VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

3

ROČNÍK 11 (XXXIX)
PRAHA,
BŘEZEN 1966
CENA 10 Kčs

Vědecký časopis

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

■

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbory a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství a lesního hospodářství. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—

■

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по научному исследованию в области ветеринарной медицины. Издает Институт научно-технической информации Министерства сельского и лесного хозяйства. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Слезска 7.

■

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Institute of Scientific and Technical Information of the Ministry of Agriculture and Forestry Management. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7

■

Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben vom Institut für wissenschaftlich-technische Informationen des Ministeriums für Land- und Forstwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion Praha 2, Slezská 7

■

Le journal scientifique VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publie les études, analyses et traités scientifiques concernant les tâches de recherches résous dans le domaine de médecine vétérinaire. Publié par l'Institut des renseignements scientifiques et techniques du Ministère de l'agriculture et des forêts. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7

J. Bartoš

SROVNÁNÍ DEZINFEKČNÍ ÚČINNOSTI ČTRNÁCTI LÁTEK NA *Mycobacterium phlei* PŘI POUŽITÍ SUSPENZNÍ METODY A METODY NOSIČŮ

Literární údaje o látkách, které jsme studovali, jsme uvedli v předchozích pracech (Bartoš 1963, Bartoš 1964a, Bartoš 1964b, Bartoš 1965). V těchto pracech jsou popsány též metodiky, jichž jsme použili k testování. V tomto sdělení se tedy omezujeme pouze na srovnání výsledků účinnosti 14 látek při použití dvou různých metodik. Uvádíme pouze výsledky, jichž jsme dosáhli pomocí látek rozpuštěných nebo ředěných sterilní destilovanou vodou bezprostředně před pokusem. Uvádíme jen expoziční dobu 30, 60 min. a 3 hod. a pouze výsledky s těmi koncentracemi dezinfekčních látek, které byly testovány v největším počtu testů. Testy, při nichž došlo ke kontaminaci, byly eliminovány z dalšího procentuálního hodnocení účinnosti jednotlivých látek. Pro větší celkovou přehlednost spojujeme do jedné skupiny ty výsledky, jichž bylo dosaženo různými vzorky (šaržemi) stejných látek a též byly-li k látkám přidávány různé přísady pro zlepšení rozpustnosti látek. Počet testů se pohyboval od 5 do 69 s každou látkou a koncentrací. Převážná většina byla však testována deset- až dvacetkrát.

SOUHRNNÉ VÝSLEDKY POKUSŮ

Souhrnné výsledky udávají obr. (grafy) 1—4. Z obr. 1 vidíme, že při testování suspenzní metodou za přítomnosti kravských *faeces* působily při 30 min. expozici baktericidně ve 100% pokusů tyto látky a koncentrace: 1% kyselina peroctová, 2% krezolový řez, 4% hexachlorofén, 5% Chloramin B, 5% Delegol T, 0,5% kyselina peroctová a 1% Topane W. S.

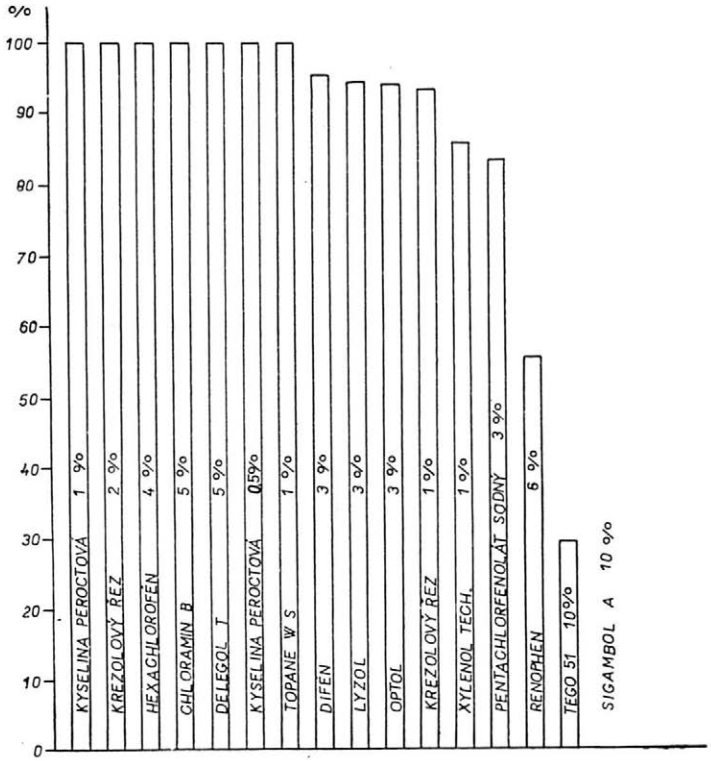
Další látky působily baktericidně v menším % pokusů: 3% difén v 95,2 %; 3% Lyzol v 94,2 %; 3% optol v 94,1 %: 1% krezolový řez v 93,3 %; 1% xylenol technický v 85,7 %; 3% pentachlorfenolát sodný v 83,3 %; 6% Renophen v 55,5 %; 10% Tego 51 v 29,4 % a 10% Sigambol A v 0,0 %.

Obr. 2. uvádí výsledky, jichž bylo dosaženo při použití stejné metody, ale při prodloužení expoziční doby na 60 min. Baktericidně působily ve 100 % pokusů tyto látky a koncentrace: 1% kyselina peroctová, 2% krezolový řez, 4% hexachlorofén, 5% Chloramin B, 5% Delegol T a 3% difén.

Další látky působily baktericidně v menším % testů: 1% Topane W. S. v 97,2 %; 3% Lyzol v 96,4 %; 3% optol v 93,3 %; 1% krezolový řez v 93,3 %; 1% xylenol technický v 93,3 %; 0,5% kyselina peroctová v 90 %; 3% pentachlorfenolát sodný v 84,6 %; 6% Renophen v 80 %; 10% Tego 51 v 64,7 % a 10% Sigambol A v 0,0 %.

Při testování metodou dřevěných nosičů znečistěných kravskými výkaly působil baktericidně při 1 hod. expozici ve 100 % testů pouze 1% roztok kyseliny peroctové, jak je patrno z obr. 3.

Další látky a koncentrace působily baktericidně v menším % testů: 0,5% kyselina peroctová v 94,9 %; 0,1% kyselina peroctová v 68 %; 6% krezolový řez v 50 %; 6% Chloramin B ve 44,4 %; 4% hexachlorofén v 42,1 %; 6% xylenol technický ve 40,9 %; 10% Lyzol ve 23,7 %; 5% pentachlorfenolát sodný v 11,8%, 10% Topane W. S. v 10,5 %; 6% optol v 10,0 %; 20%



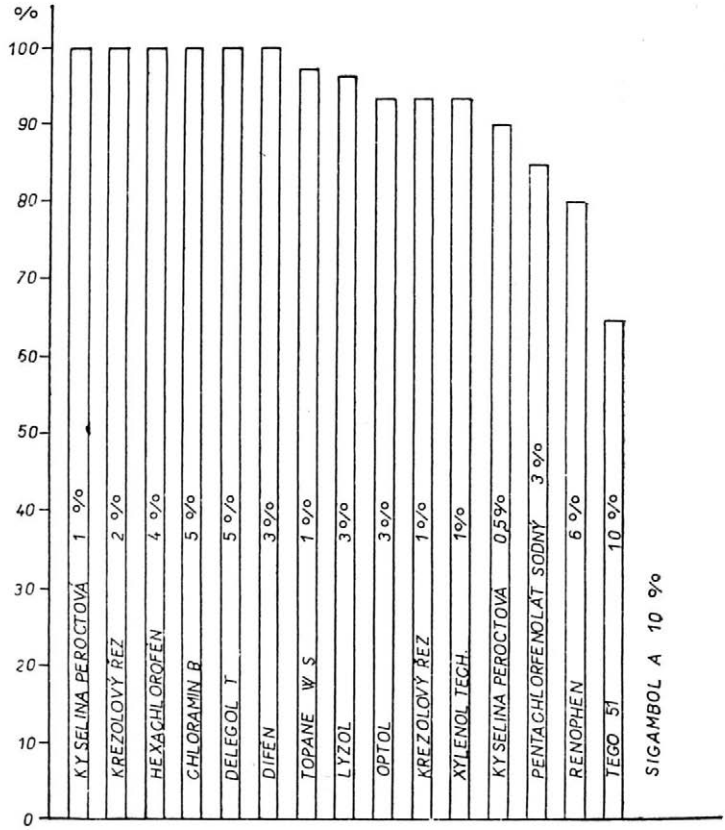
1. Suspenzní metoda — expozice 30 min.

Delegol T v 5,9 %; 6% difén v 5,8 %; 20% Renophen v 0,0 %; 20% Sigambol A v 0,0 % a 20% Tego 51 v 0,0 %.

Obr. 4 uvádí výsledky, jichž bylo dosaženo při použití stejné metody, ale při prodloužení expoziční doby na 3 hodiny. Ve 100 % testů působil baktericidně opět pouze 1% roztok kyseliny peroctové. Další látky a koncentrace působily baktericidně v menším % testů: 6% krezolový řez v 95,8 %; 0,5% kyselina peroctová v 95 %; 6% xylenol technický v 81,8 %; 6% optol v 80 %; 6% Chloramin B v 61,1 %; 10% Lyzol v 55,0 %;0,1% kyselina peroctová v 50 %; 6% difén ve 44,2 %; 4% hexachlorofén ve 42,1 %; 5% pentachlorfenolát sodný v 16,7 %; 20% Renophen v 15,8 %; 20% Sigambol A v 15,8 %; 10% Topane W. S v 15 %; 20% Delegol T v 11,1 % a 20% Tego 51 v 0,0 %.

Obr. 5 porovnává účinnost látek v jednohodinové expozici při použití dvou různých metodik: metody suspenzní a metody dřevěných nosičů. Ve 100 % testů jak při použití metody suspenzní, tak i při použití dřevěných nosičů působil

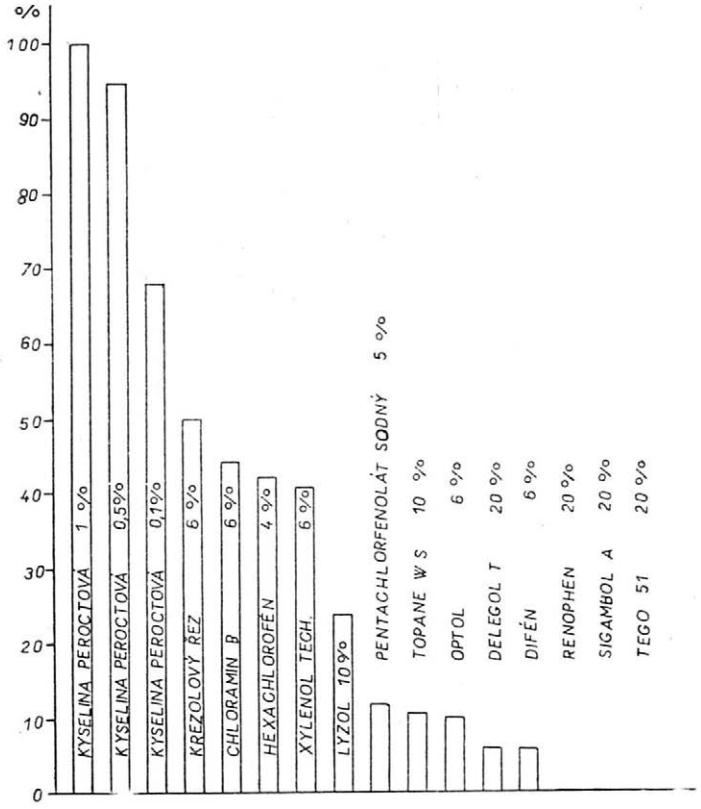
baktericidně pouze 1% roztok kyseliny peroctové. 0,5% kyselina peroctová působila při metodě suspenzní v 90 % pokusů a při metodě nosičů v 94,9 %. Krezolový řez v 2% koncentraci působil baktericidně ve 100 % pokusů při testování suspenzní metodou, ale při použití metody nosičů působil 6% roztok pouze v 50 % testů. Chloramin B v 5% koncentraci působil baktericidně ve 100 % pokusů při testování suspenzní metodou, ale při použití metody nosičů působil 6% roztok pouze v 44,4 % testů. 4% hexachlorofén působil ve 100 % pokusů při testování suspenzní metodou, ale při testování metodou nosičů pouze



2. Suspenzní metoda — expozice 60 min.

v 42,1 % testů. Xylenol technický v 1% koncentraci působil baktericidně při použití suspenzní metody v 93,3 % pokusů, ale při testování metodou nosičů působil 6% roztok pouze ve 40,9 % testů. 3% Lyzol při použití suspenzní metody působil v 96,4 % pokusů, ale při testování metodou nosičů působil 10% roztok pouze ve 23,7 % testů. 3% pentachlorfenolát sodný působil při použití suspenzní metody v 84,6 % pokusů, ale při testování metodou nosičů působil 5% roztok pouze v 11,8 % testů. Topane W. S. v 1% koncentraci působil při použití suspenzní metody v 97,2 % pokusů, ale při testování metodou nosičů působil 10% roztok pouze v 10,5 % testů. 3% Optol působil při použití suspenzní metody v 93,3 % pokusů, ale při testování metodou nosičů působil 6% roztok pouze v 10 % testů. Delegol T v 5% koncentraci působil při použití suspenzní metody baktericidně ve 100 % pokusů, ale při testování metodou nosičů působil 20% roztok pouze v 5,9 % testů. Difén v 3% koncentraci působil při

použití suspenzní metody baktericidně ve 100 % pokusů, ale při testování metodou nosičů působil 6% roztok pouze v 5,8 % testů. Renophen v 6% koncentraci působil baktericidně při testování suspenzní metodou v 80 % pokusů, ale při testování metodou nosičů působil 20% roztok Renophenu v 0,0 % testů. 10% Tego 51 působil při testování suspenzní metodou baktericidně v 64,7 % pokusů, ale při testování metodou nosičů působil 20% roztok Tego 51 v 0,0 % testů. 10% Sigambol A působil při testování suspenzní metodou i metodou nosičů v 0,0 % pokusů a testů.



3. Metoda dřevěných nosičů — expozice 1 hod.

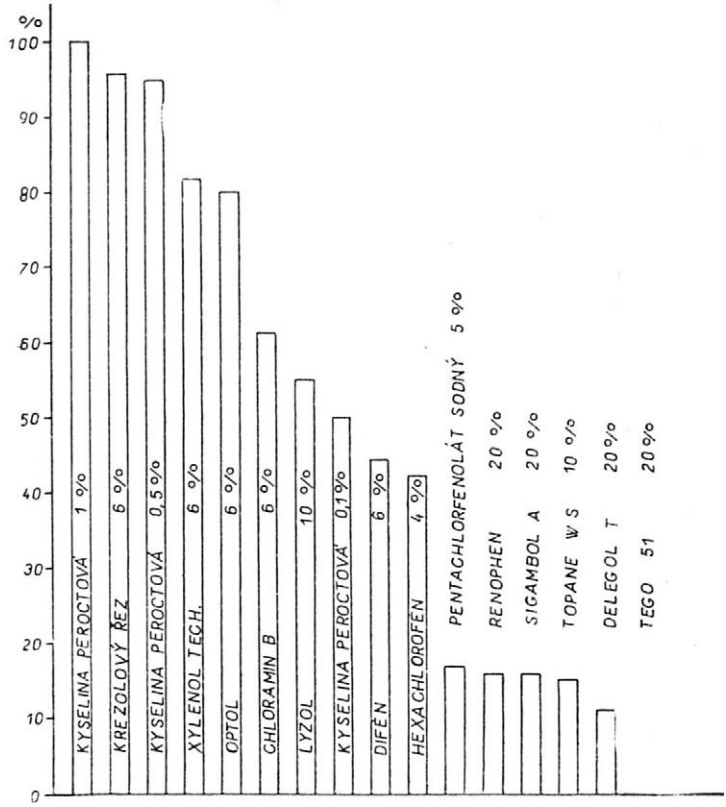
Z těchto výsledků jasně vyplývá horší účinek většiny dezinfekčních látek na dřevěných destičkách. Pouze 1% roztok kyseliny peroctové působil baktericidně ve 100 % pokusů jak při testování dezinfekčního účinku metodou suspenzní v prostředí kravských *faeces*, tak i metodou dřevěných nosičů, znečistěných kravskými výkaly.

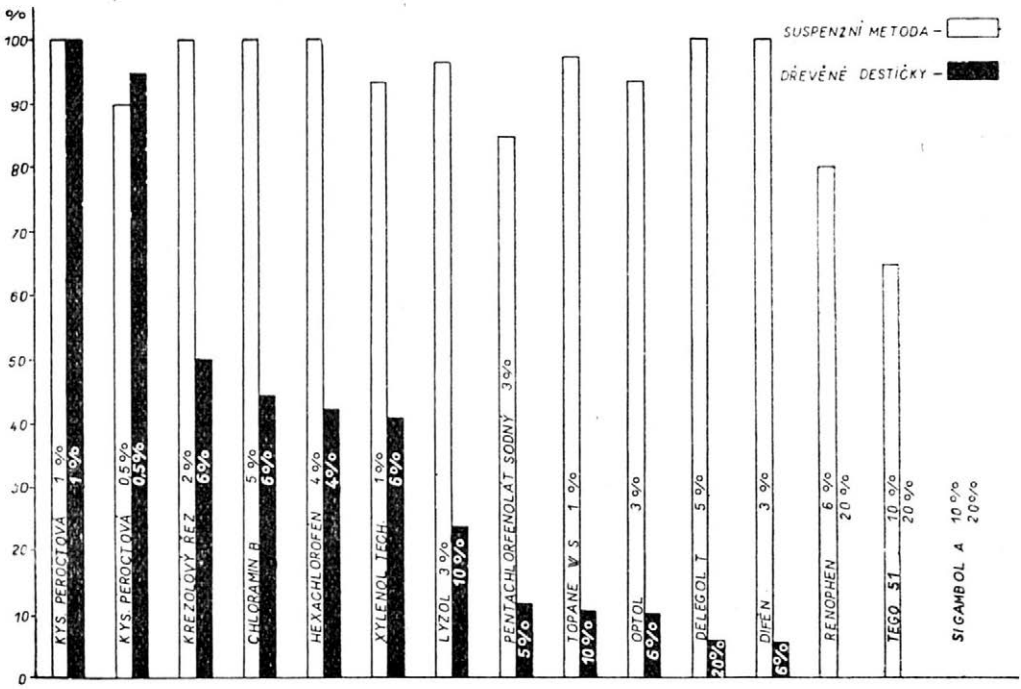
SOUHRN

Byl zjišťován baktericidní účinek 14 látek na *Mycobacterium phlei* při použití metody suspenzní v prostředí kravských *faeces* a metody dřevěných destiček, znečistěných kravskými *faeces*.

Ze skupiny látek používaných pro dezinfekci v ČSSR byl testován Lyzol a Chloramin B. Ze skupiny zahraničních látek, doporučovaných pro dezinfekci

4. metoda dřevěných nosičů — expozice 3 hod.





5. Porovnání účinnosti při použití dvou metod — expozice 1 hod.

při *tbc*, byly testovány tyto přípravky: Topane W. S., Delegol T, Renophen, Sigambol A a Tego 51. Ze skupiny tuzemských výrobků, dosud nepoužívaných k dezinfekci byly testovány tyto látky: kyselina peroctová, krezolový řez, xylenol technický, hexachlorofén, pentachlorfenolát sodný, optol a difén.

Ze všech 14 látek působil při použití jak suspenzní metody, tak i metody dřevěných nosičů ve 100 % pokusů a testů baktericidně pouze 1% roztok kyseliny peroctové. Ostatní látky měly pak v různém rozsahu nižší účinek. Proti suspenzní metodě byl zjištěn značně nižší účinek na dřevěných nosičích při použití jednotlivých látek. Výjimku tvořila pouze kyselina peroctová.

Došlo dne 19. 8. 1965

Literatura

1. BARTOŠ J.: Dezinfekční účinnost některých chemických látek proti Mycobacterium phlei. = „Vědecké práce VÚVL v Brně" III, 1963, s. 19-30. — 2. BARTOŠ J.: Dezinfekční účinnost ortho-fenylfenolátu sodného na Mycobacterium phlei v přítomnosti kravských faeces. = „Věstník VÚ zemědělských" XI, 1964a, s. 49-52. — 3. BARTOŠ J.: Dezinfekční účinnost některých chemických látek na Mycobacterium phlei v přítomnosti kravských faeces. Kandidátská disertační práce, VÚVL Brno 1964b, 142 s. — 4. BARTOŠ J.: Dezinfekční účinnost kyseliny peroctové na Mycobacterium phlei. = „Veterinární medicína" 10, 1965, s. 21-36.

Сравнение дезинфицирующего действия 14 веществ на *Mycobacterium phlei* при помощи метода суспензий и метода переносчиков

Изучалось бактерицидное действие 14 веществ на *Mycobacterium phlei* при помощи метода суспензий в среде коровьих фекалий и метода деревянных плиток, загрязненных коровьими фекалиями.

Из группы веществ, применяемых в ЧССР для дезинфекции, тестировались лизол и хлорамин В. Из группы зарубежных веществ, рекомендуемых для дезинфекции при туберкулезе, тестировались следующие препараты: Topane W. S., Delegol T, Renophen, Sigambol A и Tego 51.

Из группы чехословацких для дезинфицирования пока еще не применяемых препаратов тестировались следующие вещества: перуксусная кислота, крезоловый срез, технический ксиленол, гексахлорофен, пентахлорфенолят натрия, оптол и дифен.

Из всех 14 веществ как при применении метода суспензий, так и деревянных плиток в 100 % опытов и тестов бактерицидное действие оказал лишь 1 % раствор перуксусной кислоты. Остальные вещества в разной степени действовали слабее. По сравнению с методом суспензий, эффект при пользовании отдельных веществ был на деревянных плитках гораздо слабее. Исключение составляла лишь перуксусная кислота.

Comparison of the Disinfection Efficacy of 14 Substances against Mycobacterium phlei with the Use of the Suspension- and Carrier-Methods

The bactericidal effect of 14 substances against Mycobacterium phlei was ascertained with the application of the suspension method in the medium of cow faeces and the method of wooden plates soiled with cow faeces.

Of the group of substances used for disinfection in Czechoslovakia lysol and chloramine B were tested. Of foreign substances recommended for disinfection against tuberculosis the following preparations were tested: Topane W. S., Delegol T, Renophen, Sigambol A, and Tego 51.

Of the group of products of domestic provenience, which have not been used for disinfection as yet, the following substances were tested: peracetic acid, a cresol mixture, xylenol for technical use, hexachlorophene, natrium-pentachlorphenate, optol, and diphene.

Out of all 14 substances only a 1% solution of peracetic acid, when both the suspension method and the method of wooden carriers were used, proved bactericidal

in 100 % of the experiments and tests. The other substances revealed smaller efficacies in different extents. Compared with the suspension method a considerably smaller effect was ascertained on the wooden carries when different substances were used. The only exception proved to be peracetic acid.

Vergleich der Desinfektions-Wirksamkeit von 14 Stoffen gegenüber dem Mycobacterium phlei unter Anwendung der Suspensionsmethode und der Methode der Träger

In der Arbeit wurde die bakterizide Wirkung von 14 Stoffen auf Mycobacterium phlei bei der Anwendung der Suspensions-Methode im Milieu von Kuh-Faeces und der Methode der mit Kuh-Faeces verunreinigten Holzplatten überprüft.

Von der in der ČSSR zur Desinfektion angewandten Stoffgruppe wurde das Lysol und Chloramin B überprüft. Von der Gruppe der im Ausland erzeugten und für die Desinfektion bei Tbc. empfohlenem Stoffe wurden folgende Präparate überprüft: Topane W. S., Delegol T, Renophen, Sigambol A und Tego 51.

Von der Gruppe der inländischen Erzeugnisse, die bisher zur Desinfektion nicht angewendet wurden, überprüfte man folgende Stoffe: Peressigsäure, Kresolmischung, technisches Xylenol, Hexachlorophen, Natrium-Pentachlorphenolat, Optol und Diphen.

Von sämtlichen 14 Stoffen bei der Anwendung sowohl der Suspensionsmethode als auch der Methode der hölzernen Träger wirkte bakterizid in 100 % der Fälle und Prüfungen nur die 1% Peressigsäurelösung. Die übrigen Stoffe hatten eine schwächere Wirkung in verschiedenem Ausmaße. Im Vergleich zur Suspensionsmethode wurde bei der Anwendung von Holzplatten eine schwächere Wirkung der einzelnen Stoffe ermittelt. Nur die Peressigsäure machte eine Ausnahme.

Adresa autora:

Jaroslav Bartoš, prom. vet. lékař, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno - Medlánky

Připravuje se vydání Naučného slovníku zemědělského

Ústav vědeckotechnických informací MZLH připravuje vydání šestisvazkového Naučného slovníku zemědělského. Dílo má odstranit mezeru v encyklopedické literatuře na tomto úseku a sloužit široké zemědělské veřejnosti jako stěžejní základní pomůcka.

Rozsah je stanoven na 6000 tiskových stran (810 VA), po cca 1000 stranách v každém svazku formátu B 5. V díle bude 8000 černobílých obrázků (pérovek a autotypií), černobílé celostránkové tabule, mapy, grafy a diagramy a 384 barevných ilustrací na křídových listech.

Ideovým cílem Naučného slovníku zemědělského je vytvořit komplexní dílo pro teorii a praxi, které bude zrcadlem úrovně zemědělských věd a významným kulturním počinem reprezentujícím naši vědu i polygrafický průmysl doma i v zahraničí. Funkčním posláním díla je podat širokému okruhu pracovníků v zemědělství soubor poznatků a vědomostí z jednotlivých zemědělských vědních oborů i styčných disciplín. V díle je propracována rozsáhlá oblast produkce rostlinné i živočišné spolu s veterinárním lékařstvím, mechanizací, ekonomikou, společenskými vědami a se základními vědami, především biologickými.

Základem Naučného slovníku zemědělského je podrobně sestavený generální heslář o 35 000 hesel a odkazů. Stěžejními pilíři díla jsou kumulativní (základní) hesla o rozsahu až 900 strojopisných řádek, v nichž se předkládá čtenáři ucelený pohled na problematiku. Uživatel slovníku se poučí o jednotlivých hospodářských zvířatech, jejich výživě, krmení, nemocech, léčení, o veterinární prevenci, o jednotlivých plodinách, mechanizmech, ekonomických pojmech, kategoriích atd. Návaznost hesel speciálních na kumulativní (základní) byla volena tak, aby umožnila čtenáři najít rychle krátkou informaci s odkazem na podrobnější výklad v kumulativním hesle. Pod heslem je uvedena literatura, která ukáže, kde lze najít podrobnější výklad. Záhlaví hesel delších deseti řádek jsou opatřena cizojazyčnými ekvivalenty v ruštině, němčině a angličtině.

Pro lepší názornost je do každého svazku zařazeno vedle map a černobílých tabulí 64 barevných příloh, které tvoří systematický celek. Tak jsou kromě jiného barevně znázorněna plemena hospodářských zvířat, jejich anatomie, choroby, cizopasníci apod.

Na tomto rozsáhlém díle se podílí kolektiv téměř 1000 autorů ve 156 pracovních skupinách, s hlavní redakční radou v čele s členem koresp. ČSAV dr. inž. Václavem Stehlíkem, DrSc.

E. Kudláč
B. Studenčík

KVANTITATIVNÉ CHEMICKÉ URČENÍ ESTROGENŮ V MOČI KRAV VYLUČOVANÝCH ZA BŘEZOSTI, PŘED PORODEM A V RANNÉM PUERPERIU

Snahy o zjištění a průkaz estrogenů v tělních tekutinách krav jsou již poměrně starého data. První výzkumy založené na použití biologických metod (Aschheim, Zondek 1927, Turner, Franc, Loman, Niebler 1930), stejně jako chemické metody, prováděné podle Cuboniho reakce modifikované různým způsobem (D'Arces, Arbit 1954, Bureš 1946, Cuboni 1934, Langer 1945, Soukup 1956), vedly k závěru, že estrogenní aktivita moče krav je velmi nízká, a že těchto metod na rozdíl od klisen nelze využít k praktické diagnostice březosti ani poruch rozmnožování. Pokroky moderní endokrinologie v posledních letech, zvláště zjemnění metod chemické analýzy a zlepšení fotooptických metod měření však dnes umožňují stanovit v tělních tekutinách i nepatrné koncentrace steroidních hormonů. Značného pokroku bylo dosaženo zvláště v metodách extrakce. čištění a separování estrogenů. Není proto náhodné, že v současné době se setkáváme s řadou prací zabývajících se kvalitativním i kvantitativním určením močových estrogenů jak u krav, tak i u jiných hospodářských zvířat (Bertrand, Ferney 1957, Nelson, Smith 1963, Pope, Naughton, Jones 1957, Rommel a Rommel 1959, ab, Rommel P. 1961, 1962, Turner, Franc, Loman, Niebler 1930, Velle 1958, 1960, Wright 1958).

