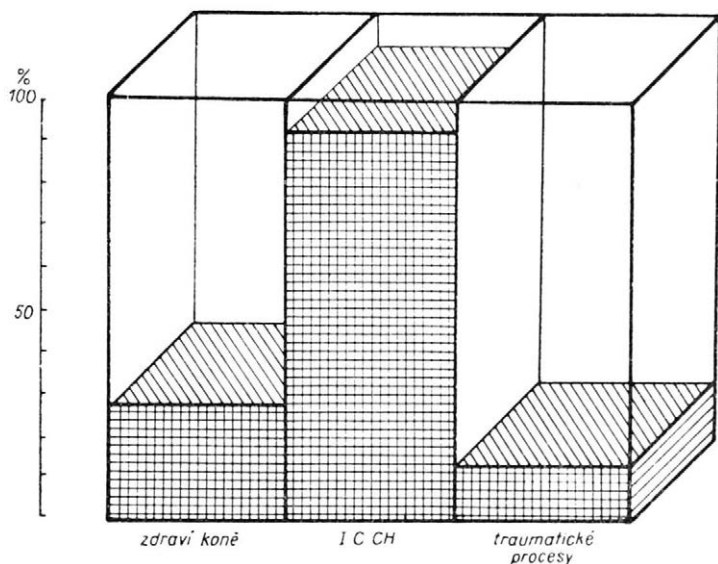
Aby bylo možno vyloučit vliv eventuálních patologických produktů, které vznikají jako reakce na zánět vnitřního oka a které by eventuálně mohly ovlivnit nespecificky vzestup titrů, byl u dvou koní proveden pokus o vyvolání zánětu vnitřního oka po aplikaci 1 ml *Spirit. Vini conc.* do přední komory pokusných koní. U obou koní byly sledovány leptospirózní titry před a po pokusu. Dále byl proveden pokus o přenos ICCH komorovým mokem z koně, trpícího akutním zánětem (při titru 1 : 3200 s *L. grippotyphosa*). I tento kůň byl opakovaně sledován. U žádného z pokusných koní, sedmkrát vyšetřených ve dvou až třídenních intervalech po provedení pokusu, nedošlo k žádným podstatnějším změnám v titrech. Klinicky došlo u všech tří pokusných koní k příznakům zánětu spojivek a zánětu vnitřního oka (*iritis*, *cyclitis* a *chorioiditis*), který nebylo možno odlišit od typické *iridocyclochorioiditis recidivans acuta*.

Pro srovnání bylo rovněž vyšetřeno 16 koní, u nichž byly prokazatelně zjištěny změny ve vnitřním oku po traumatu (perforace, traumatická *keratitis*, traumatická *iridocyclitis* apod.). Z celkem šestnácti koní byly prokázány titry 1 : 800 pouze u dvou koní (12,5 %) a to s *L. mitis* a *L. grippotyphosa*.

Diskuse

Hodnotíme-li titr 1 : 800 jako nejnižší pozitivní, pak v naší sestavě téměř 1000 koní reagovalo pozitivně 25,7 % všech vyšetřených na leptospirózu. U pěti koní z osmnácti, hospitalizovaných s akutní klinickou leptospirózou, došlo po 10–50ti týdnech od počátku onemocnění k příznakům ICCH. K podobným poznatkům došli

Wittmer et all. 1953, Roberts 1958, Vagni et all. 1954, Jivoín et all. 1957 a 1958. ICCH v průběhu akutního záchvatu popsali Jivoín et all. 1959 a Bokori et all. 1958. ICCH při experimentální leptospirózní infekci popisují Bürki et all. 1963, Gluhovschi et all. 1957 i Jivoín et all. 1959. V zahraničí je za původce ICCH považována *L. pomona*, vzácně i *L. grippotypbosa* (Hartwig a Stoebe 1953) či *L. icterohaemorrhagiae* (Caporale 1955, Gaspardis 1958). Našich 5 případů potvrzuje tyto zahraniční poznatky. Výsledky, dosažené při vyšetření 81 koní s příznaky ICCH, z nichž 57 pocházelo z osmi chovů či stájí, které bylo možno z hlediska nálezového považovat za možné ohnisko leptospirózy, mluví přesvědčivě pro leptospirózní etiologii našich případů, i když se nám v žádném případě přímým průkazem leptospiry nepodařilo prokázat. Hromadný výskyt ICCH byl sledován v hřebčíně K., při čemž bylo zjištěno, že nemocní koně měli v období recidiv vyšší pozitivní titry než v období klidu. Ke shodným poznatkům došli i Gluhovschi et all. 1957 a Jivoín et all. 1958. U koní, nemocných na ICCH jsem došel k poznatku, že je nutno hodnotit již titer 1:800 jako pozitivní, především zjistíme-li ho opakovaně, poněvadž u vyšetřovaných koní, zvláště trvalý proces dlouho, nejčastěji zachytíme titry již na sestupu. 93,7 % pozitivních představuje soubor výrazně odlišný od běžné populace. Můžeme proto i v našich podmínkách shodně s poznatky zahraničními (Heuser 1948, Yager a Gochenour 1952, Yamamoto 1955, Jivoín et all. 1957 i Popovič a Bordjowski 1957) hodnotit převážnou většinu případů ICCH jako pozdní projev překonané leptospirózní infekce, která v řadě případů měla jen subklinický průběh. Pokud jde o jednotlivé sérotypy, nejvíce se na ICCH na Pardubicku podílí *L. grippotypbosa* a *L. sejro* (dohromady z 83 %), zbytek představují ostatní sérotypy (*L. icterohaemorrhagiae*, *L. australis*, *L. sorex*, *L. ballum* a *L. canicola*). Jako kontrolní skupina k výše popsané sloužilo 16 koní s traumatickými procesy na očích a 3 případy experimentálně vyvolaných těžkých změn ve vnitřním oku. Skupina traumatických procesů očních (včetně obou koní,



