

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

5

ROČNÍK 12 (XL)
KVĚTEN 1967
PRAHA,
CENA 10 Kčs

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝCH
INFORMACÍ MZ

Řídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král, (předseda), člen korespondent ČSAV akademik Ivan Brauner, doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., prof. MVDr. Tomáš Gdovin, MVDr. Martin Lis, MVDr. Andrej Mačička, MVDr. Ladislav Polák, CSc., doc. MVDr. Oldřich Svoboda, doc. MVDr. inž. Jan Vlček, pplk. MVDr. Miroslav Vojáček, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, CSc., MVDr. Ladislav Zima, MVDr. Alojz Žuffa, CSc.

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací MZLH, Praha 1967

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozborů 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. Издаёт 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

T. Lax
J. Kočí
R. Červenka
R. Najbrt

K SOUČASNÉMU STAVU LÉČBY OPARU LYSIVÉHO U SKOTU

■ Výskyt houbových onemocnění u lidí i zvířat v živočišné výrobě roste, a to podle našeho názoru z následujících příčin:

1. pro rozsáhlé používání antibiotik ve výživě zvířat,
2. pro mechanizovanou sklizeň obilí a nedostatečné vysoušení slámy, zrní obilí a sena,
3. pro větší koncentraci zvířat v moderních zemědělských závodech (velkokapacitní teletniky, velkochovy mladého skotu),
4. pro některé extenzivnější směry v chovu skotu: hluboká podestýlka při volném ustájení a pro pokles hygieny a individuální péče o zvířata,
5. v některých případech pro snížené hodnoty krmných dávek, zejména pro nedostatek jadrného krmiva.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Prvořadý z houbových onemocnění je t. č. u nás opar lysivý (Polák 1966). V celostátním měřítku se trichofytie vyskytují jako klinické onemocnění téměř v 1/3 zemědělských závodů. V ohniscích bývá postiženo 50 i více procent telat a až 1/4 mladého skotu a dojníc. V roce 1965 se trichofytie vyskytly v 98 okresech, s průměrně 23 zamořenými obcemi (Polák 1966), tj. celkem je v ČSSR 2254 zamořených obcí. Význam trichofytií jako antropozoonózy vysvětluje Chmelova údaje (Chmel 1964): 4 % zaměstnanců v živočišné výrobě trpí trichofytiemi. Každé onemocnění člověka vyžaduje průměrně 4týdenní hospitalizaci s finančním nákladem 5000,— Kčs pro stát; pro zemědělský závod znamená přechodnou ztrátu pracovní síly, pracovní vypětí ostatních zaměstnanců zastupujících nemocného spolupracovníka. Pro postiženého — společenskou újmu a ohrožení zdraví rodiny. Obdobná je situace v četných zemích (Chmel 1964, Kielstein a Röhr). V NDR bylo v roce 1960 770 humánních onemocnění trichofytiemi, v r. 1961 — 580, a pozdější roční průměr je 1160.

Humánní trichofytie však nelze považovat globálně za zoonózu. 90 % lidských trichofytií vzniká za podmínek, kdy postižení neměli styky se zvířaty (Szathmáry 1963). U ošetřovatelů zvířat však trichofytie mohou být až na 100 % odvozeny od zvířat. V rodinách 283 ošetřovatelů skotu, kteří se nakazili od trichofytického skotu, onemocnění bylo přeneseno na další osobu v 25 případech. Trichofytie bovinního původu nejsou proto rozhodující v epidemiologii, tj. v šíření trichofytií mezi lidmi.

Vedle trichofytií mají značný význam ostatní mykózy a mykotoxikózy. Plísňe *Fusarium*, *Mucor*, *Arspergillus* a *Stachybotris* tvoří velmi účinné jedy a za podmínek pro ně příznivých mohou silně kontaminovat úrodu nebo uskladněné zásoby krmiv a zrní a vyvolávají akutní otravy se značnými ztrátami hynutím na myko-

toxikózy (Specivcegová 1963, Sarkisov 1964, Bilai 1960). Invaze hub může vyvolat také mastitidu vedle mykotoxikóz jak je prokázáno v případě *Torulis histolytica* (Jürg, Immer 1965), záněty plic a zmetání u krav (*Aspergillus fumigatus*, White 1964), moniliázu (*Candida albicans*), která má význam především při umělém odchovu a raném odstavení selat chovaných na syntetické dietě.

Pokud se nezlepší velkovýrobní technologie a nepominou i jiné příčiny bude nutno i v budoucnu počítat s výskytem mykóz a mykotoxikóz. Osvědčené způsoby ochrany proti vlhkosti a zmoknutí: kryté mlaty, použití stanových, polyvinilových a jiných plachet pro ochranu stohů, převáženého obilí při svozu, mlácení apod. nejsou dostatečně využívány. Předem určené pevné termíny pro ukončení sklizně vedou často k tomu, že pěstitelé nenechávají obilí na řádcích dostatečně uschnout při dvoufázové sklizni anebo při jiných etapách žňových prací.

Je důležité hned za začátku problematiky mykotických onemocnění si uvědomit, že plísňe mohou napadnout rostlinné substráty jen

- a) při vlhkosti krmiva nad 20–25 % a
- b) při teplotě nad 5 °C. Výjimkou je *Stachybotris*, rostoucí i pod sněhem.

Velmi důležitou podmínkou boje proti houbovým onemocněním je proto snížení vlhkosti sklizené slámy, sena, zrní a ostatních druhů krmiv pod hladinu nutnou k životu a pomnožení plísní.

V případě trichofytií je si nutno dále uvědomit, že patogenní plísňe vegetují nejen na skotu a jiných druzích domácích zvířat a nejen na slámě, seně a jirých rostlinných substrátech, nýbrž i v půdě. Zejména v hnojené (Fejér, Oláh, Szathmáry, Szodoray, Uri 1957). Není proto reálné vytyčovat cíl úplného vymýcení trichofytií. Nicméně vytyčení likvidace klinického onemocnění trichofytiemi je zcela reálné.

Nelze očekávat pronikavé změny ani v technologii chovu skotu v nejbližších několika letech. To znamená, že se budeme stále setkávat nejen se zvýšenou vlhkostí v steličové slámě a statkových krmivech a v důsledku toho i s plesnivými rostlinnými produkty, nýbrž i se zvýšeným seskupením vnímavého mladého skotu. Tím víc vyniká význam léčby klinicky onemocnělého skotu trichofytiemi. Léčba, i kdyby nebyla zcela účinná, přece jen podstatně zmenšuje nebezpečí šíření trichofytií ve stádě, jelikož při léčbě se odstraní převážná část invazního materiálu: strupy, šupiny a jiné epidermální útvary s povrchu kůže nemocného zvířete, které obsahují miliardy spor. Tím se vyřadí nejhlavnější článek v řetězu trichofytické enzootie: nemocné zvíře.

Léčebných prostředků proti trichofytiím je přemíra. Nebudeme se zmiňovat o starších prostředcích, které byly již mnohokrát chváleny i zdiskreditovány. Omezíme se jen na ty nejnovější.

Ideálním prostředkem proti trichofytiím je griseofulvin. Je to vedlejší produkt při výrobě penicilinu a pochází z *Penicillium griseofulvum*. Používá se též k ochraně rostlin. Objeven byl r. 1939 Oxfordem, Raistrickem a Simonartem (1939). Je to bílý prášek z jehlanovitých krystalků o neutrální pH. Ve vodě se špatně rozpouští. Po orální aplikaci se vstřebává, hlavně z tenkého střeva a hematogenní cestou se dostane do všech tkání, kde působí fungistaticky. Zvláštní afinitu má však ke keratinovým útvarům kůže, kde se hromadí nejvíce: v chlupcích, rohovině, paznehtech (a nehtech). Jeho depozice na těchto místech zabrání další vegetaci plísní. Vlivem griseofulvinu vznikají degenerativní změny ve vláknech hyf hub, které tam cizopasí. Vlákna hyf, která jsou za normálních okolností přímočará, stávají se vlnitými, krouť se. Odtud původní označení griseofulvinu: „curling factor“, což znamená činitel způsobující zkroucení. Další degenerativní změny se projevují zduřením a zbuzením vláken. Působí na trichofytie, které jsou nejčastějšími původci operu lysivého u skotu, dále na mikrosporony, epidermifyton a achorion. Léčebný účinek griseofulvinu při trichofytiích u skotu prokázal exaktně O. Sullivan se svým spolupracovníkem (Lauder 1959). Terapeutický účinek sledovali jednak klinicky, jednak v histologických řezech kůže. Zjistili, že 14 dní po zahájení léčby všechny vlasové folikuly, jichž bylo trichofytiemi prostoupeno před léčbou 60 %, se zbavily infekcí. Třetí týden po zahájení léčby vymizely i klinické příznaky. Zjistili dále, že preventivní účinek griseofulvinu je velmi spolehlivý a trvá 2 měsíce. Za účelem terapie podávali griseofulvinu 50 mg/kg váhy tele po 3 týdny, a preventivně po 8 týdnů. V další práci (O'Sullivan) léčil O'Sullivan telata 10 mg griseofulvinu na kg váhy po 6 dní. Vyléčená telata měla 14 dní po zahájení léčby méně než 1 % infikovaných folikulů a za 21 dní nebyly již žádné infikované folikuly.

Výroba griseofulvinu v rámci RVHP byla svěřena chemickému průmyslu NDR. Cena griseofulvinu je však u nás i v zahraničí zatím příliš vysoká pro všeobecné používání k léčbě skotu: je drahý a hodí se pouze pro terapii psů a koček a jiných malých zvířat.

Sterogenol je další novodobý prostředek proti trichofytiím. Je to kvarterní amoniová sloučenina objevená Domagkem a má silný fungicidní účinek. Je to 10% lihový roztok acetylpyridin-bromidu. V koncentraci 1:10 000 tlumí růst *Trichofyton gypseum* a za 10 min. zničí jeho asteroidy. Působí jen disociovaný ve vodním prostředí; jako vehikulum se hodí jen *Ung. hydrophilicum non ionicum*. Mechanismus účinku: sloučenina disociuje na anionty a kationty, při čemž pyridinový kationt obsahující cetylou skupinu se spojuje s aniontovou částí buněčné stěny houby, tvoří tak komplexní sloučeninu a přes poškozený buněčný obal vnikne do buňky plně a vysráží tam bílkoviny (Salton, Home, Corlet 1951). Vlastní použití: sterogenol ve formě 3% masti se nanese na postižená místa jednou nebo dvakrát denně podle potřeby po 3 až 4 dny (Kósa, László 1961).

Na našem trhu je k dispozici Mycotetracid Spofa. Účinnou látkou je zde para-chlorfenoxetyanol v polyetylglykolu v 15% koncentraci s přídavkem 3% kyseliny salicylové. Nanáší se na postižená trichofytická místa, anebo se používá jako postřík. O terapeutickém účinku Mycotetracidu referuje mimo jiné Molnár (1965) Molnár (1965). Po jednoměsíční léčbě zůstalo mu 55% telat nevyлеченých. Po dvouměsíčním ošetření vyléčil 81% telat. To znamená, že po 2 měsících zůstalo 19% telat nevyлеченých.

Parabromfenyl isothiokyanát přichází do obchodu pod názvem Trichofytocid. Účinná látka je i zde rozpuštěna v etylenglykolu. O jejím terapeutickém účinku se zmiňuje rovněž Molnár (Molnár 1965) a hodnotí ji přibližně stejně účinnou jako Mycotetracid.

Doc. Vodrážka, prof. Vrtiak, Tkáčik a sp. (Vodrážka, Vrtiak, Konrad, Tkáčik, Floch 1965) při komisionálním přezkoušení trichofytocidem v jednom případě vyléčili 80% telat; těžší formy (20%) zůstaly nevyлечены. V dalším případě za 6 týdnů po ošetření trichofytocidem se vyléčilo pouze 40% telat; 60% zůstalo nevyлеченých. Ve třetím pokusu z 20 telat ošetřených Trichofytocidem za 7 týdnů se vyléčilo pouze 25%.

Ondrejka (Ondrejka 1965) prováděl léčku parachlorofynletherethylenglykolem; je to sloučenina, která patří k phenoxetolu. Helebrant (Helebrant 1964) na II. interní klinice vyzkoušel řadu vývojových preparátů u 87 kusů hovězího dobytka mimo jiné Nitrofungin (kde je účinnou látkou 2 chlor 4 nitrophenol) a preparát TMTD (3% tetramethyltiurandisulfid). Při troj- až 14násobném ošetření 5% nitrofunginem dosáhl 90,5% vyléčení během 9 až 25 dnů. TMTD 3% vyléčil 58,2% telat při dvoj- a trojnásobném ošetření během 10 až 30 dnů.

Nelze souhlasit s postupy doporučenými na některých místech (Šmid 1964, Šlezinger 1965), kdy se vybízí k použití 10% nebo ještě silnější emulze Fenofor forte. Pokusy konané na II. interní klinice Štrosem (1963) jednoznačně ukazují, že Fenofor forte je toxický pro mladý skot již v koncentraci 1,5%.

Forgách (Forgách) sestavil polysulfidový liniment následujícího složení: Rp. *Sulfur lotum* 10,0 g, *Kal. hydroxydat.* 16,0 g, *Aqua dest.* 70,0 g, *Natr. salicyl* 5,0 g, *Spirit saponatus* 15,0 g. Příprava: síra se smíchá s louhem draselným; v malých dávkách se přidá do vody, převaří se, přecedí se. V přecezené tekutině se rozpouští salicylan sodný a přidá se *spiritus saponatus*. Nakonec se doplní vodou na 100 g. Forgách doporučuje, aby tento liniment byl nanesen na postižené ložisko.

VLASTNÍ PRÁCE

MATERIÁL A METODIKA

Do léčebných pokusů byl zařazen skot, převážně telata nad 2 měsíce stará onemocnělá klinicky plně vyvinutou formou trichofytií. Na hlavě, kolem očí, nozder, na krku i na jiných místech těla byla příznačná trichofytická ložiska

světlešedé barvy kruhovitěho tvaru, mírně vyvýšená nad ostatní povrch kůže. U pokročilejších případů někdy splývala. Srst na těchto místech byla prořídla. Po klinickém ohledání byly odebrány vzorky z postižených míst těla a v každém případě vyšetřeny mikroskopicky na průkaz spór a hyf. V několika případech byly získány vzorky kůže vyříznutím po lokálním znecitlivění, z místa ložiska před léčbou a 10. den po léčbě. Tyto vzorky byly fixovány v pikroformalinu a později byly barveny podle Schiffa pro průkaz plísni.

Provádění léčby: Zjistili jsme, že způsob léčby doporučený Forgachem není dosti účinný; plísně v ložiscích nejsou zasaženy, nanášeli se liniment, jak doporučuje Forgach. Z postižených ložisek rostly trichofytie dál i po dvojnásobném ošetření. Modifikovali jsme proto provádění léčby a všechny pokusy uvedené v této práci byly léčeny následovně: Forgáchův liniment (viz výše) se nanese malým kartáčkem (obyčejně zubním) z polyvinilových vláken na trichofytická ložiska. Natíráním zasažených míst uvolníme asbestovité strupovité trichofytické krusty. Seškrábeme je nožem, takže se obnaží syrový povrch pokožky, která mírně secernuje neb zcela lehce krvácí. Obnažený povrch ještě jednou lehce potřeme linimentem. Škrabky s invazním materiálem sbíráme nožem do plechové krabičky od konzervy, abychom je zneškodnili spálením nebo chemicky. Naráz ošetříme maximálně $\frac{1}{10}$ povrchu těla. Třetí — čtvrtý den po ošetření zkontrolujeme hojení. Hojící se, strupy pokryté defekty můžeme natřít a očistit rybím tukem; není to však podmínkou vyléčení. Pokud by zůstaly recidivy, ošetříme je opět Forgáchovým linimentem. Za vyléčený je považován skot, u něhož všechna ošetřená trichofytická ložiska se vyhojila; t. z. na místě původního šupinatého asbestového exantému vyrostla nová, jemná, pružná vrstva pokožky a prorážející srst je beze spór a hyf trichofytií. Prstencovité přiškvarky v okolí původního ložiska vzniklé leptáním zdravé pokožky v okolí, nebyly považovány za závalu. Případy byly sledovány nejméně 2 měsíce po léčbě.

Tímto způsobem byla prováděna léčba v 19 zemědělských závodech (tab. I). V zamořených stájích bylo celkem 1520 kusů skotu, z nichž bylo trichofytiemi postiženo 472 kusů.

Hygienické podmínky ustájení byly v některých závodech (VKT) velmi dobré, v ostatních vzhovující anebo nevhovující. Zvlášť nevhovující jsou podmínky ve starých adaptovaných stájových prostorech s kamennými zdmi, klenuťm stropem, malou okenní plochou, nedostatečným větráním.

Z tabulky je patrné, že z celkového počtu 472 kusů bylo prvním ošetřením vyléčeno 447 kusů, tj. 94,5 %. Po druhé bylo třeba ošetřit 26 kusů, tj. $5\frac{1}{2}$ %, které byly po druhém ošetření všechny vyléčeny.

Současně s léčbou byla prováděna desinfekce zamořeného stájového zařízení 2 % horkým louhem sodným. Důležitá je současná desinfekce vazáků, hřebců, kartáčů a jiného náčiní a zařízení užívaného u trichofytického skotu.

HISTOLOGICKÁ STUDIE

V řezech č. 1, 2, 3 zhotovených z čerstvých trichofytických ložisek je patrna invaze spór a vláken plísni *Trichofyton*. Jeví se jako červené prstence a vlákna obdávající chlupy v místech srsti.

Vzorek č. 4, 5 získaný z ošetřeného ložiska 10. den po jednorázové léčbě vykazuje už jen folikuly prosté spór a hyf plísni.

I. Léčka trichofytií skotu Forgáčovým linimentem

Poř. čís.	Zemědělský závod	Datum zahájení léčby	Počet skotu celkem v obj.	Počet klin. onemoc.	Způsob léčby	Ošetřováno kusů			Vyléčeno kusů	Za kolik dní	Poznámka	
						po prvé	po druhé	po třetí			rybí tuk	hyg. poměry
1.	JZD Komin	31. 10. 63	25 telat	23	vlastní modifikace Forgáče	23	6		23	10		
2.	JZD Bukovina	11. 4. 64	40 telat	22	vlastní modifikace Forgáče	22	4		22	10		
3.	Cukrovar Želátovice	25. 5.	45 telat	40	vlastní modifikace Forgáče	40						
4.	JZD Habrůvka	25. 5. 64	32 telat	22	vlastní modifikace Forgáče	22	6		22			
5.	Šk. st. Žabčice	18. 11. 64	64 telat	46	vlastní modifikace Forgáče	46	8		46	9		
6.	Šk. st. Žabčice	7. 12. 64	64 telat	2	vlastní modifikace Forgáče	2						
7.	Šk. st. Žabčice	18. 12. 64	64 telat	25	vlastní modifikace Forgáče	25						
8.	JZD Práche	18. 12. 64	64 telat	32	vlastní modifikace Forgáče	32						
9.	JZD Nebovidy	3. 12. 65	47 telat	28	vlastní modifikace Forgáče	28			28	10		
10.	JZD Roseč u Kunštátu	21. 12. 65	46 telat	36	vlastní modifikace Forgáče	36	2		36	10		
11.	ČSSS Dyjákovice				vlastní modifikace Forgáče	8	—			8		
12.	Hrádek	10. 7. 64	56 jalovic	8	vlastní modifikace Forgáče	18			18			
13.	JZD Břežany	20. 7. 64	52 telat	18	vlastní modifikace Forgáče	10	—		10			
14.	JZD Dyjákovice	2. 8. 64	96 krav	10	vlastní modifikace Forgáče	15	—		15			
15.	JZD Dyjákovice	6. 9. 64	27 telat	15	vlastní modifikace Forgáče	24	—		24			
16.	JZD Hradiště	16. 9. 64	56 býků	24	vlastní modifikace Forgáče	15	—		15			
17.	ČSSS Sloup	24. 9. 64	46 telat	15	vlastní modifikace Forgáče	14	—		14			
18.	ČSSS Jaroslavice	2. 10. 64	38 jalovic	14	vlastní modifikace Forgáče	7	—		7			
19.	JZD Bezkov	5. 11. 64	96 krav	7	vlastní modifikace Forgáče	86	—		86			
19.	VKT červenec – září Karlov	64	760 prům.	86	vlastní modifikace Forgáče							
	Celkem		1526	473		473	26					

DISKUSE

Názory různých badatelů o významu a úspěšnosti léčby trichofytií jsou velmi odlišné, někdy až protichůdné. Velmi významný je názor všeobecně uznávaných vynikajících vědeckých pracovníků Ainswortha a Austwicka (Ainsworth 1959): „Lze téměř bezpečně tvrdit, že v současné době neexistuje vyhovující léčba trichofytií skotu.“ S tímto názorem se plně ztotožňuje O'Sullivan a O'Sullivan a sp. (Lauder 1958, O'Sullivan).

Zmínili jsme se o tom, že griseofulvin v nejbližší době nepřichází v úvahu pro hromadnou léčbu skotu ani u nás ani jinde v zahraničí. Sterogenol není u nás k dostání; jeho výroba není plánována. Nelze s ním tedy počítat pro široké použití. V neprospěch Mycotetracidu mluví, že léčba trvá příliš dlouho, 2 až 3 měsíce. Taková protražovaná léčba klade značné nároky na odborné a pomocné pracovní síly, což je velkou překážkou úspěšné realizace v zemědělských závodch. Uvedení i naše (Vodrážka, Vrtiak, Konrad, Tkáčik, Floch 1965, Molnár 1965) nepublikované zkušenosti s PBFI v TEG (10% parabromfenylsothiokynát v tetraethylenglykolu) svědčí o tom, že léčba vyžaduje nejméně 3 až 4násobné ošetření. Výsledky Vodrážky, Vrtiaka a sp. potvrzují rovněž malou terapeutickou účinnost Trichofytocidu.

Z našich výsledků je patrné, že léčba prováděná podle metody zde uvedené, je účinnější a jednodušší, než léčba Mycotetracidem anebo Trichofytocidem.