Stanovení a znalost hodnot fyziologicky vylučovaných estrogenů v různých fázích reproduktivního cyklu by umožnily bližší poznání dynamiky endokrinních změn a přispěly k objasnění řízení jejich sekrece a především osvětlily podstatu vzniku poruch rozmnožování. Tím by byly dány lepší předpoklady ke správné diagnostice a zvláště hormonální terapii, která stále do značné míry spočívá na empirii.

Dřívější práce ukázaly, že estrogenní aktivita moče krav se vzrůstající březostí se zvyšuje. Velle (1958) určoval hladinu estrogenů Brownovou metodou a zjistil progresívní zvyšování od 80. dne březosti, a že se obsah estrogenů v moči ke konci březosti zvýšil 10 až 15krát. Obdobné údaje uvádějí i jiní autoři (Leclerq 1962, Nelson, Smith 1963, Pope, Naughton, Jones 1957, Rommel a Rommel 1959 b, Rommel P. 1961, Wright 1958), zjištěné hodnoty se však navzájem dosti liší. Tato skutečnost je především podmíněna metodou, které bylo použito, a dále rozdílným vyjadřováním obsahu estrogenů (v myších, krysích a váhových jednotkách) v nestejných množstvích moče.

MATERIÁL A METODIKA

Vzhledem k dosavadním poznatkům o vylučovaných estrogenech v moči krav zaměřili jsme se v první pracovní fázi na přezkoušení vhodné metodiky k určení hladiny estrogenů během březosti, před porodem a v raném puerperiu. Vyšetření byla prováděna celkem u 4 krav, z toho u dvou v průběhu celé gravidity a u dvou zbývajících jen v době kolem porodu. Pokusné krávy byly majetkem kliniky, v průběhu pozorování nevykazovaly žádné poruchy reprodukce a byly chovány za stejných podmínek výživy, ošetření a ustájení. Moč vyloučená za 24 hodin byla získávána pomocí zvláštního gumového kolektoru, který je modifikací urinálu popsaného poprvé Møllgardem (1931), respektive modifikací urinálu používaného Rommelem (1960), a pomocí trvalého katétru, zavedeného přímo do močového měchýře.

Vlastní kvantitativně chemické stanovení estrogenů jsme prováděli podle námi — v některých detailech čištění extraktu zlepšené Rommelovy (1961) metody, spočívající na Ittrichem (1958) vyvinuté metodě určování estrogenů v moči žen — na základě Koberovy reakce. Detailní postup při chemické analýze je uveden níže.

Fluorometrické měření jsme prováděli pomocí Pulfrichova fotometru fluorescenčním zařízením, v němž některé originální filtry byly nahrazeny filtry interferenčními (IF 546, IF 578 a S 57H od kolorimetru Langeho) a jen provizorně upevněny.

K vlastnímu určení estrogenů bylo v prvních měsících březosti používáno 100 ml a později se množství moče snižovalo na 50 a 10 ml. Měření bylo prováděno jednou až dvakrát měsíčně, v období kolem porodu však v pětidenních až jednodenních intervalech. Při těchto pokusech nebylo prováděno dělení přítomných estrogenů v konečném extraktu na jednotlivé frakce, nýbrž jen přímé sumární určení estrogenní aktivity, které je vyjádřeno v gama jednotkách, vypočítaných podle kalibrační křivky standardního roztoku alfa estradiolu. Celkové množství vyloučených estrogenů v moči za 24 hod. bylo určováno propočtem na základě zjištěného množství estrogenů v objemu moče vzatého do pokusu.

PRACOVNÍ POSTUP PŘI KVANTITATIVNĚ CHEMICKÉM URČOVÁNÍ ESTROGENŮ

100 ml moče dáme do varné baňky, přidáme 15 ml konc. HCl a hydrolyzujeme ve vodní lázni 30 min., pak ochladíme.

3 × 50 ml benzenu, třepat.
└ Hydrolysát odhodit.

2 × 30 ml uhličitanu sodného (Na_2CO_3) pH-10,5, třepat.
└ Vodní fázi odhodit.

2 × 30 ml 8% kys. uhličitanu sodného ($NaHCO_3$), třepat.
└ Vodní fázi odhodit.

2 × 20 ml destil. vody, třepat.
└ Vodní fázi odhodit.

40 ml ln NaOH, třepat, odlít.
30 ml ln NaOH, třepat, odlít.
30 ml ln NaOH, třepat, odlít.
└ Extrakty hydroxydu sodného slijeme dohromady.
└ Organickou fázi (neutrální steroidy) odhodíme.

Alkalická fáze (fenolické steroidy).

konc. HCl zastavíme na pH-1, ochladit.

3×50 ml ethylether, třepat.
| |_____Extrakty ethyletheru slijeme dohromady.
| |_____Vodní fázi odhodíme.
|
2×20 ml uhličitanu sodného Na_2CO_3 pH-10,5, třepat.
| |_____Vodní fázi odhodit.
|
1×20 ml 8% kys. uhličitanu sodného $NaHCO_3$, třepat.
| |_____Vodní fázi odhodit.
|
2×20 ml destil. vody, třepat.
| |_____Vodní fázi odhodit.
|
Ethylether odpařit proudícím vzduchem nebo oddestilovat při 35—40 C.

KOBERŮV BAREVNÝ KOMPLEX

Odparek
|
0,4 ml destil. vody
|
0,74 ml konc. H_2SO_4
|
20 mg hydrochinonu, dobře protřepat
|
40 min. zahřívat na vodní lázni
|
3 min. pod ledovou vodou chladit
|
1,5 ml destil. vody, převrstvit
|
3 min. pod ledovou vodou chladit
|
promíchat
|
3 min. pod ledovou vodou chladit
|
2,5 ml 2% roztok p-Nitrofenolu v chloroformu
|
2 min. chladit v ledové vodě
|
½ min. třepat a 2 min. centrifugovat při 1500 ot./min.
| |_____Vodní fázi odsát
|
Chloroformovou fázi měříme fluorometricky (sumární určení estrogenů).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Hodnota kvantitativně chemického vyšetření o vylučovaných estrogenech v moči krav je do značné míry závislá na získání veškeré moče vyloučené za 24 hodin. Oba námi používané způsoby zachycení veškeré moče vyloučené za 24 hodin se relativně osvědčily, v určitých směrech však měl každý z nich některé nevýhody. Gumový kolektor byl přikládán na stydké pysky a fixován řemeny na popruh přiložený kol hrudníku, obdobně jako je tomu při použití řemenových šněrovadel k zabránění výhřezu pochvy, a moč byla odváděna hadicí do nádoby umístěné pod úrovní podlahy. Při jeho používání je třeba stálé kontroly, aby okraje velkého otvoru kolektoru přiléhaly na stydké pysky a obepínaly celou

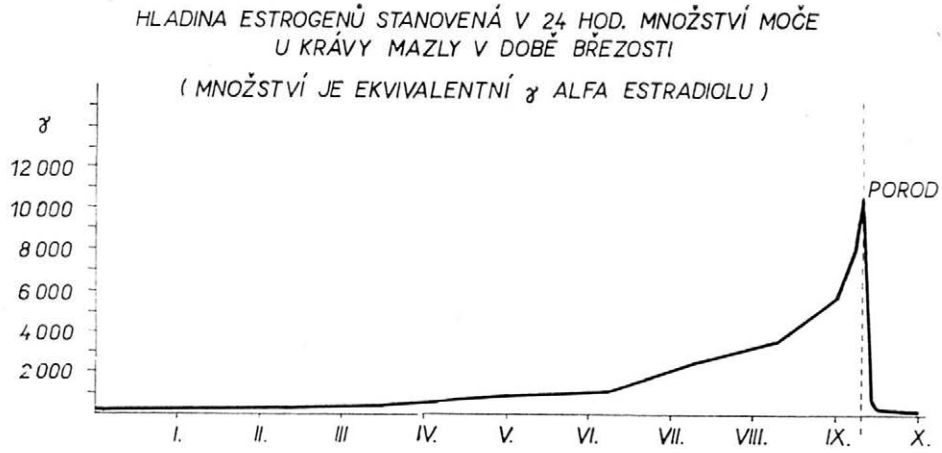
I. Množství estrogenů v moči krav vyloučené za 24 hod. během březosti. (Množství je ekvivalentní γ alfa estradiolu.)

Měsíc březosti	Kráva Mazla		Kráva Jana		Průměrné množství
	datum	množství v	datum	množství v	
I.	23. 1. 1964	88,56			
II.	17. 3. 1964	90,00	25. 8. 1964	49,60	69,80
III.			1. 10. 1964	107,16	
IV.	5. 5. 1964	275,40	5. 11. 1964	189,72	232,56
V.	17. 6. 1964	806,00	5. 12. 1964	961,20	883,60
VI.			16. 1. 1965	2 205,00	
VII.	24. 7. 1964	1 080,00			
VIII.	28. 8. 1964	2 422,50	25. 2. 1965	2 754,00	
			17. 3. 1965	4 260,00	3 145,50
IX.	2. 10. 1964	3 300,00	10. 4. 1965	8 000,00	
	18. 10. 1964	5 762,00	14. 4. 1965	14 904,00	10 194,80
			17. 4. 1965	19 008,00	
			21. 4. 1965	23 100,00	
X.	26. 10. 1964	8 282,00	25. 4. 1965	19 584,00	17 213,20
Porod	29. 10. 1964	10 200,00	26. 4. 1965	24 900,00	
Rané *puerperium*	30. 10. 1964	3 281,25	29. 4. 1965	2 356,00	
	31. 10. 1964	736,00	1. 5. 1965	225,00	775,59
	4. 11. 1964	76,54	5. 5. 1965	150,00	
	10. 11. 1964	31,68			
	18. 11. 1964	36,72	18. 5. 1965	86,40	

štěrbinu stydkou. Při posunu kolektoru do stran v důsledku pohybu zvířete může odtékat moč mimo kolektor, při posunu nahoru se do kolektoru dostávají *faeces* a moč nelze k vyšetření použít. Trvalý katétr opatřený na předním konci nafukovacím balónkem a při použití zcela uzavírajícím *orificium urethrae internum* zaručuje získání veškeré moče vyloučené za 24 hodin a současně umožňuje určitý, omezený pohyb zvířete. Může však být použit jen při ojediněle prováděných odběrech moče. Při často opakovaném zavádění katétru a jeho dlouhodobém ponechání v močových cestách dochází ke značnému dráždění sliznice, zanášení infekce a vzniku akutních cytitid a urethritid, eventuálně i zánětu ledvin. V našich pokusech jsme to pozorovali u dvou krav, z nichž jedna onemocněla akutní pyelonefritidou (kultivací prokázáno *Corynebacterium renale bovis*), která — i když byla vyléčena opakovaným podáváním antibiotik — vedla ke značnému zhubnutí pokusné krávy.

II. Množství estrogenů v moči krav vyloučené za 24 hod. před porodem a po porodu. (Množství je ekvivalentní γ alfa estradiolu.)

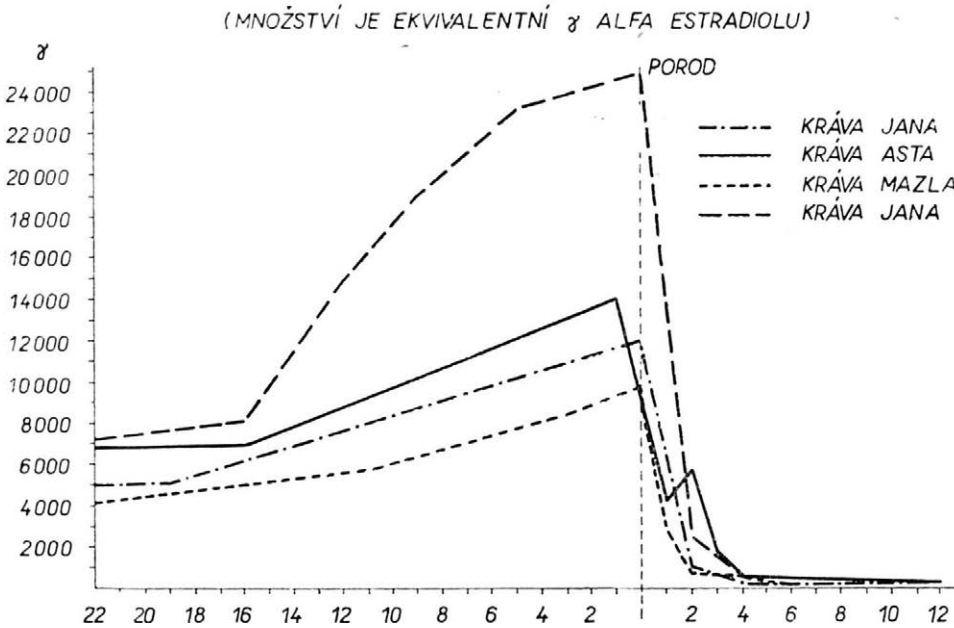
Den před porodem po porodu	Množství estrogenů u krávy			
	Jana	Asta	Mazla	Jana
22		6 700,00		
21				
20				
19	5 174,40			
18				
17				
16		6 804,00		8 000,00
15				
14				
13				
12				14 904,00
11			5 762,00	
10				
9				19 008,00
8				
7				
6				
5				23 100,00
4				
3			8 282,00	
2		13 800,00		
1		14 000,00		19 584,00
Porod	11 912,00		10 200,00	24 900,00
1		4 233,00	3 281,25	
2	988,00	5 736,00	736,00	
3		1 848,00		2 356,00
4	103,68	533,00		
5		207,00		225,00
6	73,12		76,54	
7				
8				
9				150,00
10	109,44			
11		90,20		
12		94,00	31,68	
13				
19		64,00		
21			36,72	
22				86,40



1. Hladina estrogenů stanovená v 24 hod. množství moče u krávy Mazly v době březosti. (Množství je ekvivalentní γ alfa estradiolu)

2. Hladina estrogenů stanovená v 24 hod. množství moče u krávy Jany v době březosti. (Množství je ekvivalentní γ alfa estradiolu)

Chemické metodě stanovení estrogenů je třeba dát přednost před metodami biologickými. Hydrolýza umožňuje průkaz vázaných estrogenních steroidů, kterých je v moči více, zatímco biologickými metodami se prokazují především jen volné formy. To lze pokládat také za příčinu toho, že biologickými metodami přítomnost estrogenů alespoň u neobřezlých krav se většinou nůbec neprokázala (A s d e l l, cit. podle S m i t h a a kol., 1956), přičemž biologická aktivita závisí na typu v moči přítomných estrogenních frakcí.



3. (Množství je ekvivalentní γ alfa estradiolu)

Výsledky vyšetření jsou přehledně uvedeny v tabulkách I a II a graficky znázorněny na obr. 1—3. U obou pokusných krav sledovaných během celé březosti byl zjištěn stejný trend ve zvyšování množství v moči vylučovaných estrogenů. Toto zvýšení je evidentní od čtvrtého měsíce gravidity a maxima dosahuje (průměrně 17 213 gama) těsně před porodem, jak potvrzují výsledky zjišťované u dalších dvou pokusných krav sledovaných v období kolem porodu. Námi zjištěné hodnoty jsou dobře srovnatelné s údaji jiných autorů. Jsou v průměru 2,5 až 1,2krát vyšší, než zjistili Smith a kol. (1956), Pope a kol. (1958), El-Attar a Turner (1957), téměř totožné s hodnotami Leclerqa a Derivauxe (1962), asi poloviční, jak udávají Rommel (1959) a Rommel (1961), avšak podstatně nižší, než udávají Velle (1958) a Nelson a kol. (1963). U všech pokusných krav bezprostředně po porodu došlo k náhlému poklesu a během prvních dnů puerperia klesly hodnoty na minimum (kolem 100 gama). Tato skutečnost jasně poukazuje, že zdrojem tvorby estrogenů je placenta. Značný vzestup hladiny estrogenů v době před porodem poukazuje na význam těchto látek v mechanismu vzniku porodu.

SOUHRN

V práci je referováno o kvantitativně chemickém určování estrogenů v moči krav vylučovaných za březosti, před porodem a v raném puerperiu. Jsou popsány a zhodnoceny metody získání veškeré moče za 24 hodin pomocí gumového kolektoru a trvalého kolektoru.

Přímým sumárním určením byly v první třetině gravidity zjištěny nejmenší hodnoty vyloučených estrogenů (v moči za 24 hodin množství ekvivalentní 85γ alfa estradiolu). Od čtvrtého měsíce březosti se množství vyloučených estrogenů

zvyšovalo a maximum bylo zaznamenáno těsně před porodem (17 213 gama).

Po porodu se obsah estrogenů v moči rychle snižoval (4. den 100—533 gama, 6.—10. den 73—150 gama).

Došlo dne 30. 9. 1965

Literatura

1. D'ARGES, J. - ARBIT, G.: Essai d'une méthode de diagnostic de la gestation chez les femelles bovines. = „Bull. de l'Acad. vet. de France", 1954. — 2. ASCHHEIM, S. - ZONDEK, B.: Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon im Harn von Schwangeren. = „Klin. Wochenschr.", 1927, 6 : 1322. — 3. BERTRAND et FERNEY: Les possibilités du diagnostic experimental de la gestation chez la vache. = „Méd. vét.", 1957 : 26-30. — 4. BROWN, J. B.: Eine chemische Methode zur Bestimmung von Oestriol, Oestron und Oestradiol im menschlichen Harn (orig. ang.) = „Biochem. J." 60, 1955 : 1182-193. — 5. BUREŠ, J.: Cuboniho reakce v moči skotu. Dis. práce. Brno 1946. — 6. CUBONI, E.: Über eine schnelle und einfache chemischhormonale Schwangerschaftsreaktion. = „Klin. Wochenschrift", 1934, 13 : 302. — 7. EL-ATTAR, T. - TURNER, C. W.: „Res. Bull." No 641 (Univ. Missouri Agr. Exo. Stn.), cit. podle Wrighta, 1958. — 8. ITTRICH, G.: Eine neue Methode zur chemischen Bestimmung der oestrogenen Hormone im Harn. = „Hoppe-Seylers Z. f. physiol. Chemie", 1, 1958 : 312. — 9. LANGER, J.: Pokusy o stanovení folikulárního hormonu křemencovou lampou. Dis. práce, Brno, 1945. — 10. LECLERQ, M. - DERIVAUX, J.: Determination des oestrogènes urinaires chez la vache en fin de gestation. = „Annales d'Endocrinologie", 1962, 23 : 103-109. — 11. MØLLGARD: Grundzüge der Ernährungsphysiologie der Haustiere. Berlin, Paul Parey, 1931. — 12. NELSON, D. W. - SMITH, E. P.: Urinary excretion of estrogenic compounds during estrus and gestation by the bovine at determined by three essay methods. = „J. of Dairy Sci.", 1963, 46 : 135-139. — 13. POPE, G. S. - Mc NAUGHTON, M. J. - JONES, H. E. H.: The isolation of oestrone from the urine of cows in late pregnancy. = „Biochem. J." 66, 1957 : 206-209. — 14. ROMMEL, W. - ROMMEL, P.: Oestrogenausscheidung im Rinderurin während der ungestörten Trächtigkeit, der Geburt und im Frühpuerperium. = „Wissenschf. Z. d. Karl-Marx Univ. Leipzig", 1958/1959a, 8 : 821-825. — 15. ROMMEL, W. - ROMMEL, P.: Oestrogenausscheidung im Rinderurin während der ungestörten Trächtigkeit, der Geburt und im Frühjahrspuerperium. = In: 6. Symp. d. Deutschen Gesellschaft f. Endokrinologie, Kiel, 1959b : 231-237. — 16. ROMMEL, P. - ROMMEL, W.: Zur 24-Stunden-Urin-Sammlung beim geschlechtsreifen weiblichen Rind. = „Archiv f. experimentelle Veterinärmedizin", XIV, 1960, 6 : 1281-1289. — 17. ROMMEL, P.: Untersuchungen zum quantitativ-chemischen Oestrogennachweis im Urin beim geschlechtsreifen weiblichen Rind und Pferd. Diss. Arbeit, Leipzig, 1961. — 18. ROMMEL, P. - ROMMEL, W.: Die quantitativ-chemische Bestimmung oestrogener Steroide im Urin der Stute während Brunstzyklus, Trächtigkeit und Puerperium. = „Zuchthygiene", 6, 1962, 3 : 162-173. — 19. SMITH, E. P. - DICKSON, W. M. - ERB, R. E.: Fluorometric estimation of estrogens in bovine urine. = „J. of Dairy Sci.", 1956, 39 : 192-170. — 20. SOUKUP, V.: Hodnocení zkoušky na březost u krav a jalovic v moči podle d'Árcese. Dis. práce, Brno, 1956. — 21. TURNER, C. W. - FRANC, A. H. - LOMAN, C. H. - NIEBLER, C. W.: „Univ. Missouri Agr. Exp. Sta. Bull." 1930, 150 (cit. podle Wrighta 1958). — 22. VELLE, W.: Undersökelser over naturkig forekommende østrogener hos drøvtyggere og gris, Habil. práce, Oslo, 1958. — 23. VELLE, W.: Early pregnancy diagnosis in the Sow. = „Vet. Rec.", 72, 1960, 116-118. — 24. WRIGHT, A. A.: The excretion of steroids by animals. = „Vet. rec.", 70, 1958 : 662-666.

Квантитативно-химическое определение эстрогенов в моче коров, выделяемых во время беременности, перед родами и в ранний послеродовой период

Работа сообщает о квантитативно-химическом определении эстрогенов в моче коров, выделяемых во время их беременности, перед родами и в ранний послеродовой период. Описаны и оценены методы получения суточной мочи при помощи резинового и постоянного коллектора.

В результате непосредственного суммарного определения в первые три месяца беременности были установлены наименьшие величины выделяемых эстрогенов (в суточной моче количество эквивалентов 85 γ альфа эстрадиола). Начиная с 4 месяца стельности, количество

выделенных эстрогенов увеличилось, максимум был отмечен непосредственно перед родами (17.213 гамма).

После родов содержание эстрогенов в моче быстро уменьшалось (на 4-й день: 100—533 гамма, на 6-й день: 73—150 гамма).

Quantitative Chemical Determination of Estrogenic Substances Excreted in the Urine of Cows during Pregnancy, before the Delivery, and in the Early Puerperium

The authors refer in this work to the quantitative chemical determination of estrogenic substances excreted in the urine of cows during pregnancy, before the delivery, and in the early puerperium. The methods of obtaining 24 hours' urine by means of a rubber- and permanent collectors are described and evaluated.

The smallest values of the excreted estrogenic substances (in the 24 hours' urine the quantity equivalent to 85 γ of alpha-estradiol) were ascertained by direct summary determination in the first third of pregnancy. From the 4th month of pregnancy the amount of excreted estrogenic substances increased, the maximum being observed close before the delivery (17,213 γ).

After the delivery the contents of estrogenic substances in the urine decreased quickly (on the 4th day 100—533 γ, 6th — 10th day 73—150 γ).

Quantitative chemische Bestimmung von den in dem Harn der Kühe während der Trächtigkeit, vor dem Abkalben und während des frühen Puerperiums ausgeschiedenen Östrogenen

In dieser Arbeit wird über die quantitative chemische Bestimmung von Östrogenen, die mit dem Harn der Kühe während der Trächtigkeit, vor dem Abkalben und während des frühen Puerperiums ausgeschieden werden, berichtet. Methoden der Gewinnung des Harns von 24 Stunden mittels eines Gummikollektors und eines Dauerkollektors werden beschrieben und bewertet.

Durch eine direkte summarische Bestimmung ermittelte man während des ersten Drittels der Gravidität die geringsten Werte der ausgeschiedenen Östrogene (im Harn von 24 St. eine Menge, die ein Äquivalent von 85 γ Alpha-Östradiol ist). Beginnend mit dem vierten Trächtigkeitsmonat erhöhte sich die Menge der ausgeschiedenen Östrogene und man konnte das Maximum unmittelbar vor dem Abkalben verzeichnen (17.213 Gamma).

Nach dem Abkalben senkte sich rasch der Gehalt an Östrogenen im Harn und betrug am 4. Tage 100—533 Gamma, am 6.—10. Tage 73—150 Gamma).

Adresy autorů:

Doc. MVDr. Eduard Kudláč, Boh. Studenčík, VŠZ, veterinární fakulta, Brno, Palackého 1—3

J. Dvořák

KYSELINA ASKORBOVÁ V KREVNÍM SÉRU DOJNIC A BÝKŮ PŘI ZIMNÍ A LETNÍ VÝŽIVĚ

■ Obecně se uvádí, že výjma člověka, primátů a morčete se potřeba vitamínu C, kyseliny askorbové, jinak mnohostranně zainteresovaného činitele u ostatních savců jeví toliko jako metabolický faktor, zajišťovaný biosyntézou, bez dietního významu, bez nároků zvířat na jeho obsah v krmné dávce. (Jones, 1959). Je proto zájem objasnit případnou potřebu tohoto vitamínu v rámci druhu, vzhledem ke stáří, zvýšeným fyziologickým potřebám, užitkovosti a podobně.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

To, že hospodářská zvířata jsou natolik schopná syntézy kyseliny askorbové ve vlastním organismu, že nepociťují nedostatek z vnějšího prostředí potvrzují svými pozorováními další autoři (Bukin, 1949; Kudrjašov, 1948). Valdman a Taucin, (1954) referují v tom smyslu, že obsah kyseliny askorbové v organismu je málo závislý na tom, jaké množství tohoto vitamínu je dotováno krmivem a uvádějí, že saturace orgánů je ve vztahu ke schopnosti organismu ji syntetizovat.

Solun 1944 a Bukin 1949 stejně jako Rindell W. H., Whitnah 1936, kteří sledovali metabolismus kyseliny askorbové u krav uvádějí, že její hladina v mléce není podmíněna výživou a zdůvodňují to tím, že antiskorbutická aktivita krmiv zůstává bez vlivu na C-vitamínovou hodnotu mléka, kterou podmiňují naopak syntetizující schopnosti organismu.

Názor, že při orální aplikaci je vitamín C v bachoru rušen, a proto exogenní přísun zůstává u skotu bez efektu, potvrdila svými experimenty řada autorů (Knight a kol., 1941; Lousse 1951, Vavich a kol. 1945, Cappa 1958, Dvořák 1964).

Zmíněná pozorování však nezůstávají bez protinázoru. Tak ku př. Novotný 1953 a Kučmyj 1955 zaznamenali pozitivní účinek vitamínu C na dojivost a jakost mléka krav. Zdravotní poruchy vyvolané nedostatkem C-vitamínu u dospělého skotu popisují Duncan a kol. 1944, Martynjak 1952, u telat Rydell a Wheaton 1948, Cole a kol. 1944.

U býků na základě pokusů a klinických pozorování řada autorů (Nicolas 1950, Phillips a kol. 1941, Tureček 1952) hodnotí kyselinu askorbovou jako závažný biokatalytický faktor, nezbytný v mechanismu plodnosti býků.

Askorbémie, jako ukazatel saturace organismu C-vitamínem, byla předmětem zájmu řady autorů. U člověka uvádí Abderhalden 1948, při dobré

stravě obsah mezi 0,6—1,2 mg %. Hodnoty pod 0,4 mg % považuje za průkazné pro skorbut. Eekelen 1936 uvádí, že krevní plazma člověka obsahuje při nasycení 1,0—1,4 mg % kyseliny askorbové. Burch 1961 uvádí, že hodnota kyseliny askorbové v krevním séru nad 1,0 mg % je známkou nasycení organismu. Za normální považují Prunty a Vass 1943 obsah kyseliny askorbové v plazmě od 0,4 do 0,8 mg %. Drigalski s Wolfem 1940 naproti tomu nepřisuzují krevním hodnotám kyseliny askorbové závažnější význam, protože zjistili až 100 % kolísání její hodnoty.

U skotu popisuje askorbémii Valdman 1957 s tím, že se hodnota kyseliny askorbové v séru pohybuje okolo 1,0 mg %. Dvořák 1964 zjistil hodnoty kyseliny askorbové u dospělého skotu od 0,4 do 1,5 mg %. Gosse 1938 sledoval obsah kyseliny askorbové v krevním séru gravidních a nebřezích dojnic a uvádí, že krajní hodnoty se pohybují od 0,83—2,5 mg %, přičemž v poslední třetině gravidity její obsah narůstá. Tento vzestup popisuje i Valdman 1957.

Z uvedeného vyplývá, že úloha kyseliny askorbové u polygastrických zvířat není zcela jednoznačně objasněna, a to jak pokud jde o její fyziologii, tak i pokud jde o hledisko dietetické. Provedené pokusy jsou příspěvkem k objasnění některých otázek u dospělého skotu a k ověření hodnot kyseliny askorbové v krevním séru v našich podmínkách.