Gr. 1. Srovnání tří sledovaných souborů při nejnižším pozitivním titru 1:800

- Koně bez příznaků ICCH (25,7 % pozitivních)
- Koně s iridocyclochorioiditis (93,7 % pozitivních)
- Traumatické procesy na očích (12,5 % pozitivních)

u nichž byl vyvolán zánět vnitřního oka aplikací *Spirit. Vini conc.* do přední komory) byla prokazatelně odlišná co do sérologických nálezů na leptospiry od skupiny zvířat s ICCH. Nezdařil se nám ani pokus o vyvolání leptospirózy po aplikaci komorového punktátu z pozitivního koně do přední oční komory pokusného koně. Průkaz leptospir v komorovém moku se zdařil jen zcela ojediněle (Hartwig a Stiebe 1953), většinou se předpokládá, že lze v komorovém moku prokázat spíše protilátky než přímého původce choroby (Marcenac 1954, Kathe 1950 a další). Konečně Rossi a Kolochine Erber 1954 považují ICCH za následný příznak celkového onemocnění, vyvolaný proniknutím leptospir krevními cestami do bulbu a předpokládají, že by se pravděpodobně spíše zdařil průkaz leptospir ze sklivce nebo z buněk duhovky, než z komorového moku.

Srovnání všech tří základních souborů, které byly sledovány, vyplývá z grafu 1, v němž lze pozorovat průkazně zvýšený výskyt pozitivních titrů pouze ve skupině prostřední s koňmi s ICCH. Můžeme tak na základě provedených šetření považovat převážnou většinu zánětů vnitřního oka u koní netraumatického původu, provázeného pozitivními leptospirózními titry s různými sérotypy, především s *L. grippotyphosa* a *L. sejro*, za specifické záněty vnitřního oka, k nimž dochází jako k pozdním příznakům překonané leptospirózy, která mohla proběhnout i subklinicky.

Souhrn

Při sledování vztahu leptospirózních infekcí k zánětu vnitřního oka u koní byly dosaženy tyto výsledky:

Počet vyšetřených koní	Diagnóza	Při nejnižším pozitivním titru 1:800 reagovalo na leptospirózu	
		koní	v %
81	<i>Iridocyclochorioiditis</i>	76	93,7
24	Klinicky zdraví koně z podezřelých stájí	4	16,6
16	Zánět vnitřního oka traumatického původu	2	12,5
997	Koně bez příznaků onemocnění očí	257	25,7

V okolí Pardubic jsou iridocyclochorioiditidy u koní v převážné většině případů leptospirózní etiologie. Ve sledovaném souboru podílela se na infekci: *L. grippotyphosa* (65 %), *L. sejro* (17,5 %), *L. icterohaemorrhagiae* (3,7 %), *L. australis* (3,7 %), *L. sorex* (1,2 %), *L. ballum* (1,2 %) a *L. canicola* (1,2 %).

Došlo dne 31. 1. 1964

Literatura

1. Alexander A. D., Baer J. R., Fair J. R., Gochenour W. S., King H. L., Yager R. H.: A. M. A. Arch. Ophthal. 48:292-297, 1952. — 2. Almasy F., Heusser H.: Schweiz. Arch. Thlknde. 94:329-336, 1952. — 3. Bohl E. H., Fergusson L. C. Journ. Amer. Vet. Med. Ass. 71:909-917, 1952. — 4. Bokori J., Hirt G., Kasza L., Kemenes F.: Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 8:265-289, 1958. —