Vzhledem k tomu, že nelze nikdy vyloučit možnosti vzniku nových invazí hub z vnějšího prostředí, je třeba vyškolit ošetřující personál a jiné zootechnické pracovníky, aby každé další nově vzniklé ložisko včas rozpoznali a neodkladně ošetřili Forgáchovým linimentem jak zde uvedeno. Tímto způsobem lze utlumit klinické trichofytie v chovech skotu v poměrně krátké době několika týdnů.

Naše klinická pozorování a histologické nálezy zde uvedené se rozcházejí s názorem Ainswortha a sp. Tím se také podařilo prokázat, že existuje účinný a rychlý způsob léčby trichofytií skotu.

Zároveň s léčením je třeba provádět a prosazovat ostatní preventivní a profylaktická opatření: Trichofytický skot nepřemísťovat, ale izolovat v zemědělském objektu a neodkladně léčit. Sklízet slámu suchou; uchovat ji v suchém neplesnivém stavu až do použití ve stáji. Využít příznivé účinky pobytu zvířat na pastvě, v slunných výběžích. Mladý skot krmit plnohodnotné (dostatek jaderného krmiva) a ošetřovat a udržovat v čistotě. Ustájení má být hygienicky vyhovující: suché, přiměřeně osvětlené a teplé stájové prostory. Desinfikovat zamořené stájové zařízení a prostory (2% horkým louhem sodným).

ZÁVĚR

Ve stájích 19 zemědělských závodů, v nichž bylo ustájeno celkem 1526 kusů skotu převážně telat nad 2 měsíce stará, byl ošetřen všechen skot s klinickou trichofytií, celkem 473 kusy. Léčení trichofytického skotu jsme prováděli lokální aplikací Forgáchova polysulfidového linimentu ve vlastní modifikaci. 447 kusů skotu, tj. 94,5 % ošetřených se vyléčilo po jednorázovém ošetření; u 26 kusů, tj. 5,5 % bylo zapotřebí provádět druhé ošetření, které bylo plně účinné.

Histologické řezy ukazují 30–50% zamořenost chlupů v přirozených ložiscích před ošetřením. Vzorky získané 10.–14. dne po ošetření, neobsahují už infikované chlupy nebo folikuly.

Došlo dne 11. 2. 1966

Literatura

1. POLÁK L.: Směry a cíle veterinární péče pro 1966. = „Veterinářství“ XVI:1:1, 1966. — 2. CHMELAR L.: Štúdia o epidemiologii a experimentálnej terapii dermatomykóz. SAV 1964. — 3. KIELSTEIN J., RÖHR E.: Probleme der Epidemiologie und Mykologischem Diagnose der Rindertrichofytie. = „Arch. exp. Vet. med.“ 16:477-489. — 4. STATHMÁRY Š.: A mezőgazdasági emberi trichofytia eredete. „MÁOL“ 18:2:102, 1963. — 5. SPECIVCEVOVÁ N. A.: Mikozy a mikotoxikozy životných. Moskva, 1963. God-izdat. Kolos; 2. vydání. — 6. SARKISOV Ch.: Mikotoxikozy. Moskva. Selchoziz, 1954. — 7. BILAL V. I.: Mikotoxikozy čeloveka i selskochoz. život. Kijev A. N. Ukraj. SSR, 1967. — 8. FEJÉR E., OLÁH D., SZATHMÁRY A., SZODORAY L., URI T.: Orvosi mykológia. Akadémiai kiadó. Budapest, 1957. — 9. OXFORD A. E., RAISTRICK H., SIMONART P. = „Biochem. J.“, 33:240:1939. — 10. LAUDER I. M., J. G. O'SULLIVAN = „Vet. Rec.“ 70:949:951, 1958. — 11. O'SULLIVAN J. G.: XVI. Světový veterinární kongres, IIIa, 34:735-737. — 12. SALTON, HOME, CORLET: J. Gen. Microbiol. 1951:5405-5409. — 13. KÓSA LÁSZLÓ: Tarlósmör kezelése Sterogenololdattal. = „MÁOL“ 1961, 16:213-214. — 14. MOLNÁR J.: Pokusy s 15% p. chlorfenoxetanolom. = „Vet. Med.“ 7:401-403, 1965. — 15. MOLNÁR J. = „Veterinářství“ XV:454. — 16. VODRÁŽKA J., VRTIAK J., KONRAD V., TKÁČIK Št. FLOCH Fr.: Hodnotenie antimykotické účinnosti salifunginu a Trichofytocidu a hov. dob. = „Veterinaria Spofa“, č. 3-4, 1965, str. 3-8. — 17. ONDREJKA J. = „Veterinářství“, XV:1:30, 1965. — 18. HELEBRANDT M.: Léčba trichofytiázy skotu. Dipl. práce V. F. Brno, 1964. — 19. ŠMID M.: Zkušenosti s tlumením trichofytie ve velkokapacitním teletníku v Trutnově. = „Veterinářství“ XIV:202-206, 1964, květen. — 20. ŠLEZINGER L.: Statistické zhodnocení ústavní činnosti = „Veterinářství“ XV ... (prosinec, 1965). — 21. FORGÁCH B.: Gyógyszerek a tarlósmör, panaritium és csüdsömör ellen. = „MÁOL“ 18:6:262. — 22. AINSWORTH G. C.: Austvick, P. K., C. Fungal diseases of animals 1959. Commonwealth Agr. Bureaux, Farnham Royal, England.

К современному состоянию лечения стригущего лишая у крупного рогатого скота

В животноводческих помещениях 19 сельскохозяйственных предприятий, в которых в общем содержалось 1526 голов крупного рогатого скота, преимущественно телят старше 2 месяцев, было проведено лечение всех животных с клинической трихофитией, всего 473 головы.

Лечение трихофитического крупного рогатого скота мы проводили локальным применением полисульфидной жидкой мази Форгаха в собственной модификации. 447 голов крупного рогатого скота, т. е. 94,5 % обработанных животных вылечилось после однократной обработки; у 26 голов, т. е. 5,5 % необходимо было еще провести вторую обработку, которая полностью ликвидировала болезнь.

Гистологические срезы показывают 30—50 % зараженности волос в природных очагах до обработки. Образцы, полученные на 10—14 день после обработки, уже не содержат зараженных волос или фолликулов.

On the Present Situation regarding the Treatment of Tinea in Cattle

In the cow-houses of 19 agricultural enterprises, in which a total of 1526 head of cattle, predominantly calves of an age of over two months, were housed, all animals with clinical trichophytia, altogether 473 animals, were treated.

Treatment of the trichophytic cattle as being carried out by means of local application of our own modification of Forgach's polysulphide liniment. 447 animals, i. e. 94.5 per cent of the treated animals, were cured after a single treatment, and 26 animals, i. e. 5.5 per cent, required a second treatment, which was fully effective.

Histological sections show a from 30 to 50 per cent contamination of hairs in the natural deposits before treatment. Samples obtained in from 10 to 14 days after treatment no longer contain any infected hairs or follicles.

Zum derzeitigen Stand der Therapie der Glatzflechte

In 19 landwirtschaftlichen Betrieben, in welchen insgesamt 1526 Rinder, und zwar vorwiegend über zwei Monate alte Kälber, aufgestellt waren, wurden alle Tiere mit Symptomen klinischer Trichophytie (insgesamt 473 Rinder) ärztlich behandelt.

Die trichophytischen Rinder behandelten wir lokal mit dem Forgachschen Lini-
ment eigener Modifikation. Insgesamt 447 Rinder, d. s. 94,5 der behandelten Tiere,
heilten nach einmaliger Behandlung aus; bei 26 Rindern, d. s. 5,5 %, war eine
zweite Behandlung nötig, welche sich voll bewährte.

Histologische Schnitte zeigten eine 30–50 %ige Verseuchung der Haare in den
natürlichen Herden vor der Behandlung. Die am 10. bis 14. Tag nach der Be-
handlung gewonnenen Proben enthielten bereits keine infizierten Haare oder
Follikel.

Adresy autorů:

Doc. MVDr. Tibor Lax, CSc., MVDr. Josef Kočí, doc. MVDr. Radim Najbrt,
VŠZ, veterinární fakulta, katedra vnitřních chorob domácích zvířat, Brno, Palac-
kého 1–3, MVDr. Rudolf Červenka, Okresní veterinární zařízení, Znojmo

YDAVATELSTVÍ ŮVTI, Praha 2, Slezská 7, upozorňuje na STUDIJNÍ
INFORMACE řada Veterinářství, které může dodat obratem:

- | | |
|----------------------|---|
| Dušan KRAUS | Některé nové poznatky o moru prasat
Roč. 1966, č. 3 |
| F. GILKA, E. SALAJKA | Současné poznatky o šoku, se zvláštním zřetelem
k šoku endotoxinovému |
| F. NIŽŇANSKÝ | Súčasný stav poznatkov o etiologii a prevencii
potratov u hovädziho dobytku
Roč. 1966, č. 8 |
| Dušan KRAUS | Diagnostika březosti u prasat
Roč. 1967, č. 1 |

Jednotlivá čísla STUDIJNÍCH INFORMACÍ à Kčs 5,—

Objednejte v ŮVTI — Vydavatelství Praha 2, Slezská 7

Přesné vyřízení své objednávky si zařídíte, jestliže na ní uvedete ročník
a číslo svazku

r.

■ Lze říci, že laboratorní diagnostika rané gravidity u prasnic je otevřený problém řešený velkou řadou pracovišť zahraničních i tuzemských. V důsledku obtížného klinického zjišťování gravidity prasnic jsou v chovech často držena zvířata domněle březí a tato skutečnost jistě nemalým podílem přispívá k poměrně malému počtu vrhů na jednu prasnici za rok. Metody zjišťování březosti u prasnic nebyly zdaleka tak rozvinuty a tak přesné, jako je tomu například u klisny nebo v medicíně humánní u ženy. V poslední době však i u zvířat došlo k značnému pokroku a rozvoji diagnostických metod k průkazu gravidity. Vedle klasického klinického vyšetření byly rozvinuty četné modifikace metod fyzikálních, chemických a biologických. Poslední léta přináší zvýšenou pozornost především laboratorním metodám.

Zpřesnění diagnostiky gravidity prasnic považujeme za jednu z cest snížení neproduktivního období a tím zvýšení efektivity chovu prasat.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

V našem sledování zaměřili jsme výchozí práce na histobiopickou metodu průkazu rané gravidity prasnic. Asi před 10ti lety provedli Ciurea, Neumann, Patea a Olarian (1955) histologické vyšetření vaginální sliznice a doporučili tuto metodu k diagnostice gravidity u prasnic. Avšak až v posledních letech dosáhla tato práce určité odezvy u dalších autorů (Kuhlmann M. 1963, Schroeder 1963, Busch W. 1963, De Bois, Muurling a Wensig 1965).

METODA A MATERIÁL

Do pozorování jsme zařadili výsledky histologických rozborů pohlavního ústrojí prasnic za cyklu, cytologických sledování se záměrem stanovit cytotypizaci a její variace a konečně cytologické a histobiopické sledování skupiny 8 prasnic během říjových cyklů a po koncepci. Zvířata byla v pokuse 2–3 cykly před koncepcí a gravidita sledována do ukončení porodem. Vyšetření byla provedena v období ovariálních cyklů a v období prvních tří dekad gravidity. Průměrně byl odebrán materiál ku čtyřem histobiopickým vyšetřením vaginální sliznice, dvaceti mikroabrasím k cytologii vaginální a dvacet vaginálních buněčných stěrů. Celkem byl zpracován materiál od 46 prasnic.

VÝSLEDKY POZOROVÁNÍ

Z rozboru materiálu mohlo být stanoveno, že se stavba vaginální sliznice mění v jednotlivých fázích ovariálního cyklu, stejně jakož i u jednotlivých individuí a v různých místech vaginy. Pro srovnání jsme volili oblast postcervikální asi 5–8 cm posteriorně cervixu.

V těchto místech jest výstelka vaginální tvořena epitelem vrstevnatým, který má do určité míry charakteristiky epithelu dlaždicovitého, ale jehož povrchové složky jsou atypické a nutno, stejně jako je tomu u skotu, označit výstelku za atypický vrstevnatý epithel dlaždicovitý.

Neuspořádané buňky tvoří kolísající počet vrstev. Obvykle je možno pozorovat okolo 9 vrstev (9 ± 4), v období proestru a oestru se počet zvyšuje a dosahuje asi 14 ± 3 vrstvy, zatímco v období žluté fáze je asi 7 ± 2 vrstvy.

Stratum germinativum je tvořeno buňkami kuboidní až cylindroidní formy jejichž jádra, ne vždy, mají hustěji uložený chromatin. Další vrstvy polygonálních buněk mají jádra většinou puchýřková, jasná, s volnou strukturou chromatinu. Jen povrchové vrstvy buněčné vykazují někdy zahuštění jader i zvýšenou tinkci cytoplazmy. Oploštění buněk v povrchových částech sliznice a pyknóza jader není pravidelnou, naopak často se setkáváme s povrchovou vrstvou buněk kubických až cylindrických. Ač je možné i v této vrstvě postihnout určitou cykličnost, tj. zvýrazňování cylindricity cytoplasmatických struktur v období proestru, přesto hlavní podíl změn v cyklu spočívá v proliferaci polygonálních středních epitheliálních vrstev, jejich zvětšování a puchýřkovatění.

Diferenci vzhledu skladby vaginální výstelky v období gravidity je možno vhodně diagnosticky využít. Sliznice vaginální je tvořena většinou 2 a 3 vrstvami nižších buněk, jejichž cytoplazma má tmavší tinkci a jádra buněčná jsou taktéž temně zbarvena. Povrch výstelky vykazuje též kuboidní buněčné formy, někdy i o něco vyšší. Výraznost rozdílu je tedy tvořena jednak menším počtem vrstev buněčných, jednak hustší strukturou buněčnou.

Příčina těchto změn je vysvětlitelná skutečností, která podmiňuje též jeden z testů gravidity — cytohormonální test (Lembergová — Stámm a Watevill 1955), — totiž že v období gravidity není vaginální sliznice senzibilizována na estrogény. Rozvoj vaginální sliznice je podmíněn intenzivním účinkem estrogenů jako proliferačního hormonu, chybí-li tedy recepční schopnost nezjišťujeme ani slizniční responsi na hormonální stimuly.

Evidentní morfologické změny nás podněcovaly, abychom sledovali obdobu této variace v buněčném materiálu. Předpoklad, že by povrchové elementy mohly prokázat signifikantní rozdíly v mucinogenesi v období gravidity a fázi cyklu, vedl nás nejdříve k ověření těchto předpokládaných změn barvicími metodami v histologických řezech. Barvení metodou PAS, toluidinovou modří, akridinovou oranží prokázalo, že povrchové elementy vykazují variaci v intenzitě metachromasie při barvení toluidinovou modří, intenzitě PAS reakce a též v polychromasii při barvení acridin oranží. Rozdíly však nebyly průkazné a jednoznačné.

Srovnání bylo ztíženo též nahuštěním PAS pozitivních elementů v povrchové vrstvě u vaginálního epithelu gravidních prasníc, zatímco u výstelky v období cyklu i při masivním výskytu PAS pozitivních buněk měly tyto vždy vzhled méně intenzivního rozložení, jednak pro volnější stavbu epithelu a jednak pro puchýřkovitou strukturu jádra. Z těchto důvodů hodnocení epithelu gravidních prasníc jako výrazněji PAS pozitivního mohlo být lehce zatíženo chybou plynoucí z morfologické variace.

Při odběru materiálů k cytologickému vyšetření metodou mikroabraxe, přistoupili jsme k rozšíření barvicích metod o histochemické — enzymologické reakce alkalickou a kyselou fosfatázou (při orientačních pracích nebylo použito azokopulačních metod, ale metod Gomoriho, barvení na kyselá jádra — alciánovou modří. Závisí-li mucinogenese v povrchových složkách vaginálního epitelu na hormonálních stimulech, předpokládali jsme, že tyto metody by měly poskytnout rozdílné výsledky podmíněné změnami nitroděložního a vaginálního metabolismu v mucinogenních buňkách epitelální vrstvy.

Výsledky však prokázaly velmi širokou variaci ve vyhodnocení nejen histochemických, ale i cytochemických metod, které pro velkou šíři a rozmanitost i z hlediska morfologické cytotypisace buněčných elementů nedovolily stanovit jednoznačné závěry.

Mucifikované elementy vyskytovaly se ve všech mikroabrasních materiálech. Bylo sice možné do určité míry v průměru získat převahu pozitivně PAS reagujících elementů u materiálů z gravidních zvířat, ale nebylo dosaženo statistické významnosti rozdílů pro širokou varianci.

I. Rozbor cytovaginálního indexu při barvicí metodě PAS u gravidních a ne-gravidních prasníc

Typ buněčný	Planocell. index	Kubické formy		Polygonální formy		Hrudky	
Negravidní	Index 12/76/12	100 %	0 %	64 %	36 %	0 %	100 %
Gravidní	Index 15/68/17	100 %	0 %	78 %	22 %	0 %	100 %
PAS pozitivita		+	—	+	—	+	—

Z uvedeného indexu vaginálního cytogramu je zřejmé, že difference v kvantitativním zastoupení je minimální. Nebylo též možno potvrdit v buněčných náteřích výskyt navikulárních resp. lasturovitých buněk charakteristických spolu s výraznou cyanofilií a typickým shlukováním pro graviditu. Význam „leaf-like“ fenoménu Hopmanem (1959) stanoveného jako typického pro graviditu ženy, nebylo možno zhodnotit pro jeho neprůkaznost. Zůstává tedy i nadále diskutabilní význam cytovaginálního vyšetření i při použití kritérií pro planocellulární epitel v úseku jím odpovídajícím, tj. *vestibulum vaginae*. Práce Pasztora (1961), ve které byl též sledován význam cytodiagnosticky pro průkaz gravidity u prasníc význívá obdobně negativně, i když tento výsledek je do určité míry zdůvodněn nevhodností kombinace místa odběru materiálu a použitých kritérií hodnocení.

DISKUSE

Z rozvedených pozorování lze shrnout, že histobiotická metoda vyšetření vaginální sliznice je vhodným testem k průkazu rané gravidity u prasníc. Vlastní technika provedení při využití automatické endometriální kyrety je velmi jednoduchá a nevyžaduje žádného speciálního zácvičku. Fixace zvířat je též nenáročná, postačí držení smyčkou a přidržení za ocas. V případě, že jde o opakované a nárazové vyšetření je vhodné užití průchodní otočné klece, která usnadňuje a zrych-

luje provoz. Při takovém vybavení stačí vyšetřující odebrat asi 10 vzorků během 30 minut.

Výsledky histobiopického testu, jak uvádí Ciurea (1955) a spol. jsou průkazné ve 100 % od 14. dne. Kuhlmann (1963) dosahoval průkaznosti testu od 10 do 14 dnů na 28,6 %, od 15 do 30 dnů na 74,19 a u délky gravidity přes 30 dnů 100 %. De Bois a spol. (1965) na základě vlastních pozorování dospěli k názoru, že histobiopický test má absolutní spolehlivost.

Podle našich pozorování můžeme konstatovat, že za 14 dnů po koncepci dosahují změny výraznosti a věrohodnost byla potvrzena v 75 %. V našich materiálech jsme mohli maximální průkaznost zaznamenat již za 21 dnů. Naprosto přesvědčivé vyhodnocení spolehlivosti histobiopické metody bude jistě možné jen při jejím rutinním uplatnění a statistickém vyhodnocení.

Vezmeme-li v úvahu další běžnou a nenáročnou histologickou techniku, při případném zrychlení řezáním zmražených vzorků, pak tento způsob vyšetření je vhodný k rutinnímu využití.

I když byly naše cíle vedeny snahou zjednodušit metodu využitím prostší cytologické techniky, musíme konstatovat, že dosažené informace získané dosavadními způsoby nemohou se vyrovnat co do průkaznosti histobiopické vaginální technice.

SOUHRN

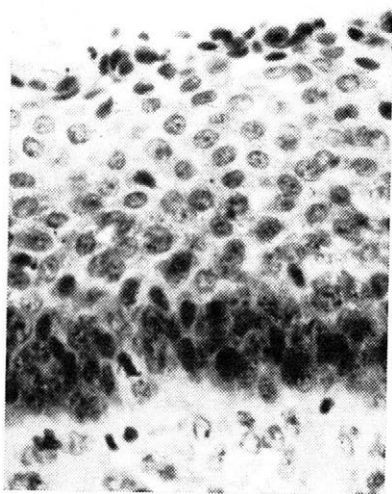
Histologické vyšetření vaginální sliznice prasnic dovoluje po třech týdnech po koncepci téměř s absolutní jistotou určit graviditu. Vyšetření vyžaduje vybavení pro odběr materiálu a histologickou techniku. Pokus nahradit tuto metodu mikroabrazí s možností užít méně náročnou cytologickou techniku, podle dosavadních užitých metod, nepřinesl dostatečně průkazné výsledky.

Došlo dne 4. 10. 1966

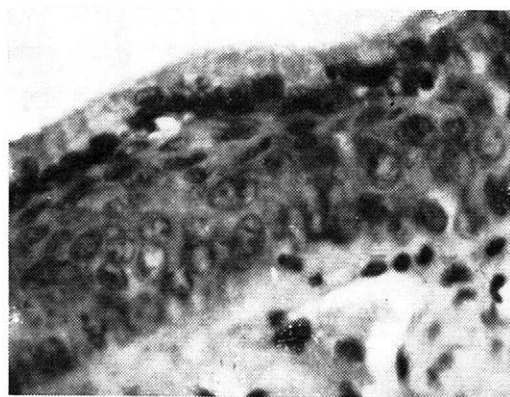
Technická spolupráce: M. Fejová, M. Sabolová.