MATERIÁL A METODY

Bylo provedeno stanovení obsahu celkové kyseliny askorbové v krevním séru dospělého skotu, a to u 67 býků ve stáří od 1—13 let a u 56 dojnic starých 2—9 roků. Býci plemene červenostrakatého, dojnice 18 ks plemene červenostrakatého a 38 dánských červinek. Pokus byl zaměřen ke stanovení askorbémie u obou pohlaví, jak při zimním tak i letním krmném režimu s přihlédnutím ke způsobu výživy a graviditě.

Pokusná měření byla prováděna u býků v pěti zimních (listopad — březen) a pěti letních (květen — září) měsících, u dojnic ve čtyřech zimních (prosinec — březen) a třech letních měsících (květen — červenec).

Krmení býků bylo organizováno podle zásad výživy plemenných zvířat, vzhledem k živé váze, využívání v chovu a s přihlédnutím k jejich individuálním požadavkům. Pro sestavování jejich krmných dávek byla volena následující krmiva: pro zimní období krmná řepa, případně z části nahrazovaná mrkví jako dietním doplňkem, dále seno luční a motýlokvěté a jadrný přídavek jako regulující podíl obsažnosti celé krmné dávky, tvořený ovsem, pšeničnými otrubami, bobovým šrotem, sladovým květem, doplňovaný případně podle potřeby i jinými statkovými jadrnými krmivy. Letní výživa plemenných býků sestávala ze zelené píce, sena a jadrného podílu obdobně jako v zimě.

Biologicko-dietetické doplnění krmných dávek tvořily přídavky soli a minerální směsi v obvykle doporučovaných dávkách. K výživě býků nebylo použito krmiv hygienicky narušených.

Krmení bylo prováděno pravidelně, bez výkyvů ve složení dávek, při respektování požadavků krmně technických. Kaloricky byla výživa plně dostačující s vyhovující biologickou hodnotou.

Při sledování askorbémie u dojnic byla jejich výživa prováděna skupinově podle norem, vzhledem k živé váze, užitkovosti, stupni gravidity. Krmné dávky byly dynamicky upravovány tak, aby splňovaly požadavky energetické i biologické. Krmné dávky dojnic v zimním období byly složeny z kukuřičné siláže,

krmné řepy, jetelového a lučního sena, ječné slámy a k regulaci obsažnosti z jadrného podílu tvořeného pšeničnými otrubami, pšeničnou krmnou moukou, řepkovými pokrutinami a směsí ovesného a jatečného šrotu. Letní výživu jedné skupiny dojnic tvořila jetelotravní pásová pastva doplňovaná lučním senem, ječnou slamou a jadrným podílem popsaným u zimního krmného režimu. Druhá skupina dojnic byla držena stájově s tím, že jejich výživa se skládala z luskovinoobilných směsek, jetelotravní směsky a dále lučního sena, ječné slámy a shodně jako u pasených dojnic, jadrného podílu.

Během celého roku byly krmné dávky dojnic doplňovány minerální přísadou a solí v obvykle používaných dávkách.

Krmení bylo u všech zvířat pravidelné, bez výkyvů ve složení dávek a bez chyb v krmné technice.

Úroveň výživy, posuzována kvantitativně i kvalitativně, se neuplatňovala u sledovaných zvířat v negativním smyslu.

Všechna pokusná zvířata byla v dobré chovné kondici. Většina býků byla pravidelně využívána v chovu. Zdravotní stav byl uspokojivý v obou částech pokusu a neovlivňoval jejich průběh.

Odběry krve byly prováděny v pravidelných jednoměsíčních intervalech, vždy po ranním krmení. Vzorky krve byly získávány z *V. jugularis* a bezprostředně po odběru zpracovány laboratorně.

Obsah celkové kyseliny askorbové v krevním séru byl stanoven modifikovanou kolorimetrickou metodou s 2,4 dinitrofenylhydrazinem, podle Besseye, Lowry, Brocka (1947) a Schafferta a Kingsleye (1955) podle níž jsou získané výsledky uváděny v mg %. Výsledky jsou charakterizovány průměrnými hodnotami s uvedením krajních hodnot.

VÝSLEDKY

Provedenými pokusy u dospělého skotu bylo zjištěno, že u plemenných býků činí v zimním období průměrné množství kyseliny askorbové 1,154 mg %, s krajními hodnotami od 0,450 do 2,450 mg %.

V letním období představuje průměrné množství kyseliny askorbové 1,005 mg % s rozsahem od 0,300 do 2,910 mg %.

Rozdíl ve prospěch zimního období činí 0,149 mg %.

Průměrné množství za celé sledované období, zimní i letní obnáší u býků 0,912 mg % kyseliny askorbové.

V jednotlivých zimních měsících (prosinec — březen) se hladina kyseliny askorbové u býků pohybuje v krevním séru v listopadu od 1,15 do 1,50 mg % s průměrem 1,360 mg %; v prosinci od 1,38 do 1,55 mg % s průměrem 1,465 mg %; v lednu od 0,54 do 2,45 mg % s průměrem 1,191 mg %; v únoru od 0,75 do 1,35 mg % s průměrem 1,056 mg %; v březnu od 0,45 do 1,23 mg % s průměrem 0,900 mg %.

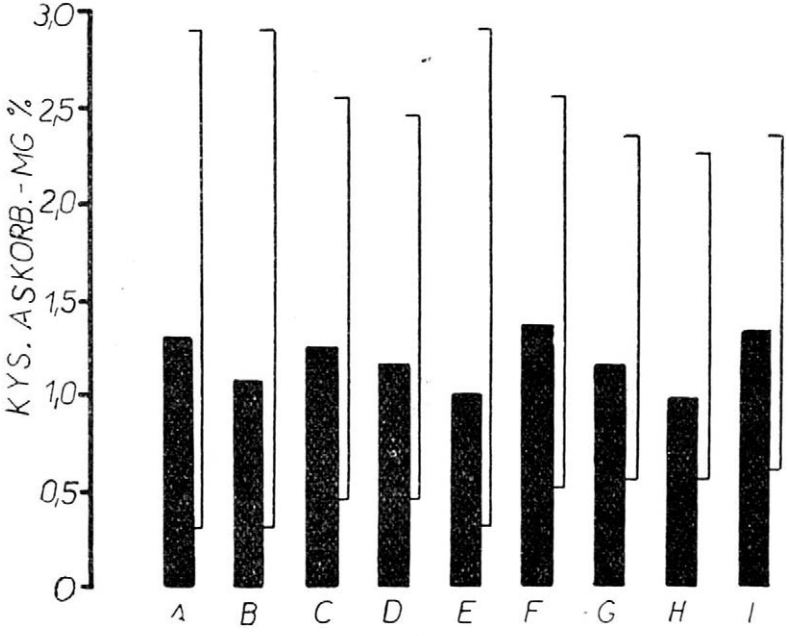
V letních měsících (květen — září) byl zjištěn obsah kyseliny askorbové v krevním séru býků v květnu od 0,60 do 1,75 mg % s průměrem 1,055 mg %; v červnu od 0,30 do 2,91 mg % s průměrem 1,080 mg %; v červenci do 0,60 do 1,20 mg % s průměrem 0,892 mg %; v srpnu od 0,65 do 1,26 mg % s průměrem 0,955 mg %; v září od 0,50 do 1,15 mg % s průměrem 0,916 mg %.

U vyšetřovaných dojnic obnáší množství kyseliny askorbové za celé sledované období (zimní i letní) 1,310 mg % v krevním séru s mezními hodnotami 0,50—2,55 mg %.

V zimním období činí průměrné množství kyseliny askorbové u dojnic 1,35 mg % s kolísáním od 0,50—2,55 mg %.

V letním období je u dojnic průměrné množství představováno 1,16 mg % kyseliny askorbové v séru krevním s rozsahem od 0,55 do 2,35 mg %.

V jednotlivých zimních měsících (prosinec — březen) se hladina kyseliny askorbové pohybovala u dojnic v prosinci od 0,90—2,10 mg % s průměrem 1,335 mg %; v lednu od 0,50—1,85 mg % s průměrem 1,260 mg %; v únoru od 1,15—2,55 mg % s průměrem 1,660 mg %; v březnu od 0,65 do 2,30 mg % s průměrem 1,070 mg %.

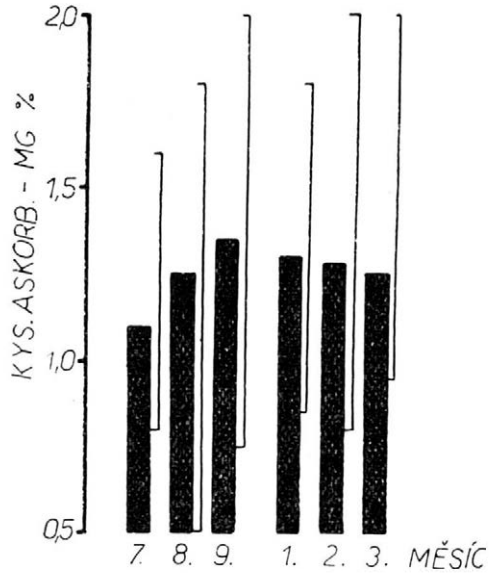


Obr. 1. Průměrné hodnoty kyseliny askorbové včetně krajních hodnot v séru krevním dospělého skotu — celoroční průměr (A), při letní výživě (B), při zimní výživě (C); u býků při výživě zimní (D), letní (E); u dojnic při výživě zimní (F), letní (G); u dojnic v letním období krmených ve stáji (H) a držených pastevně (I).

V letních měsících (květen—červenec) byl zjištěn u dojnic obsah kyseliny askorbové v séru krevním: v květnu od 0,70 do 2,35 mg % s průměrem 1,410 mg %; v červnu od 0,75—2,05 mg % s průměrem 1,27 mg %; v červenci od 0,55 do 2,25 mg % s průměrem 1,16 mg %.

Při sledování vlivu různého způsobu výživy dojnic v letním období bylo zjištěno, že se při pastevním způsobu výživy pohybuje hladina kyseliny askorbové od 0,60 do 2,35 mg % s průměrem 1,350 mg %. Při stájovém způsobu výživy je rozmezí kyseliny askorbové od 0,55 do 2,25 mg % s průměrem 0,980 mg %.

S přihlédnutím ke stupni gravidity bylo zjištěno, že u vysokobřezích dojnic činí průměrné množství kyseliny askorbové v séru 1,30 mg % s krajními hodnotami 0,50—2,00 mg %, u nízkobřezích dojnic pak je průměrné množství sledovaného ukazatele 1,330 mg % s rozmezím od 0,55 do 2,35 mg %. V poslední



Obr. 2. Průměrné hodnoty kyseliny askorbové včetně mezních hodnot v krevním séru dojnic v období před a po porodu.

třetině březosti pohybuje se průměrné množství kyseliny askorbové v 7 měs. gravidity od 0,70 do 1,60 mg % s průměrem 1,10 mg %; v 8. měsíci gravidity od 0,50 do 1,80 mg % s průměrem 1,25 mg %; v 9. měsíci gravidity od 0,75 do 2,00 mg % s průměrem 1,35 mg %.

V poporodním období je hladina kyseliny askorbové v krevním séru 1. měsíc od 0,85 do 1,80 mg % s průměrem 1,30 mg %; 2. měsíc od 0,80 do 2,00 mg % s průměrem 1,28 mg %; 3. měsíc od 0,95 do 2,00 mg % s průměrem 1,25 mg %.

Na základě provedených vyšetření býků a dojnic se pohybuje množství celkové kyseliny askorbové u dospělého skotu během zimního i letního období od 0,30—2,91 mg % a průměrné množství činí 1,29 mg %.

Z uvedených výsledků obsahu kyseliny askorbové v krevní séru dospělého skotu je patrné, že rozsah je poměrně značný. Rozdíl mezních hodnot činí až 2,61 mg %. Při zimním i letním způsobu výživy pozorujeme, že je v průměru obsah celkové kyseliny askorbové u samičího pohlaví (1,31 mg %) v krevním séru vyšší než u samčího (0,912 mg %). Není rovněž bez zajímavostí, že při zimním způsobu výživy je hladina kyseliny askorbové zvýšená ve srovnání s letním obdobím. Jestliže porovnáváme při letní výživě dojnic získané výsledky s přihlédnutím ke způsobu krmení pastevnímu a ve stáji, pozorujeme zvýšení hladiny kyseliny askorbové ve prospěch pastevně držených zvířat v průměru o 0,37 mg %.

Při sledování vlivu gravidity na askorbémii nebyl zaznamenán rozdíl mezi zvířaty vysokobřezími (1,30 mg %) a zvířaty v nízkém stupni gravidity (1,33 mg %). Z výsledku je také patrné, že dochází v poslední třetině březosti u krav k postupnému narůstání obsahu kyseliny askorbové v krevním séru s maximem v 9. měsíci a pak velmi pozvolné jeho snižování v době poporodní.

Klinickým pozorováním zvířat nebyly zaznamenány známky karence kyseliny askorbové.

Hodnotíme-li zdravotní stav pokusných zvířat, možno říci, že byl po celou dobu pokusu u většiny zvířat dobrý. Neovlivňoval zásadně jeho průběh. Ojedinělé mastitidy a případy poporodních endometritid u krav nezasahovaly podstatně do průběhu sledování. Tělesná kondice zvířat byla v průběhu pokusu dobrá. Chuť zvířat byla velmi dobrá. Výživa se neuplatňovala na sledovaný ukazatel a splňovala požadavky.

Mléčná užitkovost dojnic odpovídala úrovní výživy a plemenné příslušnosti krav a stupni jejich březosti. Lze konstatovat, že užitkovost u dojnic plemene dánská červinka byla v průměru vyšší než u plemene červenostrakatého skotu s vícestrannou užitkovostí. Průměrné hodnoty nadojeného mléka činily u dánských červinek v prosinci 8,9 kg, v lednu 7,4 kg, v únoru 9,5 kg, v březnu 10,7 kg, v květnu 9,2 kg, v červnu 10,3 kg, v červenci 10,1 kg. U červenostrakatých dojnic

činilo v jednotlivých měsících množství nadojeného mléka v průměru v prosinci 7,3 kg, v lednu 5,3 kg, v únoru 6,5 kg, v březnu 5,9 kg, v květnu 7,9 kg, v červnu 6,3 kg, v červenci 7,1 kg.

Laktace v době poporodní, v období rozdojování, činila v průměru u dánských červinek v 1. měsíci 16,28 kg, ve 2. měsíci 17,21 kg, ve 3. měsíci 16,00 kg. U červenostrakatých dojnic ve stejném období byly následující hodnoty: 15,15 kg za 1. měsíc, 18,00 kg za 2. měsíc a 10,45 kg za 3. měsíc.

DISKUSE

Bylo provedeno vyšetření 123 ks dospělého skotu (67 býků a 56 dojnic) se snahou získat obraz o hodnotách kyseliny askorbové v krevním séru těchto zvířat při zimním a letním krmení. Celkový počet vyšetření obnáší 593; z toho u býků 201, u dojnic 392.

Lze říci, že průměrné dosažené hodnoty obsahu kyseliny askorbové v krevním séru dospělého skotu, tak jak jsme je zaznamenali, se jen zhruba shodují s údaji uváděnými u člověka Abderhaldenem 1948, Eeekelenem 1936, Burchem 1961 s tím, že mezní hodnoty uváděné těmito autory jsou ve srovnání s našimi výsledky značně úzké, především pokud jde o horní hranici.

Rovněž výsledky sledování získané u skotu Valdmanem 1957 a Dvořákem 1964 potvrzují námi zjištěné průměrné hodnoty kyseliny askorbové v krevním séru. Dvořákem 1964 uváděné krajní hodnoty však se ve srovnání s našimi výsledky jeví rovněž poněkud užší.

V jakém rozsahu je oragnismus skotu saturován při zjištěných hodnotách nelze zodpovědně zjistit. Je však třeba poznamenat, že deficience kyseliny askorbové nebyla klinickým pozorováním ani u dojnic ani u býků zaznamenána, tak jak o ní referují Duncan 1944, Martynjuk 1952. Odpověď pro to lze spatřovat v tom, že výživa sledovaných zvířat byla po této stránce optimální.

V souvislosti s tím však je třeba uvést i to, že zjištěné vyšší průměrné množství kyseliny askorbové v krevním séru v zimním období proti letnímu, nasvědčuje tomu, že dieta v zimním období, chudší v průměru obsahem kyseliny askorbové než letní, provokuje pravděpodobně organismus skotu ke zvýšené produkci tohoto činitele vlastními systémy, jak o tom referují Bukin 1949, Kudrjačov 1948, Valdman a Taucin 1954, Solun 1944, Rindell a Whithnah 1936.

Vysvětlení rozdílnosti obsahu kyseliny askorbové vzhledem k pohlaví, který je nižší u býků než u dojnic, lze hledat v metabolické potřebě dané rozdílnou intenzitou výměny látkové, podpořené funkčním stavem pohlavních žláz.

Při sledování vlivu březosti na askorbémii dojnic shodně c Gossem 1938 a Valdmanem 1957 bylo zjištěno v poslední třetině gravidity narůstání obsahu kyseliny askorbové v krevním séru. Krajní hodnoty uváděné v této souvislosti Gossem 1938 se nám však jeví poněkud vyšší ve srovnání s našimi výsledky. V průměru se však udržují naše hodnoty v uváděných mezích.

Shodně s Drigalskim a Volfem 1940 je možno pozorovat značné kolísání hodnot.Tento jev lze uvádět jednak v souvislost s labilitou kyseliny askorbové, dále celou řadou intravitálních vlivů a i chyb při zpracování. Rovněž se lze přiklánět k názoru, že vliv odběru jak ho popisují Hrubá s Maškem 1963 může sehrát jistou úlohu.

SOUHRN

V práci jsou shrnuty výsledky pokusů při nichž byla stanovena askorbémie u 67 býků a 56 dojnic při zimním a letním krmení.

Výsledky vyšetření ukazují, že obsah celkové kyseliny askorbové v krevním séru se u dospělého skotu pohybuje od 0,30 do 2,91 mg %, průměrné množství obnáší 1,29 mg %. V letním krmném období činí průměrné množství sledovaného ukazatele u býků 1,0 mg %, u dojnic 1,16 mg %; v zimním období u býků 1,15 mg %, u dojnic 1,35 mg %.

Byl zaznamenán rozdíl v obsahu kyseliny askorbové vzhledem k pohlaví s tím, že u dojnic je průměrné množství kyseliny askorbové vyšší než u býků.

Dále bylo zjištěno, že pastevní způsob výživy se pozitivně uplatňuje na hladinu kyseliny askorbové v krevním séru dojnic.

Vliv gravidity dojnic je spojen sice s narůstáním obsahu kyseliny askorbové do porodu, přičemž však nebyl v průměru zaznamenán zásadní rozdíl v obsahu kyseliny askorbové v krevním séru dojnic na nízkém stupni gravidity a dojnic vysokobřezích.

Lze usuzovat, že za normálních dietních a zdravotních podmínek není třeba výživu dojnic a býků fortifikovat vitamínem C, že vlastní produkční systémy v organismu skotu jsou schopny krýt jeho potřebu.

Došlo dne 26. 7. 1965

Literatura

1. ABDERHALDEN, E.: Vitamine und Vitamintherapie, Bern 1948. — 2. BESSEY, O. A. - LOWRY, O. H. - BROCK, M. J.: The quantitative Determination of ascorbic Acid in small Amounts of White Blood. Cells and Platelets. = „J. Biol. Chem.", 168, 197, 1947. — 3. BUKIN, B. N.: Vitaminy, Pisčeproizdat, 1949. — 4. BURCH, H. B., cit. podle: Dvořák M. - Kyselina askorbová v krevním séru telat krmených pasterizovaným mlékem s 2 % cukru. = „Vet. medicína", 9, 6, 471, 1964 - „Ann. N. Y. Acad. Sci.", 92, 268, 1961. — 5. CAPPA, V., cit. podle: Dvořák M. - Kyselina askorbová v krevním séru telat krmených pasterizovaným mlékem s 2 % tuku. = „Vet. medicína", 9, 6, 471, 1964 - „Rivista di Zootec.", 31, 199, 1958. — 6. COLE, C. L. - RASMUSSEN, R. A. - THORP, F.: Dermatosis of the Ears, Cheeks, Neck and Shoulders in Young Calves. = „Vet. Med.", 39, 204, 1944. — 7. DRIGALSKI, J. - WOLF, M.: Der vit. C - Spiegel in Blut und die Frage des vit. C. = „Mangels. Berichte über die exp. Physiologie und Pharmakologie", 16, 411, 1940. — 8. DUNCAN, C. W. - HUFFMAN, C. F. - MITCHELL, R. J. - RIED, J. T., cit. podle: Dvořák M. - Kyselina askorbová v krevním séru telat krmených pasterizovaným mlékem s 2 % tuku. = „Vet. medicína", 9, 6, 471, 1964 - „J. Dairy Sci.", 27, 636, 1944. — 9. DVOŘÁK, M.: Působení bachorové tekutiny telat a dospělého skotu na stabilitu kyseliny askorbové. = „Vědecké práce VÚVL, Brno", 1964. — 10. DVOŘÁK, M.: Kyselina askorbová v krevním séru telat krmených pasterizovaným mlékem s 2 % tuku. = „Vet. medicína", 9, 6, 471, 1964. — 11. EEKELEN, Van M.: On the amount of ascorbic acid in blood and urine. The daily human requirements for ascorbic acid. = „Biochem. J.", 30, 2291, 1936. — 12. HRUBÁ, F. - MAŠEK, J.: Sborník referátů ze semináře o vitaminech, Praha 1963. — 13. GOSSE, H. K.: Untersuchungen über den Vitamin C Gehalt des Blutserum bei graviden und nichtgraviden Rindern. Zugleich ein Beitrag zur Bestimmung des Vitamin C in Blut. = „Berichte über die exp. Physiologie und Pharmakologie", 103, 603, 1938. — 14. JONES, L. M.: Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Ames, 1959. — 15. KNIGHT, C. A. - DUTCHER, R. A. - GUERRANT, N. B. - BECHDEL, S. I., cit. podle: Lousse A. - Le metabolisme de la vitamine C chez les ruminants. = „Ann. Méd. Vét.", 95, 18, 1951. = „J. Dairy Sci.", 24, 567, 1941. — 16. KUČMYJ, A.: Voprosy pitanija, 14, 3, 45, 1955. — 17. KUDRJAŠOV, B. A.: Biologičeskije osnovy učenija o vitaminach, Sovětská zootechnika, 1948. — 18. LOUSSE, A.: Le metabolisme de la vitamine C chez les ruminants. = „Ann. Méd. Vét.", 95, 18, 1951. — 19. MARTYNJUK, B. F.: Skorbut krupnogo rogatogo skota. = „Veterinarija", 29, 2, 21, 1952. — 20. NICOLAS, F.: Vitamine C et repro-

duction, Paris, 1950. — 21. NOVOTNÝ, K.: Vliv vitaminu C na dojivost a jakost mléka. Diss. Brno, 1953. — 22. PHILLIPS, J. - PAUL, H. - LARDY, H. - HEIZER. E. E. - RUEL, J. W.: Sperm stimulation in the bull through the subcutaneous administration of ascorbic acid. = „J. Dairy Sci.", 23, 1940; Ber. 1924, 83, 1941. — 23. PRUNTY, F. T. G. - VASS, C. C. N.: Vitamin C nutrition, Correlation of plasma ascorbic acid concentration and urinary saturation tests. = „Biochem. J.", 37, 18, 1943. — 24. RINDELL, W.H. - WHITNAH, C. H., cit. podle: Lazar J., - Kovalčík T. - Kováč J. - Jenčík F. - Kyselina askorbová v dietetike ošípaných. = „Folie Vet.", VII. 283, 1963 - „J. Dairy Sci.", 19, 373, 1936. — 25. RYDELL, D. V. M. - WHEATON, M.: Dermatosis in Calves. = „J. A. V. M. A.", 850, 59, 1948. — 26. SCHAFFERT, R. R. - KINGSLEY, G. R.: A rapid, simple method for the determination of reduced, dehydro-, and total ascorbic acid in biological material. = „J. Biol. Chem.", 212, 59, 1955. — 27. SOLUN, A. S.: Vitaminnoje pitanije selskochozjajstvennych životnych. Selchozgiz, 1944. — 28. TUREČEK, K.: Příspěvek k výživě plemenných býků. Diss.. Brno, 1952. — 29. VALDMAN, A. R.: Značenije vitaminov v pitaniji selskochozjajstvennych životnych i pticy, Riga, 1957. — 30. VALDMAN, A. R. - TAUCIN, E.: Vitaminnyje resursy i ich ispolzovanije, 2, 139, 1954. — 31. VAVICH, M. G. - DUTCHER, R. A. - GUERRANT, N. B. - BECHDEL, S. I., cit. podle: Lousse A. - Le metabolisme de la vitamine C chez les ruminants. = „Ann. Méd. Vét.", 95, 18, 1951 - „J. Dairy Sci.", 28, 759, 1945.

Аскорбиновая кислота в кровяной сыворотке дойных коров и быков при зимнем и летнем питании

Была установлена аскорбемия при зимнем и летнем питании у 67 быков и 56 дойных коров.

Результаты исследования показывают, что содержание всей аскорбиновой кислоты в кровяной сыворотке у взрослого крупного рогатого скота колеблется от 0,30 до 2.91 мг %, а ее среднее количество составляет 1,29 мг %. В летний кормовой период среднее количество изучаемого показателя у быков составляет 1,0 мг %, а у дойных коров — 1,16 мг %; в зимний период: у быков — 1,15 мг %, а у дойных коров — 1,35 мг %. Было отмечено различие в содержании аскорбиновой кислоты в зависимости от пола: у дойных коров среднее количество аскорбиновой кислоты больше, чем у быков.

Помимо того было установлено, что пастбищный способ питания положительно сказывается на уровне аскорбиновой кислоты в кровяной сыворотке дойных коров.

Хотя беременность коров и связана с увеличением содержания аскорбиновой кислоты до отела, но в ходе изучения не было отмечено принципиальной разницы в содержании аскорбиновой кислоты у коров в начале их беременности и в ее конце.

Можно сказать, что при нормальных условиях диеты и гигиены пища дойных коров и быков не нуждается в усилении витамином С, потому что собственные продуктивные системы в организме скота способны покрывать его потребность.

Ascorbic acid in Blood-Serum of Milch-Cows and Bulls during Winter and Summer Feeding

Ascorbaemia was determined in 67 bulls and 56 milch-cows during the winter and summer feeding.

The results of the investigation indicate that the contents of total ascorbic acid in the blood-serum in mature cattle varies from 0,30 to 2,91 mg%, the average amount being 1,29 mg%. In the summer feeding season the average amount of the followed value in bulls is 1,15 mg%, in milch-cows 1,35 mg%. A difference in relation to sex was noticed concerning the contents of ascorbic acid; the average amount of ascorbic acid in milch-cows was found to be higher than in bulls.

Further on it was ascertained that feeding on pastures positively influences the level of ascorbic acid in the blood-serum of milch-cows. Gravidity, no doubt, has an influence on the increasing of the ascorbic acid content up to the time of parturition, but on an average no principal difference in the ascorbic acid content in milch-cows at low or high gravidity stages could be recorded.

It can be deduced that under normal dietary and health conditions the feeding of milch-cows and bulls need not be fortified with vitamine C, the proper production systems in the organism of cattle being capable of covering its requirements.

Die Askorbinsäure im Blutserum der Milchkühe und Bullen bei der Winter- und Sommerernährung

Die Askorbämie wurde bei 67 Bullen und 56 Milchkühen bei der Winter- und Sommerfütterung ermittelt.

Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen, daß sich der Gehalt an gesamter Askorbinsäure im Blutserum bei erwachsenen Rindern von 0,30 bis 2,91 mg% bewegt; die Durchschnittsmenge beträgt 1,29 mg%. Während der Sommerfütterung beträgt die Durchschnittmenge der verfolgten Kennziffer bei Bullen 1,0 mg%, bei Milchkühen 1,16 mg%; während der Winterfütterung bei Bullen 1,15 mg%, bei Milchkühen 1,35 mg%. Man stellte einen Unterschied des Askorbinsäure-Gehaltes mit Rücksicht auf das Geschlecht fest, und zwar, daß bei Milchkühen die durchschnittliche Askorbinsäure-Menge höher war als bei Bullen.

Ferner konnte ermittelt werden, daß die Weidefütterung das Niveau der Askorbinsäure im Blutserum der Milchkühe günstig beeinflußt.

Der Einfluß der Gravidität der Milchkühe ist zwar mit dem Steigen des Gehaltes an Askorbinsäure bis zum Abkalben verbunden; dabei wurde jedoch im Durchschnitt kein grundsätzlicher Unterschied des Askorbinsäure-Gehaltes bei niedertragenden und hochtragenden Milchkühen ermittelt.

Es kann geschlossen werden, daß keine Notwendigkeit besteht, die Ernährung von Milchkühen und Bullen durch das Vitamin C zu ergänzen und daß die Produktionssysteme im Organismus der Rinder imstande sind, den Bedarf in dieser Beziehung zu decken.