5. Böhm K., Supperer B.: Wien. tierärztl. Mnschr. 41:129-140, 1954. — 6. Bürki F., Egli P., Wiesmann E.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 76:265-269, 1963. — 7. Caporale G.: Bull. Off. Int. Epizoot. 43:159-165, 1955. — 8. Dimić J., Šibalić S., Tadić M.: Wien. tierärztl. Mnschr. 46:374-380, 1959. — 9. Dor L.: Journ. Méd. Vét. 51:562-578, 1906. — 10. Gaspardis D.: Clin. vet. Milano, 81:73-79, 1958. — 11. Gluhovschi A., Topciu V., Meta J., Glavan B., Lustrea V.: Problem. vet. 3:16-19, 1957. — 12. Greve O.: Inaug. diss. der Freien Universität Berlin West 1953. — 13. Hanno H. A., Cleveland A. F.: Amer. Journ. Ophthalm. 32:1564-1571, 1949. — 14. Hartwick H., Stoebe H.: Tierärztl. Umsch. 8:154-157, 1953. — 15. Heusser H.: Schweiz. Arch. Thlknde 90:287-312, 1948. — 16. Hilner J.: Diss. Brno, 1951. — 17. Hoag W. B., Bell W. B.: Journ. Med. Vet. Ass. 125:381-386, 1954. — 18. Hupka H., Behrens H.: Dtsch. Tierärztl. Wschr. 58:245-248, 1951. — 19. Jivoiu P., Nicolescu Al., Lelutiu C., Sotiriu E., Gluhovschi A., Chergei A., Stica F.: Anural. I. P. I. A., Bucuresti 7:49-65, 1957. — 20. Jivoiu P., Nicolescu Al., Lelutiu C., Sotiriu E., Danciu E.: I. P. I. A. 8:29-41, 1958. — 21. Jones T. C., Body T. O., Maurer F. C.: Journ. Amer. Vet. Med. Ass. 7:403-416, 1946. — 22. Jones T. C., Body T. O., Maurer F. C.: Journ. Amer. Vet. Med. Ass. 114:329, 1949. — 23. Kalisch J.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 65:5-9, 1952. — 24. Kathe J.: Znttbl. f. Bakter. Parasit. Abt. I. Orig. 155:199-225, 1950. — 25. Kathe J.: VI. Int. Kongress Mikrobiol. Roma 51-52, 1953. — 26. Kemenes F., Tamas J.: Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 2:327-336, 1952. — 27. Kemenes F.: Mag. All. Lap. 13:151-154, 1958. — 28. Klarenbeek 1934 - cit. Moro 1953. — 29. Ljubašenko S. Ja., Novikova L. S.: Veterinarija 24, č. 5, str. 11, 1947. — 30. Marcenac J., Rev. Path. gen. comp. 54:480-487, 1954. — 31. Maurer F. D., Jones T. C.: Journ. Amer. Med. Vet. Ass. 101:248-250, 1942. — 32. Mintschew F.: Tierärztl. Rund. 44:748-753, 761-769, 1938. — 33. Moro F.: Ann. Ophthalm. e Clinica oculistica 79:531-554, 1953. — 34. Nicolescu Al., Lelutiu C., Murgu I., Urdea M.: Anural. I. P. I. A. 7:1-8, 1956. — 35. Popovic E., Bordjoski M.: Bull. Off. Int. Epiz. 47:1-2, 1957. — 36. Rimpau W.: Umsch. 13:177-178, 1947. — 37. Roberts S. J.: Journ. Amer. Vet. Ass. 133:189-194, 1958. — 38. Rosenow E. C.: Journ. Amer. Vet. Med. Ass. 71:378-383, 1927. — 39. Rossi P.: Bull. Acad. Vet. 25:337-342, 1952. — 40. Rossi P., Kolochine Erber B.: Cah. Med. Vet. 25:1-10, 1952. — 41. Rossi P.: Rev. Path. Gener. Comp. 65:432-479, 1954. — 42. Serr H.: Lehrbuch und Atlas der Augenheilkunde 1958. — 43. Schebitz H.: Brl. Münch. Tierärztl. Wschr. 67:29-39, 1954. — 44. Schermer J.: Mhft. Vet. Med. 6:1-4, 1951. — 45. Sinkovic H.: Diss. Gieszen 1948. — 46. Sova Z.: Vet. čas. 7:447-453, 1958. — 47. Sova Z.: Sborník ČSAZV Vet. med. 3:205-216, 1960. — 48. Sova Z.: Sborník ÚVTI MZLVH. Vet. med. 7/35:859-866, 1962. — 49. Sova Z.: Čs. parasitol. 10:147-161, 1963. — 50. Sova Z.: Čs. parasitol. 11:239-245, 1964. — 51. Vagni O., Mascaro L. A., Villegas C.: Rev. Vet. Mil. 19:188-195, 1954. — 52. Vandal: 1933 - cit. Moro, 1953. — 53. Wittmer E.: Amer. Journ. Ophth. 1953 (separát. otisk). — 54. Wood R. M., Davis C. R.: Amer. Journ. Ophthal. 33:961-963, 1950. — 55. Woods A. C., Chesnay A. M.: Journ. Exper. Med. 3:637-647, 1930. — 56. Yager R. H., Gochoenour W. S., Weltmore P. W.: Journ. Amer. Vet. Med. Ass. 117:207-209, 1950. — 57. Yager R. H., Gochoenour W. S.: Vet. Med. 48:218-220, 1953. — 58. Yamamoto S.: Off. Int. Epiz. Rapport a la 19. Session 1931, 1951. — 59. Zaharija I.: Vet. arh. 22:455-465, 1952. — 60. Zaharija I., Premzl D.: Vet. Arh. 29:5-6, 117-131, 1959. — 61. Zaharija I., Marolt J., Čermak K., Andrašić N., Sanković F.: Schw. Arch. Thlknde 102:400-408, 1960. — 62. Dimić J., Trbić M., Taslić J., Kakanović S.: Bull. Soc. Vet. et Méd. Comp. Lyon 65, 3, 1963.

Отношение лептоспирозных инфекций лошадей к *iridocyclochorioiditis recidivans*

При изучении отношения лептоспирозных инфекций к воспалению внутреннего глаза у лошадей были получены следующие результаты:

В окрестности Пардубице иридоциклохориоидиты лошадей в преобладающем большинстве имеют лептоспирозную этиологию. В изучаемой совокупности в инфекции имели место *L. grippothyphosa* (65%), *L. sejrö* (17,5%), *L. icterohaemorrhagiae* (3,7%), *L. australis* (3,7%), *L. sorex* (1,2%), *L. ballum* (1,2%) и *L. canicola* (1,2%).

Число обследо- лошадей ванных	Диагноз	При самом низком положительном титре 1 : 800 на лептоспироз реагировало	
		лошадей	в %
81	Iridocyclochorioiditis	76	93,7
24	Клинически здоровые лошади подозрительных конюшен	4	16,6
16	Воспаление внутреннего глаза травматического происхождения	2	12,5
997	Лошади без признаков глазных заболеваний	257	25,7

The Relation between Leptospirosis Infection of Horses and Iridocyclochorioiditis recidivans

In an investigation of the relation between leptospirosis infection and inflammation of the inner eye of horses the following results were obtained:

Number of horses examined	Diagnosis	At the lowest titre of 1:800 reacted to leptospirosis	
		horses	percentage
81	<i>Iridocyclochorioiditis</i>	76	93,7
24	Clinically healthy horses from suspected stables	4	16,6
16	Inflammation of inner eye of traumatic origin	2	12,5
997	Horses without any symptoms of diseases of the eye	257	25,7

In the neighbourhood of Pardubice iridocyclochorioiditis of horses is, in a pre-dominant majority of cases, etiologically leptospirosis. In the examined complex of infections the share of *L. grippotyphosa* was 65 per cent, of *L. sejrö* 17,5 per cent, of *L. icterohaemorrhagiae* 3,7 per cent, of *L. australis* 3,7 per cent, of *L. sorex* 1,2 per cent, of *L. ballum* 1,2 per cent, and of *L. canicola* 1,2 per cent.

Die Beziehung der Infektion der Pferde mit Leptospiren zur Mondblindheit

Bei der Untersuchung, ob zwischen der leptospiösen Infektion und der Mondblindheit bei Pferden eine Beziehung besteht, wurden folgende Ergebnisse erzielt:

In der Umgebung von Pardubice ist der Großteil der Erkrankungen der Pferde an Mondblindheit auf eine Infektion mit Leptospiren zurückzuführen. Der Anteil der einzelnen Leptospirentypen war der folgende: *L. grippotyphosa* 65 %, *L. sejrö* 17,5 %, *L. icterohaemorrhagiae* 3,7 %, *L. australis* 3,7 %, *L. sorex* 1,2 %, *L. ballum* 1,2 % und *L. canicola* 1,2 %.