Literatura

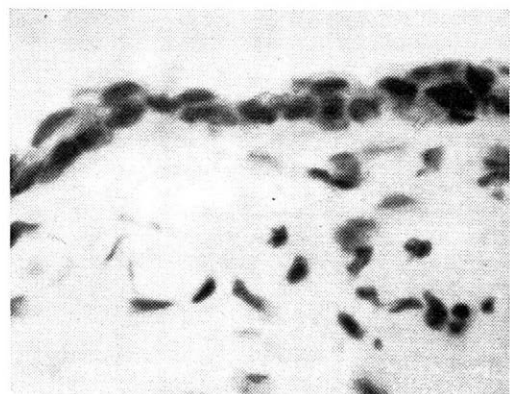
1. BUSCH, W.: Beitrag zur histologischen Diagnose der Trächtigkeit beim Schwein durch Vaginalbiopsie. = *Mh. Vet. Med.*, 18, 1963 : 813. — 2. CIUREA, V. - NEUMANN, F. - PASTEA, Z. - OLARIAN, E.: Diagnostical histological gestation test in the pig. = *Academia R. P. R. - Baza Timisoara; studii si certari stiintifice, Anul II*, 1955 : 113. — 3. DE BOIS, G. H. W. - MUURLING, F. - WENSING, C. J. G.: Histologisch drachtigheidsonderzoek bij het varken door middel van biopsieën van het vaginale slijmvlies. = *Tijdschr. Diergeneesk.*, 90, 1965 : 19. — 4. HOPMAN - cit podle SONEK. — 5. KUHLMANN, W.: Beitrag zur Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein. = *Berl. Münch. tierärztl. Wochenschrift*, 8, 76, 1963 : 143-145. — 6. KUHLMANN, W.: Histovaginalna diagnostika na bremennosti pri svinia i praktičesko i značeniye. = *Veterinarna sbirka*, 5, 60, 1963 : 9-11. — 7. KUHLMANN, W.: Beitrag zur histologischen Diagnose der Trächtigkeit beim Schwein durch Vaginalbiopsie. = *Mh. Vet. Med.*, 19, 1963 : 247. — 8. KUHLMANN, W. - SCHRÖDER, D.: Technik und Ergebnisse der biopsischen Trächtigkeitsuntersuchung beim Schwein. = *Tierärztl. Umsch.*, 3, 112, 1964. — 9. LEMBERG - SIEGFRIED, S. - STAMM, O. - WATTEWILL, H.: Le frottis vaginal aux différents stades de la grossesse normale et pathologique. = *Presse méd.*, 63, 1955 : 1558-1560. — 10. PÁSZTOR, L.: Nem vemhes és vemhes kocák méhszájnyálkájának citomorfológiai vizsgálata. = *Magyar Allatorvosok Lapja*, 16, 1961 : 416-422. — 11. SCHROEDER, D.: Beitrag zur Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein mit Hilfe der Vaginalbiopsie. Diss., Berlin 1963. — 12. SONEK, M.: Poševní cytologie za fyziologických a patologických stavů v dětském pubertálním a postpubertálním věku. Kand. dis. práce, Brno 1963.



Obr. 1: Vaginální výstelka nebřezí prasnice. Počet vrstev odpovídá středním hodnotám. Povrchové vrstvy jsou v náznaku kuboidní a částečně desquamované. (Barvení H. E.)



Obr. 2: Epithel s cylindrickou povrchovou vrstvou buněk. Materiál z místa asi 5 cm posteriorně *portio vaginalis uteri* od nebřezí prasnice: (Barvení H. E.)

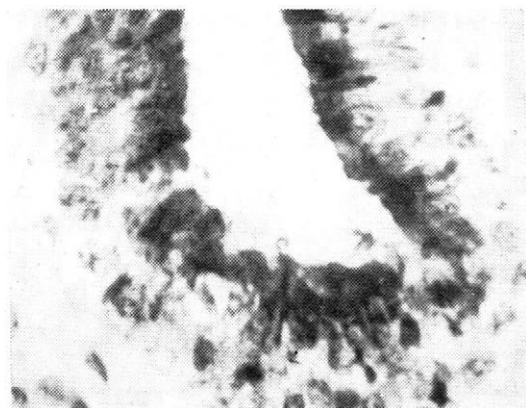
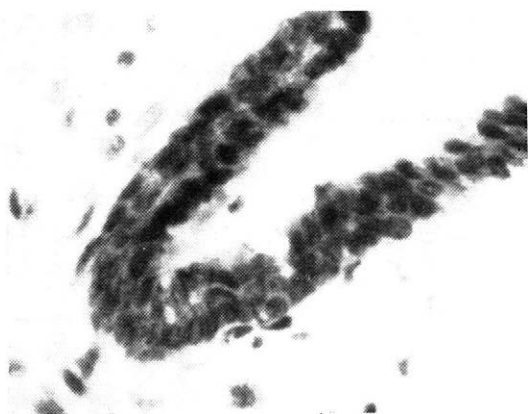


Obr. 3 a 4: Výstelka březích prasnic ve dvacátém dni gravidity. (Barvení H. E.)



Obr. 4.

Obr. 5: Gravidní prasnice s cylindrickou povrchovou vrstvou v řasách vaginální výstelky. Spodina tvoří jedna až dvě vrstvy kubických buněčných elementů. (Barvení H. E.)



Obr. 6: Při barvení PAS je zřejmá mucinogenesa v povrchové cylindrické vrstvě.

Ранняя диагностика супоросности у свиноматок при помощи гистологических методов

Гистологическое обследование вагинальной слизистой оболочки свиноматок позволяет спустя три недели после концепции почти с абсолютной уверенностью определить супоросность. Обследование требует инструментов для взятия материала и гистологической техники. Попытка заменить этот метод микроабразией с возможностью использования менее требовательной цитологической техники, судя по существующим практическим методам, не дала достаточно достоверных результатов.

Early Diagnostics of Gravidity in Sows by means of Histological Methods

Three weeks after conception the histological examination of the vaginal mucous membrane of sows makes it possible to ascertain gravidity with almost absolute certainty. The examination requires equipment for the taking of material and histological technique. The attempt to substitute this method with microabrasion with the possibility of an application of the less exigent cytological technique according to the hitherto applied methods has not resulted in sufficiently significant results.

Frühzeitige Diagnostik der Gravidität bei Säuen mittels histologischer Methoden

Die histologische Untersuchung der Vaginalschleimhaut der Säue gestattet nach drei Wochen nach der Konzeption die Gravidität mit einer fast absoluten Sicherheit zu bestimmen. Diese Untersuchung erfordert eine Ausstattung für die Materialentnahme und histologische Technik. Ein Versuch, der diese Methode durch die Mikroabrasion bei einer Möglichkeit, eine weniger anspruchsvolle zytologische Technik anzuwenden, ersetzen sollte, brachte bei der Anwendung von bisherigen Methoden keine ausreichend signifikante Ergebnisse.

Adresa autora:

MVDr. Zdeněk Věžník, SCs., Výzkumný ústav veterinárního lékařství,
odd. biologie reprodukce hospodářských zvířat, Brno - Medlánky

MALE INFORMACE

● *Sdělení redakce: Redakce VM upozorňuje všechny přispívatele, že podle usnesení red. rady ze dne 24. 2. 67 je třeba při každé práci publikované ve VM obligátně uvádět vedle autorova pracoviště také jméno vedoucího pracoviště.*

Další mezinárodní konference r. 1967

- Mezinárodní konference o použití radioizotopů ve farmakologii
Datum a místo: 20.–23. září 1967, Ženeva
Informace: Prof. B. Glasson, Pavillon des Isotopes 20 boulevard d'Ivoy, 1211, Genève 4
- Valné shromáždění mezinárodní unie pro fyziologické vědy
Datum a místo: září 1967, Washington
Informace: Prof. J. W. Dayft, Dept. of Physiology, University of Leiden, Leiden, Netherlands
- 7. Mezinárodní konference o lékařské elektronice a biologickém inženýrství
Datum a místo: srpen 1967, Stockholm
Informace: Dr. B. Jacobson, Department of Electronic, Karolinska Institute, Stockholm 60
- 11. Kongres Evropské hematologické společnosti
Datum a místo: září 1967, Athény
Informace: Prof. Gouttas, rue Hérodote 6, Athens
- 19. Mezinárodní konference o tuberkulóze
Datum a místo: 3.–7. října Amsterdam
Informace: Dr. J. Meijer, Koninklijke Nederlandse Centrale Vereniging tot Bestrijding der Tuberkulose, Postbus 146, The Hague
- 12. Mezinárodní genetický kongres
Datum a místo: 19.–28. srpna 1967, Tokio
Informace: Dr. J. Tazima, National Institute of Genetics, Yata T., Ili. Misima, Siruokaken, Japan
- 12. Mezinárodní kongres o biologii buňky
Datum a místo: 24.–31. srpna 1967, Brusel
Informace: P. Dustin, Institute d'Anatomie, 97 rue aux Laines Bruxelles
- Mezinárodní symposium o růstovém hormonu
Datum a místo: září 1967, Milán
Informace: Dr. A. Pecile, Dept. of Pharmacology University of Milano, Via A. del Sarto 21, Milano
- 14. Mezinárodní Symposium o mikroskopii
Datum a místo: 14.–18. srpna 1967, Cambridge
Informace: MICRO-67, McCrone Research Institute 451 E, 31st Street, Chicago, Ili.60616
- Mezinárodní symposium o otázkách kvalitativní biologie metabolismu
Datum a místo: září 1967, Helgoland
Informace: Prof. Dr. O. Kinne, Biologische Anstalt, Helgoland

■ V dřívější pracích z naší katedry, věnovaných problému ketonemie skotu (Spurný 1963; Spurný, Lebeda 1963; Spurný, Surynek 1966) jsme se zabývali především studiem změn a některých příčin těchto změn fyziologické úrovně hladiny ketolátů v krvi dojníc v provozních podmínkách.

V dostupné literatuře se celá řada prací zabývá buď přímo nebo nepřímo etiologii, patogenézí, prevencí i terapií acetonemie dojníc i ovcí; existuje i dosti poznatků o zvláštnostech bachorového metabolismu (zejména uhlovodanů) s nimiž souvisí vyšší hladina ketonových látek v krvi přežvýkavců. Avšak bližší údaje o vývoji hladiny fyziologické ketonemie u telat písemnictví postrádá.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Obecně však je známo, že s růstem zvířete se mění i aktivita fermentů a tím i metabolismus. Známý jsou též změny celkové bílkoviny u skotu v prvních měsících života (Baldajev 1956) a zřetelné zvýšení hladiny prchavých mastných kyselin v krvi (Rejntam 1960). S věkem telat klesá i hemoglobin, erytrocyty, leukocyty, zbytkový dusík a chloridy (Chramcov 1960).

Kolb (1962) předpokládá, že u telat v ranných stádiích postnatálního vývoje stejně jako u zvířat s jednoduchým žaludkem nepřesahuje hladina fyziologické ketonemie 1 mg %.

Thorbeck (1964) uvádí, že mezidruhově difference ve fyziologické hladině ketonemie i relativně nízká ketonemie u telat souvisí zřejmě se zvláštnostmi metabolismu přežvýkavců a že obsah prchavých mastných kyselin v bachorové šťávě je ve značném rozsahu závislý na krmení, přičemž podíl kyseliny octové je největší.

Údaje Gürtlera (1962) se zhruba shodují s uváděnými poměry mastných kyselin v bachoru. Tento dodává, že po výlučném krmení senem stoupá podíl kyseliny octové až na 72 %.

Tyto trávicí poměry v bachoru jsou ovšem závislé na rozvoji jeho funkcí, které popisuje Godfrey (1961). Bartoš a kol. (1962) uvádějí, že epitel bachoru 1–3 týdenních telat je již schopen produkovat ketolátky. Z pokusů Suttona a kol. (1963) vyplynulo, že resorpční kapacita sliznice bachoru telat je pro kyselinu octovou po přijetí hrubého krmiva podstatně vyšší než u čistě mléčné výživy. Ndumbé a kol. (1964) prokázali u dříve odstavených telat vyšší obsah prchavých mastných kyselin v bachoru.

Dá se tedy soudit, že vývoj hladiny ketolátů v krvi telat je závislý hlavně na rozvoji předžaludků a na době odstavy, dále na způsobu odchovu, skladbě krmné dávky (A d r i c h e m 1963) a dalších faktorech, z nichž literatura uvádí i vliv hormonů (B ö m e r 1964; N a t h, K h a n a d e 1960; K o l b 1961) a vlivy teploty (P r o k o s 1961).

V našem pokusu jsme se zaměřili na sledování vývoje hladiny ketolátů v krvi telat v závislosti na ontogeneze a způsobu krmení.

MATERIÁL A METODA

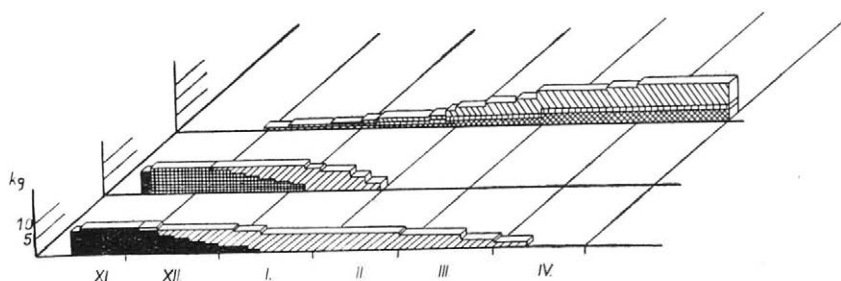
U dvou skupin telat červenostrakatého plemene po 6 kusech byla od průměrného stáří 14 dnů do stáří 6 měsíců odebírána krev z *v. jugularis* dvakrát, později jednou týdně. Kolorimetrickou mikrodestilační metodou v Conwayových nádobkách jsme kvantitativně stanovili množství jednotlivých ketolátů v krvi (H o ř e j š í a kol. 1957). Metoda byla zatížena chybou, která stanovením směrodatné odchylky činila u volného acetonu $\pm 0,143$ mg%, u volného acetonu + kyseliny octové $\pm 0,359$ mg% a u celkového množství ketolátů $\pm 0,120$ mg%. Výsledky měření byly zhodnoceny t-testem (M y s l i v e c 1957).

Pokus probíhal v zimním období od 12. 11. 1963 do 29. 4. 1964. Telata, jejichž věkové rozmezí bylo u pokusné A skupiny 8–15 dní a u kontrolní B skupiny 6–16 dní, byla ustájena v teletníku, v teplých dnech byla vypouštěna do tvrdého výběhu.

Skupiny telat byly sestaveny tak, aby průměrné stáří, zastoupení obou pohlaví a průměrná váha byla u obou skupin stejná. Obě skupiny se lišily navzájem jen způsobem krmení.

Skupina A (pokusná) byla napájena egalizovným mlékem, které ve druhém měsíci stáří bylo postupně nahrazováno mlékem odstředěným a ve snižujících se dávkách bylo předkládáno k napájení až do stáří tří měsíců. Po celou dobu mléčné výživy dostávala telata denně dávku 20 g Galacidu.

Skupina B (kontrolní) byla napájena plnotučným mlékem (o 4% mléčného tuku), které od stáří 1 měsíce bylo postupně nahrazováno mlékem egalizovaným a ve snižujících se dávkách bylo napájeno až do stáří pěti měsíců.



1. Krmné dávky. Na ose X období pokusu v měsících. Na osách Y množství krmiva.

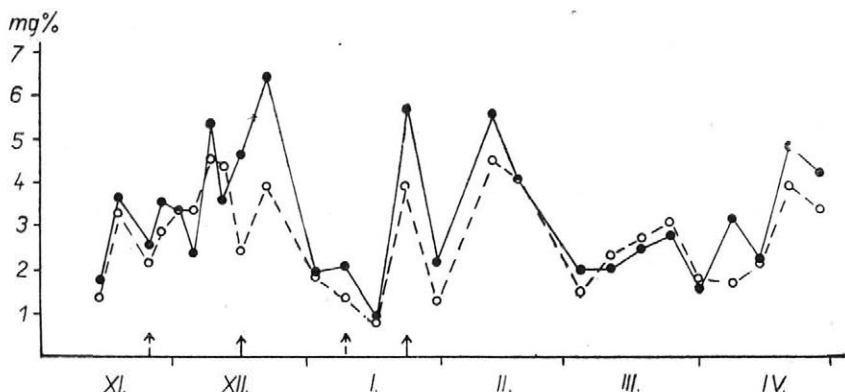
	plnotučné mléko,		seno,
	egalizované mléko,		jaderné krmivo,
	odstředěné mléko,		mrkev, řepa.

Obě skupiny si od 16. dne stáří zvykaly na luční seno, později se zvyšovaly dávky vojtěškového sena a jadrné směsi (oves a ječmen) a od stáří jednoho a půl měsíce bylo započato se zkrmováním mrkve a později řepy ve stále se zvyšujících dávkách (viz graf 1.).

Byly sledovány rovněž průměrné váhové přírůstky obou skupin.

VÝSLEDKY

Hladina celkových ketolátů v krvi jevila u obou skupin stejnou dynamiku po celou dobu pokusu charakterizovanou vzestupy a poklesy. Počáteční hodnoty (1,72 mg% u skupiny A a 1,37 mg% u skupiny B) se lišily statisticky významně od hodnot konečných (4,28 mg% u skupiny A a 3,41 mg% u skupiny B). Téměř po celou dobu pokusu byla hladina ketolátů vyšší u skupiny A, rozdíl byl však statisticky významný jen v 7. a 12. týdnu stáří, tedy v první polovině pokusu (viz graf 2.).

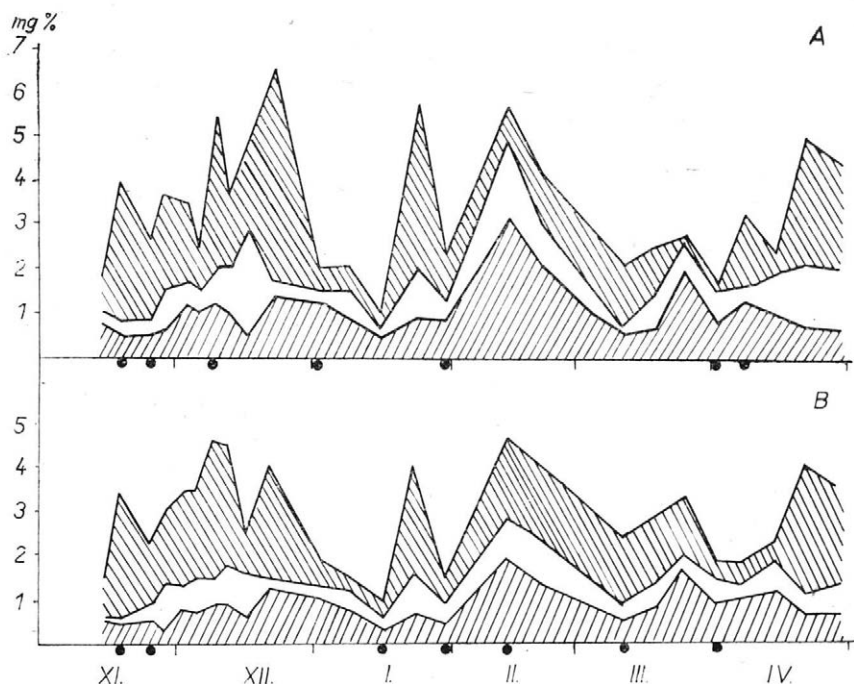


2. Hladina celkového množství ketolátů z jednotlivých odběrů krve. U skup. A ●—● plnými kroužky, spojenými plnou čarou; u skup. B o--o prázdnými kroužky, spojenými přerušovanou čarou. Šípky na ose X označují rozdíly hladin mezi skupinami:

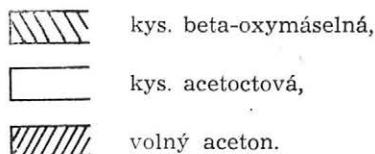
↑ plná šípka signifikantní rozdíl;
 ↑ přerušovaná šípka rozdíl blízký se signifikací.

Kolísání hladiny celkových ketolátů bylo méně výrazné u skupiny B. Zhruba bylo možno pozorovat u obou skupin tři vzestupy, a to koncem prvního a začátkem druhého měsíce stáří, dále koncem třetího a začátkem čtvrtého měsíce a od konce čtvrtého až do skončení pokusu bez tendence k poklesu, zaznamenané po prvních dvou vzestupech.

Celkovou hladinu ketolátů obou skupin nejvíce ovlivňovala kyselina beta-oxymáselná. Její převaha však v druhé polovině pokusu (tj. od 12. týdne stáří) nebyla tak výrazná. V této době docházelo k zvětšení výkyvů volného acetonu, avšak ke konci pokusu (v 25. týdnu) kyselina beta-oxymáselná zase nabývá kvantitativní převahy (viz graf 3.).



3. Podíl jednotlivých ketoláték na celkové hladině u skup. A (nahore), u skup. B (dole):



Plný kroužek pod osou X vyznačuje signifikantní změnu v dynamice hladiny celk. ketoláték. Na ose X měřítko v mg‰

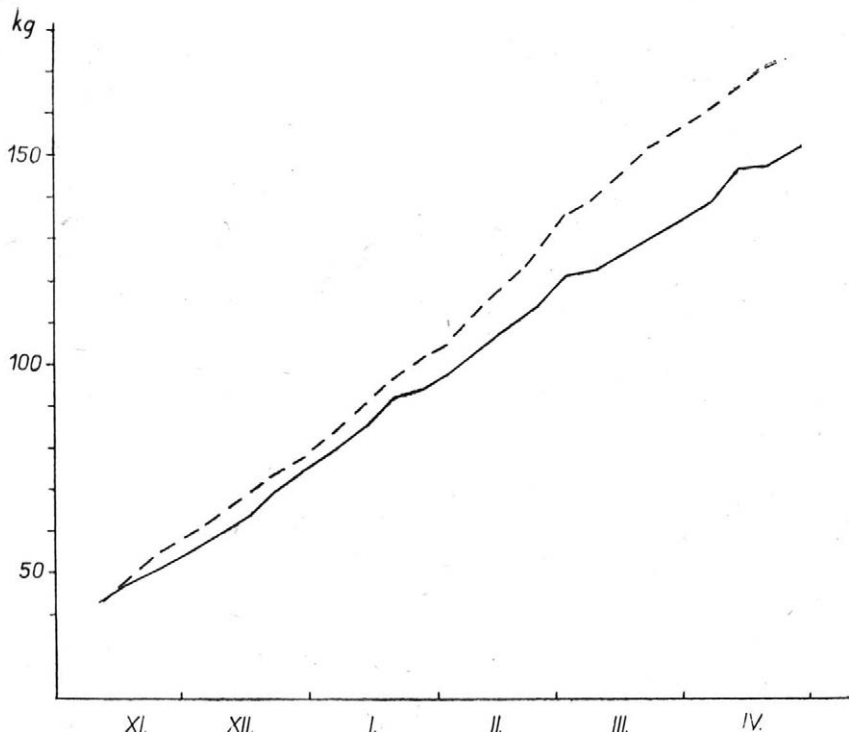
Vcelku je možno konstatovat, že ketonemie telat krmených plnotučným mlékem (skup. B) jevila tendenci k menším hodnotám s menšími výkyvy než u skupiny krmené egalizovaným mlékem (skup. A). U obou skupin se hladina ketoláték pohybovala v průběhu celého pokusu v mezích od 1,72 mg‰ (A) a 1,37 mg‰ (B) do 6,53 mg‰ (A) a 4,55 mg‰ (B).