Adresa autora:

MVDr. Jiří Dvořák, VŠZ, veter. fakulta, katedra výživy, dietetiky a pícninářství, Brno, Palackého 1-3

V. Rajtár
I. Čižnár
E. Parráková
V. Krčméry
J. Kellen

VZŤAH KATALÁZOVEJ AKTIVITY K NIEKTORÝM BIOLOGICKÝM VLASTNOSTIAM ENTEROBAKTERIÍ

Kataláza u mikroorganizmov chráni bunky pred toxickým účinkom peroxydu vodíka. Tento vzniká prechodne ako konečný produkt tých oxydoredukčných reakcií bakteriálnych buniek, kde konečným akceptorom enzymaticky prenášaného vodíka a elektrónov je O_2. Prítomnosť katalázy tedy vyplýva z fyziologických potrieb bunky a odráža aktivitu redox-procesov, teda bunkovej respirácie a energetického metabolizmu bunky. Takto môže byť kataláza vo vzťahu s vitalitou a aj s virulenciou bunky. Tento vzťah bol zatiaľ dokázaný pre *M. tuberculosis* (Krčméry a sp. 1959), *B. abortus* (Nižnánsky a sp. 1956), *P. pestis* (Krčméry a sp. 1959, Stenzel W. 1963), *V. cholerae* a *L. monocytogenes* (Stricker a sp. 1963).

S katalázou je u mikroorganizmov úzko spojená peroxydáza. Tento enzým prenáša aktivovaný kyslík z H_2O_2 na vhodné akceptory. Peroxydáza sa často používa miesto katalázy ako taxonomický test, respektívne test virulencie (Krčméry 1959, Šula a sp. 1963).

Dosiaľ niet jednotného názoru na význam katalázy u enterobaktérií. U týchto mikroorganizmov neboli nájdené jednoznačné korelácie medzi aktivitou katalázy a rozličnými biologickými vlastnosťami (Stenzel W., 1963, Seltman G., 1963, Lang W. 1966).

V tejto práci zhrňujeme naše viacročné poznatky o vzťahu katalázy a niektorých biologických vlastností *S. typhi, S. paratyphi, B, S. cholerae suis* a *E. coli*, najmä vitality, virulencie a aktivity niektorých enzymatických reakcií.

MATERIÁL A METÓDY

Na stanovenie katalázovej aktivity (KA) sme použili manganometrickú metódu (Nižnánsky a sp. 1956), ako sme ju modifikovali pre jednoduché stanovenie katalázovej kinetiky (Krčméry a sp. 1959, Stricker a sp. 1965). Suspenziu mikroorganizmov sme si pripravili spláchnutím 24-hodinových porastov na mäsopeptónovom agare pomocou zmývacieho roztoku (0,02 M fosfátový pufer, pH — 7,4 obsahujúci 0,05 % Bacto Tryptose DIFCO a 0,5 % NaCl). Hustotu suspenzie sme upravili pomocou spektrofotometra PREMA pri vlnovej dĺžke 550 μm na 50 % svetelnej absorpcie. 1 ml takejto suspenzie obsahuje približne 900 miliónov zárodkov.

Do série baničiek sa dá po 2,5 ml takto pripravenej suspenzie a v čase 0 sa do všetkých baničiek pridá 7,5 ml H_2O_2 (Perhydrol MERCK) označenej koncentrácie. V prvej baničke sa reakcia okamžite zastavila prídavkom 1,0 ml konc. H_2SO_4, v ostatných baničkách sa reakcia zastavovala v trojminútových intervaloch tým istým spôsobom. Nerozložený H_2O_2 sa v okyselenej vzorke sta-

novil titračne s 0,05 N $KMnO_4$. V niektorých prípadoch sme použili výpočet pre rýchlostnú konštantu (1):

$$K_{H_2O_2} = \log \frac{C_0}{C_0 - C_t}$$

C_0 — počiatočná koncentrácia H_2O_2
C_t — koncentrácia H_2O_2 v čase t

VÝSLEDKY

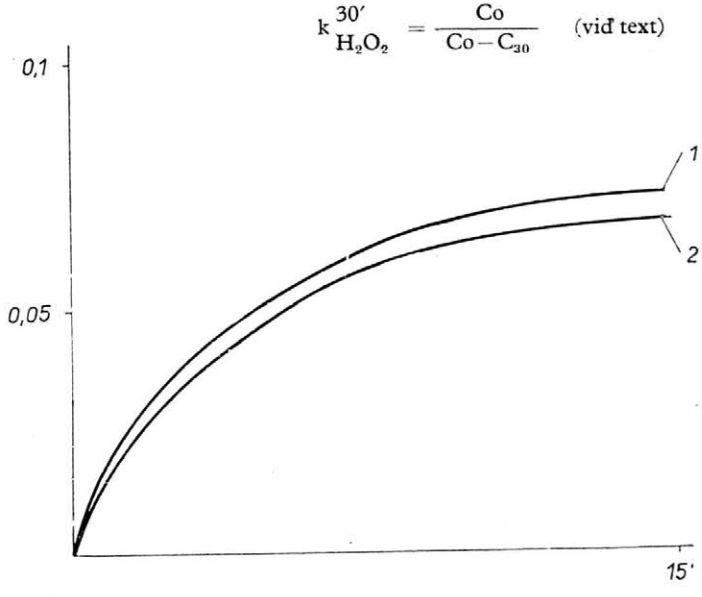
1. POROVNANIE KA U NOSIČSKÝCH KMEŇOV SALMONEL A U ZBIERKOVÝCH („VIRULENTNÝCH") KMEŇOV

I keď nebola priamo dokázaná zmena virulencie u nosičských kmeňov *S. typhi* (11), predsa sa všeobecne myslí, že tieto kmene, ktoré žijú v akejsi symbióze s makroorganizmom, nevyvolávajú klinické príznaky ochorenia vzhľadom na zníženú virulenciu.

Ako ukázali titračné krivky, nebolo výrazných rozdielov v KA u nosičských a zbierkových kmeňov (vybrali sme tie, ktoré boli izolované od klinicky chorých pacientov), i keď kmene izolované od nosičov vykazovali mierne zníženú KA. Preto sme u všetkých skúmaných kmeňov stanovili $K^{30'}_{H_2O_2}$. Ako vidno z tab. 1 a obr. č. 6, niet významných rozdielov ani v kinetike katalázovej reakcie

I. Porovnanie katalázovej aktivity u kmeňov *S. typhi* a *S. paratyphi* B, izolovaných od bacilonosičov a od pacientov (zbierkové, kmene)

Kmene	Pôvod	$k^{30'}_{H_2O_2}$	Počet kmeňov
S. typhi	od pacientov	0,055 – 0,070	4
	od bacilonosičov	0,052 – 0,063	6
S. paratyphi B	od pacientov	0,058 – 0,096	7
	od bacilonosičov	0,054 – 0,082	7



6. Kinetika KA u kmeňov *S. typhi*. 1. Zbierkový kmeň Ty/2. 2. Kmeň č. 314, izolovaný od bacilonosiča. Na ose X sú nanášané hodnoty: $K^{30'}_{H_2O_2} = \frac{C_0}{C_0 - C_{30}}$

u nosičských a zbierkových kmeňov salmonel. Z toho možno usudzovať (1), že ak KA by bola prejavom virulencie aj u salmonel, niet rozdielu vo virulencii medzi nosičskými a zbierkovými kmeňmi *S. typhi* a *S. paratyphi B*. Je teda zrejmé, že virulencia týchto salmonel nie je otázkou ich metabolickej aktivity, ale viacej otázkou produkcie endo-toxínov, konkrétne O- a Vi-antigénu (Karolček 1965).

2. VZŤAH KA A VITALITY BUNIEK U *S. cholerae suis*

Predbežné pokusy ukázali, že u aerovaných kultúr *S. cholerae suis* zmeny KA idú paralelne so zmenami počtu živých buniek v kultúre. Aj Stejskal (1960) uvádza, že u *H. pertussis* kataláza je indikátorom vitality buniek. Zisťovali sme preto dynamiku zmien KA u rastúcej aerovanej kultúry *S. cholerae suis*. V takejto kultúre vieme za intenzívnej aerácie docieliť rýchle zvyšovanie počtu živých zárodkov s nasledovným nástupom procesu odumierania buniek.

25 ml 6-hodinovej sub-kultúry *S. cholerae suis* sa inokulovalo do 1200 ml semisyntetickej pôdy o rôznom obsahu glukózy. Zloženie pôdy bolo:

Sušený hydrolyzát kazeínu (VÚFB)	25 g
Kvasničný dialyzát	250 ml
NaCl	3,5 g
Na_2HPO_4	2,5 g
Aque dest.	ad 1000 ml pH — 7,6

Obsah glukózy bol 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 %. Kultivovalo sa za trepania a intenzívnej aerácie pri 37° C 24 hodín. Každé 2 hodiny sa odoberali vzorky a určoval sa

1. počet živých buniek
2. turbidita
3. pH
4. KA (2,5 ml kultúry a 7,5 ml 0,5% H_2O_2, titrácia po 30 min. s 0,05 N $KMnO_4$)
5. obsah amínodusíka a glukózy.

Výsledky týchto skúmaní sú na obr. 1. a v tabuľke II. Ako vidieť, zmeny KA išli paralelne so zmenami počtu živých buniek. To svedčí o skutočnosti, že KA je enzým, súvisiaci úzko s vitalitou buniek. Odumieraním buniek dochádza teda buď k rozrušeniu enzýmu, alebo k zastaveniu produkcie H_2O_2, teda substrátu, alebo sa enzým inaktivuje, ak sa rozruší integrita bunkových procesov.

Zistili sme tiež, že KA bola najaktívnejšia u mikroorganizmov kultivovaných v médiu s 0,5 % glukózou. Je možné, že vyššie koncentrácie glukózy majú nepriaznivý vplyv na tie stránky bunkového metabolizmu, ktorý sa odráža v syntéze alebo aktivite katalázy.

V odobratých vzorkách sa každé dve hodiny zisťovala virulencia *S. cholerae suis* za účelom prípravy najvhodnejšej imunoprofylaktickej vakcíny. Po prepočte na celkový počet buniek a na počet živých zárodkov sme zistili, že virulencia salmonel pre myšky bola vo všetkých fázach prakticky rovnaká, pričom KA vykazuje výrazné rozdiely. Tieto výsledky budú publikované *in extense* v inej našej práci.

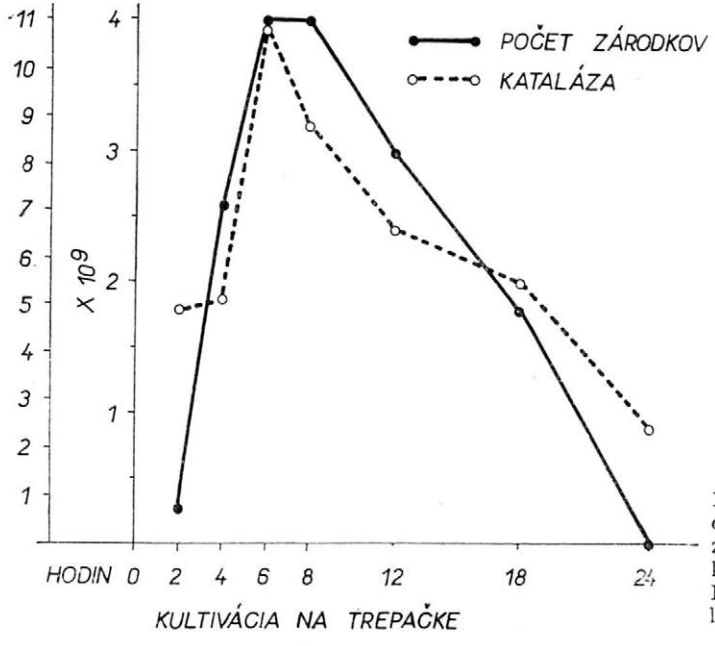
II. Dynamika zmien počtu živých buniek a katalázy u aerovaných kultúr *S. cholerae suis*

Doba kultivácie hod.	Absorpcia svetla*)	pH	Počet živých buniek	Katalázová aktivita**)
0	0,12	7,35	$5,6.10^6$	0,35
2	0,45	6,70	$2,0.10^8$	4,70
4	0,71	6,05	$2,1.10^9$	7,25
6	0,85	5,45	$8,4.10^9$	10,80
8	0,78	5,60	$3,3.10^9$	8,95
18	0,61	5,45	$2,3.10^8$	5,20
24	0,56	5,40	autolýza	2,10

*) absorpcia svetla sa merala za tých istých podmienok, ako při titračnom stanovení
**) Katalázová aktivita sa merala tak, že k 5,0 ml odobratej vzorky sa pridalo 15,0 ml 0,5 % H_2O_2. Čísla v tabuľke znamenajú počet ml 0,5 N H_2O_2, rozložených uvedeným množstvom buniek za 30′ pri 20^0 C

3. VZŤAH KA K AKTIVITE NIEKTORÝCH INÝCH ENZÝMOV U *E. coli*

U 40 kmeňov *E. coli*, izolovaných z okolia veľkoošipárne (z pôdy, vody a výkalov) sme určovali KA, redukčnú aktivitu voči TTC, transaminázovú aktivitu (GOT) a aktivitu malikodehydrogenázy (MTT-PMS testom). Kmene sme rozdelili do troch skupín podľa KA: kmene s vysokou KA rozložili 16—24 mg H_2O_2/30′, 20^0 C,/1 ml suspenzie, kmene s priemernou aktivitou rozložili 6—16 mg a kmene s nízkou aktivitou rozložili 0,5—6,0 mg.



1. Aerovaná kultúra *S. cholerae suis*. Priebeh zmien KA vo vzťahu k počtu živých buniek. KA je udaná v mg rozloženého H_2O_2/30′20^0 C

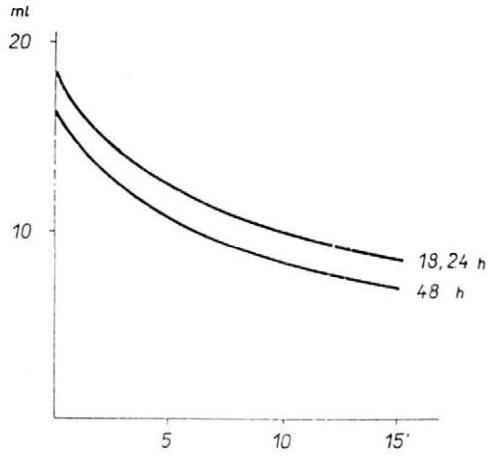
Aktivita katalázy bola u kmeňov *E. coli* paralelná iba s redukčnou aktivitou voči TTC (tabuľka III). Naproti tomu aktivita GOT nebola u *E. coli* paralelná s aktivitou KA., na rozdiel od listérií, kde KA i GOT boli paralelné s virulenciou kmeň (Stricker a sp. 1963). Pritom GOT možno pokladať za indikátora aktivity proteosyntézy. MDH ako indikátor energetického metabolizmu bola u kmeňov *E. coli* vcelku veľmi vysoká a teda nie je v súvislosti s KA.

III. Porovnanie aktivity KA s aktivitou redukcie TTC u kmeňov *E. coli*

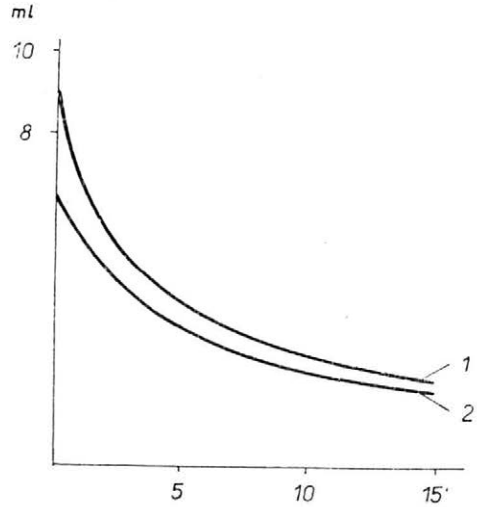
Počet kmeňov	Aktivita katalázy	mg rozlož. H_2O_2 za 30′	Počet kmeňov *E. coli*		
			Redukcia TTC +++	Redukcia TTC +	Redukcia TTC 0
18	vysoká	16–24	14	4	0
14	priemerná	6–16	3	9	2
8	nízka	0,5– 6	0	6	2

4. ZÁVISLOSŤ KA SALMONEL OD DĽŽKY ICH KULTIVÁCIE

U troch kmeňov *S. paratyphi B* a u 1 kmeňa *S. typhi*, rastúcich na mäsopeptónovom agare 18,24 a 48 hodín, zisťovali sme KA buniek. Výsledky boli obdobné u všetkých 4 kmeňov. Na obr. 2 sú výsledky u kmeňa *S. typhi* Ty-2. Vidieť, že KA je aktívnejšia u mladých buniek. Zatiaľ čo nebolo viditeľných rozdielov v KA mikrobiálnych buniek, kultivovaných 18 a 24 hodín, bunky kultivované 48 hodín mali nižšiu KA. To zrejme súvisí so značným podielom mŕtvych buniek v starších kultúrach na pevných pôdach.



2. KA kmeňa *S. typhi* po kultivácii 18,24 a 48 hodín na agarovej pôde. KA je udaná v hodnotách titrácie s 0,05 N $KMnO_4$. Koncentrácie H_2O_2 = 1 %



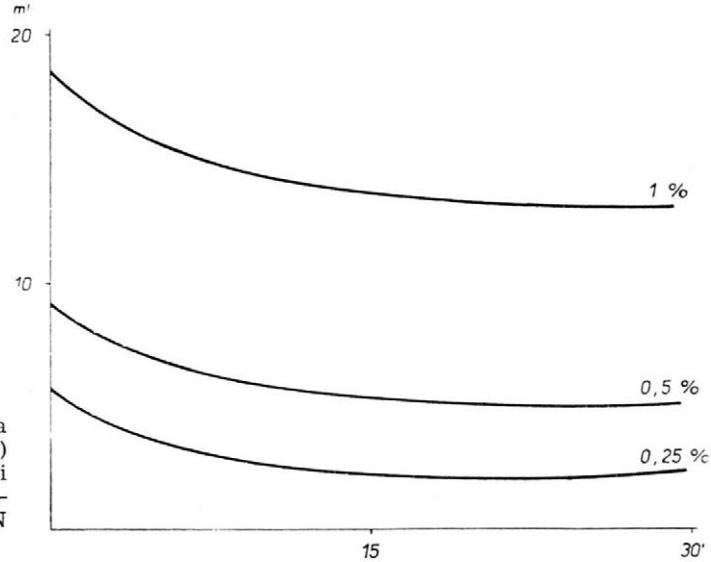
3. Zmeny KA po prežívaní kmeňa na pevnej pôde. Kmeň: *S. typhi* 314, izolovaný od bacilonosiča. 1. KA stanovená 24 hod. po izolácie od bacilonosiča. 2. KA stanovená 7 dní po 1.

5. ZMENY KA U BUNIEK PO IZOLÁCII Z ORGANIZMU A REKULTIVÁCII IN VITRO

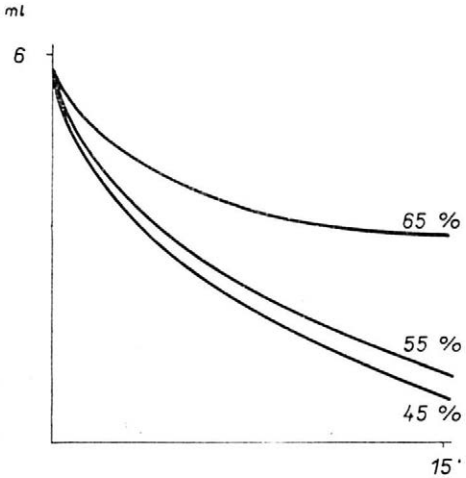
U kmeňa *S. typhi* č. 314 a *S. paratyphi* „455/B" zisťovala sa KA ihned po izolácii od bacilonosiča (jediná kultivácia na pevnej pôde) a KA po týždennom kultivovaní na mäsopeptónovom agare. Rozdiely sú viditeľné z obr. 3. U buniek čerstvo izolovaných z organizmu pacienta (jediná 24-hodinová kultivácia na pevnej pôde) je KA vyššia. Pri uchovávaní salmonel na pevných pôdach sa KA najprv zníži, ale ďalším preočkovávaním k znižovaniu KA už nedochádza.

6. ZÁVISTLOSŤ KA OD KONCENTRÁCIE H_2O_2

Vyššie koncentrácie ako 3 % H_2O_2 úplne inhibovali KA u všetkých 26 skúmaných kmeňov *S. paratyphi B* a *S. typhi*. Všetkých 6 skúmaných kmeňov *S. cholerae suis* dokážu ešte slabo rozkladať 9 % H_2O_2. 18 kmeňov *E. coli* roz-



4. Priebeh KA kmeňa Ty/2 (zbierkový kmeň) pri rôznej koncentrácii H_2O_2. KA je udaná v hodnotách titrácie s 0,05 N $KMnO_4$



5. KA kmeňa Ty/2 pri rôznej hustote suspenzie (24-hodinový porast). Koncentrácia H_2O_2 = 0,3 %. KA je udaná v hodnotách titrácie s 0,05 N $KMnO_4$

kladá ešte 9% H_2O_2, 14 kmeňov rozkladá 3% H_2O_2 a 8 kmeňov rozkladá nižšiu koncentráciu, ako 3%.

Z obr. 4 vidieť, že zníženie koncentrácie H_2O_2 neovplyvňuje u kmeňa *S. paratyphi B* tvar titračných kriviek, teda ani kinetiku reakcie.

7. ZÁVISTLOSŤ KA OD POČTU MIKROBIÁLNYCH BUNIEK

Na obr. 5. sú znázornené titračné krivky kmeňa *S. typhi* pri použití suspenzie o rôznej hustote, t. j. o rôznom počte buniek. Je vidieť, že pri veľmi nízkych počtoch buniek, H_2O_2 inhibuje KA skúmaného kmeňa, prípadne radikálne sa zmenší rýchlosť rozkladu substrátu, pretože sa zmenšil relatívny pomer koncentrácie ku koncentrácii enzýmu.

DISKUSIA

Výsledky našich skúmaní svedčia priamo i nepriamo o tom, že u *S. typhi, S. paratyphi B* a *S. cholerae suis* KA nie je vo vzťahu k virulencii kmeňov. To súhlasí so zisteniami iných autorov (Stenzel W. 1963, Seltman G. 1963, Long W. 1963) i s názorom (Karolček J. 1965), že virulencia je u salmonel viac vo vzťahu k antigénnej štruktúre (prítomnosti 0-antigénu, čiže endotoxínu a Vi-antigénu) než k samotnej metabolickej aktivite buniek. KA je však dobrým indikátorom vitality buniek a je dokázateľná prakticky iba u živých buniek. S odumieraním buniek, napr. pri autolýze, KA suspenzie buniek prudko klesá.

Nepozorovali sme rozdiely v KA u kmeňov *S. typhi* a *S. paratyphi B*, izolovaných od bacilonosičov, od KA u zbierkových kmeňov.

Zistili sme niektoré závislosti KA a podmienok kultivácie salmonel. KA je u fyziologicky starších buniek pozorovateľne nižšia.

Uvedené výsledky dosiahli i viacerí ďalší autori Stenzel W. 1963, Seltman G. 1963, Lang W. 1963. Ani v ich prácach nebol nájdený vzťah KA a virulencie u rôznych enterobaktérií. U enterobaktérií sa všeobecne pozoruje veľmi nízka KA. Rozklad H_2O_2 napríklad prestáva (v nami opísaných podmienkach) prakticky po 15 minútach kontaktu s bunkami a v médiu zostáva značné množstvo nerozloženého H_2O_2. Tento zjav ostáva zatiaľ nevysvetlený a je odlišný od pomerov, kde KA súvisí s virulenciou buniek (napr. u brucel a u *M. tuberculosis*, kde KA je termo- a acidostabilná u virulentných kmeňov (Krčméry 1959, Malikova 1965, Andrejew a sp. 1964). Na rozdiel od niektorých autorov (Langa sp. 1964) našli sme u časti kmeňov *E. coli* vysokú KA, ktorá bola sprevádzaná vysokou aktivitou reduktáz, redukujúcich TTC.

U väčšieho počtu kmeňov *E. coli* sme nepozorovali vzťah KA s aktivitou GOT ani MDH, pozorovali sme však úzku súvislosť medzi KA a reduktázami, používajúcimi ako finálny akceptor elektrónov TTC.

SÚHRN

U kmeňov *S. typhi* a *S. paratyphi B*, izolovaných od bacilonosičov sa porovnávala aktivita katalázy na kvantitatívnom základe s aktivitou zbierkových kmeňov, izolovaných od klinicky chorých osôb. Nepozorovali sa rozdiely v aktivite katalázy oboch skupín kmeňov. Boli tiež zisťované niektoré závislosti katalázy od fyziologického stavu skúmaných buniek.

U kmeňov *S. cholerae suis* bolo dokázané, že katalázová aktivita odráža vitalitu aerovaných kultúr. V stacionárnej fáze rastu, v ktorej dochádza postupne k autolýze buniek, teda k úbytku celkového počtu živých buniek, aktivita katalázy kultúry prudko klesá.

U mnohých kmeňov *E. coli* sa pozorovala vysoká aktivita katalázy. U týchto kmeňov bol zistený priamy vzťah medzi aktivitou katalázy a aktivitou reduktáz, ktorých konečným akceptorom elektrónov bol TTC. Nebol nájdený vzťah medzi aktivitami katalázy, glutamo-oxaloctovej transaminázy a malikodehydrogenázy.

Došlo dňa 3. 8. 1965

Literatúra

1. KRČMÉRY V., FERENČÍK M., KELLÖ V.: Aktivita hydroperoxydáz u brucel. = „Biológia" 14, 924, 1959. — 2. NIŽNÁNSKY F., KRČMÉRY V.: Príspevok k ureázovej a katalázovej aktivite brucel. = „Vet. časopis" 5, 182, 1956. — 3. STENZEL W.: Katalase-aktivität und Virulenz bei Shigellen. = „Arch. Hyg. Bakteriol." 147, 172, 1963. — 4. STRICKER F., FIŠERA J. KRČMÉRY V., FERENČÍK M.: Comparison of virulence and activity of some enzymes in Listeria. = „Folia Microbiol." 8, 89, 1963. — 5. KRČMÉRY V.: A rapid biochemical method for the differentiation of Brucella suis. = „J. Hyg. epid. microbiol. imunnol." 3, 314, 1959. — 6. MALIKOVA M. V. Izučenije peroksidaznoj aktivnosti brucel. = „Žurn. Mikrobiol. epid. imunol." č. 3, 52, 1965. — 7. ŠULA L., LANGEROVÁ M.: Drug sensitivity and resistance demt. and simple enzymatic tests for the differentiation of Mycobacteria. = „Bull. WHO" 29, 579, 1963. — 8. SELTMAN G.: Die Katalaseaktivität von S. paratyphi B. = „Zbl. Bakteriol." I. Orig. 190, 466, 1963. — 9. LANG W.: Über die Katalase bei gramnegativen pathogenen Bakterien. = „Zbl. Bakteriol." I. Orig. 190, 403, 1963. — 10. LANG W., LINZENMEIER G., HILFER K.: Die Katalase bei pathogenen Stämmen von E. coli. = „Zbl. Bakteriol." 192, 67, 1964. — 11. KAROLČEK J.: Poznatky zo štúdia virulencie a iných biologických vlastností kmeňov S. typhi. = „Lék. Obzor" 14, 39, 1965. — 12. STEJSKAL A.: Metabolické zákonitosti a závislosti kultivace Bordetelly pertusiss. = Dizertácia, ÚSOL Praha, 1960. — 13. ANDREJEW A., KWIEK S., GERNEZ-RIEUX CH: Différents types d'activité catalasique chez les mycobactéries. = „Ann. L'institut Pasteur" 107, 503, 1964.

Отношение между активностью каталазы и некоторыми биологическими свойствами энтеробактерий

У штаммов S. typhi и S. paratyphi B, изолированных у бациллоносителей, на количественной базе сравнивалась активность каталазы с активностью коллекционных штаммов, изолированных у клинически больных лиц. Различий в активности каталазы обеих групп штаммов не наблюдалось. Устанавливались также некоторые зависимости каталазы от физиологического состояния изучаемых клеток.

У штаммов S. cholerae suis было доказано, что активность каталазы отражает жизненность аэрированных культур. В стационарной фазе роста, в которой постепенно происходит автолиз клеток, т. е. уменьшение общего числа живых клеток, активность каталазы культуры резко понижается. У многих штаммов E. coli наблюдалась высокая активность каталазы. У этих штаммов было установлено прямо пропорциональное отношение между активностью каталазы и активностью редуктаз, финальным акцептором электронов которых был TTC. Не было установлено зависимости между активностью каталазы, глютамо-оксалуксусной трансаминазы и маликодегидрогеназы.