Zahl der untersuchten Pferde	Diagnose	Bei niedrigstem positivem Titer 1:800 reagierten auf Leptospirose	
		Pferde	in %
81	<i>Iridocyclochorioiditis</i>	76	93,7
24	Klinisch gesunde Pferde aus verdächtigen Ställen	4	16,6
16	Innere Augenentzündung auf traumatischer Basis	2	12,5
997	Pferde ohne Symptome einer Augenkrankheit	257	25,7

Rapport des infections de leptospiroses des chevaux à l'égard de l'iridocyclochorioiditis recidivans

En suivant la relation entre les infections, dues aux leptospires et l'inflammation interne de l'oeil de cheval, on a obtenu les résultats suivants:

Nombre de chevaux explorés	Diagnostic	Au titre positif le plus bas = 1:800, c'est le nombre suivant de chevaux qui ont réagi à la leptospirose	
		Chevaux	en p. 100
81	<i>Iridocyclochorioiditis</i>	76	93,7
24	Chevaux cliniquement sains, provenant des étables suspectes	4	16,6
16	Inflammation de l'oeil intérieur, d'origine traumatique	2	12,5
997	Chevaux sans symptômes, accusant l'infection des yeux	257	25,7

Dans les alentours de Pardubice les iridocyclochorioiditis des chevaux sont dans la plupart des cas dues aux leptospires. Les leptospires ont participé à l'infection du groupe suivi dans l'ordre suivant: *L. grippotyphosa* (65 p. 100), *L. sejro* (17,5 p. 100), *L. icterohemorrhagiae* (3,7 p.100), *L. australis* (3,7 p. 100), *L. sorex* (1,2 p. 100), *L. ballum* (1,2 p. 100) et *L. canicola* 1,2 p. 100).

Příspěvek k vlivu ionizujícího záření na bílkovinný dusík a draslík

К вопросу влияния ионизирующего излучения на белковый азот и калий

On the Influence of Ionizing Radiation on Proteinic Nitrogen and Potassium

Über den Einfluß der ionisierenden Strahlung auf den Eiweißstickstoff und das Kalium

Contribution à l'influence de l'irradiation ionisante sur l'azote et sur le potassium albuminoïdes

Contribución a la influencia de la irradiación ionizante al nitrógeno y potasio de la proteína

RNDr. Vilma KALOUSOVÁ, MVDr. Josef JANÍČEK, CSc.
Veterinární výzkumné středisko, Praha

Úvod

V dostupné literatuře zahraniční, jakož i v literatuře domácí, byl minerální metabolismus po ozáření studován převážně z hlediska patofyziologie nemoci z ozáření. Většina autorů sledovala hladinu draslíku, sodíku, event. chloridů v krvi a jen ojedinělé práce se dotýkají problému tkáňových elektrolytů v ozářeném organismu. Výsledky těchto prací jsou často protichůdné a nepodařilo se dosud vytvořit dostatečně úplný obraz z tohoto hlediska (10).

Je známo, že při akutní nemoci z ozáření se narušuje činnost nadledvinek, zejména kory nadledvinek. Kora nadledvinek ztrácí značnou část lipidů, cholesterolu a steroidních hormonů, k nimž patří hormony, které regulují hladinu sodíku a draslíku v krvi a ve tkáních. Přesto, že mnozí autoři vycházeli v koncepci své práce z těchto skutečností, bylo zjištěno, že i při akutní nemoci z ozáření zůstává zachována schopnost nadledvinek regulovat minerální výměnu.

Přehled literatury

Bowers a Davenport (4) zjistili, že u krys po ozáření subletálními dávkami dochází k negativní bilanci natria, kalia a chloridů. Smyslem jejich práce bylo přispět k objasnění vlivu anorexie, která se objevuje po ozáření na množství vylučovaných elektrolytů.

Goodman a Vogel (8) při sledování kalia a natria v séru ozářených králíků zjistili zvýšení kalia před exitem. Toto signifikantní zvýšení považují spíše za výsledek sumace patofyziologických stavů organismu, vedoucího k exitu.

Příkladem rozdílnosti získaných výsledků jsou práce Sobermana aj.

(13), kteří nenalezli v séru psů po ozáření dávkou 450 a 500 r žádné podstatné změny ani kationtů, ani aniontů. Naproti tomu Bennet aj. (2) zjistili, že v krevní plazmě krys dochází ke zvýšení sodíku a draslíku 3. a 4. den po ozáření.

Vylučování sodíku a draslíku z organismu po ozáření studovali za použití radioaktivního sodíku a draslíku Bowers a Scott (5). V moči krys našli zvýšené vylučování draslíku, reciproké snížení vylučování sodíku a zvýšené množství sodíku a draslíku ve stolici. U krys, ozářených dávkou 1500 vzrostlo vylučování draslíku močí a stolicí 1. a 3. den po ozáření, vylučování sodíku podstatně narůstalo 3. den po ozáření s přetrváváním až do exitu. Draslík se vylučoval močí, sodík hlavně zažívacím traktem. Obdobné výsledky jsou zachyceny v práci Jacksona a spol. (11), přičemž množství draslíku u ozářených krys bylo vyšší o 27 % než u kontrolní skupiny, zatímco vyloučeného sodíku o 138 %.

Caster a Armstrong (6) sledovali po celotělovém ozáření detailní vyplavování chloridů z tělesných tkání do zažívacího traktu. Upozorňují na důležitou úlohu pojivové tkáně; ztrátu celkového tělesného draslíku uvádějí do přímé souvislosti se ztrátou svalové hmoty. Změny v koncentraci tkáňového draslíku jdou přibližně paralelně se změnami koncentrace DNK, ale jsou méně význačné. Ze změn draslíku a DNK sestavili autoři index radiosenzitivity jednotlivých tkání.