Průměrné váhové přírůstky byly vyšší na konci pokusu o více než 21,0 kg u skupiny B (viz graf 4).

DISKUSE

Při hodnocení výsledků nacházíme shodu mezi námi zjišťovaným vzestupem hladiny ketoláték a Godfreoyovými (1961) údaji o časovém rozvoji předžaludků i Bartošovými (1962) údaji o rozvoji metabolické funkce sliznice bachoru.

S postupně se rozvíjejícími předžaludky a jejich osazováním bachorovou mikroflórou dochází k stále intenzivnějšímu trávení uhlohydrátů a bílkovin a tím k stoupající tvorbě kyseliny octové, která má ketogenní účinky.



4. Dynamika váhových změn.

Plná čára — skup. A; přerušovaná čára — skup. B.

Se Suttonovými (1963) poznatky o vlivu krmení a biochemických přeměn v předžaludečních telat na resorpční kapacitu sliznice bачoru pro kyselinu octovou a Ndumbiovými (1964) poznatky o vlivu časného odstavu telat na obsah prchavých mastných kyselin v bачoru se shoduje i námi naměřená vyšší hladina ketonemie u skupiny telat krmených egalizovaných mlékem s přídavkem Galacidu, která měla kratší období mléčné výživy.

Na rozdíl od Kolbem (1962) uváděného absolutního množství ketoláték v krvi zvířat s jednoduchým žaludkem (1 mg%) byla námi zjišťovaná hladina již v třetím týdnu až trojnásobně vyšší. Tento fakt jsme nemohli srovnat se žádnými údaji v dostupné literatuře, zdá se však, že odpovídá údajům Bartoše a kol. (1962). Tito uvádějí, že sliznice bачoru telat je již v 1.—3. týdnu stáří schopna produkovat ketolátky jako u dospělého skotu. V této době bylo již našim pokusným telatům předkládáno seno.

Náhlý pokles hladiny ketoláték v sedmém týdnu života si vysvětlujeme zařazením mrkve do krmné dávky. Mrkev jako krmivo bohaté na lehce stravitelné uhlohydráty má zvyšovat obsah kyseliny propionové, která podle Gürtlera (1962), Bartoše a kol. (1962), Adrichema (1963) a dalších autorů má antiketogenní účinky.

Nepřavidelné a náhlé výkyvy koncem 3. a ve 4. měsíci života si vysvětlujeme předpokládanými změnami kvašení v bачoru po poměrně náhlém nahrazení mrkve poměrně velkými dávkami krmné řepy (u telat byly v této době po-

zorovány relativně časté meteorismy a v krvi zvýšení hladiny volného acetonu), přičemž ve shodě s Kolbovémi (1962) údaji dochází ke zvětšení objemu ketogenních mastných kyselin (máselné). Zdá se, že toto kolísání hladiny ketoláték úzce souvisí rovněž s kolísáním aktivity fermentů, jak uvádí Baldajev (1956) a Kolb (1962) a je nutno uvažovat i o vlivu poklesu hemoglobinu, erytrocytů, leukocytů, zbytkového dusíku a chloridů (Chramcov 1960) a o vlivu zvyšující se hladiny prchavých mastných kyselin (Rejntam 1960). Je samozřejmé, že není možno vyloučit z působení na výkyvy hladiny ketoláték ani vlivy hormonální (Bömer 1964; Kolb 1961; Nath, Khanade 1960), teplotní (Prokos 1961) a další, které však námi sledovány nebyly.

Z výsledků pokusu je zřejmé, že vývoj ketonemie u telat jeví dynamiku v jednotlivých fázích postnatálního vývoje značně odlišnou a že ketonemie dosahuje dolní hranice hladin zvířat dospělých již v prvních týdnech života, nedosahuje však ani v šesti měsících stáří průměrných hodnot námi zjištěných u dojníc (Spurný 1963; Spurný, Lebeda 1963; Spurný, Surynek 1966).

Rozdílný způsob mléčné výživy neovlivnil dynamiku vývoje ketonemie kvalitativně, rozdíly jsou pouze kvantitativní. Z tohoto aspektu lze tedy považovat výživu egalizovaným mlékem s Galacidem za vyhovující, biologicky však méně hodnotnou vzhledem k nižším přírůstkům a vyšším hladinám ketoláték.

SOUHRN

U dvou šestičlenných skupin telat, lišících se vzájemně typem mléčné výživy byla sledována hladina ketoláték v krvi.

Hladina ketoláték u obou skupin jevila stejnou dynamiku a pohybovala se v mezích od 1,72 mg % a 1,37 mg % do 6,53 mg % a 4,55 mg %. Průměrná hladina ketoláték byla poněkud vyšší po celou dobu pokusu u skupiny krmené egalizovaným mlékem.

Vzestup hladiny ketoláték v prvních týdnech života je vysvětlován rozvojem funkce předžaludku a přestavbou metabolismu; příčiny dalších výkyvů jsou pak spatřovány hlavně ve změnách krmené dávky.

Jsou diskutovány mechanismy změn ketonemie a posuzována vhodnost obou způsobů mléčné výživy z hlediska ketonemie a váhových přírůstků.

Došlo dne 4. 11. 1966

Literatura

1. ADRICHEM, P. W. M.: De invloed van het veder en enige fermentatienprodukten in de pens van normale runderen en van acetoneemiepatiënten. = „Tijdsch. Diergeneeskunde“ 88, 1963, 16 : 985-997. — 2. BALDAJEV, S. N.: Fermenty krovi krupnogo rogatogo skota v različnyj periody žizni. = „Patol. fiziologija, Trudy MVA“, 15, 1956 : 158-167. — 3. BARTOS, S. - HANUŠ, K. - HATLEOVÁ, A. - OTTOVÁ, D.: Přeměna a využívání těkavých mastných kyselin u telat a dospělého skotu. = „Věd práce VÚZV“ Uhřetěves 1962 : 19-33 (cit. SETO, TOUDA, UMEZU, SHAW, PENNINGTON, PFAUDER). — 4. BOĐA, K.: Patologia, výmena látok. = BOĐA, LEBEDA, MACH, SURYNEK: Speciální patologická fyziologie zvířat. Praha, SPN 1960 : 188. — 5. BÖHMER, H.: Die Behandlung der Acetonämie mit Propylenglykol. = „Prakt. Tierarzt“, 45, 1964, 2 : 47-49. — 6. GODFREY, N. W.: The Functional Development of the Calf. I. Growth of the Stomach of the Calf. = „J. Agric. Sci.“ 57, 1961, 2 : 173-175. — 7. GÜRTLER, H.: Physiologie der Verdauung und Resorption. = KOLB, E. u. a.: Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. Jena 1962 : 235-272. — 8. HOŘEJŠÍ, J. a kol.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. Praha, SZdN, 1957 : 532. — 9. CHRAMCOV, V. P.: Izmeneniya krovi u černopestrogo skota v svjazi s vozrastom i sezonom goda. = „Izv. Irkutskogo sel'skochozjastvennogo instituta“,

20, 1960 : 41-47. — 10. KOLB, E.: Der intermediäre Stoffwechsel. = KOLB, E. u. a.: Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. Jena 1962 : 329-358. — 11. KOLB, E.: Kohlenhydratstoffwechsel und Propionattherapie bei Wiederkäuern. = „Der praktische Tierarzt“, 1961, 10. — 12. KREBS, M.: Biochemical Aspects of Ketosis. = „Proc. Roy. Soc. Med.“, 53, 1960, 2 : 71-80. — 13. MYSLIVEC, V.: Statistické metody zemědělského a lesnického výzkumnictví. SNZL, Praha, 1957 : 555. — 14. NATH, M. C. - KHANADE, J. M.: Liver Ketogenesis. II. Role of Glucosecycloacetate on Ketogenesis in Hyper- and Hypothyroid Rats. = „Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.“, 103, 1960, 3 : 559-562. — 15. NDUMBE, R. D. - RUNCIN, K. V. - DONALD, P.: The Effect of Early Weaning on the Blood Sugar and Rumen Levels of the Growing Calf. = „Brit. J. Nutr.“, 18, 1964, 1 : 29-38. — 16. PROKOS, J.: Ovine Ketosis. I. The Normal Ketone Body Values. = „Odensport J. Veterin. Res.“, 28, 1961, 4 : 557-567. — 17. REJNTAM, E. A.: Vozrastnye izmenenija soderženija sachara i letuščich žirnych kislot v krvi molodnjaka krupnogo rogatogo skota. = Trudy MVA, 30, 1960 : 18-20. — 18. SPURNÝ, O.: Pohyb hladiny ketonových látek v krvi dojníc v průběhu roku. = Dipl. práce, veterin. fakulta VŠZ, Brno, 1963. — 19. SPURNÝ, O. - LEBEDA, M.: Změny hladiny ketonových látek v krvi krav v průběhu roku. = Sborník VŠZ, řada B, Brno, 1963, 2 : 193-203. — 20. SPURNÝ, O. - SURYNEK, J.: Hladina ketonových látek a mastných kyselin v krvi dojníc v předjarním a jarním období. = „Veterinární medicína“, 11, 1966, 4 : 225-232. — 21. SUTTON, J. D. - MCGILLARD, A. D. - JACOBSON, N. L.: Functional Development of Rumen Mucosa. = „J. Dairy Sci.“, 46, 1963, 5 : 426-436. — 22. SUTTON, P. D. - MCGILLARD, A. D. - RICHARD, H. - JACOBSON, N. L.: Functional Development of Rumen Mucosa. II. Metabolic Activity. = „J. Dairy Sci.“, 46, 1963, 6 : 531-537. — 23. THORBEK, G.: Der Abbau der Nahrung im Pansen. = „Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkunde“, 19, 1964, 1-2 : 50-65.

Развитие кетонемии у телят в постнатальном онтогенезе —

I. При поении цельным молоком и нормализованным молоком с добавлением Галацида

У двух групп по 6 телят, взаимно отличающихся типом молочного питания, исследовался уровень кетовеществ в крови.

Уровень кетовеществ у обеих групп имел одинаковую динамику и колебался в пределах от 1,72 мг% и 1,37 мг% до 6,53 мг% и 4,55 мг%. Средний уровень кетовеществ был несколько выше в течение всего типа у группы, кормленной нормализованным молоком.

Рост уровня кетовеществ на первых неделях жизни объясняется развитием функции преджелудка и перестройкой метаболизма; причины других отклонений затем встречаются главным образом в изменениях кормового рациона.

Обсуждаются механизмы изменений кетонемии и рассматривается пригодность обоих способов молочного питания с точки зрения кетонемии и привесов.

The Development of Ketonemia in Calves in the Post-natal Ontogenesis — I. In the Case of a Feeding of Full Cream Milk and of Homogenized Milk with a Galacid Supplement

In two groups of six calves each, differing mutually by the type of milk nutrition, the level of keto-substances in the blood was examined.

In both groups the level of keto-substances showed the same dynamics and ranged within limits of from 1.72 mg% and 1.37 mg% to 6.53 mg% and 4.55 mg%. The average level of keto-substances was somewhat higher for the whole test period in the group receiving homogenized milk.

The rising of the level of keto-substances in the first weeks of life is considered to be the results of the development of the function of the manyplies and of the transformation of the metabolism. As causes of further fluctuations are considered above all changes in the feed ration.

There is a discussion on the mechanisms of the changes of ketonemia, and the suitability of both methods of milk nutrition with regard to ketonemia and weight increases has been evaluated.

Entwicklung der Ketonämie bei Kälbern in der postnatalen Ontogenese – I. Beim Tränken mit Vollmilch und egalisierter Milch mit Zusatz des präparates Galacid

Bei zwei sechsgliedrigen Kälbergruppen, welche sich voneinander durch den Typ der Milchernährung unterschieden, wurde der Gehalt des Blutes an Ketonstoffen verfolgt.

Der Ketonstoffs-Spiegel wies bei beiden Gruppen dieselbe Dynamik auf und bewegte sich in den Grenzen von 1,72 mg⁰/₀ und 1,37 mg⁰/₀ bis 6,53 mg⁰/₀ und 4,55 mg⁰/₀. Der Durchschnittsgehalt des Blutes an Ketonstoffen war während des ganzen Versuches bei der mit egalisierter Milch gefütterten Kälbergruppe etwas höher.

Die Erhöhung des Ketonstoffs-Spiegels in den ersten Lebenswochen wird auf die Entwicklung der Funktion der Vormagen und Umstellen des Metabolismus zurückgeführt; die Ursachen weiterer Schwankungen erblickt man in den Veränderungen der Futterration.

Es werden die Mechanismen der Ketonämieveränderungen erörtert und die Eignung beider Milchernährungsmethoden vom Gesichtspunkt der Ketonämie und der Gewichtszunahmen bewertet.

Adresa autorů:

MVDr. Oldřich Spurný, MVDr. Zdeněk Klůc, prof. MVDr. Milan Lebeda, CSc., Vysoká škola zemědělská, veterinární fakulta, katedra patologické fyziologie, Brno, Palackého 1-3

● 2. sjezd potravinářských chemiků

Ve dnech 3.–7. července 1967 pořádá odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii Československé společnosti chemické 2. celostátní sjezd s mezinárodní účastí v Jihlavě. Hlavním tématem sjezdu bude výživová hodnota potravin a potravinářských surovin a její změny při zpracování a skladování potravin. Pozornost bude zaměřena z potravin rostlinného původu hlavně na obiloviny, ovoce a zeleninu, z potravin živočišného původu na maso a masné výrobky a mléko a mléčné výrobky. Bližší informace o programu sjezdu, přihlášky k účasti i k referátům přijímá:

Ing. B. Míča, CSc., Výzkumný ústav bramborářský, Havlíčkův Brod.

r.

I. INAKTIVAČNÍ ÚCINEK BETA-PROPIOLAKTONU
A FORMALINU NA VIRUS PSEUDOMORU DRŮBEŽE
(NEWCASTLESKE NEMOCI)

■ V stádiu enzootického zamoření země Newcastleskou nemocí (N. n.) s častou frekvencí výskytu nových vzplanutí je jediným prostředkem masové profylaxe hromadné používání živých vakcín, jejichž výhodou je snadná aplikovatelnost hromadně *per os* v pitné vodě nebo aerogenně (aerosolem) a poměrně nízké náklady, spojené s výrobou a aplikací. Po zlepšení nakažové situace možno pomýšlet na přechod k inaktivovaným vakcínám. Průmyslová velkovýroba v drůbežářských velkopodnicích však neposkytuje dobré podmínky pro aplikaci inaktivovaných vakcín, které vyžadují individuální ošetření každého zvířete. Možno však zvolit kompromisní řešení, tj. očkovat chovná zvířata rozmnožovacích chovů inaktivovanou vakcínou, čím se vyloučí možnost přenosu infekcí, šířících se vertikální cestou, a produkční a jatečnou drůbež očkovat živými vakcínami se zachováním všech jejich výhod.

Úkolem předložené práce bylo vyšetřit průběh inaktivace kmenů viru N. n. s různou virulencí formalínem a beta-propiolaktonem (BPL) porovnáním účinnosti obou inaktivačních prostředků za různých teplot s perspektivou použití získané poznatky při přípravě účinné inaktivované vakcíny.

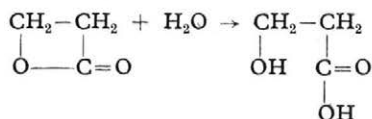
LITERÁRNÍ PŘEHLED

Formalín k inaktivaci viru N. n. použila od r. 1944 celá řada autorů k přípravě vakcíny v různých modifikacích (Škoda, Žuffa 1957 a, Lancaster 1962, 1964). Formalínem byly inaktivovány především virulentní kmeny, protože se soudilo, že mají vyšší imunogenitu než kmeny mezogenní a lentogenní. I když tomu tak nemusí být (Hanson 1951), existují kmenové rozdíly v imunogenitě, a proto se doporučuje používat k přípravě vakcíny směs několika kmenů.

Ve vakcíně podle Trauba (1943) zůstává formalín zachován, ve vakcíně typu Salkovy poliomyelitické vakcíny se neutralizuje kyselým siřičitanem sodným. Poslední metoda není zcela bezpečná, protože siřičitan sodný patří mezi látky, které mohou reaktivovat inaktivované zárodky (Uecker 1963). Německé předpisy pro kontrolu inaktivované vakcíny proti N. n. jsou přizpůsobeny vakcíně Traubova typu (Eissner a Schneider 1965). S vakcínou Salkova typu získali špatné zkušenosti Siegmanna a Grafe (1965), kteří inaktivovali silně virulentní kmen, pomnožený na kuřecích embryích (KE), nízkou koncentrací formalínu (0,025 %) po dobu 8 dní a pak formalín neutralizovali. Po pokusné vakcinaci touto vakcínou, adsorbovanou na $Al(OH)_3$, uhynulo 51 % vakcinovaných kuřat a opakovaným pasážováním na KE byl z vakcíny izolován virus, schopný pomnožení.

Škoda a Zuffa (1957 b) inaktivovali směs alantoamniotických tekutin (AAT) a chorioalantoických blan (CHAM) 0,025 % formalínu 24 hod. při 25 °C. Kontrolou inaktivace na KE nebylo zjištěno pomnožení viru. Jacotot a Vallée (1959, 1963) používali k inaktivaci viru v suspenzi AAT, CHAM a těl embryí formalín v koncentraci 5 % při teplotě 16 až 20 °C 3–4 dny. Vakcína při přidání adsorbencia nebo adjuvancia a naředění obsahovala 0,5 % formalínu a 10 % virové suspenze. Din-culescu a Nedelciu (1963) zjistili pokusy na 10denních KE a 2½ měsíčních kuřatech, že koncentrace 0,5 % formalínu na 10 % antigenu je příliš vysoká a může být sníženo na 0,1 % s nutnou dobou inaktivace 8–10 dní. Koncentraci 0,1 % formalínu při chladničkové teplotě používali Hofstad et al. (1963).

Betapropiolakton (BPL) v čistém stavu je čirá, lehce olejovitá, nasládlé až štiplavě páchnoucí tekutina, molekulové váhy 72,06, rozpustná ve vodě při 25 °C do 37 obj. %. Při 4 °C může být skladován nejméně 3 roky beze změn. Výhodou i nevýhodou BPL jako inaktivačního prostředku je, že ve vodním roztoku hydrolyzuje v inaktivní β-hydroxypropionovou kyselinu:



ve fyziologickém roztoku i v menší podíl kyseliny β-chlorpropionové. Poločas rozpadu klesá exponenciálně v závislosti na teplotě: při 25 °C je 210 min., při 37 °C asi 30 min. a při 75 °C jen 5 min. Hydrolyza vyvolává pokles pH nepufrovaných roztoků na pH = 3,0. Poklesu pH možno zabránit přidáním tris-(hydroxymethyl)-aminomethanu jako nárazníku. Účinnost BPL je vázána na jeho reaktivnost s -SH a -S-S- skupinami proteinů, ačkoliv reaguje i se skupinami -OH, -NH₂ a -COOH. (Haas 1962, Vischer et al. 1963, Hazeu a Hueck 1965.)

BPL jako inaktivační prostředek při výrobě umrtvené vakcíny poprvé vyzkoušeli Lo Grippo et al. (1955, 1960) a Mack a Chotisen (1956). Byly sledovány různé způsoby inaktivace viru N. n. při teplotě 4 °C 48 hod. (Appleton et al. 1963), při teplotě 21 °C 2 hod. (Sullivan et al. 1958 a Gill et al. 1959) a při 37 °C 2 hod. (Mack, Chotisen 1956, Haig et al. 1962 s použitím elektromagnetické míchačky, Keeble a Wade 1963, Simmins, Baldwin 1963, Windmill, Weddell 1961, Piercy et al. 1963 a Hofstad 1963).

Koncentraci 0,025 % zkoušeli Mack, Chotisen (1956), Winnmill a Weddell (1961) a Simmins, Baldwin (1963), 0,033 % Haig et al. (1962), 0,1 % Sullivan et al. (1958), Gill et al. (1959, 1964), Keeble a Wade (1963), Piercy et al. (1963) a Hofstad (1963) a 0,05 až 0,2 % Appleton et al. (1963). Účinnost koncentrace 0,01–0,1 % při teplotě 37 °C v časovém rozmezí 30–180 min. sledovali Cherby a Valette (1964). Macleod (1965) připravil inaktivovanou vakcínu z kmene Van Roekel viru mozkomíšní obrny drůbeže inaktivací BPL v koncentraci 0,025, 0,05 a 0,1 %. Dostatečně účinná byla jen nejvyšší koncentrace.

MATERIÁL A METODIKA

Inaktivační účinek formalínu a BPL by zkoumán na kmenech viru N. n. různé virulence: Virulentní kmen 366/4 byl izolován v r. 1963 z vrány obecné šedé na katedře infekčních chorob Veterinární fakulty VŠP v Košicích (Vrtiak et al. 1964). Z mezogenních byl vyšetřován kmen Hertfordshire (H) a 50. sériová pasáž kmene Roakin na tkáňových kulturách kuřecích embryonálních buněk (R/TK₅₀), z lentogenních kmen La Sota. Kmeny byly uchovávány v lyofilizovaném stavu.

K přípravě viru byla inokulována 10 denní kuřecí embrya dávkou ca 2 × 10⁵ EID₅₀ a inkubována 48 hod. při 37 °C. Vyřazena byla KE, která uhynula do 24 hod. inkubace. Z ostatních byly odebrány AAT a CHAM a z nich připravena homogenní suspenze. Tkáňová linie kmene Roakin byla pomnožena na kulturách kuřecích embryonálních buněk (KEB) v Roux-láhvích o obsahu

1200 ml kultivací 48 hod. při 37 °C. Uvolnění viru, vázaného na buňky, se dosáhlo zmrazením a rozmrazením. V obou případech, tj. u viru vaječného i tkáňového, byla virová suspenze centrifugována 30 min při 2000 obr./min a supernatant rozdělen po 100 ml do lahví, opatřených gumovými zátkami. Zároveň byl stanoven infekční titr pro kultury KEB v Parkerově mediu s 5 % telecího séra a 0,1 % glukózy.