The Relation between Catalase Activity and some Biological Properties of Enterobacteriaceae

The activity of catalase of the strains of S. typhi and S. paratyphi B isolated from the carriers of bacilli was compared on the qualitative basis with the activity of collection strains isolated from clinically sick persons. No differences in the ca-

talase-activity of both groups of strains were observed. A certain dependence of catalase on the physiological state of the investigated cells was stated, too.

In the strains of S. cholerae suis it was proved that the catalase activity reflects the viability of the aerated cultures. In the stationary phase of growth bringing about a gradual autolysis of the cells, i. e. a restriction of the whole number of live cells, the activity of catalase decreases intensively. In many strains of E. coli a high catalase activity was observed. In these strains a direct relation was ascertained between the catalase activity and the activity of reductases, the final electrone-acceptor of which was TTC. No relation was found between the activities of catalases, glutamic-oxalacetic transaminase, and malicodehydrogenase.

Die Beziehung der Katalasen-Aktivität zu einigen biologischen Eigenschaften der Enterobakterien

Bei den von den Bazillenträgern isolierten Stämmen der S. typhi und S. paratyphi verglich man die Katalasen-Aktivität auf quantitativer Grundlage mit der Aktivität der Kollektions-Stämme, die von klinisch kranken Personen isoliert wurden. Unterschiede der Katalasen-Aktivität beider Stammgruppen konnten nicht beobachtet werden. Man stellte auch einige Abhängigkeiten der Katalase vom physiologischen Zustand der geprüften Zellen fest.

Bei Stämmen der S. cholerae suis konnte ein Nachweis gebracht werden, daß die Katalasen-Aktivität die Vitalität der aerierten Kulturen widerspiegelt. Während der stationären Wachstumsphase, bei der die Autolyse der Zellen, demnach eine Abnahme der Gesamtzahl lebendiger Zellen nach und nach eintritt, bemerkt man eine schroffe Herabsetzung der Katalasen-Aktivität. Bei zahlreichen Stämmen der E. coli beobachtete man eine hohe Katalasen-Aktivität. Bei diesen Stämmen wurde eine direkte Beziehung zwischen der Katalasen- und Reduktasen-Aktivität, deren endgültiger Elektronen-Akzeptor das TTC war, ermittelt. Eine Beziehung zwischen den Aktivitäten der Katalase, der glutamo-oxalessigsauren Transaminase und der Malikodehydrogenase wurde nicht festgestellt.

Adresy autorů:

MVDr. Vojtech Rajtár, ÚŠVÚ — Štátna kontrola biopreparátov a liečiv, Nitra,

Inž. I. Čižnár, MUDr. E. Parráková, Výskumný ústav epidemiológie a mikrobiológie, Bratislava,

Inž. Vl. Krčméry, CSc., MUDr. Ján Kellen, CSc., Výskumný ústav hygieny, Bratislava

O. Mráz
J. Nahálka
M. Pšenička

FREKVENCE ENTEROBAKTERIACEÍ V REKTÁLNÍM OBSAHU JATEČNÝCH TELAT

LITERÁRNÍ PŘEHLED

U telat se mikrobními poměry v zažívacím traktu zabýval pravděpodobně až Popoff (1903), který dospěl k závěru, že zažívadla nově narozených telat jsou prosta bakterijní flóry. Z toho je zřejmé, že k osídlení střeva dochází teprve postnatálně s prvními dávkami mléčné výživy.

Dalším autorem na tomto vědním úseku byl Ankersmit (1906). Na základě důkladného vyšetření čtyř sajících telat zjistil značný výskyt bakterií ve slezu, a to 1—11 miliónů zárodků na 1 g obsahu. Z uvedeného počtu bylo největší procento streptokoků a escherichií. V tenkém střevě byl počet mikrobů v důsledku žaludeční šťávy redukován na pouhých 100 000, v němž převládaly hlavně streptokoky, jmenovitě *Str. lactis*. V posledních úsecích střevního traktu se bakterie opět pomnožily ve prospěch escherichií a celkové množství zjištěných zárodků stouplo na 2—7 miliard na 1 g obsahu. V práci je zmínka též o jistém podílu dosud neuváděných zárodků z rodu *Aerobacter (A. aerogenes)*.

Právě uvedené poznatky byly potvrzeny o půl století později Mannem a Oxfordem (1955), kteří nalezli v bachoru a slezu telat laktobacily a *Streptococcus bovis*. Rozsáhlejší práci uveřejnili v krátké době nato ještě Bryant a kol. (1958). Tito autoři prostudovali složení bachorové mikroflóry a mikrofauny tří telat ve stáří od 7 dní do 3 měsíců. Jejich pokus ukázal, že například počet anaerobů byl ještě větší než u dospělých a celulolytické zárodky srovnatelného množství se vyskytují dokonce již ve stáří tří týdnů. Pokud jde o fakultativní aerobionty, tedy coliformních bylo nejvíce v 21 dnech, ale ještě na konci pokusu přesahovalo jejich množství počet těchže zárodků u dospělých zvířat. Závěrem bylo konstatováno, že bachor nejmladších telat je velmi dobře připraven na svou funkci, takže by mohl zpracovávat i hrubou píci, pokud by byla takovým telatům předkládána.

V oblasti střevního traktu byla věnována hlavní pozornost salmonelám a zejména escherichiím ve snaze zjistit frekvenci sérotypů nacházených při colibacilóze. Kromě obecnější práce Ulbrichovy (1954) se touto problematikou zabývali speciálně Schonaers a Kaeckenbeeck (1960). Vyšetřili celkem 550 klinicky zdravých telat, z nichž u 13 % nalezli enteropatogenní sérotypy *E. coli* ze skupin 0 8, 0 9, 0 15, 0 20, 0 26, 0 32, 0 55, 0 78, 0 86, 0 101, 0 114, 0 115 a 0 117. Z těchto kmenů patřilo 30 % k sérotypu 0 78, 0 15, 0 55 a 0 86, které převládají při colibacilózách v Belgii. Pro srovnání uvádíme, že Salajka (1964) zjistil jako nejčastější příčinu colibacilóz v našich poměrech sérotypy 0 78, 0 101 a 0 8, méně již 0 26, 0 55, 0 86 a 0 111.

Kromě salmonel a escherichií jsou ve spojitosti se ztrátami u telat uváděny také bakterie *Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa* aj., které lze podle jejich virulence řadit k mikrobům podmíněně patogenním, ačkoli rozsah výskytu u nich zatím bezpečně neznáme. V našich poměrech například Rossi (1956) provedl bakteriologická vyšetření 1393 kadaverů uhynulých telat a zjistil 14 % colibacilóz, 7,7 % colistreptokokových infekcí a 0,89 % infekcí způsobených proteem. Jako kasuistický příspěvek uvádí též infekci zárodkem *Ps. aeruginosa*, která postihla celkem 11 telat.

Při hodnocení některých původců je situace ztížena tím, že neznáme frekvenci těchto zárodků u zdravých telat a nevíme tudíž, zda jejich výskyt v orgánech uhynulých kusů není jen podružného významu. Příslušné studie v novější literatuře chybějí a výsledky obdobných šetření u dospělých zvířat mohou vést k mylným závěrům. Konečně i tam je údajů velmi poskrovnu.

ÚČEL PRÁCE A POUŽITÉ METODY

Zkušenosti ukazují, že ve mnohých případech průjmových onemocnění u telat bývá zjišťován masivní výskyt proteů, někdy pseudomonád a ojediněle i paracolobakterií. Význam těchto mikrobů jako etiologických činitelů není dosud zcela objasněn, neboť chybí údaje o jejich zastoupení v zažívadlech zdravých kusů a dále i vhodné biologické pokusy. Z těchto důvodů jsme se pokusili v první řadě o stanovení mikrobních poměrů v rektálním obsahu telat, a to bezprostředně po jejich poražení na jatkách. Zmíněný úkol byl rozvržen do několika dílčích bodů:

1. Zjistit frekvenci a druhové zastoupení laktózonegativních nebo laktózu opožděně zkvašujících enterobakteriaceí, dále též pseudomonád a achromobakteraceí.
2. Zjistit absolutní výskyt proteů ve fekáliích po předběžné inkubaci tampónových vzorků v masopeptonovém bujónu.
3. Zjistit druhové složení coliformních zárodků u několika namátkově vybraných telat.
4. Zjistit druhové složení coliformních zárodků po namátkovém odběru kolonií u dvou set za sebou jdoucích telat.

Bod 3 a 4 byly připojeny převážně jenom pro zodpovězení otázky, zda je *E. coli* víceméně výhradním představitelem coliformních zárodků v zažívadlech telat, nebo zda se na jejich počtu podílejí ve větší míře také ostatní druhy escherichií, popřípadě zástupci rodu *Aerogenes*.

Před zahájením vlastní práce byla provedena série předpokusů na 50 telatech, u nichž byly odebrány tampónové vzorky z rekta a samostatně též z okolí anu, aby se prokázala vhodnost této metody i pro rozšířené mikrobiologické vyšetřování *faeces*. Všechny vzorky byly očkovány na Endův agar a jejich hodnocení ukázalo, že výskyt bakterií v rektu a okolí anu spolu koresponduje. Tampónový vzorek z rekta je tedy postačující též pro náročnější studie v oblasti málo virulentních nebo nepatogenních mikrobů. Tak se současně zjistilo, že například *Proteus vulgaris* není obsažen ve stájovém prostředí ubikvitárně, ale je vázán převážně na zvíře, které je jeho vylučovatelem.

Po této základní orientaci bylo přikročeno k vlastní práci. Rektální vzorky byly odebírány od jatečných telat ve stáří do 6 týdnů a jednotlivé tampóny byly potom zpracovány nejpozději do dvou hodin v laboratoři. Dělo se tak přímým očkováním na Endovu půdu a za použití běžné kultivační techniky (první

segment tampónem, dalších 4—5 segmentů sterilní kličkou). Po 24hodinové inkubaci při 37° C byly odečítány výsledky a typické kolonie laktózonegativních nebo laktózu opožděně zkvašujících zárodků přeočkovány do 0,5% masopeptonového agaru za účelem pozdější přesné identifikace. Relativní množství kolonií stejného typu bylo zjišťováno podle detailnější struktury a hodnoceno tak, že 1—5 kolonií se značilo +, 6—20 kolonií ++, 21 a více kolonií +++. Tímto způsobem bylo vyšetřeno celkem 1252 telat, z nichž 260 kusů sloužilo též k zodpovězení otázek ad 2, 3 a 4.

Ke zjištění absolutního výskytu proteů, zejména druhu *P. vulgaris*, bylo 260 tampónových vzorků po provedené inokulaci Endovy půdy vloženo do masopeptonových bujónů a inkubováno 24 hod při 37° C. Po této době z nich bylo opět očkováno na novou Endovu půdu, kde se proteové kolonie hodnotily podle jejich typického koncentrického šíření.

Pokud se týká druhového zastoupení coliformních zárodků ve *faeces* jednotlivých kusů, bylo vyšetřeno celkem 8 telat. Postupovalo se tím způsobem, že se z Endovy půdy každého vzorku odpíchlo asi 25 dobře izolovaných kolonií pro pozdější identifikaci. Pro zjištění druhového zastoupení těchto zárodků u větší, reprezentativní skupiny byla z každé Endovy půdy odebrána pouze jedna kolonie a v této fázi pokusů bylo vyšetřeno celkem 200 telat.

Veškeré pokusy byly provedeny rovnoměrně jak v chladném, tak i teplém období let 1963—1964.

Při biochemickém rozboru všech nastřádaných kmenů bylo použito obvyklých metodik, které publikovali Sedlák (1955), Raška a kol. (1958) a Sedlák spolu s Rischem (1961). Do pestré řady bylo vzato celkem 14 členů a vedle toho byla provedena i potřebná vyšetření morfologická, tinkční aj. Konečné změny na pestré řadě byly hodnoceny po 28denní inkubaci při 37° C.

VLASTNÍ PRÁCE

Výsledky pokusů jsou vyjádřeny ve dvou tabulkách (tab. I a II), z nichž jsou zřejmy všechny sledované údaje, jako např. data jednotlivých odběrů na jatkách, čísla vyšetřených vzorků, relativní počty coliformních zárodků, orientační zatřídění enterobakteriaceí podle typu kolonií a bakteriologická diagnóza. Absolutní výskyt proteů, druhové zastoupení escherichií u 8 namátkově vybraných telat a totéž vyšetření u 200 za sebou jdoucích telat uvádíme samostatně:

Z údajů v obou tabulkách vyplývá, že *P. vulgaris* byl ze 1252 rektálních vzorků zjištěn celkem 39krát, tj. ve 3,1 % případů. Tento počet však nemůže být přesným obrazem skutečného výskytu protea ve střevě telat, neboť orientační pokusy ukázaly, že se jeho záchytnost zvětšuje předběžnou inkubací vzorků v masopeptonovém bujónu. Z tohoto důvodu jsme 107 tampónů z chladného období (4. VII. 1963 a 21. IV. 1964) a 153 tampónů z teplého období roku (12. VIII. a 18. VIII. 1964) vyšetřili ještě tímto pomnožovacím způsobem. Z uvedených vzorků byly typické kolonie *P. vulgaris* nalezeny v chladném období ve 28 % případů (přímou kultivací pouze 4 %) a v teplém období v 41 % případů (přímou kultivací pouze 7 %). Za celkový průměr výskytu *P. vulgaris* z obou měření můžeme tedy uvažovat asi 34 % proti pětiprocentnímu výskytu zjištěnému přímou kultivací. Zvýšený podíl ostatních druhů protea se nám nepodařilo zjistit, ale například izolace dvou kmenů *Ps. aeruginosa* pocházejí právě z těchto pomnožovacích pokusů.

I. Frekvence enterobakteriaceí v rektálním obsahu jatečných telat během chladných měsíců roku (19. XI. — 21. IV).

Vysvětlivky k hodnocení typu kolonií na Endově půdě:

Typ I: kolonie bezbarvé, hlenovité, s koncentrickým šířením.

Typ II: kolonie o průměru 2—4 mm, okrouhlé, vyvýšené, hladké, bělorůžové, se středem. Půda v okolí světlejší.

Typ III: kolonie o průměru 1—3 mm, okrouhlé, vyvýšené, hladké, narůžovělé, se sytějším středem. Půda v okolí beze změny.

Typ IV: kolonie o průměru 2—4 mm, neostrých okrajů, ploché, hladké, bezbarvé, se sklonem ke koncentrickému šíření.

Datum odběru	Číslo vzorku	Typy kolonií						Druhová diagnóza
		Coliformní	Enterokoky	Laktózo — a ± kolonie				
				I	II	III	IV	
19. XI. 1963	1– 55	+++	3krát	–	–	–	–	
	56	+++	+++	–	–	–	–	*Mucor sp.*
	57	+++	–	++(1)	–	–	–	*P. vulgaris* (kmen č. 1)
	58	+++	–	++(2)	–	–	–	*P. vulgaris* (2)
	59	+++	–	+(3)	–	–	–	*P. vulgaris* (3)
	60	+++	–	–	+++(4)	–	–	*Pc. coliforme* (4)
	61	+++	–	–	+++(5)	–	–	*Pc. coliforme* (5)
	62	+++	–	–	+(6)	–	–	*Pc. coliforme* (6)
20. XI. 1963	63–116	+++	1krát	–	–	–	–	
	117	+++	–	++(7)	–	–	–	*P. vulgaris* (7)
	118	+++	–	–	+(8)	–	–	*Pc. coliforme* (8)
	119	+++	–	–	+(9)	–	–	*Pc. coliforme* (9)
	120	+++	++	–	–	–	–	*Mucor sp.*
	121	+++	–	++(10)	–	–	–	*P. vulgaris* (10)
26. XI. 1964	474–527	+++	–	–	–	–	–	
	528	+++	–	+(59)	–	–	–	*P. vulgaris* (59)
	529	+++	–	++(60)	–	–	–	*P. vulgaris* (60)
	530	+++	–	++(61)	–	–	–	*P. vulgaris* (61)
	531	+++	–	–	–	++(62)	–	*Pc. coliforme* (62
	532	+++	+	–	–	+(63)	–	*Pc. intermedium* (63)
	533	+++	–	–	–	+(64)	–	*Pc. coliforme* (64)
27. XI. 1964	534–608	+++	4krát	–	–	–	–	
	609	+++	–	+(65)	–	–	–	*P. vulgaris* (65)
	610	+++	–	+(66)	–	–	–	*P. vulgaris* (66)
	611	+++	–	–	–	+(67)	–	*Pc. coliforme* (67)
	612	+++	–	–	–	+(68)	–	*Pc. coliforme* (68)
	613	+++	–	–	–	+(69)	–	*Pc. coliforme* (69)
	614	+++	–	–	–	+(70)	–	*Pc. coliforme* (70)
	615	+++	–	–	–	+(71)	–	*Pc. intermedium* (71)
	616	+++	+	–	–	+(72)	–	*Pc. coliforme* (72)
4. XII. 1963	122–168	+++	–	–	–	–	–	
	169	+++	–	+(11)	–	–	–	*P. vulgaris* (11)
	170	+++	–	–	+++(12)	–	–	*Pc. coliforme* (12)
	171	+++	–	–	–	++(13)	–	*Pc. coliforme* (13)
	172	+++	–	–	++(14)	–	–	*E. coli* (14)
	173	+++	–	–	–	+++(15)	–	*Pc. intermedium* (15)
10. XII.	174–218	+++	4krát	–	–	–	–	
	219	+++	–	–	+++(16)	–	–	*Pc. intermedium* (16)
	220	+++	–	–	+++(17)	–	–	*Sh. dispar* (17)
	221	+++	–	–	–	++(18)	–	*Pc. coliforme* (18)
	222	+++	–	+(19)	–	–	–	*P. vulgaris* (19)

Pokračování tabulky I.

Datum odběru	Číslo vzorku	Typy kolonií						Druhová diagnóza
		Coliformní	Enterokoky	Laktózo – a ± kolonie				
				I	II	III	IV	
17. XII. 1963	223–283	+++	2krát	–	–	–	–	
	284	+++	–	–	++(20)	–	–	*Pc. coliforme* (20)
	285	+++	–	–	–	+++(21)	–	*Pc. coliforme* (21)
	286	+++	–	–	++(22)	–	–	*Pc. coliforme* (22)
	287	+++	–	–	+++(23)	–	–	*Pc. coliforme* (23)
	288	+++	–	–	+++(24)	–	–	*Pc. coliforme* (24)
	289	+++	–	–	–	–	+(25)	*P. mirabilis* (25)
	290	+++	–	–	–	–	+(26)	*P. mirabilis* (26)
	291	+++	–	–	–	–	+(27)	*P. mirabilis* (27)
	292	+++	++	–	–	–	+(28)	*P. mirabilis* (28)
	293	+++	–	–	–	–	+(29)	*P. mirabilis* (29)
	294	+++	–	–	–	–	+(30)	*P. mirabilis* (30)
10. III. 1964	295–310	+++	2krát		–	–	–	
	311	+++	–	+(31)	–	–	–	*P. vulgaris* (31)
	312	+++	–	+(32)	–	–	–	*P. vulgaris* (32)
	313	+++	–	–	–	+(33)	–	*Pc. coliforme* (33)
18. III. 1964	314–388	+++	6krát	–	–	–	–	
	389	+++	+	–	–	+++(34)	–	*Pc. coliforme* (34)
	390	+++	–	–	+++(35)	–	–	*Pc. intermedium* (35)
	391	+++	–	–	–	+++(36)	–	*Pc. coliforme* (36)
	392	+++	–	–	++(37)	–	–	*Pc. coliforme* (37)
	393	+++	–	–	++(38)	–	–	*Sh. dispar* (38)
	394	++	–	–	–	+++(39)	–	*Pc. intermedium* (39)
	395	+	–	–	+++(40)	–	–	*Pc. coliforme* (40)
	396	+++	–	–	+(41)	–	–	*Pc. coliforme* (41)
	397	+++	–	–	+(42)	–	–	*E. freundii* (42)
	398	+++	–	+(43)	–	–	–	*P. vulgaris* (43)
	399	+++	–	+(44)	–	–	–	*P. vulgaris* (44)
	400	+++	–	–	+(45)	–	–	*Pc. intermedium* (45)
	401	+++	+	–	–	+++(46)	–	*Pc. coliforme* (46)
	402	+++	–	–	–	+++(47)	–	*Pc. coliforme* (47)
21. IV. 1964	403–463	+++	1krát	–	–	–	–	
	464	+++	–	+(48)	–	–	*Ps. aer.?*	*Ps. aeruginosa* *P. vulgaris* (48)
	465	+++	–	+(50)	–	–	–	*P. vulgaris* (50)
	466	+++	–	+(51)	–	–	–	*P. vulgaris* (51)
	467	+++	–	–	–	+(52)	–	*Sh. dispar* (52)
	468	+++	++	–	–	+(53)	–	*Pc. coliforme* (53)
	469	+	–	–	–	–	*Ps. aer.?*	*Ps. aeruginosa*
	470	+++	–	–	–	+(55)	–	*Pc. coliforme* (55)
	471	+++	+++	–	–	+++(56)	–	*Pc. coliforme* (56)
	472	–	–	–	–	+++(57)	–	*Pc. coliforme* (57)
	473	+++	–	–	–	+++(58)	–	*Pc. coliforme* (58)

Zastoupení coliformních zárodků v rektálním obsahu namátkově vybraných telat bylo zjišťováno u 4 kusů v chladném a u 4 kusů v teplém období roku. Z toho v chladném období bylo nalezeno mimo *E. coli* pouze 7 % kmenů *E. intermedium*, v teplém období 13 % kmenů *E. intermedium* a 2 % kmenů *E. freundii*. Celkově se tedy jiné escherichie než *E. coli* podílely na vyšetřených 200 kmenů z 8 telat jedenácti procenty.

II. Frekvence enterobakteriaceí v rektálním obsahu jatečných telat během teplých měsíců roku (17. VI.—23. IX.).

Datum odběru	Číslo vzorku	Typy kolonií						Druhová diagnóza
		Coliformní	Enterokoky	Laktózo + a ± kolonie				
				I	II	III	IV	
17. VI. 1964	1–54	+++	—	—	—	—	—	
	55	+++	—	—	—	+++(1)	—	*Paracolobactrum coliforme* (1)
	56	+++	—	—	—	++ (2)	—	*Paracolobactrum coliforme* (2)
	57	+++	—	—	—	+ (3)	—	*Paracolobactrum coliforme* (3)
	58	+++	—	—	—	+ (4)	—	*Paracolobactrum intermedium* (4)
	59	++	—	—	—	+ (5)	—	*Paracolobactrum coliforme* (5)
	60	+++	+	—	—	++ (6)	—	*Paracolobactrum coliforme* (6)
	61	+++	—	—	—	+ (7)	—	*Paracolobactrum intermedium* (7)
	62	+	—	—	—	++ (8)	—	*Paracolobactrum coliforme* (8)
	63	+++	—	—	—	+++ (9)	—	*Paracolobactrum coliforme* (9)
	64	++	—	—	—	+++ (10)	—	*Pc. arizonae* (10)
	65	+++	—	—	—	++ (11)	—	*P. inconstans* (11)
	66	+++	—	—	+ (12)	—	—	*P. mirabilis* (12)
23. VI. 1964	67–131	+++	—	—	—	—	—	
	132	+++	—	—	—	+ (13)	—	*Pc. coliforme* (13)
	133	++	—	—	+ (14)	—	—	*Sh. dispar* (14)
	134	+++	—	—	—	+ (15)	—	*Pc. intermedium* (15)
	135	+++	—	—	+ (16)	—	—	*Pc. coliforme* (16)
	136	++	—	—	—	+++ (17)	—	*Pc. intermedium* (17)
	137	+++	+	—	—	+ (18)	—	*Pc. aerogenoides* (18)
	138	+++	—	—	—	++ (19)	—	*Sh. dispar* (19)
	139	+	+	—	+++ (20)	—	—	*Pc. coliforme* (20)
	140	+++	—	—	+ (21)	—	—	*Pc. coliforme* (21)
	141	+++	—	—	—	—	+ (22)	*P. morganii* (22)
	142	++	—	+ (23)	—	—	—	*P. vulgaris* (23)
	143	+++	+	+ (24)	—	—	—	*P. mirabilis* (24)
	144	+++	—	++(25)	—	—	—	*P. mirabilis* (25)
24. VI. 1964	145–208	+++	3krát	—	—	—	—	
	209	+++	—	—	—	+ (26)	—	*Sh. dispar* (26)
	210	++	—	—	—	+++ (27)	—	*E. freundii* (27)
	211	+++	—	—	—	+ (28)	—	*Pc. coliforme* (28)
	212	+++	—	—	—	+++ (29)		*Pc. intermedium* (29)
	213	+++	+	—	—	+ (30)	—	*Sh. dispar* (30)
	214	+	—	—	—	+ (31)	—	*Pc. coliforme* (31)
	215	+++			—	+ (32)		*E. freundii* (32)
	216	+++	—			+++ (33)		*Pc. coliforme* (33)
	217	++	—		—	+ (34)	—	*Pc. coliforme* (34)
	218	+++			—	+ (35)	—	*Pc. intermedium* (35)
	219	++				++ (36)	—	*Pc. intermedium* (36)
	220	+++			—	+++ (37)		*Pc. coliforme* (37)

Pokračování tabulky II.

Datum odběru	Číslo vzorku	Typy kolonií						Druhová diagnóza
		Coliformní	Enterokoky	Laktózo — a ± kolonie				
				I	II	III	IV	
	221	+	—	(38)	—	—	—	*P. mirabilis* (38)
	222	+++	—	—	—	+ (39)	—	*Sh. dispar* (39)
	223	+++	—	+ (40)	—	+ (41)	—	*P. vulgaris* (40) *Pc. intermedium* (41)
	224	++	—	—	—	+ (42)	—	*Pc. coliforme* (42)
	225	+++	—	+ (43)	—	—	—	*P. mirabilis* (43)
	226	+++	—	+ (44)	—	—	—	*P. vulgaris* (44)
	227	+++	—	—	—	+++ (45)	—	*Pc. coliforme* (45)
	228	+	—	—	—	++ (46)	—	*Pc. coliforme* (46)
	229	+++	—	—	—	—	+++ 47))	*P. morganii* (47)
	230	+++	—	—	—	+ (48)	—	*Pc. coliforme* (48)
7.	231–290	+++	2 krát	—	—	—	—	
VII.	291	+++	—	+ (49)	—	—	—	*P. vulgaris* (49)
1964	292	++	—	—	—	+++ (50)	—	*Pc. coliforme* (50)
	293	++	—	—	—	+++ (51)	—	*E. intermedium* (51)
	294	++	+	—	—	+++ (52)	—	*Pc. coliforme* (52)
	295	+++	—	—	—	+++ (53)	—	*Pc. coliforme* (53)
	296	+++	—	+ (54)	—	—	—	*P. vulgaris* (54)
	297	+++	—	—	—	++ (55)	—	*Pc. coliforme* (55)
5.	298–361	+++	1 krát	—	—	—	—	
VIII.	362	++	—	+ (56)	—	—	—	*P. vulgaris* (56)
1964	363	+++	—	+ (57)	—	—	—	*P. vulgaris* (57)
	364	+++	—	—	—	+ (58)	—	*Pc. intermedium* (58)
	365	++	—	—	—	+++ (59)	—	*Pc. coliforme* (59)
	366	+++	—	—	—	+ (60)	—	*Pc. coliforme* (60)
	367	+++	—	—	—	++ (61)	—	*Pc. coliforme* (61)
	368	+++	+	—	—	+ (62)	—	*Pc. intermedium* (62)
	369	+++	++	—	—	+ (63)	—	*Pc. coliforme* (63)
	370	+++	—	—	—	+ (64)	—	*Pc. coliforme* (64)
	371	+++	—	—	—	+ (65)	—	*E. coli* (65)
	372	+++	—	—	—	+++ (66)	—	*E. coli* (66)
	373	—	—	—	—	+++ (67)	—	*Pc. coliforme* (67)
12.	374–435	+++	3 krát	—	—	—	—	
VIII.	436	++	—	+ (68)	—	—	—	*P. vulgaris* (68)
1964	437	+++	—	++ (69)	—	—	—	*P. vulgaris* (69)
	438	+++	—	+ (70)	—	—	—	*P. vulgaris* (70)
	439	+++	—	+ (71)	—	—	—	*P. mirabilis* (71)
	440	++	—	+ (72)	—	—	—	*P. vulgaris* (72)
	441	+++	—	+ (73)	—	—	—	*P. vulgaris* (73)
	442	+++	—	+ (74)	—	—	—	*P. vulgaris* (74)
	443	+++	—	+ (75)	—	—	—	*P. vulgaris* (75)
	444	+	+	—	—	+++ (76)	—	*Pc. coliforme* (76)
	445	+	—	—	—	+++ (77)	—	*Ps. aerug.* (77)
	446	+++	+	—	—	++ (78)	—	*Pc. coliforme* (78)
18.	447–514	+++	5 krát	—	—	—	—	
VIII.	515	+++	—	+ (79)	—	—	—	*P. vulgaris* (79)
1964	516	++	—	+ (80)	—	—	—	*P. vulgaris* (80)
	517	+++	—	++ (81)	—	—	—	*P. vulgaris* (81)
	518	+++	—	+ (82)	—	—	—	*P. vulgaris* (82)
	519	++	+	—	—	+++ (83)	—	*Pc. intermedium* (83)

Pokračování tabulky II.