U krys po ozáření 800 r dochází ve tkáni podle Beutela a Winterra (3) ke zvýšení koncentrace chloridů v následujících dnech po ozáření. V játrech naproti tomu byl zjištěn pokles.

McDonald a Roos (12) ve svých pracech sledovali změny tkáňových elektrolytů u psů po ozáření 550 r. Při sledování hladiny draslíku, sodíku a chloridů v tkáních zjistili, že ani v orgánech, podle autorů označovaných jako mírně radiosenzitivní, jako jsou játra, ledviny a nadledvinky, nedochází k velkým změnám v hladině draslíku, zatímco sodík a chloridy jsou mírně zvýšeny.

Wilde a Sheppard (14) sledovali ve své práci, dochází-li po ozáření nadletálními dávkami ke změně permeability svalových vláken. Zvířatům byla ozařována vždy jedna končetina za současného chránění zbytků těla. Do 22 hodin po ozáření se na ozařované končetině vytvořil otok, došlo ke zvýšení množství extracelulárních tekutin. U dávek 65 000 a 73 000 r byl nalezen značný vzrůst sodíkového prostoru; obsah draslíku u všech dávek zůstal nezměněn.

Hempelmann (9) popisuje výsledky získané při ošetřování pacientů vystavených různým dávkám záření při havarii atomového reaktoru v Los Alamos. U pacienta, který obdržel celotělově dávku asi 1930 fyzikálních ekvivalentů rentgenů bylo množství draslíku vyloučeného močí za den v 1., 2., 6. a 8. dni po ozáření 33,9 — 27,8 — 163,7 — 38,4 mgekv. Normální hodnoty se obvykle pohybují mezi 40 až 65 mgekv/den.

Při sledování vlivu velkých dávek lokálního ozáření na obsah sodíku a draslíku v kosterní svalovině našel Baldini (1) značný pokles draslíku a vzestup sodíku po dávce 10 000 r. Tyto změny nemohou být chápány jako specifická odpověď na vliv ionizujícího záření. Pokles draslíku a vzestup sodíku však může vysvětlit modifikované změny excitability a kontrakility, kterou někteří autoři pozorovali u svalů ozářených velkou dávkou ionizujícího záření.

Metodika

Sledování jsme prováděli na krysách kmene Wistar (Mezno) o váze 180 až 220 g. Krysy byly krmeny standartní Larzenovou dietou, vody dostávaly *ad libitum*.

Bílkovinný dusík byl sledován fotometricky biuretovou metodou, draslík pak v louhovém extraktu metodou plamenné fotometrie. Standardizace metody byla provedena kaseinem, ve kterém byl stanoven dusík Kjeldalovou metodou.

Technické podmínky ozařování: rtg přístroj Fedrex 250, 200 kV, 4 mA, OK — 83 cm, vnitřní filtrace rentgenky PV 0,7 mm Cu, příliv 10 r za 1 min., dozimetr Siemens univerzal.

Při standardizaci metody a stanovení hodnot kontrolní skupiny jsme zjistili poměrně velké rozpětí mezi normálními hodnotami draslíku ve svalové tkáni krys. Tuto skutečnost jsme se snažili omezit prací na jednom zvířeti. V eterové narkóze byl krysám vyjmut *m. extensor digitorum longus dx.* a po chirurgickém ošetření rány bylo zvíře druhý den ozářeno zvolenou dávkou. Ve stanovených časových intervalech byl vyjmut tentýž sval zvířeti z druhé nohy a zvíře bylo utraceno. Ve svaích zvířat kontrolních, jakož i ozařených byly provedeny příslušné analýzy.

Nalezené výsledky tvoří vždy průměrnou hodnotu získanou z 8–10 pokusných zvířat.

U všech dávek, použitých při naší práci byl sledován klinický stav jednotlivých zvířat; u zvířat uhynulých bylo provedeno patologicko-anatomické vyšetření.

Výsledky a diskuse

V úvodu naší práce jsme provedli stanovení letality u laboratorních krys po různých dávkách zařízení. Do pokusu byly brány skupiny po 25 krysách, které byly ozařeny 600 r, 800 r, 1000 r, 1200 r, 1500 r a 2000 r a u nichž byla sledována úmrtnost v průběhu 30 dnů. Z hlediska možnosti porovnání výsledků naší práce s pracemi jiných autorů v jiném metodickém uspořádání jsme ozařovali stejné skupiny krys zdravotnickým hloubkovým rentgenem (Meta). Výsledky srovnání letality krys po ozaření oběma typy rentgenu jsou uvedeny v tab. I.

I.

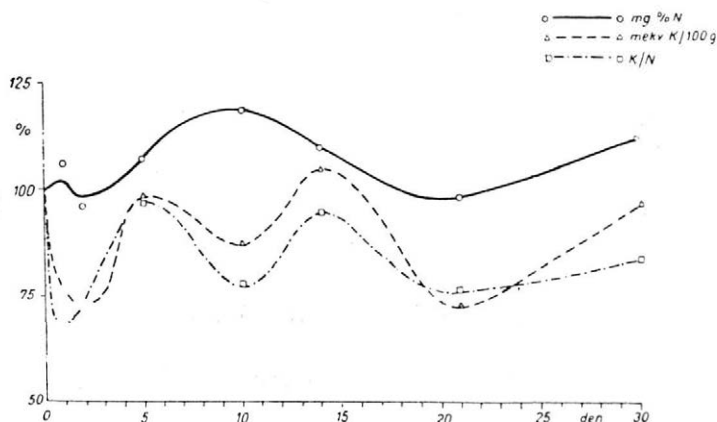
Rtg terapeutický (Meta)			Rtg průmyslový (Phedrex)			
Počet ozařených	Počet uhynulých	%	Dávka	Počet ozařených	Počet uhynulých	%
24	7	29,17	600 r	25	6	24
24	9	37,5	800 r	30	29	96,6
24	12	50	1000 r	25	25 (7. den)	100
24	21	87,5	1200 r	25	25 (6. den)	100
24	21	87,5	1500 r	25	25 (4. den)	100
24	24	100	2000 r	26	26 (4. den)	100

V další části práce byla pozornost zaměřena na sledování bílkovinného dusíku, draslíku a poměru K/N; volba draslíku byla podmíněna v této fázi naší práce tím faktem, že tento prvek se vyskytuje v největším zastoupení v masě a objevují-li se poruchy minerálního metabolismu, bývá v největší míře postižen draslík; stejně tak poměr K/N sledovaný v naší práci představuje v organismu značně stabilní biologickou rovnováhu.