Jako inaktivační prostředek byl použit 10% formalin nebo BPL, který byl přidán hned po rozplnění v takovém množství, aby virová suspenze obsahovala 0,1, 0,05 nebo 0,025 % formalínu resp. BPL. Láhve byly uloženy při teplotě +4, +20 nebo +37 °C. V pravidelných časových intervalech byly odebrány vzorky a jejich infekčnost ihned titrována na zkumavkových kulturách KEB, naočkováním desetinásobných ředění virové suspenze po 0,1 ml do 4 zkumavek. Zkumavkové kultury byly posuzovány po 6 dnech kultivace při 37 °C zjišťováním cytopatogenního účinku (CPE) mikroskopicky a hemaglutininů přidáním 1 ml 0,5% kohoutích erytrocytů u kmenů mezogenních a velogenního a HA testem u lentogenního kmene La Sota. Infekční titr byl stanoven podle Reeda a Muenche (1938).

V období, kdy se už infekčnost inaktivované virové suspenze nedala dokázat na kulturách KEB, očkovali jsme neředěnou suspenzi v dávce 0,2 ml do alantoické dutiny 10 denních KE, která byla inkubována 7 dní při 37 °C. Během této doby bylo zaznamenáváno denně hynutí a stanoveny hemaglutinační titry AAT, odebraných z uhynulých KE i z těch, která přežila 7 dní.

VÝSLEDKY POKUSŮ

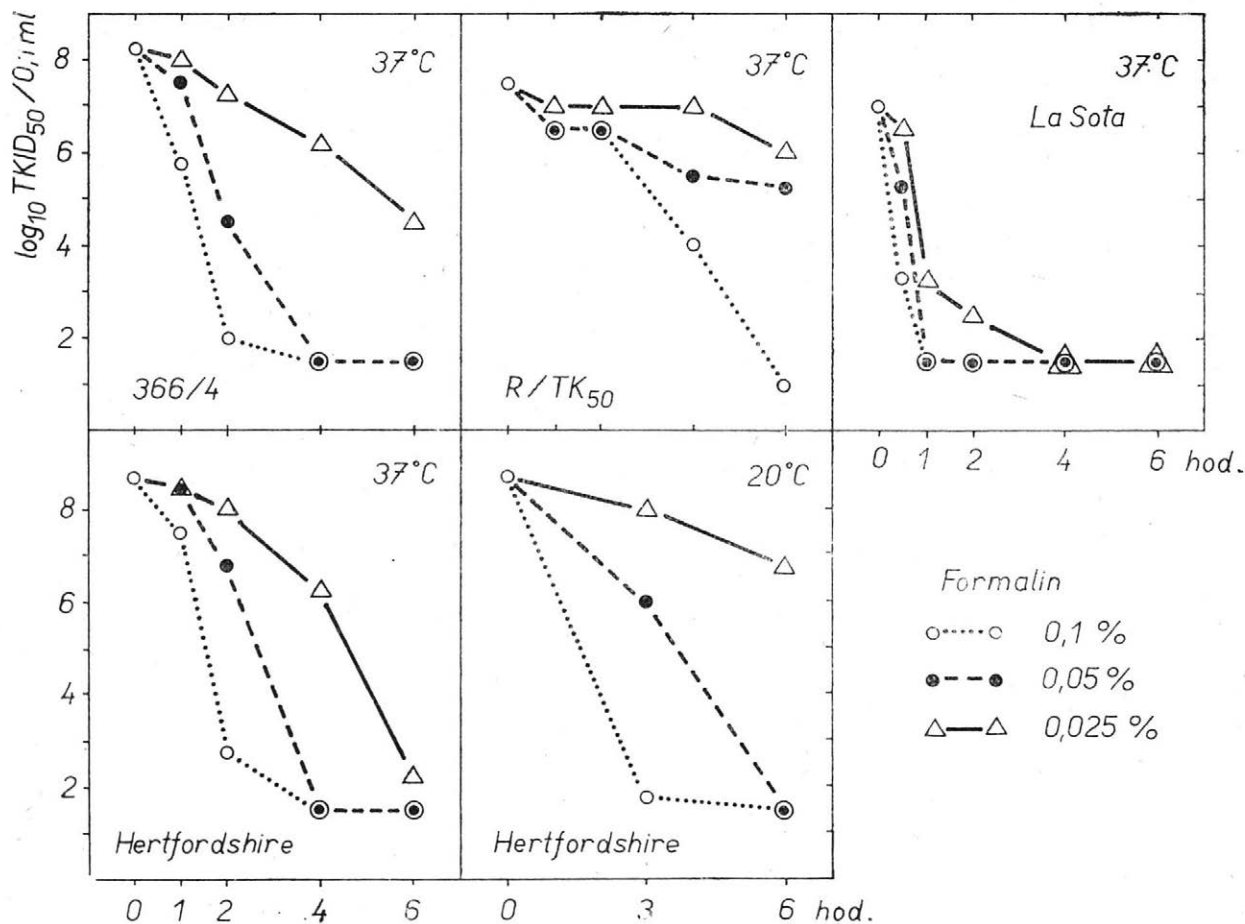
Účinek formalínu. Jak je patrné z inaktivačních křivek (obr. 1) vyšetřovaných kmenů, obě vyšší koncentrace formalínu — 0,1 a 0,05 % — inaktivují při 37 °C virus v suspenzi vaječného původu zcela do 4 hod. působení. U lentogenního kmene LaSota dojde k inaktivaci už do 1 hod. Nižší ředění formalínu — 0,025 % — má výrazně slabší inaktivační účinek. Jen u kmene LaSota došlo k inaktivaci do 4 hod., zatímco u kmenů 366/4 a H zůstal v suspenzi neinaktivovaný virus i po 6 hodinách. Úplná inaktivace však byla prokázána po 24 hod. u všech kmenů. Zcela odlišně se chovala linie R/TK₅₀, u níž došlo k inaktivaci koncentrací 0,1 % formalínu do 6 hod., ale koncentrace 0,05 a 0,025 % vykazaly během této doby jen malou účinnost a v suspenzi zůstal zachován virus v poměrně vysokém titru 10^{5,5} resp. 10^{6,0} TKID₅₀/0,1 ml.

Formalín při teplotě +20 °C měl účinek jen mírně protražovaný. U kmene H došlo k plné inaktivaci koncentrací 0,1 a 0,05 % do 6 hod. a do 24 hod. i koncentrací 0,025 %.

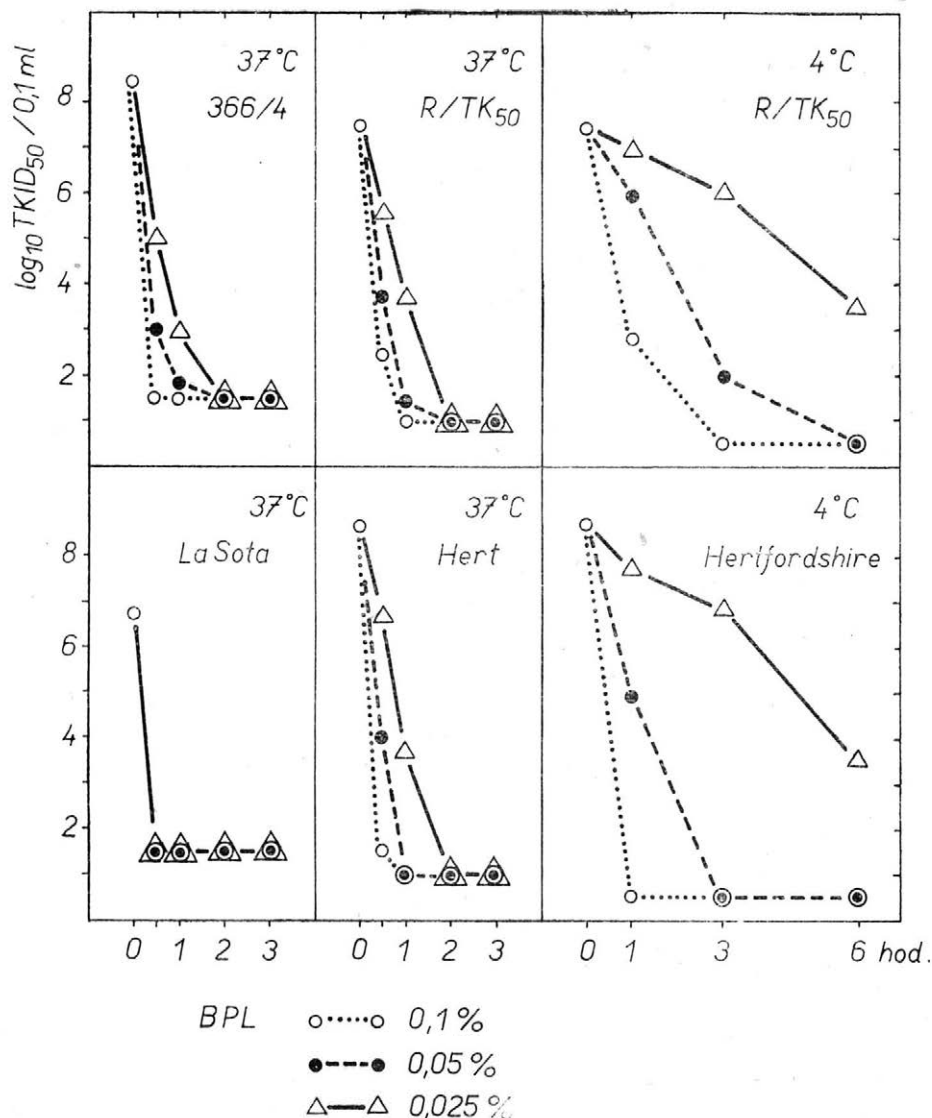
Účinek BPL. BPL v koncentraci 0,1 % při teplotě 37 °C inaktivuje veškerý virus v suspenzi mezi 30 a 60 min. působení, v koncentraci 0,05 % do 60 min. u mezogenních kmenů a do 120 min. u velogenního kmene (obr. 2). Také nejnižší koncentrace 0,025 % vykazuje ve všech případech plnou účinnost do 120 min. U lentogenního kmene LaSota byly všechny koncentrace BPL plně účinné do 30 min.

Při teplotě +4 °C inaktivovala koncentrace 0,1 a 0,05 % BPL veškerý virus v suspenzi už do 3 hod. u kmene H a do 6 hod. u kmene R/TK₅₀. Při koncentraci 0,025 % BPL však ještě po 6 hod. inaktivace byl zjištěn dost vysoký titr v suspenzi — 10^{3,5} TKID₅₀/0,1 ml v obou případech. Po 24 hod. však nebyl izolován ze suspenze živý virus.

Ve všech případech inaktivace formalinem a BPL bylo dokazováno při nej-
nižších ředěních virové suspenze (10^0 případně 10^{-1} ve zkumavkových kulturách
poškození buněk, podobné CPE, i malé množství hemaglutininu, projevující se
do titru $10^{0,5} - 10^{1,5}$. Těmi slepými pasážemi obsahu těchto suspektních zkuma-
vek na kulturách KEB se nepodařilo pomnožit virus do titrovatelného množství.
Taktó inaktivovaný virus byl inokulován itraalantoický KE. Do 7 dní inkubace
nebyly zjištěny případy specifického uhybnutí KE. Lze tedy považovat tyto hod-
noty za nulové. Podle kontrolních pokusů vyvolává koncentrace 0,1 % BPL v dáv-



Obr. 1: Křivky inaktivace viru Newcastleeské nemoci formalínem při teplotě 37 a 20 °C



Obr. 2: Křivky inaktivace viru Newcastlešské nemoci betapropiolaktonem při teplotě 37 a 4°C

ce 0,1 ml na zkumavku do 24 hod. po inokulaci degeneraci buněk v kultuře, velmi podobnou CPE viru N. n. Poloviční koncentrace 0,05 % BPL však tento účinek neprojevuje.

DISKUSE

Inaktivace viru N. n. formalínem probíhá ve srovnání se stejnou koncentrací BPL více než dvakrát pomaleji. Ve všech případech však je poměrně malý rozdíl v účinnosti koncentrace 0,1 a 0,05 % inaktivačního prostředku, naproti tomu 0,025 % vykazuje u všech kmenů a při všech vyšetřovaných teplotách, zvláště u formalínu, podstatně pomalejší účinek. Inaktivační křivky probíhají na začátku

zhruba po přímce a teprve ke konci inaktivačního procesu dojde ke zpomalení rychlosti inaktivace, odpovídajícímu úkazu, který se popisuje jako „tailing effect“. Vzhledem na poměrně krátkou dobu inaktivace není v některých případech tato konečná fáze inaktivace patrná. „Tailing effect“ ovlivňuje u formalínu jednak povaha prostředí a vlastnosti samotného viru, u BPL jeho poměrně rychlá hydrolýza při vyšších teplotách.

Skutečnost, že v žádném případě nedošlo při titraci infekčnosti na kulturách KEB ke zjištění absolutně nulových hodnot, a to ani po 24 hod. inaktivace, možno přijatelně vysvětlit působením zbytků nebo rozpadových produktů inaktivačního prostředku na buňky, imitující CPE, a důkazem hemaglutininu, obsaženého v inokulu. Naočkováním KE a pasážováním na kulturách KEB se dokázalo, že nešlo o živý, reprodukce schopný virus.

Mnozí autoři soudili, že formalín inaktivuje infekčnost a schopnost množení viru reakcí s proteinovým obalem virové částice a vyjadřovali obavu, že virové částice mohou obsahovat infekční RNK. Dosud však o tom nebyl podán důkaz při zkouškách inaktivovaných vakcín. Kromě toho formalín reaguje i s RNK, a to teoreticky s volnými hydroxyly ribózy i aminoskupinami purinových a pyrimidinových bází: adeninu, guanidinu a cytosinu (H a s 1962).

Kdyby se mělo prokázat s pravděpodobností blízkou jistotě, že virová suspenze, inaktivovaná formalínem, obsahuje v 1 litru 5 nebo více virových částic, schopných pomnožení, bylo by třeba, podle zkušeností s inaktivovanou vakcínou proti poliomyelitidě, vyšetřit z jedné výrobní šarže až 1500 ml vakcíny (E i s s n e r, S c h n e i d e r 1965). Vyšetření takového objemu vzorku by bylo při běžné kontrole vakcíny technicky i co do nákladů neúměrně náročné. U formolových vakcín podle Trauba, u nichž se používají jednak poměrně vysoké koncentrace formalínu a po skončení inaktivace není formalín neutralizován ani jiným způsobem odstraněn a které jsou i po skončení inaktivačního procesu trvale vystaveny působení formalínu v koncentraci 100 i více μg v 1 ml, je po odfiltrování virových shluků („protected particles“) a částíček tkáně neškodnost vakcíny zajištěna dostatečně spolehlivě.

O BPL se původně soudilo, že jeho účinnost na proteiny je minimální. Zkušenosti s inaktivací viru slintavky a kulhavky však dokazují, že rozsah mezi inaktivací a ztrátou imunizační schopnosti je užší než při inaktivaci formalínem (H a s 1962). Znamenitým dokladem toho jsou nepříznivé výsledky, které zaznamenali A p p l e t o n et al. (1963, 1964) v imunizačních pokusech s virem N. n., inaktivovaným BPL v koncentraci 0,05 až 0,2 % 48 hod. při 4 °C. Vysvětlení tohoto neúspěchu možno hledat v tom, že BPL si uchoval účinnost během celých 48 hod., protože při teplotě +4 °C je značně odolný vůči hydrolýze, a zničil nejen infekční, ale i imunogenní schopnost viru. Tím se nejen potvrzuje, ale i dostatečně vysvětluje názor P i e r c y h o et al. (1963), že protrahované vystavení viru BPL při nízkých teplotách postihuje jeho antigenitu.

O vhodnosti BPL k inaktivaci viru pro produkci vakcín svědčí příznivé výsledky mnoha autorů s vakcínou připravenou inaktivací při teplotě 37 °C. Podle výsledků, uváděných v citované literatuře, a vlastních pozorování není pro inaktivaci rozhodující koncentrace BPL v rozsahu 0,025 až 0,1 %, jako spíše teplota, za níž inaktivace probíhá. Zatím se zdá, že teplota 37 °C je optimální, protože do 2 hod. došlo ve všech případech k inaktivaci viru. Během této doby se účinnost BPL, jehož poločas rozpadu je při teplotě 37 °C asi 30 min., sníží na 1/16 a inaktivace se s největší pravděpodobností postupně automaticky sama přeruší. Vliv β -hydroxypropionové kyseliny na pokles koncentrace vodíkových

iontů se neutralizuje bezpečně při dalším zpracování vakcíny přidáním $\text{Al}(\text{OH})_3$ jako adsorbencia.

Námi dosažené výsledky s BPL se velmi blíží pozorování Cherbyho a Valettea (1964), kteří dosáhli spolehlivý inaktivační účinek při 37 °C koncentrací 0,1 a 0,5 % už po 30 min. působení. Koncentrace 0,02 % dávala neurčité výsledky do 180 min. Koncentrace 0,0143 byla účinná až po 150 min. a koncentrace 0,01 % byla do 180 min. neúčinná.

SOUHRN

Byla vyšetřována inaktivační účinnost formalínu a betapropiolaktonu v koncentracích 0,1, 0,05 a 0,025 % při teplotách 37, 20 a 4 °C na 4 kmeny viru Newcastleeské nemoci různé virulence. Inaktivace betapropiolaktonem probíhá, proti inaktivaci formalinem, více než dvakrát rychleji. Koncentrace 0,025 % vykazuje ve všech případech ve srovnání s oběma vyššími koncentracemi podstatně pomalejší účinek. Optimální teplota pro inaktivaci betapropiolaktonem je 37 °C po 2 hod. Za těchto podmínek dojde brzo k hydrolýze inaktivačního prostředku a proces inaktivace se automaticky přeruší.

Došlo dne 25. 7. 1966

Literatura

1. APPLETON, G. S. - HITCHNER, S. B. - WINTERFIELD, R. W.: A comparison of the immune response of chickens vaccinated with formalin- and betapropiolactone-inactivated Newcastle disease vaccines. = „Amer. J. vet. Res.“, 24, 1963 : 827-831. — 2. Idem : The relative value of formalin and betapropiolactone as inactivating agents for Newcastle disease vaccine. = „Vet. Rec.“, 76, 1965 : 162-163. — 3. DINULESCU, P. - NEDELCIU, D.: Untersuchungen im Bezug auf die inaktivierende Wirkung des Formols auf den Virus der atypischen Geflügelpest. = „Lucr. științ. Inst. Pasteur“, 7, 1963 : 186-200. — 4. EISSNER, G. - SCHNEIDER, W.: Zur Unschädlichkeitsprüfung inaktivierter Impfstoffe gegen die atypische Geflügelpest. = „Berl. Münch. tierärztl. Wschr.“, 78, 1965 : 291-293. — 5. GILL, E. - SULLIVAN, J. F. - STONE, H. D. - HUNDEMANN, A. S.: Role of adjuvants in immunogenicity of killed Newcastle disease vaccines. = „Amer. J. vet. Res.“, 20, 1959 : 357-365. — 6. GILL, E. - STONE, H. D.: Newcastle disease: Immune response in chickens to EPL-killed virus vaccine. = „Avian Dis.“, 8, 1964 : 61-71. — 7. Lo GRIPPO, G. A. - HARTMAN, F. W.: Antigenicity of betapropiolactone-inactivated virus vaccines. = „J. Immunol.“, 75, 1955 : 123-128. — 8. Lo GRIPPO, G. A.: Investigations of the use of β -propiolactone in virus inactivation. = „Ann. N. Y. Acad. Sci.“, 83, 1960 : 578. — 9. HAAS, R.: Inaktivierung als Problem der Impfstoffherstellung. = „Zbl. Bakt.“ I. Orig. 184, 1962 : 119-137. — 10. HAIG, D. A. - DANSKIN, D. - WINMILL, A. J.: Studies on the adjuvant Newcastle disease vaccine. = „Res. vet. Sci.“, 3, 1962 : 236-244. — 11. HANSON, R. P. - CROOK, E. - BRANDLY, C. A.: Comparisons of immunogenicity of five strains of Newcastle disease virus as formalinized vaccines. = „Vet. Med.“, 46, 1951 : 451-452. — 12. HAZEU, W. - HUECK, H. J.: The use of β -propiolactone for the sterilization of heat labile materials. = „Antonie van Leeuwenhoek“, Centr. Lab. Comm., 31, 1965 : 295-300. — 13. HOFSTADT, M. S. - PICKEN, J. C. - COLLINS, K. E. - YODER, H. W.: Immunogenicity of inactivated Newcastle disease virus preparations. = „Avian Dis.“, 7, 1963 : 435-445. — 14. CHERBY, J. - VALETTE, L. R.: Immunisation des gallinés contre la pseudo-peste aviaire. I. Action de la beta propiolactone sur le virus de la maladie de Newcastle. = „Rec. Méd. vét.“, 140, 1964 : 187-200. — 15. JACOTOT, H. - VALLÉE, A.: Vaccination contre la maladie de Newcastle au moyen du virus formolé en excipient huileux. = „Bul. Acad. vét.“, 1959 : 373-378. — 16. Idem : La vaccination contre la maladie de Newcastle au moyen de l'antigène formolé en suspension dans l'huile de paraffine. = „Bul. Off. int. Epiz.“, 59, 1963 : 739-756. — 17. KEEBLE, S. A. - WADE, J. A.: Inactivated Newcastle disease vaccine. = „J. comp. Path.“, 73, 1963 : 186-200. — 18. LANCASTER, J. E.: The world distribution of Newcastle disease — 1961. = „Canad. J. comp. Med. vet. Sci.“, 26, 1962 : 244-245. — 19. Idem : Newcastle disease — control by vaccination. = „Vet. Bull.“, 34, 1964 : 57-76. — 20.