Datum odběru	Číslo vzorku	Typy kolonií						Druhová diagnóza
		Coliformní	Enterokoky	Laktózo + a ± kolonie				
				I	II	III	IV	
	520	+++	—	—	—	+++ (84)	—	*Pc. coliforme* (84)
	521	+++	—	—	—	++ (85)	—	*Pc. coliforme* (85)
	522	++	—	—	—	++ (86)	—	*E. coli* (86)
	523	+++	++	—	—	++ (87)	—	*Pc. coliforme* (87)
	524	+++	—	—	—	++ (88)	—	*Pc. coliforme* (88)
	525	+++	—	—	—	+ (89)	—	*Pc. coliforme* (89)
	526	++	—	—	—	++ (90)	—	*Ps. aeruginosa* (90)
16.	527–597	+++	3 krát	—	—	—	—	
IX.	598	++	—	+ (91)	—	—	—	*P. vulgaris* (91)
1964	599	+++	—	+ (92)	—	—	—	*P. vulgaris* (92)
	600	+++	—	—	—	+ (93)	—	*Pc. coliforme* (93)
	601	+++	—	—	—	+ (94)	—	*Pc. coliforme* (94)
	602	+++	—	—	—	++ (95)	—	*Pc. intermedium* (95)
	603	+++	—	—	—	+ (96)	—	*Pc. coliforme* (96)
	604	++	—	—	—	+++ (97)	—	*E. coli* (97)
	605	+++	—	—	—	++ (98)	—	*Pc. intermedium* (98)
	606	+++	—	—	—	+ (99)	—	*Alc. faecalis* (99)
	607	+++	—	—	—	+(100)	—	*Pc. coliforme*(100)
	608	++	—	—	—	++(101)	—	*Pc. coliforme*(101)
	609	+++	++	—	—	+(102)	—	*E. freundii* (102)
	610	+++	—	—	—	+++(103)	—	*Sh. dispar* (103)
	611	+++	++	—	—	+++(104)	—	*Pc. coliforme*(104)
	612	+	—	—	—	+(105)	—	*Pc. intermedium* (105)
	613	+++	—	—	—	+(106)	—	*Pc. coliforme*(106)
23.	614–634	+++	1 krát	—	—	—	—	
IX.	635	+++	—	—	—	++(107)	—	*E. freundii* (107)
1964	636	+++	—	—	—	++(108)	—	*Pc. coliforme*(108)

Zastoupení coliformních zárodků v rektálním obsahu 200 za sebou jdoucích vzorků (telat) bylo zjišťováno stejným dílem podle ročního období jako v předchozím pokuse. V chladném období bylo nalezeno 13 % kmenů *E. intermedium* a 1 % kmenů *E. freundii*, v teplém období 9 % kmenů *E. intermedium* a 3 % kmenů *E. freundii*. Celkově se tedy jiné escherichie než *E. coli* podílely na vyšetřených 200 kmenů z úhrnného počtu 200 telat třinácti procenty.

DISKUSE

Velkoprovozní formy odchovu telat při redukci osobního faktoru na nejmenší míru vyžadují maximální pomoc vědy na úseku prevence zažívacích poruch, které jsou nejčastější příčinou ztrát a chovatelských neúspěchů. Vzhledem k tomu, že většina průjmů je v podstatě infekční povahy, zůstává rozhodující slovo vyhrazeno veterinární mikrobiologii a epizootologii. Velkou vědní mezeru nutno spatřovat zejména v dosavadních špatných znalostech o enterobakteriích u skotu vůbec a u telat zvláště. Chybí tak dostatečně široká základna výzkumu, který z nedostatku základních dat řeší jen nejpalčivější úkoly profylaktického

a léčebného rázu. Je nejvýš pravděpodobné, že tímto způsobem unikají též možnosti včasné indikace zažívacích poruch a skutečné prevence, kterou by mohl zajišťovat zootechnický personál v součinnosti s veterinárními laboratořemi.

Z uvedených příčin jsme se věnovali převážně otázkám frekvence tzv. fakultativně patogenních enterobakteriaceí v rektálním obsahu zdravých telat, ale příležitostně jsme zaznamenali také ostatní významné druhy. Je sice možné, že by rozborem kraniálnějších úseků střeva, zejména tenkého, vynikly další ukazatele zdravotního stavu zvířat, ale pro praktické účely by měla tato zjištění jen omezený význam.

Z metodického hlediska považujeme za jistý přínos již kladné zhodnocení tampónů jako pohodlného a přitom spolehlivého prostředku pro kvalitativní bakteriologická vyšetřování rektálního obsahu. Nemenší význam má též výsledek paralelně sledovaných vzorků z okolí anu. Vrhá totiž správné světlo na tradovanou ubikvitárnost některých zárodků, jako jsou escherichie, proteus apod., nebo alespoň této ubikvitárnosti klade správné meze.

Získané výsledky mají nepochybně svou kvalitativní a kvantitativní stránku. Ukázalo se například, že zástupci všech druhů rodu *Paracolobactrum* jsou velmi častým nálezcem a svou frekvencí dokonce značně převyšují výskyt proteů, zejména *P. vulgaris*. Je však třeba vidět, že intenzita zárodků obou jmenovaných skupin byla velmi nepatrná, stejně jako u ojediněle prokázaných kmenů *Shigella dispar* a *Pseudomonas aeruginosa*. Na základě těchto zjištění se domníváme, že naopak masivní porost jmenovaných zárodků na Endově půdě budeme muset hodnotit jako vážnou poruchu mikrobní ekologie střeva a spojovat jej se subklinickými stavy nebo skutečným onemocněním. Zmnožení záchytu *P. vulgaris* po předběžné inkubaci vzorků ve statických podmínkách ukazuje na možnou obdobu v zažívadlech při jejich chorobném zeslábnutí a zpomalené peristaltice.

Vycházíme-li z hodnocení proteů a paracolobakterií v lékařské literatuře, bude třeba jejich hromadné nálezy uvést do vztahu k imunologii a terapii nemocných telat. Obdobná situace u psů (Gilbert, 1953) nás opravňuje ke tvrzení, že tyto zárodky jsou přinejmenším indikátorem, ale ještě spíše skutečnou mikrobní příčinou (nebo faktorem smíšené infekce) velké části dysentérií u mladých zvířat.

Ve složení coliformních zárodků převládaly naprosto kmeny *E. coli*, takže se zdá, jako by ostatní druhy escherichií a zejména aerobakterů byly ve střevě zdravých telat zcela náhodným nálezem.

ZÁVĚR

V předložené práci je shrnut výsledek bakteriologického rozboru 1252 rektálních vzorků z telat poražených na brněnských jatkách v letech 1963 a 1964. Hlavním cílem bylo zjištění frekvence laktózonegativních a laktózu opožděně zkvašujících enterobakteriaceí, a to přímou inokulací na výběrově diagnostickou Endovu půdu. Vedle masivního výskytu escherichií byly ostatní kmeny izolovány a vyšetřeny standardními metodami (Sedlák a Rische, 1961, Raška a kol., 1958). Pro systematické zatřídění sloužilo poslední vydání Bergeyova manuálu (Breed a kol., 1957). Všechny pokusy byly rozvrženy stejným dílem do chladného a teplého období roku.

Došlo dne 27. 7. 1965

Literatura

1. ANKERSMIT, P.: Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. IV. = „Centralblatt f. Bakt.", I. Abt. 40, 1906, s. 100-118. — 2. BREED, R. S. a kol.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. VII. vyd., Baltimore, 1957. — 3. BRYANT, M. P. a kol.: Studies on the composition of the ruminal flora and fauna of youngs calves. = Journ. of Dairy Sci.", 41, 1958, s. 1747-1767. — 4. GILBERT, S. J.: The association of Proteus vulgaris with canine dysentery. = „Austr. Vet. Journ.", 29, 1953, s. 168-170. — 5. MANN, S. O., - OXFORD, A. E.: Relationship between viable saccharolytic bacteria in the rumen and abomasum of the young calf and kid. = „Journ. Gen. Microbiology", 12, 1955, s. 140. — 6. POPOFF: Die Zeit der Erscheinung und die allmähliche Verbreitung der Mikroorganismen im Verdauungstraktus der Tiere. = „Centralbl. f. Bakt.", II. Abt. 11, 1903, s. 217. — 7. RAŠKA, K. a kol.: Mikrobiologické vyšetřovací metody. SZN Praha, 1958. — 8. ROSSI L.: Příspěvek k diagnostice septikaemických onemocnění nově narozených telat. = „Veterinářství", 6, 1956, s. 53-55 a 86-88. — 9. SALAJKA, E.: Serotypes of Escherichia coli in calves. = „Folia Microbiol.", 9, 1964, s. 196. — 10. SEDLÁK, J.: Enterobacteriaceae. SZN Praha, 1955. — 11. SEDLÁK, J. - RISCHE, H.: Enterobacteriaceae-Infectionen. Leipzig 1961. — 12. SCHONAERS, F. - KAECKENBEECK, A.: Les colibacilles entéropathogènes de la flore intestinale du veau normal. = „Annales de Méd. Vét," 104, 1960, s. 240-245. — 13. ULBRICH, F.: Serologische Typendifferenzierung und Prüfung toxischer und immunisierender Eigenschaften von *Escherichia coli*-Stämmen, die von gesunden und von an Coliruhr erkrankten Jungtieren isoliert wurden. = „Zentralbl. f. Veterinärmedizin" 1, 1954, s. 603-659.

Частота выявления бактерий из семейства Enterobacteriaceae в ректальном содержимом убойных телят

В предлагаемой работе суммированы результаты бактериологического анализа 1252 ректальных проб, взятых у телят, забитых на брненских бойнях в 1963—64 гг. Главная цель этих исследований заключалась в установлении частоты появления негативных к лактозе и с опозданием сбраживающих лактозу бактерий из семейства кишечных, в частности непосредственной инокуляцией диференциально-диагностической питательной среды Эндо. Наряду с массивным появлением эшерихий другие штаммы были изолированы и исследованы стандартными методами (Седлак и Риш, 1961 — Рашка и колл., 1958). Для систематической классификации руководством служило последнее издание мануаля Бердже (Брид и колл., 1957). Все опыты были распределены поровну на холодный и теплый период года.

Полученные результаты:

А. Холодный период года (19. XI. 1963—21. IV. 1964): 616 проб.

1. Негативные к лактозе и позднее сбраживающие лактозу возбудители были установлены 68 раз, т. е. в 11 % всех исследуемых случаев. Из отдельных видов были найдены Paracolobactrum coliforme 33 раза, Proteus vulgaris 19 раз, Paracolobactrum intermedium 7 раз, Proteus mirabilis 6 раз и Shigella dispar 3 раза.

2. После предварительного 24-часового размножения 107 тампоновых проб в мясопептонном бульоне Proteus vulgaris был найден 30 раз, т. е. в 28 %, по сравнению с 4 захватами (4 %) непосредственной инокуляцией агара Эндо. Таким способом удалось изолировать дважды также возбудителей Pseudomonas aeruginosa.

3. Из сотни колоний у четырех случайно без выбора взятых телят были главными представителями колиформных бактерий колонии Escherichia coli . Escherichia intermedium была найдена 7 раз (7 %).

4. Из тампоновых проб сотни следующих один за другим телят кроме E. coli найдены Escherichia intermedium 13 раз (13 %) и Escherichia freundii один раз (1 %).

Б. Теплый период года (17. VI.—23. IX. 1964): 636 проб

1. Негативные к лактозе и сбраживающие с опозданием лактозу возбудители были найдены 96 раз, т. е. в 15 % всех исследуемых случаев. Из отдельных видов установлены Paracolobactrum coliforme 46 раз, Proteus vulgaris 20 раз, Paracolobactrum intermedium 14 раз, Proteus mirabilis 6 раз, Shigella dispar 6 раз, Proteus morganii 2 раза, Proteus inconstans 1 раз и Paracolobactrum aerogenoides один раз. Из других бактерий были обнаружены Pseudomonas aeruginosa 2 раза и Alcaligenes faecalis 1 раз.

2. После предварительного размножения 153 проб был Proteus vulgaris установлен 64 раза, т. е. в 41 %, по сравнению с 11 захватами (7 %) при непосредственной инокуляции.

3. Из ста колоний у четырех без выбора взятых случайно телят более всего были представителями колиформных бактерий колонии Escherichia coli . Escherichia intermedium была найдена 13 раз (13 %) и Escherichia freundii 2 раза (2 %).

4. Из тампоновых проб ста следующих один за другим телят кроме E. coli были найдены Escherichia intermedium 9 раз (9 %) и Escherichia freundii 3 раза (3 %).

В. Было высказано убеждение, что при дальнейшем исследовании в заболеваниях телят поносами, будет несомненно установлено гораздо большее участие вида Proteus vulgaris, чем это имело место до сих пор.

The Frequency of Enterobacteriaceae in the Rectal Contents of Fattened Calves

The result of a bacteriological analysis of 1252 rectal samples from calves slaughtered at the Brno abattoir in the years 1963—1964 is summarized in the presented work. The main aim was the ascertaining of the frequency of the lactose-negative and of the tardily lactose-fermenting enterobacteriaceae, by means of direct inoculation in the selectively diagnostic Endo medium. Besides a massive occurrence of *Escherichiae*, the other strains were isolated and examined by standard methods (Sedlák and Rische, 1961 — Raška et al., 1958). The last edition of Bergey's manual served for systematical classifying (Breed et al., 1957). All experiments were staggered over the cold and warm seasons of the year.

There have been obtained the following results:

A. In the cold season of the year (19. 11. 1963 — 21. 4. 1964)
616 samples

1. Lactose-negative and tardily lactose-fermenting germs were found in 68 animals, i. e. in 11 % of all examined animals. Among the different species *Paracolobactrum coliforme* was found 33 times, *Proteus vulgaris* 19 times, *Paracolobactrum intermedium* 7 times, *Proteus mirabilis* 6 times, and *Shigella dispar* 3 times.

2. After a preliminary incubation of 107 tampon-samples in a meat-peptone bouillon for 24 hours *Proteus vulgaris* was ascertained 30 times, i. e. in 28 % in comparison with 4 findings (4 %) by means of direct inoculation in Endo agar. In this way the authors succeeded twice in isolating the germs Pseudomonas aeruginosa.

3. Out of one hundred colonies from 4 calves chosen at random the most significant representatives of the coliform germs were the colonies of *Escherichia coli. Escherichia intermedium* was found 7 times (7 %).

4. Out of the tampon-samples from one hundred successive calves, besides *E. coli, Escherichia intermedium* was found 13 times (13 %), and *Escherichia freundii* in one case (1 %).

B. In the warm season of the year (17. 6. — 23. 9. 1964)
636 samples

1. Lactose-negative and tardily lactose-fermenting germs were ascertained 96 times, i. e. in 15 % of all examined cases. Among the different species *Paracolobactrum coliforme* was found 46 times, *Proteus vulgaris* 20 times, *Paracolobactrum intermedium* 14 times, *Proteus mirabilis* 6 times, *Shigella dispar* 6 times, *Proteus morganii* 2 times, *Proteus inconstans* once, and *Paracolobactrum aerogenoides* once. Of the other bacteriae *Pseudomonas aeruginosa* was found twice, and *Alcaligenes faecalis* once.

2. After a preliminary incubation of 153 samples *Proteus vulgaris* was found 64 times, i. e. in 41 % in comparison with 11 findings (7 %) by means of direct inoculation.

3. Out of one hundred colonies from 4 calves chosen at random the most significant representatives of the coliform germs were the colonies of *Escherichia coli. Escherichia intermedium* was found 13 times (13 %), and *Escherichia freundii* twice (2 %).

4. Out of the tampon-samples from one hundred successive calves *Escherichia intermedium* was found 9 times (9 %), and *Escherichia freundii* 3 times (3 %) apart from *E. coli.*

C.

The authors are convinced that further research will, no doubt, prove a much greater participation of the species *Proteus vulgaris* in the scouring conditions in calves than it has been attributed to up to now.

Adresy autorů:

MVDr. inž. agr. Oldřich Mráz, Jan Nahálka, prom. vet. lékař, Miloslav Pšenička, prom. vet. lékař, VŠZ, veter. fakulta, Ústav pro mikrobiologii a imunobiologii, Brno, Palackého 1-3

V. Krčméry
F. Nižnánsky

DIFERENCIÁCIA PORCINNÝCH A BOVINNÝCH BRUCELOVÝCH KMEŇOV MIKROBIOLOGICKÝMI A BIOCHEMICKÝMI METÓDAMI

V minulých rokoch zaoberali sme sa enzymatickými (Nižnánsky, Krčméry 1956, Krčméry 1959, Janok, Nižnánsky, Krčméry 1957, Nižnánsky, Krčméry 1957, Krčméry 1959) a kultivačnými (Nižnánsky, Krčméry 1957, Nižnánsky 1957) metódami diferenciácie brucelových kmeňov. Pri riešení hygienickej problematiky brucelózy, kde vystupuje do popredia štúdium otázok vylučovania, perzistencie, ciest prenosu a prevencie brucelózy, je treba okrem metód záchytu, izolácie a identifikácie brucel z kontaminovaného prostredia použiť aj jednoduché a rýchle testy na diferenciáciu izolovaných brucelových kmeňov. V tomto prvom zdelení referujeme o skrátenej typizačnej schéme pre diferenciáciu *Br. abortus* a *Br. suis* a o rozdielnostiach biochemických vlastností uvedených dvoch typov brucel.

Po záchyte brucel v primokultúre, napr. na membránových filtroch (na selektívnych médiách pre izoláciu brucel z kontaminovaných vzoriek — Morris 1956, Kuzdas, Morse 1954) a po ich identifikácii (včítane metódami fluorescenčných protilátok) podrobujeme izolované kmene kultivačnej, sérologickej a biochemickej typizácii. Pretože sa u nás *Br. melitensis* prakticky nevyskytuje, pri riešení hygienickej problematiky brucelózy vystačíme s typizačnou schémou na diferenciáciu *Br. abortus* a *Br. suis*.

Uvedené dva typy brucel sa líšia hlavne v týchto biochemických vlastnostiach:

1. Aktivita katalázy (KA) a peroxydázy (PA) (Nižnánsky, Krčméry 1956, Krčméry 1959, Malikova 1965, Krüger 1963). *Br. suis* vykazuje niekoľkonásobne vyššiu KA a PA ako kmene *Br. abortus* a *Br. melitensis*, čo možno najmä pri kvantitatívnom stanovení využiť na diferenciáciu brucel. Jedine kmene *Br. suis* vykazujú pozitívny peroxydázový test s 30% H_2O_2 (Krčméry 1959, Malikova 1965).

2. Aktivita ureázy (UA) (Nižnánsky, Krčméry 1956, Krüger 1963, Pickett a kol. 1952). Pri vhodnom usporiadaní (Castaneda, Carrillo-Cardenas 1965) možno docieliť pozitívny ureázový test iba u kmeňov *Br. suis*, ktoré majú niekoľkonásobne vyššiu UA ako *Br. abortus* a *Br. melitensis*.

3. Rozličná citlivosť na bakteriostatický účinok redox-farbív a antibiotík (bázického fuchsínu: Meyer 1964, Krüger 1963, Cruickshank 1948, Nižnánsky 1957; tionínu: Cruickshank 1948, Cameron 1952, Wildführ 1952; safranínu O: Cameron 1952, Jones 1964).

I. Prehľad metabolických a biochemických odlišností troch typov brucelových kmeňov

Typ brucel	Katalaza	Peroxydáza	Ureáza	Rast na pódach s obsahom					
				Baz. fuchsín	Tionín	Malachit. zeleň	DDK	8-Oxy-chinolín	Safranín
Br. melitens	+	—	—	+++	±	+++	—	—	+
Br. abortus	+	—	—	+++	±	+++	—	—	—
Br. suis	+++	+++	+++	±	+++	—	++	+	—
Literatúra	5–8	6, 7	5, 8 9, 11	4, 8 10, 19, 25	10, 11, 16, 19, 25	8	10, 11, 17	10, 17	4, 12, 13

4. Rozličná citlivosť voči chelatizujúcim látkam (dietyl-ditiokarbamátu = DDK a 8-oxychinolínu: Cruickshank 1948, 1955, Pickett a kol. 1952).

5. Metabolické rozdiely v utilizácii amínokyselín, najmä kys. glutámovej (Meyer, Cameron 1957, 1962, 1963, Meyer 1964, Cameron, Meyer 1954 a, 1954 b) a uhlohydrátov (Meyer, Cameron 1957, 1962, 1963).

Boli opísané aj iné metabolické a enzymatické rozdiely u jednotlivých typov brucel, ktoré vykazujú odlišnú aktivitu fosfatáz (*Br. melitensis* vykazuje najvyššiu FA Nižnánsky, Krčméry 1957), dehydrogenáz (De Mello, Da Silva 1955, Todorov 1963), rozličnú produkciu H_2S, špecifickú citlivosť na bakteriofága (Meyer, Cameron 1962, 1963).

Prehľad metabolických odlišností jednotlivých brucelových kmeňov je uvedený v tabuľke I.

V tejto práci sme sa zaoberali výberom najspoľahlivejších typizačných kritérií biochemickej diferenciácie *Br. suis* a *Br. abortus* a vypracovali sme rýchle a jednoduché modifikácie najvhodnejších metód v tomto smere. Zaoberali sme sa tiež novými možnosťami diferenciácie *Br. suis* a *Br. abortus* určovaním niektorých dehydrogenáz tetrazóliovými testami.

MATERIÁL A METODIKA

Diferenciačnú schopnosť skrátenej typizačnej schémy sme overili celkove u 27 brucelových kmeňov, z čoho bolo 13 kmeňov *Br. abortus* a 14 kmeňov *Br. suis*. Ako porovnanie sme vždy mali niekoľko kmeov *Br. melitensis* (celkove 7 kmeňov). Kmene sme obdrželi od dr. Z. Nyiregyiho z Budapešti (7 kmeňov *Br. suis*, 7 kmeňov *Br. abortus* a 7 kmeňov *Br. melitensis*) a z pobočiek ÚŠVÚ v Bratislave, Zvolene, a Nitre. Všetky kmene boli po predbežnej typizácii na uvedených pracoviskách označené podľa typovej príslušnosti. Kmene nie sú staršie ako 18 mesiacov. Kmene z ÚŠVÚ v Bratislave boli čerstvo izolované z terénneho materiálu (2 kmene *Br. abortus*, 2 kmene *Br. suis*).

Produkcia H_2S	PNC 5j/ml	Utilizacia substrátov (O_2)							TTC-dehydrogenázy				
		Glutamová kysel.	Asparag.	l-alanin	d-alanin	arginin	ornitin	citrulin	Erytritol	Arabinóza	Maltóza	Glutamát	Alanin
+	+	++	−	++	−	−	−	−	−	−	−	++	+
+	−	±	++	++	++	−	−	−	++	−	−	±	±
++	+	−	++	−	−	++	++	++	−	++	++	−	−
8, 14	25	2—4											
25		18—20									32,33		

Kmene sa udržiavali na hlbokom vpichu na baktotryptózovom agare DIFCO (Central Laboratory Weybridge 1957, Raška a kol. 1958, Wildführ 1959) a pred započatím testovania sa preočkovali na baktortyptózovú pôdu (šikmý agar). Po 48hodinovej kultivácii sa brucely bohato naočkovali, každý kmeň na 3 Petriho misky. Po 48hodinovej inkubácii pri 37° C sa porast z dvoch misiek zmyl pufrovaným fyziologickým roztokom. V pripravenej suspenzii sa urobili enzymatické testy, včítane stanovenia dehydrogenáz. Na tretiu misku sa hneď po naočkovaní naložili papierky 0,5×2,5 cm, napojené roztokmi inhibítorov (viď nižšie). Výsledky inhibičných testov sa odčítali po 48hodinovej inkubácii pro 37° C podľa tvaru a veľkosti inhibičných zón.

ENZYMATICKÉ TESTY

Stanovenie aktivity katalázy: Robili sa nami opísanou metódou (Nižnánsky, Krčméry 1956). K 2,5 ml suspenzie brucel (musí zodpovedať 65—70 % absorpcie svetla na Langeho fotometri, červený filter) sa pridalo 7,5 ml 3,4 % H_2O_2 a po 30minútovom státí pri izbovej teplote za občasného premiešania sa nerozložený peroxyd stanovil titráciou 0,1 N $KMnO_4$.

Ureázový test sme robili podľa jednoduchej metódy Castanedu (Castaneda, Carrillo-Cardenas 1965): K 1 ml suspenzie (suspenzia na stanovenie KA, zriedená 1 : 2 zmývacím roztokom) sa v skúmavke hodil papierik napojený zmesou 5% úrey v etanoli a 0,1% roztoku fenolftaleinu v etanoli (5 : 1). V tomto usporiadaní dávajú pozitívnu reakciu jedine kmene *Br. suis* (sčervenanie behom 30 min.).

Peroxydázový test sme robili nami vypracovanou metódou (Krčméry 1959, Malikova 1965): 1 ml suspenzie (ako na stanovenie KA) sa zmieša s 0,25 ml 5% pyrogalolu a s 0,25 ml 30% H_2O_2. Jedine u kmeňov *Br. suis* dochádza k zhnednutiu reakčnej zmesi behom 30 min. pri izbovej teplote.

Stanovenie dehydrogenáz: Aktivitu laktikodehydrogenázy (LDH), malikodehydrogenázy (MDH), glutamátdehydrogenázy (GHD) a sukcinodehydrogenázy (SDH) sme stanovili metyl-tiazolyl-tetrazóliovým testom (HTT) opísaným v našej práci (Kellen, Krčméry v tlači). 0,2 ml suspenzie brucel (ako na stanovenie KA) sa zmiešalo s 0,3 ml substrátu (zloženého z 0,25 mg metyl-fenazónium-metosulfátu, 5 mg KCN,, 4 mg MTT v 10 ml TRIS-ového nárazníku o pH 7,4, pri stanovení MDH o pH 8,2) a k zmesi sa pridá 5 ml 1 M roztoku sodnej soli patričného substrátu. Reakcia sa posudzovala podľa množstva vyredukovaného diformazánu behom 10 minút, kvantitatívne po extrakcii petroléterom, na fotometri pri 530 μm. Papierové

prúžky, napojené (tj. ešte vlhké, po napojení mierne osušené filtračným papierom) tymito roztokmi: tionín 0,2%, bázický fuchsín 0,2%, penicilín G kryštalický 100 j/ml, 8-oxychinolín 0,1%, dietyl-ditiokarbamát 0,5% a safranín 0 (0,2%). U menšieho počtu kmeňov skúmal sa tiež selektívny inhibičný vplyv malachitovej zelene (Krüger 1963) a produkcia H_2S (Krüger 1963, Central Laboratory Weybridge 1957).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z tabuľky II vidieť prísnu špecificitu KA, ureázy a peroxydázy, ktorá u *Br. suis* vysoko prevyšuje aktivity *Br. abortus*, a vhodným usporiadaním možno pomocou týchto enzymatických testov odlišovať uvedené dva typy brucel.

Obdobnú špecificitu sme pozorovali u inhibičných testov (tabuľka II, obr. 2). Spoločným robením týchto dvoch druhov typizačných postupov možno podľa naších skúseností spoľahlivo a rýchlo oddiferencovať *Br. abortus* a *Br. suis*.

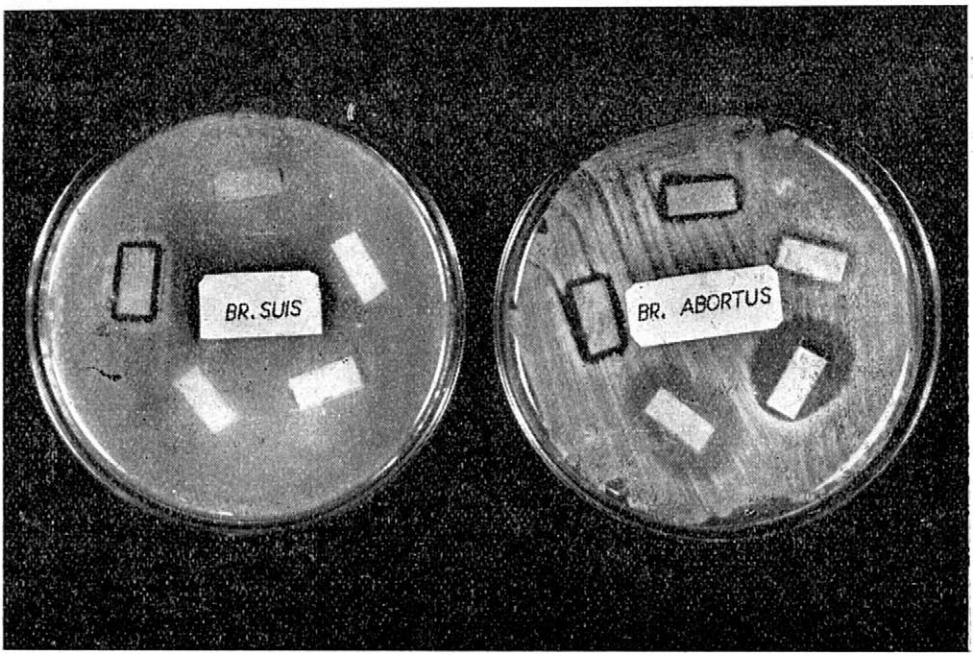
S prekvapením sme zistili, že kmene *Br. abortus* a *Br. suis* nevykazujú v MTT teste aktivitu MDH, LDH a GDH, kmene *Br. suis* však majú veľmi aktívnu SDH, pričom SDH u *Br. abortus* chýba. Keďže však tieto dehydrogenázové testy sme robili zatiaľ iba na menšom počte brucelových kmeňov, pokladáme výsledky za predbežné.