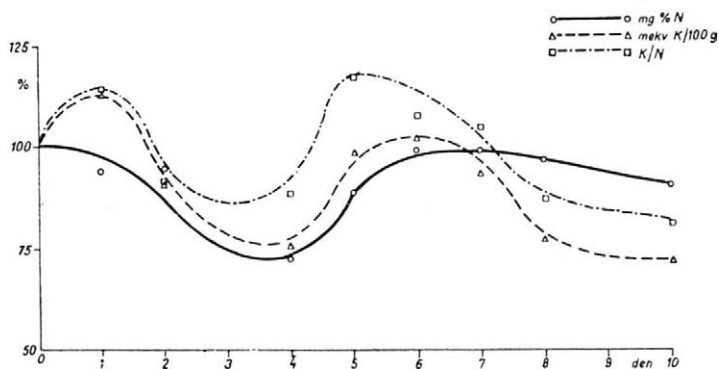
Při kompletaci výsledků pro grafické zpracování jsme pro větší názornost vyhodnotili rozdíly pokusných a kontrolních hodnot v %; výsledky našich pokusů jsme pak vyhodnotili statisticky podle t-testu.

Grafické vyjádření našich výsledků je zachyceno na grafech č. 1—6.

Shrneme-li dosažené výsledky, můžeme konstatovat, že při použití dávky 600 r, která v našem uspořádání představovala LD 25/30, nedochází po celé sledované období k žádné významné změně v hladině dusíku a kolísání, pokud



Graf 1: N a K ve svalu krys — dávka 600 r

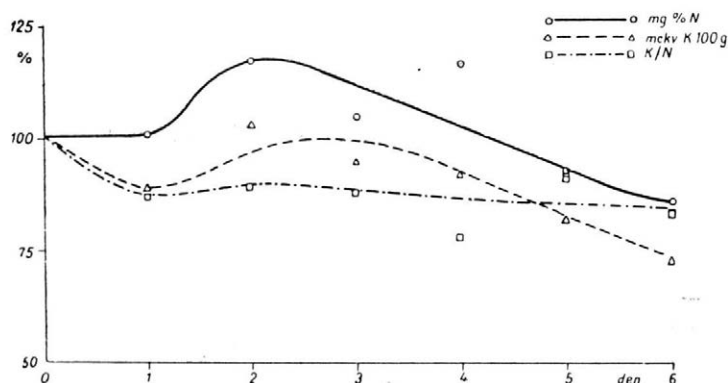


Graf 2: N a K ve svalu krys — dávka 800 r

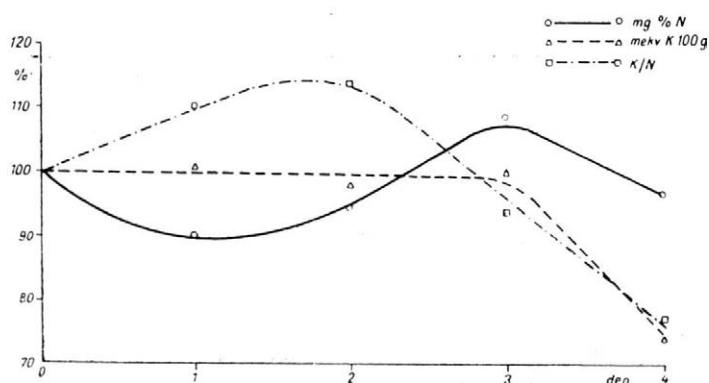
je zaznamenáno, bylo v mezích normálu. Hladina draslíku vykazuje s výjimkou 14. dne poklesy bez statistické významnosti. Pokud jde o pokles zaznamenaný 2. den po expozici, je na hranici statistické významnosti ($P = 0,1$). Také v poměru K/N nebyly zachyceny signifikantní poklesy.

Při sledování změn zvolených hodnot u dávky 800 r byl zaznamenán ne-signifikantní pokles dusíku okolo 4. dne po expozici s následnou normalizací k původním hodnotám. U draslíku dochází jako důsledek rozvoje nemoci z ozáření ke snížení hladiny; v poměru K/N byl zachycen dvojitý pokles během sledovaného období (3. a 4. den a konečně před exitem).

U zbývajících dávek, které možno charakterizovat souhrnně, byl zjištěn statisticky významný pokles draslíku a poměru K/N u všech sledovaných dávek, zvláště ve druhé polovině rozvoje radiačního poškození. Pokud jde o hodnocení hladiny sledovaného dusíku, bylo zjištěno u těchto dávek kolísání v mezích