MACK, W. M. - CHOTISEN, A.: Serological response in chicken to beta-propiolactone-treated Newcastle disease virus. = „Proc. Soc. exp. Biol. Med.“, 91, 1956: 288-290. — 21. MACLEOD, A. J.: Vaccination against avian encephalomyelitis with beta-propiolactone inactivated vaccine. = „Vet. Rec.“, 77, 1965: 335-338. — 22. PIERCY, S. E. - MACLEOD, A. J. - BLAXLAND, J. D.: The value of betapropiolactone as an inactivating agent for Newcastle disease vaccine. = „Vet. Rec.“, 75, 1963: 1263-1264. — 23. REED, L. - MUENCH, H.: A simple method of estimating fifty percent endpoints. = „Am. J. Hyg.“, 27, 1938: 493. — 24. SIEGMANN, O. - GRAFE, A.: Untersuchungen über die Wirksamkeit inaktivierter Geflügelpestvaccinen. = „Berl. Münch. tierärztl. Wschr.“, 78, 1965: 92-94. — 25. SIMMINS, G. B. - BALDWIN, B. A.: Studies on beta-propiolactone inactivated Newcastle disease vaccines. = „Res. vet. Sci.“, 4, 1963: 289-293. — 26. SULLIVAN, J. F. - GILL, E. - SOMER, A. M.: Immune response of chickens to beta-propiolactone killed Newcastle disease vaccine. = „Am. J. vet. Res.“, 19, 1958: 483-488. — 27. SKODA, R. - ZUFFA, A.: Vakcíny proti Newcastleskej chorobe. = „Vet. čas.“, 6, 1957: 315-334 (a.). — 28. Idem: Imunizačná účinnosť inaktivovaných vakcín proti Newcastleskej chorobe pripravených s lipidnými adjuvanciami a s hydroxydom alumíniou. = „Vet. čas.“, 6, 1957: 117-123 (b.). — 29. TRAUB, E.: Über einen Adsorbatimpfstoff zur aktiven Immunisierung gegen die atypische Geflügelpest. = „Berl. Münch. tierärztl. Wschr.“, 59, 1943: 39-42. — 30. UECKER, W.: Inaktivierung von Mikroorganismen durch alkylierende Verbindungen. IV. Reaktivierung von Bakteriophagen nach Inaktivierung mit Trimethylomelamin. = „Zbl. Bakt.“, 1. Orig., 189, 1963: 178-188. — 31. VISCHER, W. A. - BÜHLMANN, X. - BRUHIN, H.: Möglichkeiten der Sterilisation von biologischen Nährbodenbestandteilen mit β -Propiolacton. = „Path. Microbiol.“, 26, 1963: 515-523. — 32. VRTIAK, O. J. - MICHALOV, J. - PAUER, T. - KAPITANČÍK, B.: Izolácia vírusu pseudomoru hydiny z vrany popolavej (*Corvus corone cornix*). = „Folia vet. Cass.“, 8, 1964: 207-212. — 33. WINMILL, A. J. - WEDDELL, W.: A Newcastle disease vaccine inactivated by beta-propiolactone. = „Res. vet. Sci.“, 2, 1961: 381-386.

Приготовление инактивированной вакцины против псевдочумы птиц —

I. Инактивирующее действие бета-пропиолактона и формалина на вирус псевдочумы птиц (нюкаслской болезни)

Изучалось инактивирующее действие формалина и бета-пропиолактона в концентрациях 0,1, 0,05 и 0,025 % при температурах 37, 20 и 4 °C на 4 штамма вируса нюкаслской болезни разной вирулентности. Инаktivация при помощи бета-пропиолактона по сравнению с инаktivацией формалином протекает вдвое быстрее. Концентрация 0,025 % по сравнению с обеими более высокими концентрациями в большинстве случаев действует гораздо медленнее. Оптимальная температура для инаktivации бетапропиолактоном — 37 °C спустя 2 часа. В таких условиях вскоре наступает гидролиз инаktivационного средства, и процесс инаktivации автоматически прекращается.

Preparation of Inactivated Vaccine against Newcastle Disease.

I. Inactivation of Newcastle Disease Virus by Beta-Propiolacton and Formalin

The inactivating activity of formalin and beta-propiolactone in concentrations of 0.1, 0.05, and 0.025 per cent at temperatures of 37, 20, and 4 °C on 4 strains of the Newcastle disease virus of various virulence was investigated. Compared with the inactivation caused by formalin, the inactivation by means of beta-propiolactone is more than twice as fast. Compared with the two higher concentrations the concentration of 0.025 per cent gives a considerably slower effect in all cases. The optimum temperature for inactivation by means of beta-propiolactone is 37 °C for 2 hours. Under these conditions there soon occurs hydrolysis of the inactivating agent and the process of inactivation is automatically interrupted.

Adresy autorů:

MVDr. Karel Černík, Bioveta, n. p., Nitra

Ing. Jolanda Žuffová, Vysoká škola poľnohospodárska, katedra fyziologie a anatomie hospodárskych zvierat, Nitra

■ Nepříznivý vliv zkrmování vojtěšky na fertilitu, popsáný Foltýnem (1960), Adlerem a Traininem (1961) je vesměs vysvětlován přítomností estrogénně aktivních látek v této rostlině. Pokusy prováděnými v letech 1963 a 1964 se zkrmováním vojtěšky (Churý a Crha 1964, Churý a Pánek 1964) byli jsme přivedeni k závěru, že negativní vliv zkrmování vojtěšky na plodnost nelze jednostranně převádět na estrogénně aktivní látky, přítomné v této rostlině. V roce 1964 jsme spolu s Pánkem vyslovili předpoklad, že by mohlo jít o antiestrogénní látky, na jejichž možnou existenci ve vojtěšce poukázal Ershoff se spolupracovníky (1956) a které experimentálně prokázal Adler (1961, 1962). Zjištění, že zkrmování vojtěšky vede u králíka k blokádě provokované ovulace (Churý a Crha 1964) a že u samců krys vyvolává atrofii semenných váčků (Pánek 1964) jakož i zjištění (Churý 1965), že zkrmování vojtěšky potlačuje v některých případech odpověď hypofýzy a ovaria na podávaný estradiolbenzoát vedla nás k závěru, že by mohlo jít též o látku s antigonadotropním účinkem.

Antigonadotropně aktivní látky byly prokázány v řadě rostlin, zejména v *Lithospermum ruderales* (Drasheřová 1950, Plunkett a Noble 1951, Breneman 1960, Kemper a Loeser 1959). Vyznačují se tím, že inhibují účinek gonadotropních hormonů, zejména pak LH a to jak *in vivo*, tak *in vitro*. Povaha těchto látek není známa; podle některých autorů mohlo by jít o deriváty hydrochinonu, o němž je známo, že interferuje s gonadotrofiny adenohypofýzy (Meloun 1963, Skalka 1965, Skalková 1965). Opírajíce se o uvedená zjištění a údaje v literatuře sledovali jsme otázku, zda lze ve vojtěšce prokázat přítomnost látek, které by bylo možno označit za antigonadotropní látky.

MATERIAL A METODIKA

Pokusy byly prováděny na krysích samičkách kmene Vistar, rozdělených do skupin a to do dvou kontrolních a jedné pokusné.

Pokusy s antigonadotropním vlivem vojtěšky byly prováděny dvojím způsobem: v první části pokusů byly samičky průměrné váhy 77 g krmeny vojtěškou s Larsenovou dietou (poměr 1 díl LD a 1 díl sušené, mleté vojtěšky) 5 dní a pak injikovány 30 m. j. LH ve formě preparátu „Praedyn Spofa“. Jako kontrola sloužily samičky téže váhy a stáří, krmené jen Larsenovou dietou, redukovanou na tutéž dávku jako u krys pokusných. Toto uspořádání pokusu a kontroly mělo

vyloučit ovlivnění reaktivity ovaria na podávaný LH při relativním hladovění zvířat. Ve druhé části pokusů byl krysím samicím průměrné váhy 35 g injikován LH v množství 30 m. j. na zvíře po smíchání s roztokem látky izolované z vojtešky. Látka izolovaná z vojtešky byla rozpuštěna v destil. vodě a po rozpuštění odměřené množství roztoku smícháno s odváženým množstvím LH tak, aby 0,2 ml odpovídaly 30 m. j. LH. Tato směs nechána stát 1 hodinu při teplotě laboratoře 20–22 °C.

Jak při prvním, tak při druhém pokusném uspořádání byly pokusné a kontrolní samičky zabíjeny za 24 hodiny od injekce LH, nebo směsi LH s roztokem látky izolované z vojtešky.

Biologicky účinná látka byla z vojtešky izolována z 0,1 N HCl extraktu po jeho frakcionaci éterem a chloroformem, popsané Adlerem (1962) a Liuzzo a spol. (1960). Éterovou extrakcí 0,1 N HCl extraktu vojtešky se odstraní estrogény, chloroformovou extrakcí antiestrogény (Adler 1961, 1962). Zbylou frakci 0,1 N HCl vojteškového extraktu jsme dále zpracovávali takto: byl přidán roztok octanu olovnatého a vzniklá sraženina oddělena filtrací. Filtrát žluté barvy opět sražen octanem olovnatým, vznikla-li sraženina, byla oddělena filtrací. Filtrát světle žlutý byl probubláván sirovodíkem, vypadá sraženina oddělena filtrací. Filtrát znovu probublán sirovodíkem a filtrován. Filtrát byl pak zahušťován na vodní lázni. Získaná látka byla sledována na své biologické účinky a na některé chemické vlastnosti. Byla sledována rozpustnost v některých organických rozpouštědlech, redukční vlastnosti, chování látky při chromatografii na papíře za použití různých soustav.

POKUSNÉ VÝSLEDKY

Zkrmování vojtešky po dobu pěti dnů ovlivnilo reakci ovaria na aplikovaných 30 m. j. Praedyu Spofa. U kontrolních samic krmených Larsenovou dietou zvýšila dávka 30 m. j. uvedeného hormonálního přípravku váhu ovaria z 10,6 na 25,5 mg. V případě, že krysí samičky byly krmeny Larsenovou dietou a vojteškou (aa) zvýšila táž dávka téhož přípravku váhu ovaria jen na 17,1 mg. Účinek preparátu byl tedy o 44 % slabší. Různé vzorky vojtešky vykazovaly však různý účinek na aplikovaný hormonální přípravek. Proto bylo v některých případech zaznamenáno jen slabé omezení účinku aplikovaného přípravku.

Injekční pokusy s aplikací téhož hormonálního přípravku v téže dávce po smíchání s roztokem látky izolované z vojtešky daly výsledky uvedené přehledně v tabulce:

Skupina	Ovaria mg	% zvýšení	% snížení	N	P
Kontrolní	10,6 ± 1,7	—	—	8	—
30 m. j. LH	24,9 ± 2,4	+134	—	9	0,005
30 m. j. LH+látka	19,1 ± 1,9	+ 80	—40	8	0,01
30 m. j. LH	23,5 ± 2,6	+121	—	4	0,005
30 m. j. LH+látka	15,2 ± 3,0	+ 43,4	64,5	8	0,01
30 m. j. LH+látka	20,3 ± 2,8	+ 91	—24	4	0,02–0,05

V průměru byl účinek 30 m. j. Praedynu Spofa oslaben izolovanou látkou z vojtěšky o 42 %. Oslabení účinku hormonálního preparátu nastalo jen v případě, že směs hormonu a látky stála 1 hodinu při teplotě laboratoře 20–22 °C. Byla-li směs injikována ihned po smíchání, nebylo oslabení účinku preparátu pozorováno.

Intensita zábranného vlivu na podávaný preparát byla u různých vzorků vojtěšky různá. Zjistili jsme kupř., že u vojtěšky z roku 1964 byla mnohem vyšší, než u vojtěšky z téže lokality v roce 1965. Na základě uvedených výsledků předpokládáme, že vojtěška obsahuje kromě estrogenních látek a antiestrogénů též látku, působící antigonadotropně.

Tuto látku lze z vojtěšky izolovat v metodické části práce popsáním postupem. Odpařením filtrátu po probublání sirovodíkem lze získat žlutavě-bílou hmotu, poměrně nesnadno krystalizující, rozpustnou ve vodě, zředěném etanolu, metanolu, acetonu. Látka je nerozpustná v chloroformu, koncentrovaném alkoholu, acetonu, metanolu. Má trpce-sladkou chuť. Její roztoky nemění barvu po alkalizaci zředěným KOH, NaOH a Na₂CO₃. Vodné roztoky redukují Fehlingův roztok jen slabě. Po předchozí hydrolýze látky zředěnou HCl nastává silná redukce Fehlingova roztoku. Látka je zředěnou HCl hydrolyzována velmi snadno a rychle již při teplotě 80–90 °C. Při hydrolýze má reakční směs příjemnou ovocnou vůni. Není-li z HCl extraktu odstraněna úplně kyselina solná, dochází při zahušťování filtrátu na vodní lázni k hydrolýze; při zahušťování vypadávají z roztoku dlouhé, bílé jehlice. Tyto nejsou rozpustné v éteru a neredukují Fehlingův roztok.

Chromatografie roztoků látky ve vodě na papíře Whatman č. 1 ukázala, že se látka chová jednotně a že je poměrně čistá. V soustavě butanol : kys. octová : voda (4 : 1 : 5) putuje látka pomalu a má RF 0,11–0,13. V soustavě chloroform : kyselina octová : voda (2 : 1 : 1) a soustavě kyselina octová : voda (1 : 1) má RF 0,85–0,88. S roztokem FeCl₃ skvrna látky nereaguje. V ultrafialovém světle fluoreskuje modře. Amoniakální roztok AgNO₃ dává ihned po postřiku skvrnu slabě hnědou, která později modrá, po zahřátí na 90 °C skvrnu hnědou. Paulyho reagens dává skvrnu oranžové barvy. Barva skvrny se alkalizací papíru nemění a rovněž fluorescence skvrny není alkalizací papíru ovlivněna.

Na základě uvedených výsledků orientačních pokusů s izolovanou látkou z vojtěšky lze předpokládat, že jde pravděpodobně o glykosid, silných redukčních vlastností. Glykosid je snadno hydrolyzovatelný zředěnou HCl, což podstatně ovlivňuje jeho izolaci v extraktu bez předchozího úplného odstranění HCl z extraktu.

DISKUSE

Ve vojtěšce nebyla dosud známa přítomnost látky, která by měla antigonadotropní účinky. Lze to vysvětlit tím, že dosavadní výzkumy nebyly tímto směrem zaměřeny a dále proto, že blokáda sekrece LH adenohypofýzou a tím blokáda provokované ovulace mohla být vysvětlena obsahem estrogenních látek, případně antiestrogenních látek v této rostlině. Protože estrogenní látky, stejně jako antiestrogenní látky jsou z 0,1 N HCl extraktu vojtěšky odstraněny postupem podle Liuzzo a spol. (1960) a Adlera (1961, 1962) je velmi nepravděpodobné, že antigonadotropní účinek při zkrmovacích pokusech souvisí s přítomností estrogénů a antiestrogénů ve vojtěšce. Tento závěr je plně podpořen výsledky pokusů *in vitro* s roztokem izolované látky z extraktu. Snížení

účinku LH působením izolované látky ukazuje, že za antigonadotropní účinek vojtěšky je zodpovědná velmi pravděpodobně námi izolovaná látka. Její antigonadotropní účinek je pravděpodobně v úzkém vztahu k jejím silným redukčním vlastnostem. Je totiž známo, že redukční látky podstatně ovlivňují aktivitu gonadotropních hormonů adenohipofýzy.

SOUHRN

Navazující na naše dřívější práce (Churý a Crha 1964, Churý a Pánek 1964, Churý 1965) sledovali jsme otázku, je-li ve vojtěšce přítomna antigonadotropně působící látka. Zpracováním 0,1 n HCl extraktu vojtěšky po předchozím oddělení estrogenních látek extrakcí éterem a antiestrogenních látek extrakcí chloroformem (Adler 1961, 1962) frakcionovaným srážením extraktu octanem olovnatým byla získána látka, jejíž roztok snižuje v průměru aktivitu LH o 40 % ve srovnání s kontrolou. Inhibice nastává jen v případě, že roztok látky izolované z vojtěšky působil na LH *in vitro* nejméně 1 hodinu před injekcí. Vzorky látky izolované z vojtěšky rostoucí na téže lokalitě, avšak v různé době a roce se lišily inhibičním účinkem na LH.

Došlo dne 11. 2. 1966

Literatura

ADLER J. H. = „Bull. Res. Council. Israel, Section B“, 9E, 3, (1961). — ADLER J. H. = „Vet. Rec.“ 74, 1148, (1962). — ADLER J. H. = „Acta endocrinol.“ 49, 90, (1965). — ADLER, J. H., TRANIN D. = IVth Congr. Animal Reprod., Hague 1961, Vol. III, 451. — BRENNEMAN W. B. = „Endocrinology“ 67, 583, (1960). — DRASHER M. L. = „Endocrinology“ 47, 399, (1950). ERSHOFF B. H. = „J. Nutrition“ 69, 147, (1956). — FOLTIN E. = „Refuah vet.“ 16, 193, (1959). — CHURÝ J. = „Vet. med.“ 10, 241, (1965). — CHURÝ J., CRHA J. = „Sborník VŠZ Brno, Řada B“, 12, 41, (1964). — CHURÝ J., PÁNEK K. = „Vet. med.“ 9, 99, (1964). — KEMPER F., LOESER A. = Proc. IIIth. Congr. Fertility. Sterility 1959, Amsterdam. — MELOUN J. = Diplom práce VF, Brno 1963. — PÁNEK K. = Referát v Cs. biol. spol. Brno (1964). — PLUNKETT E. R., NOBLE R. L. = „Endocrinology“ 49, 1, (1951). — SKALKA P. = Sborník VŠZ řada B“, 11, 511, (1963). — SKALKOVÁ J. = Diplom. práce VF, Brno 1965.

Антигонадотропное действие люцерны и его сущность

Продолжая нашу прежнюю работу (Хуры и Црха — 1964 г., Хуры и Панек — 1964 г., Хуры — 1965 г.), мы изучали вопрос наличия в люцерне вещества с антигонадотропным действием.

Путем обработки 0,1 n HCl экстракта люцерны — после предшествующего отделения эстрогенных веществ экстракцией эфиром и антиэстрогенных веществ путем экстракции хлороформом (Адлер, 1961—62 гг.) — фракционированным свертыванием экстракта уксуснокислым свинцом было получено вещество, раствор которого снижает активность LH в среднем на 40 % по сравнению с контролем. Ингибция наступает лишь в том случае, когда раствор изолированного из люцерны вещества действовал на LH *in vitro* не менее 1 часа до инъекции. Образцы вещества, изолированного из растущей в той же местности люцерны, но в разное время и в разные года, отличались своим ингибиционным действием на LH.

The Antigonadotropic Effect of Lucerne and its Principle

Reassuming our former works (Churý and Crha 1964, Churý and Pánek 1964, Churý 1965) we investigated the problem whether an antigonadotropic substance is present in lucerne. After the preliminary separating of oestrogenic substances by extraction with ether, and of antioestrogenic substances by extraction with chloro-

form (Adler 1961, 1962), a substance was obtained by means of processing a 0.1 n HCl extract of lucerne by fractionate coagulating with lead-acetate. The solution of this substance lowers the activity of LH on an average by 40 % in comparison with the control. The inhibition sets in only in case that the solution of the substance obtained from lucerne has affected LH in vitro for at least 1 hour before the infection. Samples of the substances insolated from lucerne growing on the same locality but at different time and year differed in their inhibition effects on LH.

Antigonadotrope Wirkung der Luzerne und ihr Wesen

Zurückkommend auf unsere vorhergehenden Arbeiten (Churý und Pánek 1964, Churý und Crha 1964, Churý 1965) haben wir die Frage verfolgt, ob in der Luzerne ein antigonadotroper Wirkstoff anwesend ist. Durch Verarbeitung von 0,1 HCl des Luzerneextraktes nach dem vorhergehenden Ausscheiden der Östrogenstoffe durch die Extraktion mit Äther und Antiöstrogenstoffe durch die Extraktion mit Chloroform (Adler 1961–1962) und durch die fraktionierte Fällung des Extraktes mit Bleiazetat wurde ein Stoff gewonnen, deren Lösung im Durchschnitt die LH Aktivität um 40 % im Vergleich mit der Kontrolle herabsetzt. Die Inhibition entsteht nur in dem Falle, wenn die aus der Luzerne isolierte Stofflösung auf LH in vitro mindestens 1 St. vor der Injektion eingewirkt hatte. Die Muster der Stoffe, die aus der Luzerne, die auf der selber Lokalität wächst, isoliert sind, aber in verschiedener Zeit und Jahr, haben sich durch die Inhibitionswirkung auf LH unterschieden.

Adresa autorů:

Prof. MUDr. Jiří Churý, MVDr. Karel Pánek,
Biologický ústav veterinární fakulty VŠZ, Brno, Palackého 1-3

● Jak zmoci záplavu informací.

Neustále rostoucí problém tzv. „explose informace“ si vynucuje nejrůznější pokusy o řešení. Jeden z nejpokrokovějších a nejslibnějších přístupů uplatňuje organizace I. S. I. (Institute for Scientific Information) ve Filadelfii. Organizace zavedla řadu vynikajících služeb. Základním programem je tzv. Science Citation Index (S. C. I.). Titulová bibliografie je zde seřazena zajímavým způsobem, který v podstatě spočívá ve zjištění, cituje-li autor nějakou práci, pak zde zřejmě musí být nějaká věcná souvislost. Tak např. má-li uživatel S. C. I. nějakou důležitou citaci, může nejen okamžitě zjistit všechny práce uvedeným autorem citované, ale rovněž i všechny další publikace, které tuto práci citují. Z dalšího programu firmy je u nás již poměrně známý časopis Current Contents, který vychází ve dvou řadách a přináší každý týden obsahy nově vyšlých časopisů a adresy autorů. Méně známý je již Index Chemicus, který informuje v průměru o 120 000 nově syntetizovaných látkách ročně.

Skutečně však převratná je další služba označovaná jako A. S. C. A. (Automatic Subject Citation Alert), což je v podstatě individuální dokumentační služba pro každého jednotlivého pracovníka. Vědecký pracovník dostává tak každý týden citace nejnovějších prací z oblasti, která jej zajímá, naprogramované mnoha různými způsoby. Dalším doplňkem služeb je program O. A. T. S. (Original Article Tear Sheet), který vhodně doplňuje uvedené systémy a poskytuje pracovníkům kopie všech požadovaných článků. To však není úplný program firmy. Zbývají ještě další služby označované jako I. S. I. Search Service a I. S. I. Magnetic Tapes.