Nami použitý postup (Krüger 1963, Cruickshank 1955), „paper-strip" testu má voči doteraz užívaným platňovým metódam inhibičnej analýzy u brucel určité výhody. Pri bežne užívanom postupe sa inhibítor pridával priamo do média. Tým je daná možnosť zmeny inhibítora pri autoklavovaní alebo reagovaní so súčiastkami živnej pôdy. Difúzia inhibítora z papierika je procesom šetrným, vytvára sa pri nej klesajúci gradient koncentrácie, čo umožňuje dobré oddiferencovanie stupňa inhibície. Neobstojí preto námietka, že pri takomto usporiadaní nie je zaručená prítomnosť presnej koncentrácie inhibítora (Pickett 1952). Ďalšou výhodou tu opísaného postupu je, že umožňuje súčasné zachytenie výsledkov viacerých inhibičných testov na jedinej platni, čím sa eliminuje „plate-by-plate error". Pri praktickom prevádzaní diferenciačných testov môžme urobiť z jednej suspenzie tri enzymatické testy, nehľadiac na ďalšiu diferenciačnú možnosť pomocou SDH. Pred započatím týchto testov máme už k dispozícii výsledky platňovej metódy s inhibítormi. Na obr. 1 vidíme príklad výraznej odlišnosti *Br. abortus* v citlivosti na jednotlivé inhibítory. Tionín a bázický fuchsín (nie je na obrázku) sa pokladajú za prísne špecifických inhibítorov rastu *Br. abortus* resp. *Br. suis* (Cruickshank 1948, Cameron, Meyer 1952, 1954, Krüger 1963, Meyer 1964, Nižnánsky

II. Diferenciácia *Br. suis* a *Br. abortus* enzymatickými a inhibičnými testami

Typ brucel	Počet kmeňov	Kataláza (mg H_2O_2)	Peroxydáza (30% H_2O_2)	Ureáza
Br. abortus	13	$\overline{X}$ 20,5	–	–
Br. suis	14	$\overline{X}$ 72,2	+++	+++

Vysvětlivky: I — inhibícia rastu, R — rezistencia, ? — nejednotné výsledky
BF — bázický fuchsín, DDK — dietyl-dithio-karbamát (Kupral),
8-Oxy — 8-oxychinolín, SAF — safranín, MZ — malachitová zeleň



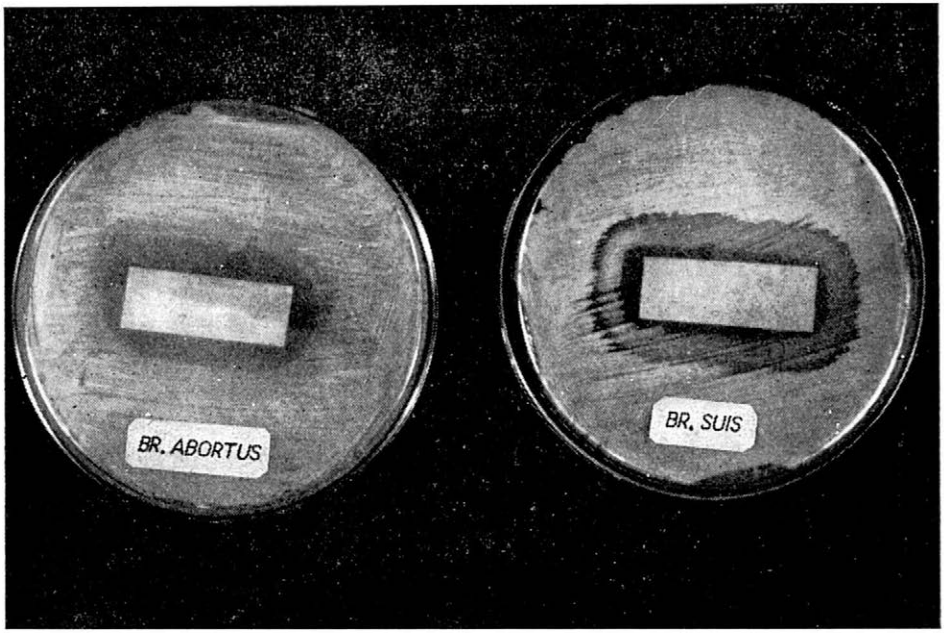
1. Diferenciácia *Br. suis* a *Br. abortus* inhibítormi pomocou metódy papierových prúžkov. Poradie inhibítorov na prúžkch: Hore: tionín, ďalej (smerom hodinových ručičiek) PNC, 8-oxychinolín, dietyl-ditio-karbanát a Safranín 0 (koncentrácie viď v texte)

1957). Trifenylmetanové farbivo (bázický fuchsín) inhibuje selektívne rast *Br. suis*, ale neovplyvňuje viditeľne *Br. abortus*. Naopak, chinónimínové farbivo (tionín) potláča rast *Br. abortus*, zatiaľ čo rast *Br. suis* nie je inhibovaný (Cameron — Meyer 1952).

Na rozdiel od týchto výsledkov niet jednoznačného hodnotenia špecifity použitia safranínu O alebo malachitovej zelene na diferenciáciu brucel. Obidve látky ani v naších pokusoch nesplnili požiadavky kladené pri spoľahlivej a jednoznačnej diferenciácii brucel (Cameron, Meyer 1952, Jones 1964, Krüger 1963, Meyer 1964).

KA, peroxydáza a ureáza sú pokladané za typické diferenciačné vlastnosti

H_2S	Výsledky prúžkových inhibičných testov						
	Tionín	PNC	BF	DDK	8-Oxy	SAF	MZ
+	I	I	R	I	I	?	?
++	R	R	I	R	R	?	?



2. Reakcia *Br. abortus* a *Br. suis* na diethyl-ditio-karbamát

brucel (Castaneda, Carrillo-Cardenas 1965, Cruickshank 1948, Krčméry 1959, Krüger 1963, Malikova 1965, Nižnánsky, Krčméry 1956, Pickett a kol. 1952). KA je u *Br. abortus* v určitom vzťahu k virulencii (Wilson, Dasinger 1960), tak ako u *M. tuberculosis* a *Listeria monocytogenes* (Stricker a kol. 1963). Pritom je možné peroxydázu a ureázu určovať veľmi jednoduchými testami (Krčméry 1959, Castaneda, Carrillo-Cardenas 1965). Keďže peroxydáza najmä v prítomnosti vysokých koncentrácií H_2O_2 závisí od KA kmeňa, peroxydáza môže nahradiť kvantitatívne stanovenie KA, pravda za účelom typizácie a nie určovania virulencie (Krčméry 1959, Malikova 1965). Určovanie ureázy podľa Castenedu sme upravili tak, že sme papieriky vkladali do suspenzie brucel priamo vlhké, ešte napojené etanolickým roztokom úrey a indikátora. Dosiahli sme tak oveľa ostrejšie odlíšenie *Br. suis*, lebo kmene *Br. abortus* za takýchto okolností nereagovali ani behom 1 hodiny.

Niektoré chelatizujúce látky (najmä BAL, dietyl-ditio-karbamát a 8-oxychinolín) selektívne inhibujú (v rôznych koncentráciách) rast jednotlivých brucelových kmeňov (Cruickshank 1948, 1955, Pickett a kol. 1952). Na tomto mieste sa zmienime iba o vplyve tých látok na brucela na pevných pôdach; výsledky na tekutých pôdach budú uverejnené neskôr. 8-oxychinolín jednoznačne a výrazne inhibuje v našom usporiadaní rast kmeňov *Br. abortus* na baktotrypózovej pôde. Dietyl-ditio-karbamát podobne inhibuje rast kmeňov *Br. abortus*. Vyššie koncentrácie DDK vytvárajú v prípade kmeňov *Br. suis* charakteristické obrazce dvojfázovej inhibície (obr. 2). Súvisí to azda s charakteristickým zónovým fenoménom, pozorovaným u chelatizujúcich látok, konkrétne u 8-oxychinolínu (Albert 1958, Cruickshank 1955). Táto látka inhibuje *S. aureus* iba v prítomnosti viacmocných kovových iónov, s kto-

rými vytvára viacnásobné komplexy 1 : 1 (jedine tento je toxický pre bunky, pretože na molekule 8-oxychinolínu zostáva zbytkový náboj), 1 : 2 a 1 : 3. So vzrastajúcimi koncentráciemi 8-oxychinolínu stúpa jeho inhibičný efekt, ale iba po určitú hranicu, za ktorou dochádza k paradoxnému znižovaniu antibakteriálnej aktivity (Albert 1958). Podobne sa azda chová *Br. suis* v prítomnosti DDK.

Zvláštnu zmienku si zasluhujú metabolické rozdiely v utilizácii amínokyselín u jednotlivých typov brucel. Najvýraznejšou zvláštnosťou je neschopnosť *Br. suis* utilizovať glutamát (Camerón, Meyer 1954 a, b, Meyer 1964, Meyer, Camerón 1957, 1962, 1963), pretože táto amínokyselina je základom („building block") syntézy proteínov u mikroorganizmov (Kornberg 1965, Stadtman 1963, Wilson, Dasinger 1960). U brucel je jej utilizácia kritériom virulencie (Wilson, Dasinger 1960). Neschopnosť utilizovať glutamát nie je v súlade s vysokou ureázovou aktivitou *Br. suis*, pretože syntéza úrey u brucel začína práve od glutamátu (cez kys. asparágovú). Glutamát by sa mohol bez spotreby O_2 utilizovať v transaminačných reakciách, avšak glutamát-oxaloctová a glutamát-pyrohroznová transamináza u *Br. suis* nebola dokázaná. Predpokladá sa preto, že u *Br. suis* močovinový cyklus začína u arginínu, funguje ale kompletne, pretože veľmi aktívne utilizuje ornitín a citrulín, včítane arginínu. Utilizácia týchto amínokyselín však úplne chýba u *Br. abortus* a *Br. melitensis*, ktoré naopak aktívne utilizujú amínokyseliny tzv. glutamátového cyklu: glutamát, aspartát a alanín. U týchto typov brucel je i ureáza veľmi nízka. *Br. abortus* síce utilizuje arginín, ale nie ornitín a citrulín, čím sa líši od *Br. suis*. Ďalšou zvláštnosťou *Br. abortus* je jeho schopnosť utilizovať D-alanín (Cameron, Meyer 1954 a). *Br. suis* a *Br. melitensis* utilizujú iba L-izomér tejto amínokyseliny. *Br abortus* má tedy alanín-racemázu, ktorou premieňa D-alanín na L-alanín. Tento enzým je, zdá sa, selektívne citlivý na tionín.

Uvedené metabolické rozdiely majú, zdá sa, odraz v určitých odlišnostiach redukcie TTC v prítomnosti určitých substrátov. Niektoré z týchto rozdielov sú uvedené prehľadne v tabuľke I.

Inaktívnosť dehydrogenácie stálych súčastí — intermediátov energetického metabolizmu (malátu, glutamátu a laktátu) je ďalším dôkazom, že brucely majú značne pozmenené bežné metabolické cesty v porovnaní s inými patogénnymi a podmienene patogénnymi mikroorganizmami. Ich metabolizmus je veľmi náročný na hotové metabolity, je deficientný na niektoré všadeprítomné anabolické a katabolické cesty a je zrejme adaptovaný na schopnosť intracelulárnej perzistecie a parazitizmu.

SÚHRN

V práci sa referuje o komplexnej typizácii kmeňov *Br. suis* a *Br. abortus* v skrátenej typizačnej schéme. Jej súčasťou sú rýchle metódy enzymatické (stanovenie katalázy, ktoré možno vynechať, stanovenie aktivity peroxydázy a ureázy) a inhibičné testy. Tieto pozostávajú z určovania inhibície rastu brucel tionínom, bázickým fuchsínom, chelatizujúcimi látkami a penicilínom. Použitie safranínu, malachitovej zelene a testu na produkciu H_2S nepomáha jednoznačne odlišovať *Br. suis* od *Br. abortus*. Inhibičné testy sa robia na jednej platni pomocou metódy papierových prúžkov, napojených inhibítormi. Diskutuje sa o výhodách tohto spôsobu a o vzájemnom doplňovaní sa metôd enzymatických a inhibičných.

V diskusii sa zahrnujú súčasné poznatky o význame a mechanizme niektorých inhibičných testov (najmä pomocou chelatizujúcich látok) a o metabolických rozdieloch medzi *Br. suis* a *Br. abortus*. V tejto súvislosti sa referuje aj o zistené, že brucely nevykazujú aktivitu niektorých dehydrogenáz, vystupujúcich v intermediárnom metabolizme uhlohydrátov.

Došlo dne 5. 5. 1965

Za technickej spolupráce M. Pappovej.

Literatura

1. N. N.: Brucelljoz kak sociaľno-gigieničeskaja problema (redakč. článok Min. zdravotníctva). = Žurn. Mikrobiol. epid. imunol. 31, č. 12, str. 14, 1960. — 2. MEYER, E. M., CAMERON, H. S.: Identification of the causative agents and the epidemiology of porcine brucellosis. = Bull. WHO 28, 499, 1963. — 3. MEYER, M. E., CAMERON, H. S.: Metabolic characterization of Brucella strains. = Bull. WHO 26, 823 (viď tiež str. 829), 1962. — 4. MEYER, M. E. = Amer. J. vet. Res. 25, 553, 1964. — 5. NIŽNÁNSKY, F., KRČMÉRY, V.: Príspevok k ureázovej a katalázovej aktivite brucelových kmeňov. = Vet. časopis 5, 182, 1956. — 6. KRČMÉRY, V.: A rapid biochemical method for the differentiation of B. suis. = J. Hyg. epid. microbiol. imunol. 3, 314, 1959. — 7. MALIKOVA, M. V.: Izučenije peroksidaznoj aktivnosti brucel. = Žurn. mikrobiol. epidemiol., imunol. 42, č. 3, str. 52, 1965. — 8. KRÜGER, A.: Nachweis und Typisierung von Brucella suis. = Deutsch. tierärztl. Wschr. 70, 692, 1963. — 9. CASTANEDA, R. M., CARRILLO-CARDENAS, C.: A rapid urease test for differentiation of Brucella. = WHO circular on Brucelosis, No. WHO/BRUC/291, 1965. — 10. CRUICKSHANK, J. C. = J. Pathol. Bacteriol. 60, 328, 1948. — 11. PICKETT, M. J. a spol. = J. lab. clin. Med. 40, 200, 1952. — 12. CAMERON, H. S., MEYER, M. E.: Amer. J. vet. Res. 13, 10, 1952. — 13. JONES, L. M.: Studies on the use of safranin 0 for characterization of Brucella species. = WHO circ. on Brucellosis, No. WHO/Bruc/286, 1964. — 14. N. N.: Laboratórne metódy diagnostiky brucelózy. = Metodika Central Laboratory Weybridge, 1957. — 15. RAŠKA, K. a kol. = Mikrobiologické vyšetř. methody. - Stát. zdrav. nakl. Praha, 1958. (stať C. John: Brucely, str. 415). — 16. Wildführ, G.: Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Epidemiologie, I. diel, VEB G. Thieme, Leipzig, 1959. — 17. CRUICKSHANK, J. C.: J. Hygiene 33, 305, 1955. — 18. MEYER, M. E., CAMERON, H. S.: Species metabolic patterns in morphologically similar gramnegative pathogens. = J. Bacteriol. 73, 158, 1957. — 19. CAMERON, H. S., MEYER, M. E.: The differential effect of basic fuchsin and thionin on D-alanine utilization by the genus Brucella. = J. Amer. vet. Res. 15, 472, 1954a. — 20. CAMERON H. S., MEYER, M. M. = J. Bact. 67, 34, 1954b. — 21. MORRIS, E. J. = J. gen. Microbiol. 16, 629, 1956. — 22. KUZDAS, C. D. MORSE, E. V. = J. Bacteriol. 66, 502, 1954. — 23. JANOK, J., NIŽNÁNSKY, F., KRČMÉRY, V.: Détermination electrométrique de l'activité lipasique des souches de Brucella. = Ann. Inst. Pasteur 93, 257, 1957. — 24. NIŽNÁNSKY, F., KRČMÉRY, V.: L'activité phosphatasique des souches de Brucella. = Ann. Inst. Pasteur Tunis 34, 463, 1957. — 25. NIŽNÁNSKY, F.: Biologické vlastnosti brucelových kmeňov v ČSSR. = Vet. časopis SAV 6, 466, 1957. — 26. WILSON J. B., DASINGER, B. L.: Biochemical properties of virulent and avirulent Brucella. = Ann. N. Y. Acad. Sci. 88, 1155, 1960. — 27. STRICKER, F. a spol.: Comparison of virulence and activity of some enzymes in Listeria. = Folia microbiol. 8, 89, 1963. — 28. KRČMÉRY, V. a spol.: Activita hydroperoxydáz u brucel. = Biológia 14, 924, 1959. — 29. ALBTRT, A.: Selective toxicity. Churchill Co. London, 1958. — 30. KORNBERG, S. D.: Metabolic routes in microorganism. V knihe: Structure and function of microorganism (15th Sym. of Society of General Microbiology) University Press, Cambridge, 1965. — 31. STADTMAN, E. R.: Enzyme multiplicity and function in the regulation of divergent metab. pathways. = Bact. Reviews 27, 170, 1963. — 32. DE MELLO, M. T., DA SILVA, N. P. = The use of TTC in study of dehydrogenase activity of Brucellae. = Memorias do Inst. Oswaldo Cruz 53, 45, 1955. — 33. TODOROV, T.: Die Dehydrogenaseaktivität bei Brucellen. = Izv. Veterin. Instit. Sofia 9, 5, 1963. — 34. KELLEN, J., KRČMÉRY, V. = Folia microbiol. (v tlači).

Дифференциация Br. abortus и Br. suis микробиологическими и биохимическими методами

Работа сообщает о комплексной типизации штаммов Br. suis и Br. abortus в сокращенной типизационной схеме. Она включает быстрые энзиматические методы (определение каталазы, которое можно пропустить, установление активности пероксидазы и уреазы) и ингибиционные тесты. Последние состоят в определении замедления роста бруцеллез при помощи тионина, основного фухсина, хелатизирующих веществ и пенициллина. Применение сафранина, малахитовой зелени и теста по установлению продукции H_2S не способствует однозначному различению Br. suis от Br. abortus. Ингибиционные тесты проводятся на одной пластинке при помощи метода бумажных лент, пропитанных ингибиторами. Обсуждаются преимущества этого способа и взаимное дополнение энзиматических и ингибиционных методов.

В дискуссии обобщены современные данные о значении и механизме некоторых ингибирующих тестов (особенно при помощи хелатизирующих веществ) и о метаболических различиях между Br. suis и Br. abortus. В связи с этим сообщается и о том факте, что бруцеллы не показывают активность некоторых детидрогеназ, появляющихся в интермедиарном метаболизме углеводов.

Differentiation of Br. abortus and Br. suis Strains by means of Microbiological and Biochemical Methods

In this work the authors refer to the complex typization of the Br. suis and Br. abortus strains in a reduced typization scheme. Quick enzymatic methods (the determination of catalase, which may be omitted, the determination of peroxydase and urease activities) and inhibitions tests are involved. The latter consist of determining the inhibition of the growth of brucellae by means of methionine, or basic fuchsine, or chelatizing substances, and by penicillin. The use of saphranine, malachite green, and the production of H_2S-test is of no use in explicit differentiating Br. suis and Br. abortus. Inhibition tests are carried out on a single plate by means of the method of paper strips soaked with inhibitors. The advantages of this method are being discussed as well as the mutual completion of the enzymatic and of the inhibition methods.

The present knowledge concerning the significance and mechanism of certain inhibition tests (especially of that using the chelatizing substances) and metabolic differences between Br. suis and Br. abortus are summarized in the discussion. In this connection the finding is also referred to, that brucellae show no activity of certain reductases appearing in the intermediary metabolism of carbohydrates.

Die Differenzierung von Bruzellen-Stämmen mittels mikrobiologischer und biochemischer Methoden

Die Arbeit behandelt die komplexe Typung von Stämmen der Br. suis und Br. abortus in Form eines abgekürzten Typungs-Schemas. Ihr Bestandteil sind schnelle enzymatische Methoden (Katalase-Bestimmung, die weggelassen werden kann, Bestimmung der Peroxydasen- und Ureasen-Aktivität) und Inhibitionsteste. Diese bestehen aus der Feststellung der Inhibition des Bruzellenwachstums durch Thionin, basisches Fuchsin, chelatisierende Stoffe und durch Penizillin. Die Anwendung des Safranin, Malachit-Grün und der Prüfung auf die Produktion von H_2S hilft nicht, Br. suis von Br. abortus eindeutig zu unterscheiden. Die Inhibitionsteste werden auf einer einzigen Platte mittels Methode der Papierstreifen, die mit Inhibitoren getränkt sind, vorgenommen. Man diskutiert die Vorteile dieser Methode und die gegenseitige Ergänzung der enzymatischen und Inhibitionsmethoden.

In der Diskussion werden die gegenwärtigen Erkenntnisse über die Bedeutung und den Mechanismus einiger Inhibitionsteste (hauptsächlich mit Hilfe von chelatisierenden Stoffen) und über die metabolischen Unterschiede zwischen Br. suis und Br. abortus zusammengefaßt. In diesem Zusammenhang referiert man auch über die Feststellung, daß die Bruzellen die Aktivität einiger Dehydrogenasen, die beim intermediärem Metabolismus der Kohlenhydrate zum Vorschein kommen, nicht aufweisen.

Adresy autorů:

Inž. Vladimír K r č m é r y, CSc., Výskumný ústav hygieny, Bratislava, Čs. armády 40, MVDr. František N i ž n á n s k y, člen koresp. SAV., Výskumný ústav veter. lekárstva, Ivanka pri Dunaji

E. Jiran

K ATENUACI VIRU INFEKČNÍ HEPATITIDY PSŮ

■ Při řešení problematiky aktivní imunizace proti infekční hepatitidě psů (*Hepatitis conatgiosa canum*, dále jen HCC) jsme přistoupili jednak k ověření imunizačních vlastností inaktivovaného viru, jednak k ověření možnosti atenuace viru a získání tak modifikovaného viru, který by bylo možné použít pro aktivní imunizaci jako živé vakciny. Možnost atenuace viru HCC je předmětem tohoto sdělení.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Aktivní imunizace psů proti HCC je v experimentálních pracech některých autorů zaměřena na možnosti použít aktivní virus HCC, mnohdy plně virulentní k vakcinaci. Např. Mansi (1956) využívá k imunizaci virulentní virus HCC, který aplikuje do konjuntiválneho vaku vnímavých štěňat. Po aplikaci dochází k lokální reakci na oku štěněte, avšak již za 3 dny se dostavuje plná chráněnost. Rovněž kombinace tohoto způsobu imunizace s vakcinací proti psince atenuovaným virem psinky byla úspěšná.

Poppensieck a spol. (1958) se pokoušeli o aktivní imunizaci psů virulentním virem HCC se současnou aplikací hyperimunního séra a atenuovaného viru psinky. Třebaže u většího počtu psů nedošlo k postvakcinačním reakcím a dostavila se imunita, upustilo se od tohoto způsobu vakcinace, protože se aktivní virus vylučuje po dlouhou dobu močí, která hraje podstatnou roli v rozšiřování nákazy (Poppensieck a spol. 1951).

Záhy po prvních zprávách o úspěšné kultivaci viru HCC v různých systémech tkáňových kultur, jako např. tkáňových kulturách psích varlat (Müller a spol. 1954), ale zejména v tkáňových kulturách psích ledvinných buněk (Fieldsteel a spol. 1954, Cabasso a spol. 1954 aj.) se otevřela nová schůdná cesta snadného pomnožování viru a rovněž možnost event. atenuace viru. Fieldsteel a spol. 1957) referují o adaptaci viru HCC na tkáňové kultury fretčích ledvinných buněk a ledvinných buněk selat. Rovněž Lee a spol. (1958) a Emmery a spol. (1958) referují o úspěšné adaptaci viru HCC na tkáňové kultury ledvinných buněk selat, třebaže se autorům nezdařila adaptace snadno. Bolin a spol. (1958) popisuje adaptaci viru HCC na tkáňové kultury ledvinných buněk mývala (*Procyon lotor* nebo *Tayassu angulatus*).

Bylo prokázáno, že virus HCC kultivovaný na tkáňových kulturách psích ledvinných buněk ztrácí patogenní vlastnosti, avšak virus se po aplikaci štěňatům vylučuje močí a po několika zpětných pasážích nabývá opět určité virulence (Fieldsteel 1956).

Adaptace a kultivace viru HCC na tkáňových kulturách ledvinných buněk selat byla na některých pracovištích volena jako cesta vývoje živé vakciny proti HCC. Burgherová a spol. (1958) referují o kombinované vakcině proti psince a HCC, ve které používají atenuovaný virus psinky a virus HCC atenuovaný pasážemi na tkáňových kulturách ledvinných buněk selat. Autoři vycházeli z 53. pasáže viru HCC na kulturách psích ledvinných buněk, kterou adaptovali na kultury ledvinných buněk selat a použili již 10. pasáž pro přípravu vakciny. Virus HCC se po aplikaci štěňatům po dobu 4 týdnů nevylučoval, avšak po 6 týdnech došlo k určitému vylučování apatogenního viru.

Cabasso a spol. (1958) popisují atenuaci viru HCC a přípravu kombinované vakciny proti psince a proti HCC. Použili 24. pasáž viru HCC z tkáňových kultur psích ledvinných buněk pro adaptaci na tkáňové kultury ledvinných buněk selat (použili embryonální tkáně selat) a od 10. pasáže viru jej použili pro imunizaci štěňat. Virus nezpůsoboval klinické příznaky choroby, pouze po masivním parenterálním podání atenuovaného viru došlo k vytvoření slabé opacity rohovky u některých pokusných štěňat. Po aplikaci viru docházelo k vylučování malých kvant viru močí, který však byl apatogenní.

Piercy a spol. (1960) popisují podrobné testování kombinované vakciny s živým virem psinky a živým virem HCC z tkáňových kultur ledvinných buněk selat. Prokázali, že dochází po aplikaci i postupně ředěné vakciny k tvorbě neutralizačních protilátek a k solidní imunitě. O úspěšné terénní vakcinaci živou vakcinou proti HCC referují rovněž Scheitlin a spol. (1959).

Howell (1961) uvádí dobré výsledky při imunizaci živým virem HCC z tkáňových kultur ledvinných buněk selat, avšak pro kombinovanou vakcinu proti psince a infekční hepatitidě psů doporučuje zatím použít jen inaktivovaný virus HCC pro určité interferenční působení viru HCC z tkáňových kultur ledvinných buněk selat na atenuovaný virus psinky. Dräger a spol. (1961) aj. se přiklánějí ke stejnému názoru a dále tuto koncepci rozvádějí. Avšak na tomto úseku bude zapotřebí dalších experimentálních prací a ověřovacích pokusů.

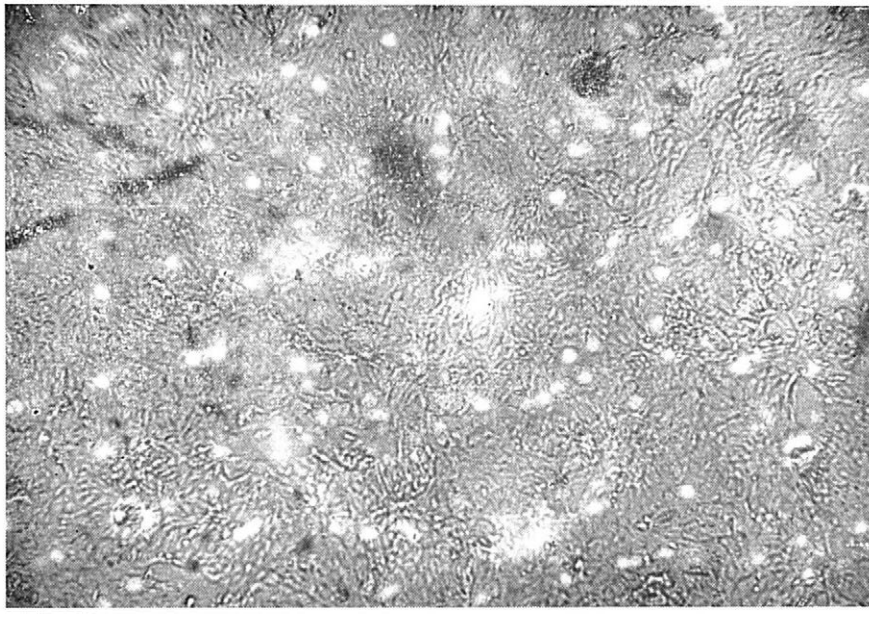
V předložené práci referujeme o adaptaci viru infekční hepatitidy psů z tkáňových kultur psích ledvinných buněk na kultury ledvinných buněk selat a o některých vlastnostech získaného viru.