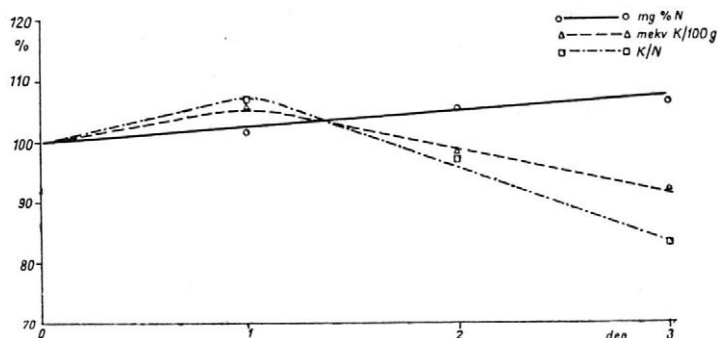


Graf 3: N a K ve svalu krys — dávka 1000 r

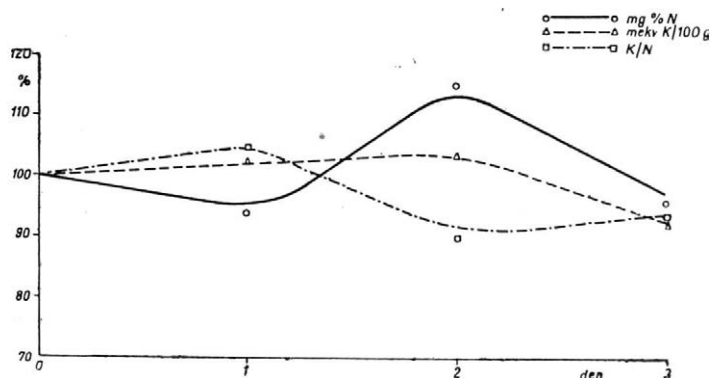


Graf 4: N a K ve svalu krys — dávka 1200 r

normálu. U těchto posledně jmenovaných dávek, které můžeme označit jako dávky více jak letální, dochází ke sdružování projevů přímé poruchy tkání a projevů poškození nadledvinek s jejich insuficiencí, tedy za okolností, kdy ledvinky ještě přiměřeně fungují. Je tedy možno říci, že za těchto okolností je zde řada momentů, připomínajících akutní renální insuficienci (7).



Graf 5: N a K ve svalu krysy — dávka 1500 r



Graf 6: N a K ve svalu krysy — dávka 2000 r

Souhrn

1. V práci byl sledován vliv ionizujícího záření na hladinu bílkovinného dusíku a draslíku ve svalové tkáni krysy.

2. V rámci předložené práce bylo provedeno srovnání účinnosti vlivu zdravotnického hloubkového rentgenu spolu s průmyslovým defektoskopickým rentgenem.

Byla pozorována časnější mortalita krysy ozářených průmyslovým rentgenem.

3. U dávek letálních nebyly nalezeny žádné významné rozdíly v hladině sledovaných hodnot; statisticky významný pokles draslíku a poměru K/N byl zachycen u dávek superletálních.

Došlo dne 14. 6. 1963

*

Autoři děkují za technickou spolupráci ss. M. Vlčkové a J. Horákové.

Literatura

1. Baldini G.: Radiobiol. Fis. Med. 12, 20, 1957. — 2. Bennet L. R., Bennet V.: Fed. Proc. 8, 350, 1949. — 3. Beutel A., Winter K. A.: Strahlentherapie 54, 89, 1935. — 4. Bowers J. Z., Davenport V., Christensen N., Goodner C. J.: Radiology 61, 97, 1953. — 5. Bowers J. Z., Scott K. G.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78, 645-652, 1951. — 6. Caster W. C., Armstrong W. D.: Rad. Research 5, 189, 1956. — 7. Cort J. H., Fencel V.: Tělesné tekutiny. Státní zdravotnické nakladatelství, Praha 1957. — 8. Goodman R. D., Vogel M.: Am. J. Physiol. 175, 29, 1953. — 9. Hempelmann L. H., Lisco H., Hoffmann J. G.: Ann. Inter. Med. 36, 279, 1952. — 10. Ivanov J. J., Balabucha V. S., Romanov E. F., Fedorova T. A.: Obmen věšćev pri lučevoj bolezni, Moskva 1956. — 11. Jackson K. L., Rhodes R., Entenman C.: Radiation Res., 8, 361, 1958. — 12. McDonald R. E., Ross E., Jensen R. E., Urry H. C., Price P. B.: Am. J. Roentgenol. 74, 889, 1955. — 13. Soberman R. J., Keating, Maxwell K. D.: Am. J. Physiol. 164, 450, 1951. — 14. Wilde W. S., Sheppard C. W.: Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 94, 129, 1957.

К вопросу влияния ионизирующего излучения на белковый азот и калий

1. В работе изучалось влияние ионизирующего излучения на уровень белкового азота и калия в мышечной ткани крыс.

2. В рамках предлагаемой работы проводилось сравнение эффективности влияния медицинского рентгена для глубинного просвечивания вместе с промышленным дефектоскопическим рентгеном.

Наблюдалась более ранняя смертность крыс, облученных промышленным рентгеном.

3. У смертельных доз не было установлено никаких существенных различий в уровне изучаемых величин; статистически значимое снижение калия и отношения K/N было установлено у сверхсмертельных доз.

On the Influence of Ionizing Radiation on Proteinic Nitrogen and Potassium

1. The work deals with the influence of ionizing radiation on the level of proteinic nitrogen and potassium in muscular tissue of rats.

2. In the scope of the work submitted the effectiveness of the influence of medical deep roentgen-device was compared with the industrial defectoscopic roentgen-device. An earlier mortality of rats irradiated with the industrial roentgen-device was observed.

3. No significant differences were found in the levels of the values followed; statistically significant decrease of potassium and the potassium nitrogen ratio was recorded in the superlethal doses.

Über den Einfluß der ionisierenden Strahlung auf den Eiweißstickstoff und das Kalium

1. In der Arbeit wurde der Einfluß der ionisierenden Strahlung auf das Eiweißstickstoff- und Kaliumniveau im Muskelgewebe bei Ratten verfolgt.

2. Man verglich die Wirksamkeit des therapeutischen mit dem in der Industrie

angewandten defektoskopischen Roentgengerät. Frühere Mortalität bei den mit Industrieröntgen bestrahlten Ratten wurde beobachtet.

3. Bei letalen Dosen wurden keine signifikanten Unterschiede des Niveaus der verfolgten Werte gefunden; eine statistisch signifikante Herabsetzung des Kaliumgehaltes und des K/N-Verhältnisses wurde bei superlethalen Dosen festgestellt.