Za zmínku dále stojí, že společnost zaměstnává okolo 125 pracovníků a užívá samočinných počítačů, hlavně systému I B M 360 a I B M 7044.

Lis

● Kolik vychází na světě veterinárních časopisů?

Podle publikace "World Medical Periodicals", kterou vydala W. M. A. v r. 1961, jich vychází okolo 170. Protože jsou vynechány některé státy (ty, které nejsou členy W. M. A.), bude skutečný stav ještě vyšší. Informovaný vědecký pracovník by ovšem měl sledovat i další časopisy z humánní medicíny a experimentální biologie. Jejich počet je udáván číslem 5806. Z nich např. pouze tuberkulózou se zabývá 137 časopisů, fyziologií 81, endokrinologií 48, anatomií 73 časopisů atd. Časopisy však nejsou jediným zdrojem informace. Je třeba dále sledovat rozsáhlou produkci knižní, zprávy ze sjezdů, sympozií a konferencí, disertační a habilitační práce a někdy i velmi rozsáhlou literaturu firemní a patentovou.

Lis

■ Rámec systematického sledování aktivit enzymů v krevním séru domácích zvířat za fyziologického a patologického stavu (Šlesinger 1959, 1965) jsme v poslední době rozšířili o leucinaminopeptidázu. Chemickou a biochemickou charakteristiku LAP uvedly již práce Lettowová, Jaeger 1963 a 1965, (Göggel, Creutzfeld, Murucas 1960). Enzym nás zaujal ze dvou důvodů, jež oba jsou zajímavé z hlediska veterinární klinické diagnostiky. Je to především orgánová a druhová heterogenita, která se vyskytuje u LAP a je odvislá od obsahu některých stopových prvků. Dále je to zvýšená aktivita LAP u těhotných žen. Tato otázka, jak se zdá byla již zčásti objasněna. Bylo prokázáno, že oxytocináza je cystinaminopeptidáza, jež inaktivuje za postupující gravidity progresivně vznikající oxytocin tím, že hydrolyzuje peptidovou vazbu. Poněvadž princip oxytocinu za těhotenství je vlastně aktivace aminopeptidázy, je tím zvýšená aktivita LAP během těhotenství u žen vysvětlena (Lettowová, Jaeger 1965), (Schobel, Wewalka 1962).

Uvedenou koncepci by měly v tomto smyslu rovněž potvrdit poměry enzymu u březích zvířat, u nichž jak je známo, se oxytocináza nevyskytuje.

Šlo nám proto o ověření daných poměrů u některých druhů domácích zvířat za gravidity. Dále nás zajímala otázka případného využití aktivity LAP v rámci aktivity ostatních enzymů při diagnostice toxikemie u zvířat, která se často vyskytuje v průběhu gravidity. Předpokládáme, že by tato hypotéza přispěla rovněž k řešení ketóz u březích krav.

METODIKA

Aktivitu LAP v séru jsme sledovali během březosti:

- a) u 37 krav, 4–6 roků starých, v časových intervalech 2 měsíce, 1 měsíc, 3–5 dnů před a 3–5 dnů po porodu,
- b) u 20 fen, 3–6 roků starých různého plemene v časových intervalech 1 měsíc, 3–5 dnů před porodem a 3–5 dnů po porodu.

V uvedených počtech nejsou zahrnuta zvířata, u nichž se v uvedených intervalech odběr krve nezdařil, nebo bylo získáno hemolytické sérum.

Krev jsme odebírali v ranních hodinách u krav z *vena jugularis*, u fen z *vena saphena* a po koagulaci jsme podrobili sérum rozboru do 5 hodin.

Ke stanovení aktivity LAP jsme sérum ředili 1 : 50 a postupovali dále podle

metodiky uvedené Pojerem (1963), vypracované Goldbargem a Rutenburgem (1958), Goldbargem, Pinedou a Rutenburgem (1959), Pinedou (1960).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Naměřené aktivity LAP u nebřezích krav (0,3 mikromolu) jsou z dosud získaných hodnot u sledovaných zvířecích druhů nejnižší. Během březosti neměly zvyšující se trend, jak je patrné z tabulky I. Během téže doby jsme současně sledovali hodnoty transamináz jako ukazatele změn jaterní funkce, aby bylo možno vyloučit vliv gravidní toxemie.

I. Aktivita leucinaminopeptidázy u březích krav a fen.
V mikrolomech 1 ml/1 hod. (37 °C)

Druh	Počet	Stáří	2 měs. před porodem	1 měs. před porodem	3-5 dnů před porodem	3-5 dnů po porodu	normální hodnoty 30 krav
krávy	37	4-6 r.	$\bar{x}=0,3$ 0,2-0,7 $s=0,11$	0,34 0,17-0,88 0,12	0,27 0,25-0,29 0,05	0,3 0,15-0,88 0,192	0,3 0,19-0,66 0,162
feny	20	3-6 r.		$\bar{x}=1,1$ 0,6-1,46 $s=0,194$	1,28 0,6-1,64 0,21	1,35 0,55-1,5 0,184	u 25 psů 1,3 0,7-1,4 0,165

Vzhledem k tomu, že aktivita LAP se během březosti nezvyšovala, lze předpokládat, že při nezměněné jaterní funkci není aktivita LAP u krav ovlivněna vysokou graviditou jako je tomu u člověka. Podle literárních údajů (Semm 1958) není oxytocináza u březích krav na rozdíl od lidského organismu zastoupena.

Aktivita LAP u březích fen vykazovala značnou variabilitu, podmíněnou pravděpodobně individuálními vlivy. Průměrné hodnoty nevykazovaly ani zde během březosti výraznější výkyvy nebo vzrůst. Získané hodnoty odpovídají výsledkům Lettowové (1965).

ZÁVĚR

V práci jsme neprokázali zvýšenou aktivitu leucinaminopeptidázy u březích fen a krav, jak je tomu u těhotných žen. U obou druhů zvířat odpovídají naměřené hodnoty aktivit hodnotám naměřeným u téhož druhu nebřezích zvířat. Rozdílné výsledky u člověka a zvířat se zdůvodňují nepřítomností oxytocinázy jako aminopeptidázy u březích fen a krav. Normální hodnota aktivity leucinaminopeptidázy u krav byla dosud ze sledovaných zvířat nejnižší a obnášela 0,3 mikromolu. U březích fen se pohybovala před a po porodu od 1,1 do 1,35 mikromolu (1 ml/1 hod/37 °C).

Došlo dne 27. 8. 1965

Literatura

1. GÖGEL, K. H. - W. CREUTZFELD - J. MURUCAS: Das Verhalten der LAP u. anderer Enzyme im Serum bei Leber-, Gallen- u. Pankreaserkrankungen. = „Dtsch. med. Wschr.“ 85, 1960 : 1756. — 2. GOLDBARG J. A. - A. M. RUTENBURG: The colorimetric determination of LAP in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases. = „CANCER“ 11, 1958 : 283. — 3. GOLDBARG, J. A. - E. P. PINEDA - A. M. RUTENBURG: The measurement of activity of LAP in serum, urine, bile and tissues. = „Amer. J. Clin. Pathol.“ 32, 1959 : 571. — 4. LETTOW, E. - CH. JAEGER: Bestimmung der LAP-Aktivität in Serum trächtiger Hündinnen. = „Zbl. Vet. Med.“ A. 12, 4, 1965 : 388. — 5. LETTOW E. - CH. JAEGER: Die LAP-Aktivität in Serum klinisch gesunder Hunde. = „T. U.“ 6, 1963 : 294. — 6. PINEDA E. P.: Serum LAP in pancreatic and hepato-biliary diseases. = „Gastroenterology“ 38, 1960 : 698. — 7. POJER J. a spol.: Enzymologie srdečního infarktu. Thomayerova sbírka č. 421. Stran 197. SZdN Praha 1963. — 8. SEMM K.: Die Bildungsstätte der Serum Oxytocinase. = „Arch. Gynäkol.“ 191, 1958 : 57. — 9. SZASZ G.: Über die physiologische LAP-Aktivität im Serum u. Liquor. = „Klin. Wsch.“ 40, 1962 : 1256. — 10. ŠLESINGR L. - TOVÁREK J.: Aktivita GOT, GPT, ALT, PHI, LDH, MDH v některých tkáních a tekutinách zdravých koní. = „Vet. časopis“ 6, 1959 : 583. — 11. ŠLESINGR L.: Aktivita enzymů u koní s interními a chirurg. chorobami. = „Vet. med.“ 8, 1965 : 477. — 12. SCHOBEL B. - F. WEWALKA: Die Heterogenität der LAP Untersuchungen von Organen u. Serum bei Leber-, Gallen- u. Pankreaserkrankungen. = „Klin. Wsch.“ 40, 1962 : 1048.

Aktivnost leicininaminopeptidazy u stělných korev i ťenných suk

V rabeě rassmatrivaloś povyšenie aktivnosti leicininaminopeptidazy. Nami ne bylo ustanovleno povyšenoj aktivnosti fermenta u ťenných suk i stělných korev, kak eťo nabludaetsja u beremenných ženťin. U oboih vidov životných zaťennnye veličiny aktivnosti oťvečaju veličinam, zaťerennym u togo že vida neberemenných životných. Različnye rezulťaty, polučennnye u čeloveka i u životných, obuslovlennnye oťťuťstviem oksitocinazy, kak aminopeptidazy u ťenných suk i stělných korev. Normalnaja veličina aktivnosti leicininaminopeptidazy u korev byla samoj nizkoj po sraťnieniu s iťučeamyimi životnymi i sostavljala 0,3 mikromola. U sobak srednaja veličina aktivnosti sostavila 1,3 mikromola. Urovni enzimatičeskich aktivnostej ne naxodilisja pod vlijaniem bereťennosti.

Activity of Leucinamidopeptidase in Pregnant Cows and Bitches

In this work we were engaged in investigating the increase of leucinamidopeptidase activity. We did not ascertain any increased activity of this enzyme in pregnant bitches and cows as is found in pregnant women. The measured values of activities in both species of animals correspond to those found in the same species in non-pregnant animals. The differing results in man and in animals may be substantiated by the absence of oxytocinase as aminopeptidase in pregnant bitches and cows. The normal value of activity of leucinamidopeptidase in cows has been found lowest among the animals investigated so far, and amounted to 0.3 micromol. An average value of activity of 1.3 micromol was found in dogs. These values of enzymatic activities were not influenced by pregnancy.

Aktivität der Leuzinaminopeptidase bei trächtigen Kűhen und Hűndinnen

In der Arbeit haben wir die Erhűhung der Aktivität von Leuzinaminopeptidase verfolgt. Wir haben keine erhűhte Aktivität dieses Enzyms bei trächtigen Hűndinnen und Kűhen festgestellt, wie es bei schwangeren Frauen der Fall ist. Bei beiden Tierarten entsprechen die gemessenen Werte der Aktivität den Werten, die bei den gleichen nicht trächtigen Tierarten gemessen wurden. Die unterschiedlichen Ergebnisse beim Mensch und Tieren begrűndet die Abwesenheit der Oxytozinase als Amino-peptidase bei trächtigen Kűhen und Hűndinnen. Der normale Wert der Akti-

vitát der Leuzinaminopeptidase bei Kühen war von den verfolgten Tieren am niedrigsten und betrug 0,3 Mikromoll. Bei Hunden wurde der durchschnittliche Aktivitätswert 1,3 Mikromoll gemessen. Diese Niveaus der enzymatischen Aktivitäten waren nicht von der Trächtigkeit beeinflusst.

Adresa autora:

MVDr. Lubomír Šlesinger, Výzkumný ústav výživy zvířat, Pohořelice u Brna

● Malý informační kvíz

Americká dokumentační organizace ISI (Institute for Scientific Information) uveřejnila následující kvíz (Science, 152, 1127, 1966).

1. Jaké procento výzkumu je nevědomky opakováno, protože nebyla provedena dostatečná literární rešerše?
 - a. 12 %
 - b. 22 %
 - c. 45 %
 - d. 68 %
2. Ze všech vědeckých pracovníků, kteří vůbec kdy v historii něco publikovali dosud publikuje:
 - a. 25 %
 - b. 50 %
 - c. 75 %
 - d. 90 %
3. Jaké procento výzkumníků nikdy nehledá v literatuře?
 - a. 25 %
 - b. 32 %
 - c. 57 %
 - d. 72 %
4. Jaká organizace je největší světovou bankou záznamních pásků samočinných počítačů publikovaných vědeckých informací?
 - a. National Library of Medicine
 - b. Vsesojuznyj institut naučnoj i techničeskoj informacii.
 - c. Institute for Scientific Information.
 - d. National Aeronautics and Space Administration.
 - e. Clearinghouse for Federal Scientific and Technical Information.
5. Počet vědeckých článků se zdvojnásobuje každé:
 - a. 3 roky
 - b. 10 let
 - c. 25 let
 - d. 35 let
6. Průměrný článek je citován:
 - a. 1,5 krát ročně
 - b. 3 krát za rok
 - c. 5 krát za rok
 - d. 11,5 krát ročně
7. Průměrný článek laureáta Nobelovy ceny je citován:
 - a. 3 krát za rok
 - b. 10 krát ročně
 - c. 22 krát ročně
 - d. 160 krát ročně
8. Který největší mnoh disciplinový vědecký index je dnes publikován?
 - a. Index Medicus
 - b. Chemical Abstracts
 - c. Referativnyj žurnal
 - d. Science Citation Index
 - e. Biological Abstracts
 - f. Engineering Abstracts
 - g. U. S. Government R & D Reports
9. Jaký je průměrný počet citací ve vědeckém článku?
 - a. 3
 - b. 9
 - c. 17

Odpovědi: 1.b; 2.d; 3.a; 4.c; 5.b; 6.a; 7.a; 8.d; 9.c.

Lis

■ V předcházejícím sdělení (Kunstýř, Bozděch 1966) bylo po experimentálním ověření doporučeno imunizační schéma, s jehož pomocí lze získat od králíků hemolysin (hemolytický amboceptor) o vysokém titru. V tomto sdělení předkládáme výsledky dalších pokusů, ve kterých jsme se snažili ověřit některé, v literatuře doporučované postupy úpravy antigenu, tj. beraních krvinek, úpravy jeho objemu, jakož i způsobu jeho podání. Sledovali jsme přitom nejen možnost zdokonalení navrhovaného schématu, ale všímali jsme si i paralelně narůstajících hemaglutininů, jejichž případný vyšší titr by mohl nežádoucím způsobem interferovat s titrem hemolytického amboceptoru při vlastní reakci vazby komplexu.

MATERIÁL A METODIKY

V uvedených pokusech bylo použito celkem 52 králíků. Pokud jde o jejich ošetřování a ustájení, jakož i získávání a uchovávání vzorků a způsobu stanovení hemolytické jednotky, odkazují na předešlé sdělení (Kunstýř, Bozděch 1966).

Hemaglutininy byly detekovány postupem, který doporučuje Májský (1965). Schéma postupu je uvedeno v tabulce I. Po naředění séra a přidání beraních erytrocytů následuje inkubace 30 min. při pokojové teplotě; nato se zkumavky lehce odstředí (1000 obr./min po dobu jedné minuty) a po vyjmutí z centrifugy se výsledek zhodnotí po protřepání obsahu zkumavek. Způsob hodnocení je rovněž uveden v tabulce I.

Možnost zvýšení docilovaných titrů hemolysinů úpravou dávky antigenu byla sledována při jejím zdvojnásobení v pokusech na osmi králících.

Možnost a vhodnost použití upraveného antigenu k získání vyššího titru jsme sledovali na hemolyzovaných erytrocytech, čili erytrocytárních membránách, které jsme získávali postupem podle Azena a spol. (1965) s určitým zjednodušením. Po lyzi erytrocytů v hypotonickém pufru a proprání opakovanou vysokou centrifugací nebyl konečný produkt lyofilizován, nýbrž ponechán v roztočce při chladničkové teplotě po dobu imunizace králíků. Hustota suspenze erytrocytárních „stínů“, jakož i kontrolní suspenze plných erytrocytů byla stanovena spočítáním v Bürkerově komůrce.

I. Uspořádání reakce při detekci hemaglutininů

Zkumavka č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Odstraní se
Fyziol. roztok	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1 ml	0,1 ml
Zkoušené sérum	0,1	0,1	—	—	—	—	—	—	—	— ml	
Přenáší se	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1 ml	
Výsledné ředění	1 (ne-řed.)	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
Berání erytrocyty prané, 2 %	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1 ml	
Hodnocení séra:											
Pozitivní	{	++++ = kompaktní neroztřepatelný sediment, supernatant po zatřepání čirý									
		+++ = sediment roztřepatelný na 2—3 velké vločky, supernatant po zatřepání mírně růžově zkalen									
Negativní	{	++ = sediment roztřepatelný na drobné vločky, supernatant zakalený nezaglutinovanými erytrocyty									
		+ = po roztřepání sedimentu patrné ojedinělé vločky a silně zkalený supernatant									
		— = sediment kompletně roztřepatelný, supernatant bez jediné viditelné vločky, zakalen volnými nezaglutinovanými erytrocyty									

VLASTNÍ POKUSY A VÝSLEDKY

1. SROVNÁNÍ INTRAVENÓZNÍHO A INTRAPERITONEÁLNÍHO PODÁNÍ ANTIGENU

Bylo použito 10 králíků o průměrné váze 2,4 kg; skupině pěti králíků byla stejná dávka antigenu jako kontrolním podána místo intravenózně intraperitoneálně (1., 12., 17. a 22. den). Geometrické průměry titrů hemolysinu u obou skupin jsou vyjádřeny v logaritmech a vyneseny na grafu 1.

Z grafu vyplývá, že zatímco na antigenní podnět prvních pěti imunizačních dávek odpovídá organismus králíků přibližně stejně, vyvolá styk s antigenem při dalších imunizačních dávkách zřetelně nižší vzestup titru hemolysinu v pokusné skupině oproti kontrolní. Od 17. dne imunizace nastává na křivce titru intraperitoneálně imunizovaných králíků, zřetelný zlom. Od tohoto okamžiku titr nestoupá, nýbrž poněkud klesá.

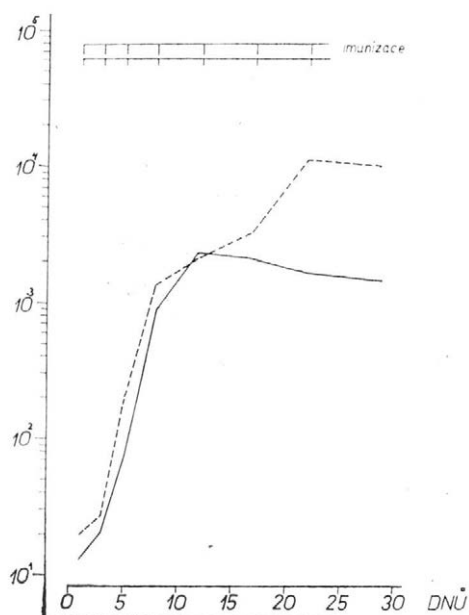
Pro objektivnost vyjádření rozdílů výsledků imunizace obou skupin byly titry hemolysinu ve finálních vzorcích séra, znázorněné konečnými body obou křivek, vyhodnoceny z hlediska významnosti statistickým t testem podle Studenta pro výběr malého rozsahu, na základě hypotézy o shodnosti průměrů. Jde o výběr s 8 stupni volnosti, průměrné hodnoty titrů, vyjádřené v logaritmech, jsou pro pokusnou skupinu $4,024 \pm 0,292$ a pro kontrolní skupinu $3,199 \pm$

$\pm 0,685$. Vypočtené Studentovo $t = 2,48$ (tabelované 2,31), takže rozdíl titrů hemolysínů v obou skupinách, v závislosti na způsobu podání antigenu, je 28. den imunizace statisticky významný na 5% hladině významnosti.

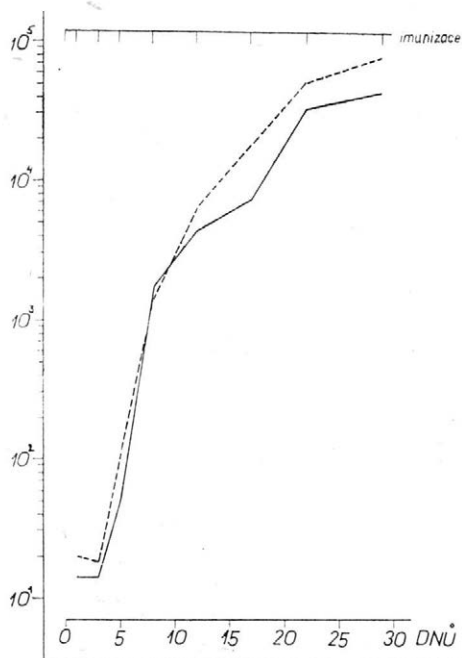
Lze říci, že intraperitoneální podání antigenu se k získání vysokého titru králičího hemolysinu nehodí.

2. SROVNÁNÍ TITRU HEMOLYSINŮ PŘI ZDOJENÉ DÁVCE ANTIGENU

Tato možnost zvýšení titru byla sledována na skupině 8 králíků o průměrné váze 2,26 kg při normálním schématu imunizace (Kunstýř, Bozděch 1966). Geometrické průměry titrů pokusné a kontrolní skupiny jsou uvedeny v grafu 2. Je zřejmé, že dvojnásobná dávka antigenu (dvakrát koncentrovanější suspenze erytrocytů) vyvolá poněkud nižší titry hemolysinu než dávka normální.