VLASTNÍ PRÁCE

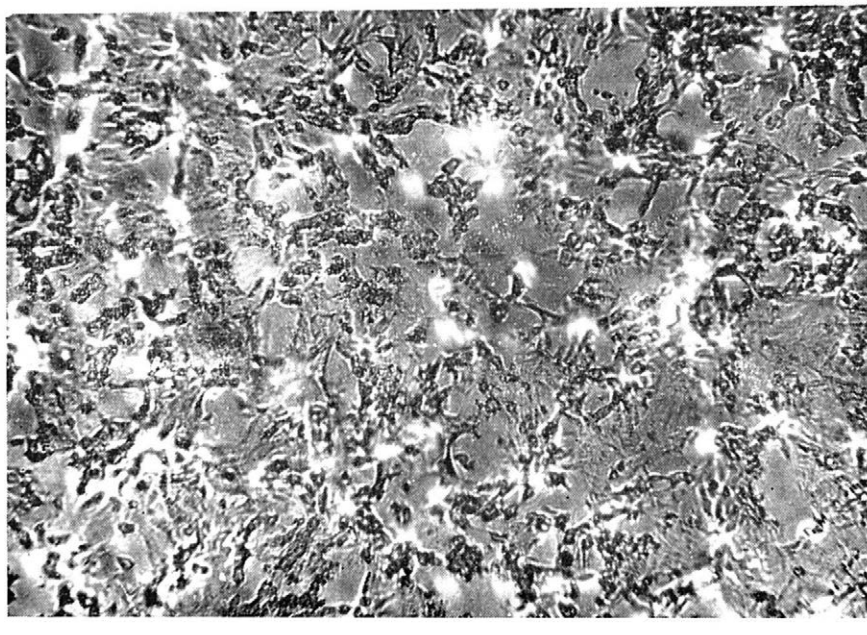
MATERIÁL A METODIKA

Virus. Použili jsme virus HCC kmen CORNELL I (zkratka „C I"), který nám laskavě poskytl prof. Carmichael z Cornell-university z USA. Je adaptovaný na tkáňové kultury psích ledvinných buněk, na kterých jej pasážujeme. Dále jsme použili virus HCC označený jako kmen TEREZÍN (zkratka „T"), který jsme izolovali na našem ústavě a který rovněž pasážujeme na tkáňových kulturách psích ledvinných buněk. Jako další virus jsme použili kmen viru HCC označený STANĚK (zkratka „S"), který jsme rovněž izolovali na našem ústavě a který pasážujeme na štěňatech, pro které je vysoce virulentní a jen orientačně jej titrujeme na tkáňových kulturách psích ledvinných buněk.

Tkáňové kultury. Tkáňové kultury psích ledvinných buněk (dále jen TK PSL) jsme připravovali metodikou, jak je popsáno dříve (Jiran 1964). Tkáňové kultury ledvinných buněk selat (dále jen TK SL) jsme připravovali obdobným způsobem trypsinací kory ledvinné selat ve stáří několika týdnů. Vi-



1. Tkáňová kultura ledvinných buněk selat (kontrolní, neinfikovaná kultura)



2. Cytopatický efekt viru HCC na tkáňové kultuře ledvinných buněk selat

rové kmeny z pasáží na TK SL jsme titrovali na zkumavkových kulturách TK PSL, titry jsme vypočítali podle Reeda a Muencha (1938).

Reakce vazby komplementu a neutralizační test (dále jen RVK a NT). Tyto serologické testy jsme používali v modifikacích, jak jsme popsali již dříve (Jiran 1964). Pro neutralizaci jsme používali 1000 TK ID_{50} viru, RVK jsme posuzovali při 1,5 minimálních hemolytických dávkách (MHD) komplementu.

Štěňata. Pro průkaz viru a pro testování některých vlastností virových kmenů z TK SL nám sloužila štěňata ve stáří nad 3 měsíce, která pocházela z naprosto zdravého chovu a která prošla karanténou.

VÝSLEDKY

PASÁŽE VIRU HCC NA TKÁŇOVÝCH KULTURÁCH LEDVINNÝCH BUNĚK SELAT (TK SL)

V předchozí práci (Jiran 1964) jsme již referovali o kultivaci viru HCC na TK PSL. Ze 14. pasáže viru HCC kmene „T" a ze 76. pasáže kmene „C-I" na TK PSL jsme provedli pokus o adaptaci na TK SL. Tyto tkáňové kultury jsme infikovali obdobným způsobem jako TK PSL, že jsme vždy neředěné medium předchozí pasáže aplikovali na opláchnuté kultury, nechali virus adsorbovat na vrstvu buněk po dobu 45 minut při 37^0 C, pak jsme slili infekční medium a navrstvili na kultury záchovné medium, tj. Earleho roztok solí s 0,5% laktalbumínhydrolysátem, antibiotiky a upravené kyselým uhličitanem sodným na pH 7,4. Infikované kultury jsme inkubovali při 37^0 C a sledovali několik dní, až se objevily změny, které nasvědčovaly pomnožení viru. Cytopatický efekt (dále jen CPE) byl však poněkud odlišného charakteru na TK SL než na TK PSL (viz obr. 1 a 2). Na vrcholu změn jsme z kultur získali medium, které jsme uchovávali při -20^0 — -30^0 C.

Průkaz viru z jednotlivých pasáží na TK SL jsme prováděli na zkumavkových kulturách TK PSL, kde je CPE výraznější a odečet titru mnohem snazší. Z prvních pasáží, kdy jsme virus získali za 6—7 dní se pohybovaly titry od 10^4—10^5 TK ID_{50} v ml, kolem 20. pasáže jsme získávali virus za 4—6 dní a titry byly poněkud vyšší a pohybovaly se kolem 10^6 TK ID_{50} v ml i výše. Titry v RVK se pohybovaly kolem 1 : 8—1 : 16.

Třebaže jsme z technických důvodů museli práci několikráte přerušit, takže jsme se často museli vrátit k předchozím pasážím a opakovat je, zdařilo se nám adaptovat virus HCC na TK SL. Kmen „C-I" má již více než 20 pasáží a dynamika pomnožení z 20. pasáže na TK SL je znázorněna na grafu 1. Kmen „T" jsme však sledovali na TK SL jen do 7. pasáže a od dalších pasáží bylo upuštěno.

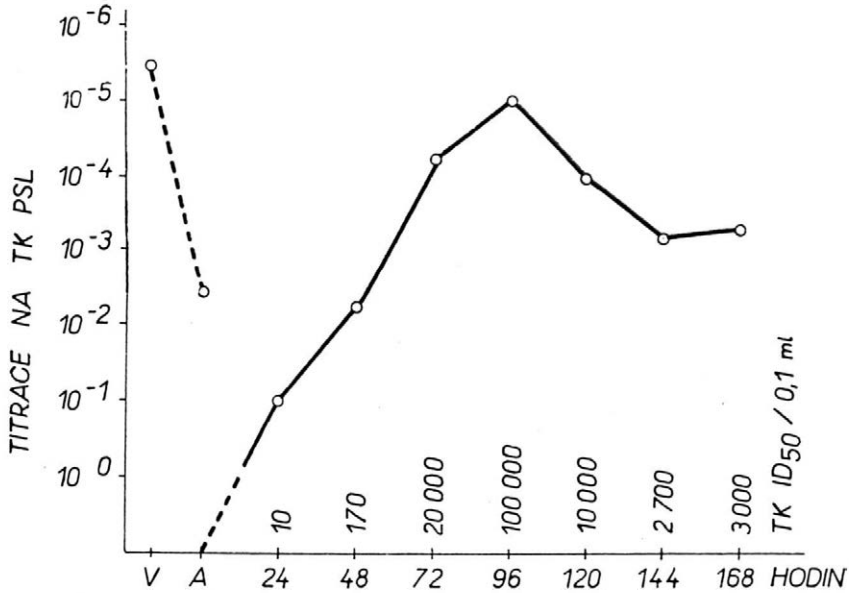
PRŮKAZ A IDENTIFIKACE VIRU PASÁŽOVANÉHO NA TK SL

Pro průkaz viru jsme provedli titraci infekčního media z TK SL z různých pasáží virových kmenů v RVK se známými antiséry. Všechny zkoušené pasáže uvedených virových kmenů z TK SL reagovaly shodně jako infekční media kmenů viru HCC z pasáží na TK PSL.

Dále jsme pro průkaz identity virů provedli neutralizační testy se známými antiséry. I zde jsme docílili stejného neutralizačního efektu jako při použití některého z kmenů adaptovaného na TK PSL.

Při zpětném přenosu viru z pasáže na TK SL na TK PSL jsme vždy docílili stejného charakteru CPE jako při pasážování viru adaptovaného na tyto kultury.

Těmito pokusy jsme si ověřili, že pasážované agens na TK SL je totožné s virem HCC, který pasážujeme na TK PSL.



1. Dynamika pomnožení viru CORNELL I na TK SL
Virus: C-I, 76 pasáží na TK PSL, 20 pasáží na TK SL
Kultury: TK SL, asi 10^7 buněk, 100 ml media
V — výchozí virus, použito 2×10^7 TK ID_{50} viru k infekci
A — zbytek viru po adsorbci na buňky (asi 2×10^4 TK ID_{50})

PRŮKAZ VIRU HCC Z TK SL NA PSECH

Virus HCC kmen „T" jsme ze 14. pasáže na TK PSL adaptovali na TK SL, na kterých jsme jej pasážovali do 7. následné pasáže. Již výchozí virus byl virulentní pro štěňata a tak jsme provedli průkaz viru na štěňatech ze 4. a 6. pasáže na TK SL. Aplikovali jsme vždy 2 štěňatům virus podkožně (infekční medium obsahovalo asi 5×10^5 viru). V obou případech došlo k uhynutí pokusných štěňat po typickém průběhu choroby během několika dní.

Od dalších pasáží tohoto viru na TK SL bylo upuštěno a větší pozornost byla věnována kmenu „C-I".

Výchozí materiál kmene „C-I" adaptovaného na TK PSL nebyl již patogenní pro štěňata, u nichž po aplikaci vyvolal jen vzácně zákal rohovky, bez jiných klinických příznaků onemocnění. Ze 76. pasáže viru na TK PSL jsme provedli adaptaci na TK SL, na kterých jsme jej vedli do 8. postupné pasáže. Z této jsme aplikovali asi 5×10^3 viru pěti dospělým psům. U očkovaných psů nedošlo k žádným postvakcinačním reakcím, zůstali bez jakýchkoliv klinických příznaků onemocnění.

I. Zkouška neškodnosti viru CORNELL I z TK SL.

Způsob aplikace	Počet štěňat	Množství viru	Klinické reakce	Utraceno	Nález	Testová infekce			
						za 7 dní		za 14 dní	
						počet	nález	počet	nález
i. v.	2	2×10^6 TK ID_{50}	neg.*)	2	neg.**)	—	—	—	—
i. p.	4	2×10^6 TK ID_{50}	neg.	2	neg.	2	neg.***)	—	—
s. c.	2	2×10^6 TK ID_{50}	neg.	—	—	2	neg.	—	—
Kontaktní kontroly	4	bez	neg.	—	—	2	****) úhyn	2	úhyn

*) = nedostavily se žádné klinické příznaky onemocnění, ani teplotní reakce
**) = patologicko-anatomický a histologický nález z orgánů utracených štěňat byl negativní
***) = po dobu 2 měsíců po testové infekci se nedostavily žádné příznaky onemocnění
***) = kontaktní kontroly uhynuly během 4 dnů po infekci za typických klinických příznaků s charakteristickým patologicko-anatomickým a histologickým nálezem

Z odběrů krve před aplikací a za 3 týdny potom mohli jsme zaznamenat tvorbu a vzestup neutralizačních protilátek. U všech psů došlo k vytvoření hladiny neutralizačních protilátek v rozmezí od titru 1 : 160 — 1 : 450 ($10^{-2,2}$ — $10^{-2,65}$ TK ND_{50}) při použití asi 1000 TK ID_{50} viru k neutralizaci.

ZKOUŠKA NEŠKODNOSTI VIRU „C-I" Z TK SL

Z 20. pasáže viru „C-I" na TK SL byl proveden průkaz neškodnosti na štěňatech, jak je znázorněno na tab. I. Aplikovali jsme 2 štěňatům intravenózně, 4 štěňatům intraperitoneálně a 2 štěňatům subkutánně vždy po 2×10^6 TK ID_{50} viru, 4 štěňata sloužila jako kontaktní kontroly. Za jeden týden jsme infikovali 2 z kontaktních kontrol, obě štěňata ze skupiny aplikace subkutánní a 2 štěňata ze skupiny aplikace intraperitoneální virulentním virem HCC kmen „S" (20% suspense jater infikovaného štěněte intraperitoneálně). Obě kontaktní kontroly uhynuly během 4 dnů (3. resp. 4. den *p. i.*) a pitva prokázala charakteristický nález — zvětšená játra s edematózně prosáklým a mnohonásobně zvětšeným žlučníkem, zmnožený exsudát v dutině břišní, fibrínové nálepy na játrech, petechiální krváceniny v plicích. Histologickým vyšetřením byly zjištěny velmi výrazné změny, s jakými se setkáváme u HCC. Jednalo se o výraznou hyperemii, degenerativní a nekrobiotické změny jaterních buněk s deformacemi jader a tvorbou intranukleárních inkluzí. Současně docházelo k reaktivním procesům ve formě slabých nehnisavých infiltrací.*) Štěňata, která byla očkována subkutánně nebo intraperitoneálně virem HCC z TK SL klinicky na testovou infekci virulentním virem během měsíční pozorovací doby vůbec nereagovala.

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

Zbývající štěňata z tohoto pokusu ze skupiny intraperitoneální a intravenózní aplikace viru jsme za 14 dní utratili, abychom si ověřili event. patologicko-anatomický a histologický nález na orgánech štěňat. Zbývající 2 kontaktní kontroly jsme infikovali jako předchozí kontroly intraperitoneálně virulentním virem HCC kmenem „S". Během tří dnů tato uhynula a znovu nám pitevní obraz a histologické vyšetření daly charakteristické změny pro HCC, shodné jako u obou předchozích kontaktních kontrol. Pitevní nález štěňat po aplikaci viru HCC z TK SL byl negativní a rovněž histologický obraz potvrdil neškodnost aplikace tohoto viru. Nebyly zjištěny u žádného z nich změny na parenchymatózních orgánech svědčící pro HCC. Ve všech případech byla zjištěna jen slabá vakuolizace jaterních buněk bez výraznějších nekrobiotických procesů a bez zánětlivých změn. Pouze u jednoho štěněte po intravenózní aplikaci viru byla zjištěna málo výrazná aktivace buněk RES v játrech bez zánětlivých a nekrobiotických změn. Ledviny a sleziny byly ve všech případech bez výrazných změn.

Tímto pokusem jsme si ověřili, že je virus HCC z TK SL atenuovaný a i po intravenózní nebo intraperitoneální aplikaci vysokých dávek viru je naprosto neškodný pro vnímavá štěňata. Dále i kontaktní kontroly zůstaly po jednom týdnu a po 14 dnech plně vnímavé k testové infekci virulentním virem, takže během této doby se virus po zkoušených způsobech aplikace z organismu nevylučoval a nepřenášel na vnímavá štěňata.

ZKOUŠKA ÚČINNOSTI ATENUOVANÉHO VIRU „C-I" Z TK SL

Z 20. pasáže viru HCC kmene „C-I" na TK SL jsme zkoušeli jeho imunisační vlastnosti. Provedli jsme titrační aplikaci viru 12 štěňatům a další 3 štěňata jsme nechali bez aplikace viru jako kontaktní kontroly. Virus jsme aplikovali podkožně skupinám po třech štěňatech, a to 10, 100, 1000 a 10 000 TK ID_{50} viru. Během 2 týdnů nedošlo u žádného štěněte ke klinickým projevům onemocnění. Za 16 dní po aplikaci jsme všechna štěňata infikovali virulentním virem HCC intraperitoneálně (kmen „S" z 20% suspenze jater štěňat). Zatímco kontroly uhynuly za typických příznaků 4., resp. 5. dne *p. i.*, všechna vakcinovaná štěňata přežila testovou infekci bez klinických projevů onemocnění. Pouze u některého ze štěňat imunizovaných dávkou 10 TK ID_{50} viru se dostavily subfebrilní vzestupy teploty (max. 39,6^0 C), avšak bez jiných symptomů. Od štěňat z každé skupiny jsme odebírali vzorky krve před a po aplikaci atenuovaného viru (za 16 dní) a po testové infekci (za 20 dní) a získaná séra jsme testovali na obsah neutralizačních protilátek. Výsledky tohoto pokusu jsou znázorněny v tab. II.

Při hodnocení tohoto pokusu lze říci, že již dávka 10 TK ID_{50} atenuovaného viru vyvolává u štěňat plnou chráněnost proti poměrně značné dávce virulentního viru, na který kontaktní kontroly uhynuly za typických klinických příznaků HCC a s typickým patologickým a histologickým obrazem. Dostavily se pouze subfebrilní teploty u některého z štěňat po aplikaci 10 TK ID_{50} viru. Od dávky 100 TK ID_{50} atenuovaného viru je imunizace vnímavých štěňat naprosto spolehlivá.

LYOFILIZACE ATENUOVANÉHO VIRU

Orientačně jsme si ověřili možnost lyofilizace viru HCC kmene „C-I" z TK SL tak, že jsme k viru z infekčního media TK SL přidávali různé roztoky pro lyofilizaci a po zmražení jsme jej vysušili v přístroji KS-6 (Frigera).

II. Výsledky titrační aplikace viru CORNELL I z TK SL štěňatům.

Imunizace				Testová infekce		
dávka viru (TK ID^{50})	počet štěňat	titry sér v neutralizačním testu*)			výsledek**)	klinický obraz
		před vakcinací	za 16 dní po vakcinaci	za 20 dní po infekci		
10 000	3	< 1,3	2,2	2,8	3/3	neg.
1 000	3	< 1,3	2,00–2,13	2,87	3/3	neg.
100	3	< 1,3	1,83	2,8	3/3	neg.
10	3	< 1,3	1,6–2,05	3,25	3/3	neg.***)
Kontroly	3	nt****)	nt	–	0/3	úhyn do 5. dne

*) = jsou uvedeny průměrné titry sér při použití 1000 TK ID^{50} viru k neutralizaci. Titry jsou vyjádřeny jako exponenty log 10 reciprokých hodnot sér.
**) = výsledek vyjadřuje: počet chráněných / počet testovaných
***) = maximální teplota 39,6 °C u dávky 10 TK ID^{50} viru
****) = nt: nebylo testováno

I v různém lyofilním prostředí docházelo sice po lyofilizaci k poklesům v titrech viru, avšak obsah viru zůstal na úrovni kolem 10^4 TK ID_{50} v ml. Zjistili jsme, že lyofilizovaný virus uložený při 4^0 C obsahoval i po dobu několika měsíců dostatečné množství aktivního viru k imunizaci.

DISKUSE

Zdařila se adaptace viru HCC z TK PSL na TK SL, stejně jak o tom píše např. Burgherová a spol. (1958), Emery a spol. (1958), Cabasso a spol. (1958) aj. Volba TK SL pro atenuaci a kultivaci viru HCC pro vývoj živé vakciny proti HCC měla důvody zejména v té skutečnosti, že jde o prostředí, které do jisté míry ovlivňuje určitou afinitu viru k ledvinné tkáni štěňat (Fieldsteel, 1957). Dochází k atenuaci viru při úplném zachování imunizačních vlastností a mimo to jde o prostředí, které neskýtá takové nebezpečí kontaminace event patogenním virem z tkáně, jako právě primární tkáňové kultury psích ledvinných buněk, ze kterých se i na našem pracovišti podařilo izolovat např. virus HCC, stejně jako jinde (Simonyi, 1962).

Virový kmen „C-I" po 76 pasážích na TK PSL a 20 pasážích TK SL je atenuovaný do té míry, že ani vysoká dávka viru podaná štěňatům intravenózně nebo intraperitoneálně nezpůsobuje žádné klinické projevy onemocnění a rovněž i patologicko-anatomický a histologický nález je negativní. Virus se během 14 dní nevylučuje z organismu, vnímavá štěňata vystavená přímému styku se zvířaty imunizovanými značnými dávkami viru zůstávají plně citlivá na virus HCC. Delší doba pro možnost vylučování viru zkoušena nebyla, takže zůstává možnost vylučování viru v pozdějším období, jak o tom píše i Burgherová a spol. (1958), Piercy a spol. (1960) a další.

Ta okolnost, že již dávka 10 TK ID_{50} viru postačuje pro ochranu vnímavých štěňat před testovou infekcí svědčí pro velmi dobré imunizační vlastnosti tohoto virového kmene. Naše pozorování je v tomto bodě shodné s údaji jiných autorů, kde např. Cabasso a spol. (1958) uvádí jako minimální imunizační dávku 6 TK ID_{50} viru, Brugherová a spol. 1958) 6,3—63 TK ID_{50} viru a Piercy a spol. (1960) jen 2 TK ID_{50} viru.

Rovněž možnost lyofilizace viru je dobrým předpokladem pro vhodnou konzervaci a je nezbytná pro použití atenuovaného viru jako vakciny.

Zůstává zatím otevřená otázka interferenčního účinku atenuovaného viru HCC na virus psinky při současné aplikaci v kombinované vakcině, jak o tom píše Howell (1961) a jehož výsledky citují a rozvádějí další autoři. Jsme však toho názoru, že tento aspekt vyžaduje dalšího experimentálního prověření, protože je v rozporu s údaji jiných pracovišť (např. Burgherová a spol., 1958, Cabasso a spol. 1958, Piercy a spol 1960, aj.). Otázka současné vakcinace psů proti HCC a proti psince kombinovanou vakcinou, ve které jsou obě komponenty živé atenuované virové kmeny bude předmětem dalšího sdělení.

SOUHRN

V práci je popsána adaptace viru infekční hepatitidy psů (HCC) z tkáňových kultur psích ledvinných buněk na tkáňové kultury ledvinných buněk selat. Je ověřována atenuace viru, který z 20. pasáže na tkáňových kulturách ledvinných buněk selat je neškodný pro štěňata a vykazuje velmi dobré imunizační vlastnosti již po aplikaci malých kvant viru. Virus lze lyofilizovat a je dána možnost použít jej k aktivní imunizaci proti infekční hepatitidě psů.

Technická spolupráce: Iva Štrossová a Marie Krämerová

Došlo dne 23. 6. 1965

Literatura

1. BOLIN V. S., JARNEVIC N., AUSTIN, J. A.: Infectious canine hepatitis virus studies with special reference to passage of raccoon tissue cultures. = „P. S. E. B. a. M." 98; 414-418, 1958. — 2. BURGHER J. A., BAKER J. A., SARKAR S., MARSHAL V., GILESPIE J. H.: Evaluation of a combined vaccine consisting of modified canine distemper virus and modified infectious canine hepatitis virus for simultaneous immunization of dogs. = „Cornell Vet." 48 . 214-223, 1958. — 3. CABASSO V. J., STEBBINS M. R., NORTON T. W., COX H. R.: Propagation of infectious canine hepatitis virus in tissue culture. = „P. S. E. B. a. M." 85 : 239-245, 1954. — 4. CABASSO V. J., STEBBINS M. R., AVAMPATO J. M.: A bivalent live virus vaccine against distemper (CD) and infectious canine hepatitis (ICH). = P. S. E. B. a. M. 99 : 46-51, 1958. — 5. DRÄGER K., ACKERMANN O.: Über die Anwendung von kombinierten Vaccinen gegen Staupe und Hepatitis contagiosa canis. = „Die blauen Hefte" 2 : 444-449, 1931. — 6. EMERY J. B., YORK CH. J,: Propagation of infectious canine hepatitis virus in porcine kidney tissue culture. = „Science" 127 : 148, 1958. — 7. FIELDSTEEL A. H., EMERY J. B.: Cultivation and modification of infectious canine hepatitis virus in roller tube cultures of dog kidney. = „P. S. E. B. a. M." 86 : 819-823, 1954. — 8. FIELDSTEEL A. H.: Some aspects of infectious canine hepatitis virus in tissue culture. = „Am. J. Vet. Res." 17 : 380-388, 1956. — 9. FIELDSTEEL A. H., YOSHIHARA G. M.: Propagation of infectious canine hepatitis virus in cultures of pig and ferret kidney. = „P. S. E. B. a. M." 95 : 683-686, 1957. — 10. HOWELL D. G.: Vaccination of the dog. = „Vet. Rec." 73 : 46-54, 1961. — 11. JIRAN E.: Infekční zánět jater psů (Rubarth). Isolace a kultivace viru. = „Sb. ČSAV, Vet. Med." 9 : 267-272, 1964. — 12. LEE K. M., SINGH C.: cit. podle 2. — 13. MANSI W.: Dual vaccinatino of dogs against the canine distemper complex and canine virus hepatitis. = J. Comp. Path. a. Therap. 66 : 136-144, 1956. — 14. MÜLLER J., THORDAL-CHRISTENSEN A.: Cultivation of the virus of infectious canine hepatitis (Rubarth) in tissue culture. = „Nord. Vet. Med." 6 : 767-779, 1954. —

15. PIERCY S. E., SELLERS R. F.: Antibody response to a combined living attenuated distemper-hepatitis vaccine. = „Res. Vet. Sci." 1 : 84-93, 1960. — 16. POPPENSIECK G. C., BAKER J. A.: Persistence of virus in urine as a factor in spread of infectious hepatitis in dogs. = „P. S. E. B. a. M." 77 : 279-281, 1951. — 17. POPPENSIECK G. C., BAKER J. A.: cit. podle 2. — 18. REED L. J., MUENCH H.: A simple method of estimating fifty per cent endpoint. „Am. J. Hyg." 27 : 493-497, 1938. — 19. SCHEITLIN M., SUTER P.: Praktische Versuche mit CYVAC, einem neuen kombinierten Impstoff gegen Hepatitis contagiosa canis und Hundestaupe. = „Schw. Arch. f. Tierhlke." 101 : 225-234, 1959. — 30. SIMONYI E.: Primer kutyavese szövettenvészetböi izolát Rubarth-féle virus. = Mag. Allat. Lap. 17 : 160-162, 1962.

К вопросу подавления вируса инфекционного гепатита собак

Описывается адаптация вируса инфекционного гепатита собак (HCC) из тканевых культур почечных клеток собак на тканевой культуре почечных клеток поросят. Проверяется процесс подавления вируса, который, начиная с 20-го пассажа на тканевых культурах почечных клеток поросят, безвреден для щенков и обладает очень хорошими иммунитетными свойствами уже после введения малых доз вируса. Вирус можно лиофилизировать и использовать для активной иммунизации против инфекционного гепатита собак.

On Attenuation of Virus of Canine Infectious Hepatitis

The adaptation of virus of canine contagious hepatitis (HCC) from the tissue-cultures of dog kidney cells to the tissue-cultures of kidney cells of piglets is described. The attenuation of the virus has been tested; this virus was found innocuous for puppies when taken from the 20th passage in the tissue-cultures piglets' kidney cells, showing very good immunization properties even after application of quite small amounts of virus. Virus can be lyophilized; there is a possibility to use it for active immunization against canine contagious hepatitis.

Beitrag zur Attenuation des Virus der infektiösen Hepatitis der Hunde

Die Adaptation des Virus der infektiösen Hepatitis der Hunde (HCC) von Hunde-Nierenzellen auf Gewebekulturen von Ferkel-Nierenzellen wird beschrieben. Es wird die Attenuation des Virus, das von der 20. Passage auf den Gewebekulturen der Nierenzellen der Ferkel für Welpen unschädlich ist und sehr gute Immunisationseigenschaften bereits nach der Applikation von geringen Virusquanten aufweist, überprüft. Das Virus kann lyophilisiert werden und es besteht die Möglichkeit, dieses zur aktiven Immunisierung gegen die infektiöse Hepatitis der Hunde anzuwenden.

Adresa autora:

Dr. Eduard Jiran, Bioveta n. p., Terezín

OBSAH

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENT

INHALT

TABLE DES MATIÈRES

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 i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 2, provozovna 22, Legerova 22, Praha 2. A - 27*61058