Contribution à l'influence de l'irradiation ionisante sur l'azote et sur le potassium albuminoïdes

1. Dans le travail on suivant l'influence de l'irradiation ionisante sur le niveau de l'azote albuminoïde et du potassium dans le tissu musculaire des rats.

2. Dans le cadre du travail présenté, on a effecuté la comparaison entre l'efficacité de l'influence de la radioscopie médicale de profondeur et la radioscopie déféctoscopique industrielle.

On observait une mortalité plus précoce des rats, irradiés par l'appareil radiologique industriel.

3. Quant aux doses léthales, on n'a constaté aucune différence importante du niveau des valeurs suivies; ce n'est que pour les doses superléthales qu'on a constaté un abaissement de potassium et de rapport K/N, statistiquement important.

Contribución a la influencia de la irradiación ionizante al nitrógeno y potasio de la proteína

1. En el tratado fué observada la influencia de la irradiación ionizante del nitrógeno y del potasio en el tejido muscular de las ratas.

2. En el marco del trabajo presentado fué realizada la comparación de la eficiencia de la influencia del aparato de rayos X medicinal de irradiación profunda junto con el aparato de rayos X defectoscópico industrial.

Se notó una mortalidad prematura de las ratas irradiadas con aparato de rayos X industrial.

3. En las dosis letales no se han hallado diferencias de cierta importancia en el nivel de los valores observados. Descendencia importante del punto de vista estadístico del potasio y de la relación de C/N fué observada en las dosis superletales.

- Hejliček K.: Studium výskytu protilátek proti tuberkulóze u krav v cho-
vech s různou epizootickou situací
Изучение наличия антител против туберкулеза у коров в стадах с различной
эпизотической ситуацией
The Study of the Occurrence of Antibodies against Tuberculosis in Cows
of Herds with a Different Epizootic Situation
Über das Auftreten von Antikörpern gegen Tuberkulose bei Kühen aus
Zuchten mit verschiedener epizootischer Situation
Etude de l'apparition des antigènes contre la tuberculose des vaches se
trouvant dans les élevages ayant une situation épizootique variée
Estudio de la presencia de los antígenos contra tuberculosis de vacas en
crías de ganado vacuno con diferente situación epizootica 261
- Jiran E.: Infekční zánět jater psů (Rubarth). Isolace a kultivace viru
Инфекционный гепатит собак (Рубарт). — Изоляция и культивация вируса
Infectious Canine Hepatitis (Rubarth) Isolation and Cultivation of the Virus
Infektiöse Leberentzündung der Hunde (Rubarth). Isolierung und Kulti-
vierung des Virus
L'inflammation contagieuse du foie des chiens (Hépatite du foie in-
fectieuse). L'isolation et la cultivation du virus
Hepatitis infectiosa de los perros (Rubart). Aislamiento y cultivación
del virus 267
- Kubín I.: Naše zkušenosti s aglutinací při vyšších teplotách (tzv. Hitze-test)
k rozlišení nízkých aglutinačních títů
Наш опыт с агглютинацией при повышенных температурах (так наз. Hitze-
test) для различения низких агглютинирующих титров
Our Experiences with Agglutination at Higher Temperatures (the so-called
Heat-Test) for the Differentiation of Low Agglutination Titres
Unsere Erfahrungen mit der Augglutination bei höheren Temperaturen
(dem sog. Hitzetest) zur Unterscheidung niedriger Agglutinationstiter
Nos expériences avec l'agglutination au cours des températures élevées
(le soi-disant test d'Hitze) pour pouvoir différencier les titres bas d'ag-
glutination
Nuestras experiencias con aglutinación en temperaturas más elevadas
(así llamado Hitze-test) para la diferenciación de las bajas titulaciones de
la aglutinación 273
- Starošík L., Kaláb D.: Použitelnost vibračního míchadla při hloubkové
kultivaci mikrobů
Применимость вибрационной мешалки при глубинной культивации микробов
The Applicability of Vibrators for the Deep cultivation of Microbes
Die Verwendung des Vibrationsmischer bei der Tiefkultivation der Mikro-
ben
Utilisation de l'agitateur de vibration au cours de la cultivation profonde
des microbes
Utilidad de la mezcladora vibratoria en la cultivación profunda de los
microbios 281
- Böhm R., Grucký J.: Mléčná tělíska v mléce během dojení
Молочные тельца в молоке в процессе доения
Milk-Bodies in Milk in the Course of Milking
Fettkügelchen in Milch während des Melkens
Corpuscules mammaires en lait au cours de la traite
Corpusculos mamarios en la leche durante el ordeño 287

- Sova Z.:** Vztah leptospirozních infekcí koní k iridocyclochorioiditis recidivans
 Отношение лептоспирозных инфекций лошадей к iridocyclochorioiditis recidivans
 The Relation between Leptospirosis Infection of Horses and Iridocyclochorioiditis recidivans
 Die Beziehung der Infektion der Pferde mit Leptospiren zur Mondblindheit
 Rapport des infections de leptospiroses des chevaux à l'égard de l'iridocyclochorioiditis recidivans
 Relación de las infecciones leptospirosas de caballos a la iridocyclochorioiditis recidivans 295
- Kalousová V., Janíček J.:** Příspěvek k vlivu ionizujícího záření na bílkovinný dusík a draslík
 К вопросу влияния ионизирующего излучения на белковый азот и калий
 On the Influence of Ionizing Radiation on Proteinic Nitrogen and Potassium
 Über den Einfluß der ionisierenden Strahlung auf den Eiweißstickstoff und das Kalium
 Contribution à l'influence de l'irradiation ionisante sur l'azote et sur le potassium albuminoïdes
 Contribución a la influencia de la irradiación ionizante al nitrógeno y potasio de la proteína 303

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozboru a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu v oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství, lesního a vodního hospodářství. Vychází šestkrát ročně. Celoroční předplatné 60 Kčs. Redakce: Praha 2, Mánesova 75, telefon 274551-8. Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS — ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ul. 14, Praha 1. Lze též objednat u každé pošty nebo doručovatele. Objednávky 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*41422