Graf 1. Dynamika titru hemolysinu proti beraním erytrocytům po intravenózním (čárkovaně) a intraperitonálním (plně) podání antigenu. Křivky jsou spojnicemi geometrických průměrů zjištěných hodnot skupiny 5, resp. 4 králíků. Jednotkou je log



Graf 2. Dynamika titru králičího hemolysinu při normální (čárkovaně) a dvojnásobné (plně) dávce antigenu

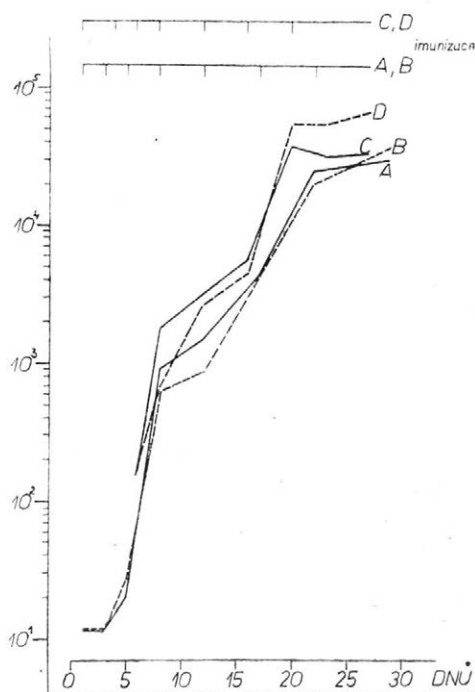
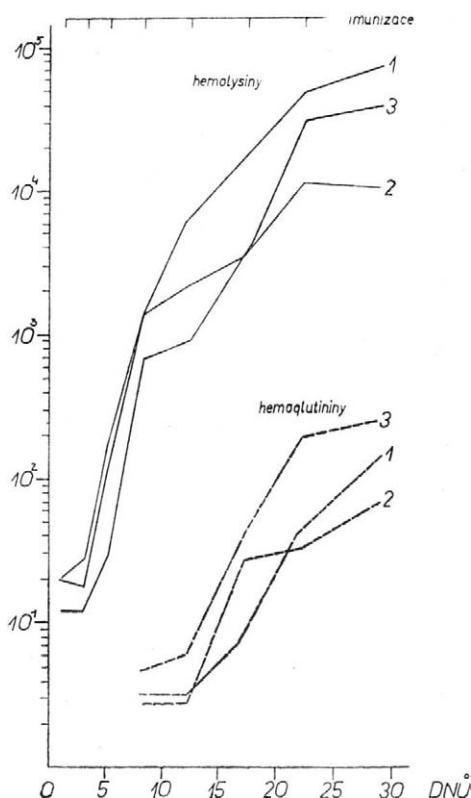
3. SROVNÁNÍ DYNAMIKY HEMOLYSINŮ A HEMAGLUTININŮ

Ve třech dílčích pokusech bylo použito celkem 14 králíků (4 + 5 + 5), většinou samic o průměrné váze 2,3 kg. Před ukončením třetího pokusu jeden ze skupiny uhynul, takže konečné titry jsou hodnoceny ze čtyř králíků.

První pokus probíhal v září až říjnu, druhý v říjnu až listopadu a třetí v listopadu až prosinci 1965. Nejlepšího krmení a nejlepší péče se dostalo první skupině, hůře byla krmena třetí a nejhůře druhá skupina.

Křivky geometrických průměrů hemolysinů a hemaglutininů jednotlivých pokusů jsou znázorněny na grafu 3.

Z grafu vyplývá především ta skutečnost, že hemolysiny dosahují vždy vyšších konečných titrů, rozumí se titrů sér získaných konečným vykrvením králíků, než hemaglutininy. Rozdíl je v průměru 2,343 logaritmu. K tvorbě hemaglutininů dochází později než k tvorbě hemolysinů, a to zhruba o 10,8 dne. Doba latence, vyjádřená průměrnou dobou mezi první imunizací a prvním objevením se detekovatelných protilátek, je u hemolysinů průměrně 3,7 dne, zatímco u hemaglutininů 14,5 dne. Charakter křivky narůstání titru je v případě obou druhů protilátek obdobný. Z rozdílu titrů v jednotlivých pokusech vyplývá význam výživy zvířat pro jejich protilátkovou odpověď. Z tabulky II. vyplývá, že je statisticky signifikantní rozdíl ve výši docíleného titru hemolysinů mezi dobře a špatně krmenými králíky.



Graf 3. Srovnání dynamiky titru králíků hemolysinů (plně) a hemaglutininů (čárkovaně): při dobré péči o pokusné králíky — pokus 1; při nedostatečné péči o pokusné králíky — pokus 2; při snížené úrovni péče o králíky — pokus 3

Graf 4. Dynamika titru králíčího hemolysinu při imunizaci plnými erytrocyty (čárkovaně) a pranými erytrocytárními membránami (plně). Pokus 1 = A, B; pokus 2 = C, D

Pokus	Počet králíků	Krmení během pokusu	Logaritmus konečných titrů		Průměrná doba latence ve dnech	
			hemolysinů	hemaglutininů	u hemo- lysinů	u hema- glutininů
1.	4	dobré	4,879 ±0,424	2,182 ±0,352	4	14,5
2.	5	špatné	4,024 ±0,685	1,866 ±0,689	3	14,5
3.	4	méně vyhovující	4,579 ±0,821	2,408 ±0,271	4	14,5

Vyjádření statistické významnosti vlivu výživy na konečné titry hemolysinů				
Pokusy	t vypočtené	t tabelované	Počet stupňů volnosti	Významnost na 5 % intervalu spolehlivosti
1 + 2	2,37	2,365	7	významné
1 + 3	0,653	2,447	6	nevýznamné
2 + 3	1,09	2,365	7	nevýznamné

4. SROVNÁNÍ DYNAMIKY HEMOLYSINŮ PO IMUNIZACI PLNÝMI ERYTROCITY A ERYTROCYTÁRNÍMI MEMBRÁNAMI

Ve dvou dílčích pokusech bylo použito celkem 20 králíků, bez ohledu na pohlaví. V prvním pokuse bylo 10 králíků o průměrné váze 1,9 kg; ve druhém pokuse mělo 10 králíků průměrnou váhu 3,3 kg. Výsledky znázorňuje graf 4. Ukazuje se, že při stejném objemu antigenu, tj. při stejném počtu plných erytrocytů v kontrolní skupině a stejném počtu erytrocytárních membrán ve skupině pokusné jsou jak dynamika hemolysinů, tak i jejich konečné titry prakticky stejné (křivky A a B). Potvrzuje to, mimo jiné, konečná fáze křivek druhého pokusu, kdy se nepodařilo dodržet zcela vyrovnaný poměr objemu antigenu při posledních dvou imunizacích (pokusná skupina dostala poněkud menší objem antigenní dávky než kontrola): křivka pokusné skupiny C je v tomto úseku poněkud nižší než křivka kontrol D (graf 4).

DISKUSE

Způsob intraperitoneálního podání při větším objemu antigenu a opakované aplikaci, jaká přichází v daném případě v úvahu, by byl technicky výhodný. Někteří autoři docílili při tomto způsobu podání relativně nejlepších výsledků (D r a p e r a S ü s s d o r f 1957). Výsledky našeho pokusu však zřetelně dokládají, že by byl tento způsob méně výhodný vzhledem k nižším docíleným konečným titrům.

Je známo, že příliš vysoké dávky antigenu působí spíše depresivně na tvorbu protilátek (Sterzl 1960). V našem případě se zdvojnásobení objemu dávky antigenu projevilo, oproti skupině imunizované, dávkou normální, tj. poloviční, nižšími konečnými titry hemolysínů. (Schéma imunizace viz Kuntýř, Bozděch 1966.) Korespondujícím způsobem byly sníženy i hemaglutininy. Bude vhodné zjistit ještě, jak by působily dávky antigenu sice zvýšené, nikoliv však o 100 %.

Ve smyslu komplexní obrany proti cizorodému antigenu vytváří organismus králíků proti aplikovaným beraním erytrocytům vedle hemolysínů ještě další protilátky, z nichž největší pozornost zasluhují hemaglutininy. Z hlediska správné hodnotitelnosti reakce vazby komplementu je jejich přítomnost nežádoucí (Čupík 1959). Ukazuje se, že při daném imunizačním postupu vznikají hemaglutininy, jejichž finální titer je v průměru o 2,3 log nižší než titer hemolysínů, takže nemohou interferovat s hemolysiny. Mají však stoupající tendenci, takže při opožděném posledním odběru, resp. exsanguinaci králíků by se jejich přítomnost mohla projevit rušivě.

Na uvedených třech pokusech se nám nechtěně (v době dovolené stále ošetrovatelky) podařil důkaz důležitosti výživy a péče o zvířata: Při jejich špatné úrovni jsou docilované titry hemolysínů statisticky významně nižší (viz tabulka II). Znovu se potvrdilo zjištění, konstatované v předešlém sdělení, že při dobré úrovni výživy nehraje faktor roční doby významnou roli.

Při každé hyperimunizaci je snahou docílit sérum s co možná nejužší specifícností při zachování co nejvyššího titru, čehož lze docílit především purifikací antigenu. V daném případě se nabízí použití erytrocytárních membrán, tj. lyzovaných propraných erytrocytů, zbavených hemoglobinu a všech vnitřních složek, namísto plných beraních erytrocytů. U hemolysínů jde o protilátky lyzující membránu krvinek, tedy zaměřené proti ní jako proti parciálnímu povrchovému antigenu jinak chemicky a antigenně značně složitěho komplexu, jakým je červená krvinka. Tento povrchový antigen má sám o sobě komplikovanou chemickou stavbu (Bishop a Surgenor 1964). Antigenní substance protoplazmy erytrocytu působí jako balast, který snižuje specifícnost vytvořených protilátek. Při exaktních imunogenetických studiích je užívání tohoto způsobu purifikace antigenu nezbytné (Taliaferro a Taliaferro 1950; Jaroslaw a Taliaferro 1956; Talmage a spol. 1956; Stelos a Talmage 1957). Ovšem, z praktického hlediska je tento postup pro svoji pracnost (Azen a spol. 1965) a nízkou výtěžnost při přípravě komerčního hemolytického amboceptoru stěží využitelný. Dalo by se o něm uvažovat, jestliže by se podařilo jej zjednodušit, nebo v tom případě, jestliže by byla zavedena a požadována standardní, státně kontrolovaná kvalita amboceptoru (Heymann 1965) a jeho výroby v celostátním měřítku by se ujal některý výrobní ústav.

Ukázalo se, že na výši docílených titrů hemolysínů (srovnej křivky grafu 4) nemá podstatný vliv váhový rozdíl zvířat, který je ukazatelem rozdílného věku. Skupina o průměrné váze 1,9 kg odpovídala stejně jako skupina o váze 3,3 kg. Rozdíl je ovšem v objemu získaného séra.

ZÁVĚR

Na modelu králíčích hemolysínů proti beraním erytrocytům bylo experimentálně prokázáno, že se pro zvýšení titru nehodí podávat antigen intraperito-

неално, мсто интравенозно, ани звышит jeho dosavadni osvědčenou dávku (Kunstýř, Bozděch 1966) na dvojnásobek.

Při hyperimmunizaci narůstají nežádoucí hemagglutiny o 10,8 dne později a dosahují o 2,3 log nižších títů než hemolysiny.

Zhoršená péče o králíky v pokuse sniží signifikantně titry hemolysinů.

Prané erytrocytární membrány mají jako antigen stejnou protilátkovou odezvu, měřenou výší titru hemolysinů, jako plné erytrocyty, pokud je dodržena shodnost počtu antigenních partikulí. Přitom stejné titry poskytli králíci o průměrné váze 1,9 kg jako o váze 3,3 kg.

Je diskutována vhodnost purifikace antigenu pro přípravu hemolytického amboceptoru.

Došlo dne 17. 6. 1966

Literatura

AZEN, E. A. - ORR, S. - SMITHIES, O.: Starch gel electrophoresis of erythrocyte stroma. = „J. Lab. Clin. Med.“ 65, 1965 : 440-449. — BISHOP, CH. - SURGENOR, D. M.: The red blood cell. = Acad. Press, New York-London 1964, s. 566. — ČUPIK, J.: Nepublikované údaje, 1959. — DRAPER, L. R. - SÜSSDORF, D. H.: The serum hemolysin response in intact and splenectomized rabbit following immunization by various routes. = „J. Inf. Dis.“ 100, 1957 : 147-161. — HEYMANN, G.: Das allgemeine Standardprinzip in der quantitativen Serodiagnostik der Lues. III. Mitteilung. Die staatliche Prüfung des Amboceptors und die Einführung einer Amboceptor-Einheit. = „Ztsch. Immun-Forsch.“ 129, 1965 : 42-55. — JAROSLOW, B. N. - TALIAFERRO, W. H.: The restoration of hemolysin forming capacity in X-irradiated rabbits by tissue and yeast preparations. = „J. Inf. Dis.“ 98, 1956 : 75-81. — KUNSTÝŘ, I. - BOZDĚCH, V.: Příprava a titrace hemolytického amboceptoru o vysokém titru. = „Vet. medicína“ 11 (39), 1966 : 329-336. — MÁJSKÝ, A.: Osobní sdělení, 1965. — STELOS, P. - TALMAGE, D. W.: The separation by starch electrophoresis of two antibodies to sheep red cells differing in hemolytic efficiency. = „J. Inf. Dis.“ 100, 1957 : 126-135. — ŠTERZL, J.: Prvé stupně tvorby protilátek (Induktivní fáze). Stát. zdrav. naklad. Praha, 1960, s. 133. — TALIAFERRO, W. H. - TALIAFERRO, L. G.: The dynamics of hemolysin formation in intact and splenectomized rabbits. = „J. Inf. Dis.“ 87, 1950 : 37-62. — TALMAGE, D. W. - FRETTER, G. G. - TALIAFERRO, W. H.: Two antibodies of related specificity but different hemolytic efficiency separated by centrifugation. = „J. Inf. Dis.“ 98, 1956 : 300-305.

Влияние дозы и формы антигена и способа его аппликации на уровень титров кроличьих гемолизинов и гемоглиутининов

На модели кроличьих гемолизинов против бараньих эритроцитов было экспериментально доказано, что для повышения титра не целесообразно антиген вводить интраперитонеально, вместо внутривенно, а также увеличивать его оправдавшую себя дозу (Кунстиж, Боздех 1966 г.) вдвое.

При гипериммунизации нежелательные гемоглиутинины нарастают на 10,8 дня позже и достигают на 2,3 лог меньших титров, чем гемолизины.

Ухудшенный уход за кроликами во время опыта значительно снижает титры гемолизинов.

Пустые эритроцитные мембраны обладают в качестве антигена такой же реакцией антител, измеренной уровнем титра гемолизинов, как и полные эритроциты, если количество антигенных частиц то же самое. При этом одинаковые титры дали кролики со средним весом как 1,9 кг, так и 3,3 кг.

Обсуждается целесообразность пурификации антигена для подготовки гемолитического амбоцетора.

The Influence of the Doses and of the Preparation of the Antigen and of the Methods of its Application on the Height of the Titer of Rabbit Hemolysins and Hemagglutinins

In a model of rabbit hemolysins against sheep erythrocytes it was proved experimentally that it is not suitable for a raising of the titer to administer antigen intraperitoneally instead of intravenously or to double its present, well-proved dose (Kunstýř, Bozděch 1966).

In the case of hyperimmunization the undesirous hemagglutinins increase later by 10,8 days and reach titers lower by 2,3 log. than hemolysins.

The inferior care taken of the rabbits during the experiment significantly lowers the hemolysin titers.

Washed erythrocyte membranes as an antigen have the same antibody response, measured according to the height of hemolysin titers, as have full erythrocytes provided that an equal number of antigenic particles is maintained. Rabbits of an average weight of 1.9 kg gave the same titers as did rabbits of a weight of 3.3 kg.

There is a discussion on the suitability of a purification of the antigen for the preparation of the hemolytic amboceptor.

Einfluß der Dosis und Zubereitung des Antigens und der Art seiner Verabreichung auf die Höhe des Titers der Hämolsine und Hämagglutinine der Kaninchen

An einem Modell der Kaninchen-Hämolsine gegen Schaf-Erythrozyten wurde experimentell nachgewiesen, daß es für die Erhöhung des Titers nicht zweckmäßig ist, das Antigen intraperitoneal statt intravenös zu verabreichen, oder die bisher bewährte Dosis (Kunstýř, Bozděch 1966) zu verdoppeln.

Bei der Hyperimmunisation wachsen die unerwünschten Hämagglutinine um 10,8 Tage später und erreichen um 2,3 log niedrigere Titer als die Hämolsine.

Eine verschlechterte Pflege der Kaninchen im Versuch setzt die Hämolsin-Titer signifikant herab.

Die gewaschenen erythrozytären Membranen haben als Antigen dieselbe mittels der Hämolsin-Titerhöhe gemessene Antikörper-Reaktion, wie vollkommene Erythrozyten, sofern die Übereinstimmung der Anzahl der Antigen-Partikel eingehalten wird. Dabei haben Kaninchen mit einem Durchschnittsgewicht sowohl von 1,9 kg wie auch von 3,3 kg gleiche Titer aufgewiesen.

Es wird die Zweckmäßigkeit der Purifikation des Antigens für die Vorbereitung des hämolytischen Ambozeptors diskutiert.

Adresy autorů:

MVDr. Ivo Kunstýř, Veterinární výzkumné středisko, Praha - Motol

MUDr. Václav Bozděch, CSc., Dep. of Microbiology, Medical School, P. O. Box 4236, Accra, Ghana

Podepsáno v tisku dne 19. 4. 1967

Lax T., Kočí J., Červenka R., Najbrt R.: K současnému stavu léčby oparu lysivého u skotu	233
Vězník Z.: Raná diagnostika gravidity u prasnic pomocí histocytologických metod	241
Spurný O., Klůč Z., Lebeda M.: Vývoj ketonemie u telat v postnatální ontogeneze. I. Při napájení plnotučným mlékem a mlékem egalizovaným s přidavkem galacidu	247
Černík K., Žuffová J.: Příprava inaktivované vakcíny proti pseudomoru drůbeže. I. Inaktivací účinek beta-propiolaktonu a formalinu na virus pseudomoru drůbeže (Newcastleské nemoci)	255
Churý J., Pánek K.: Antigonadotropní účinek vojtekšky a jeho podstata	263
Šlesingr L.: Aktivita leucinaminopeptidázy u březích krav a fen	269
Kunštýř I., Bozděch V.: Vliv dávky a úpravy antigenu a způsobu jeho podání na výši titru králičích hemolysinů a hemagglutininů	273

СОДЕРЖАНИЕ

Лакс Т., Кочи Й., Червенка Р., Найбрт Р.: К современному состоянию лечения стригущего лишая у крупного рогатого скота (239). — Вежчик З.: Ранняя диагностика супоросности у свиноматок при помощи гистологических методов (245). — Спурный О., Клуч З., Лебеда М.: Развитие кетонемии у телят в постнатальном онтогенезе. I. При поении цельным молоком и нормализованным молоком с добавлением Галацида (253). — Черник К., Жупфова Й.: Приготовление инактивированной вакцины против псевдочумы птиц. I. Инактивирующее действие бета-пропиолактона и формалина на вирус псевдочумы птиц (ньюкаслской болезни) (262). — Хуры Й., Панек К.: Антигонадотропное действие люцерны и его сущность. (266). — Шлесингр Л.: Активность лейцинаминопептидазы у стельных коров и щенных сук (271). — Кунстыр Й., Боздех В.: Влияние дозы и формы антигена и способа его аппликации на уровень титров кроличьих гемолизинов и гемоглутининов (279).

CONTENT

Lax T., Kočí J., Červenka R., Najbrt R.: On the Present Situation regarding the Treatment of Tinea in Cattle (239). — Vězník Z.: Early Diagnostics of Gravidity in Sows by means of Histological Methods (245). — Spurný O., Klůč Z., Lebeda M.: The Development of Ketonemia in Calves in the Post-natal Ontogenesis. I. In the Case of a Feeding of Full Cream Milk and of Homogenized Milk with a Galacid Supplement (253). — Černík K., Žuffová J.: Preparation of Inactivated Vaccine against Newcastle Disease. I. Inactivation of Newcastle Disease Virus by Beta-Propiolactone and Formalin (262). — Churý J., Pánek K.: The Antigonadotropic Effect of Lucerne and its Principle (266). — Šlesingr L.: Activity of Leucinamidopeptidase in Pregnant Cows and Bitches (271). — Kunštýř I., Bozděch V.: The Influence of the Dose and of the Preparation of the Antigen and of the Methods of its Application on the Height of the Titer of Rabbit Hemolysins and Hemagglutinins (280).

INHALT

Lax T., Kočí J., Červenka R., Najbrt R.: Zum derzeitigen Stand der Therapie der Glatzflechte (239). — Vězník Z.: Frühzeitige Diagnostik der Gravidität bei Säuen mittels histologischer Methoden (245). — Spurný O., Klůč Z., Lebeda M.: Entwicklung der Ketonämie bei Kälbern in der postnatalen Ontogenese. I. Beim Tränken mit Vollmilch und egalisierter Milch mit Zusatz des präparates Galacid (254). — Černík K., Žuffová J.: Die Zubereitung einer inaktivierten Vakzine gegen die atypische Geflügelpest. I. Der Inaktivierungseinfluß von Beta-Propiolakton und Formalin auf das Virus der atypischen Geflügelpest (Newcastle-Krankheit) (res. E/262). — Churý J.,

Pánek K.: Antigonadotrope Wirkung der Luzerne und ihr Wesen (267). — Šlesingr L.: Aktivität der Leucinaminopeptidase bei trächtigen Kühen und Hündinnen (271). — Kunstýř I., Bozděch V.: Einfluß der Dosis und Zubereitung des Antigens und der Art seiner Verabreichung auf die Höhe des Titers des Hämolyse und Hämagglutinine der Kaninchen (280).

TABLE DES MATIÈRES

Lax T., Kočí J., Červenka R., Najbrt R.: Etat actuel du traitement de la trichophytie des bovins (res. An, Al/245). — Věžník Z.: Diagnostic précoce de la gravidité des truies à l'aide des méthodes histocytologiques (res. An, Al/245). — Spurný O., Klúč Z., Lebeda M.: Développement de la cétonémie des veaux dans l'ontogenèse postnatale. I. Lors de l'abreuvement au lait entier et au lait égalisé additionné de Galacid (res. An/253, Al/254). — Černík K., Žuffová J.: Préparation d'un vaccin inactivé contre la pseudo-peste aviaire. I. Effet d'inactivation propre à bêta-propiolactone et à formoline à l'égard du virus de la pseudo-peste aviaire (Maladie Newcastle) (res. An/262). — Churý J., Pánek K.: Effet gonadotrope de la luzerne et son principe (res. An/266, Al/267). — Šlesingr L.: Activité de la leucinaminopeptidase des vaches et des chiennes gravides (res. An, Al/271). — Kunstýř I., Bozděch V.: Influence de la dose et de la préparation de l'antigène et du mode de son administration sur la valeur du titre des hémolysines et hémagglutinines de lapins (res. An, Al/280).