

# **VETERINÁRNÍ MEDICÍNA**

**8**

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

ÚSTAV  
VĚDECKOTECHNICKÝCH  
INFORMACÍ MZVŽ

**Rídí 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 MZVŽ, Praha 1967

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

■  
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по научному исследованию в области ветеринарной медицины. Издает Институт научно-технической информации Министерства сельского хозяйства и питания. 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 Food. 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 Landwirtschaft und Ernährung. 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 de l'alimentation. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7.

■ Při filtraci virových suspenzí přes sterilizační asbestocelulózové filtry dochází ke značným ztrátám infekivity filtrované virové suspenze.

#### LITERÁRNÍ PŘEHLED

Je známo, že filtrace virových částic není jen otázkou velikosti pórů filtru a filtrovaných částic, nýbrž uplatňují se relativně složité adsorpční pochody (Wilke, Albrecht, 1961). Ztráty viru na filtrech jsou závislé jak na kvantu filtrované tekutiny přes jednotku plochy filtru, tak i na obsahu proteinů a aminokyselin ve filtrované tekutině (Ubertini a spol., 1958, Moslet, 1965).

Filtrace viru pro účely výroby očkovací látky byla poprvé ve velkém měřítku použita právě u vakciny proti slintavce a později při přípravě inaktivované vakciny proti poliomyelitidě. V obou těchto případech se ukázal proces filtrace jako rozhodující pro přípravu neškodné a účinné vakciny. V důsledku toho se na mnohých pracovištích intenzivně prověřovaly různé možnosti jak omezit, resp. zcela vyloučit ztráty viru při filtraci.

Možnosti zpětného vyplavení adsorbovaného viru z filtrů popsali Waldmann a spol. (1941) pomocí fosfátového pufru pH 7,6, dále pak Röhrer a spol. (1950) a Pyl a Heinig (1956) v kombinaci s 1 % infekčního hovězího séra.

Ubertini (1951) pozoroval snížení ztrát viru po prefiltraci virového materiálu na řídkých, čeřících, málo adsorbujících filtrech typu K.

Waldmann a Nagel (1955), Ubertini a spol. (1958) a další studovali vliv předběžného nasycení filtrů fosfátovým puforem.

Wilke a Albrecht (1961, 1962) prokázali, že pomocí bílkovinných molekul lze předem obsadit adsorpční centra filtru a tím omezit nebo zcela zrušit schopnost filtru adsorbovat virové částice. Toto zjištění vysvětlilo některé dřívější práce a bylo později potvrzeno řadou dalších prací tohoto zaměření. Vedle různých bílkovin — bujon, sérum, želatina, pepton [Lamy a spol. (cit. podle Ubertini), Komarek (cit. podle Mareše), Albrecht, (1957), Slonim a spol. (1961), Wilke a Albrecht (1962), Moslet (1965)] se podobným způsobem uplatnily i některé polysacharidy — např. alginát sodný (Hyslop, 1961) a látky povrchově aktivní — na př. Tween 80 [Albrecht, 1957, Lamy a spol. (cit. podle Ubertini)].

Vliv želatiny podrobně studovali Mareš a spol. (1961) při filtraci viru

poliomyelitidy přes filtry EKS 1. Zjistili, že předběžné nasycení filtrů roztokem želatiny v koncentraci 0,03 % zcela zabránilo ztrátám viru.

U viru slintavky se účinkem želatiny na filtraci zabýval Hyslop (1961) ve srovnání s alginátem sodným. Zjistil, že pomocí želatiny bylo možno redukovat filtrační ztráty viru na 0,43 log a na 0,15 log s alginátem sodným.

V naší práci jsme se zaměřili na prověření vlivů různého množství želatiny na filtraci viru slintavky, získaného z tkáňových kultur, přes různé druhy filtrů se zaměřením na možné využití výsledků při výrobě koncentrovaných vakcin.

## VLASTNÍ PRÁCE

### METODIKA

**Filtrační desky.** V práci jsme prověřili filtry EKS 1 Seitz, EKS 2 Seitz, KK3 Seitz (Kreuznach, NSR), EKS 2 Carlsson (Anglie), Slavia 10 (ČSSR).

**Želatina.** Použili jsme obchodní preparát želatiny (želatina p. a. Lachema). Před vlastní filtrací bylo příslušné množství želatiny rozpuštěno v zahřáté destilované vodě na cca 10% roztok, který byl doplněn na žádoucí objem Earlovým roztokem.

**Filtrační zařízení.** Filtrace byla prováděna v tlakovém filtru z nerezové oceli s objemem 2000 ml. Užitečná filtrační plocha činila 120 cm<sup>2</sup>.

**Virus.** K filtracím byl použit virus slintavky a kulhavky, kultivovaný na monolayerech primárních telecích ledvinových buněk. Virové medium představoval zachovný Earlov roztok bez séra. Byly použity výrobní kmeny viru typu A, O i C, titr TCID<sub>50</sub> se pohyboval v hodnotách 10<sup>-5,5</sup>–10<sup>-6,5</sup>/1 ml. Virové medium bylo před filtrací zbaveno buněčných zbytků centrifugací při 1800 X g po dobu 20 minut.

**Titrace viru.** Vzorky infekčního media byly titrovány na zkumavkách s primárními telecími ledvinovými buňkami. Desetinásobná postupná ředění byla titrována na 5 zkumavkách. Výsledný titr byl vypočítáván podle Reeda a Muencha.

**Filtrace.** Filtrační proces se skládal z prefiltrace, tj. úpravy filtrů před vlastní filtrací a z vlastní filtrace viru. Při prefiltraci byl sterilní filtr propláchnut Earlovým roztokem v množství 360 ml (tj. 3 ml/cm<sup>2</sup>). Tím se dosáhne provlhčení filtru a vyplavení event. nečistot. Pak následuje filtrace 600 ml Earlova roztoku se želatinou (5 ml/cm<sup>2</sup>). Koncentrace želatinového roztoku se pohybovala od 0,01 do 0,07 %. Po přefiltrování želatiny se filtr znovu propláchnut Earlovým roztokem v množství 480 ml (4 ml/cm<sup>2</sup>), čímž se vyplaví přebytečná, neadsorbovaná želatina. Při prefiltraci se používá tlak 0,2–0,4 atm.

Vlastní filtrace viru probíhá při tlaku 0,2–0,6 atm při normální laboratorní teplotě. Doba filtrace viru obnášela jednu až dvě a půl hodiny.

Vzorky ke stanovení průběhu filtrace byly odebrány jednak průběžně, tj. po odfiltrování žádaného množství media byl odebrán vzorek odtékající přímo z filtru za účelem stanovení kinetiky filtrace a jednak etapově, tj. po odfiltrování určitého množství byly odebrány vzorky z celého získaného objemu za účelem zjištění infekтивности v po sobě následujících objemech filtrované suspenze. V obou případech byly získávané infekční titry vzorků přepočítávány na procenta výchozí infekčnosti nefiltrované suspenze.



Sterilizační účinnost. Kontrola sterilizační účinnosti filtračních desek, které byly upraveny želatinou, byla provedena filtrací medií, uměle kontaminovaných zárodky z rodu *Pasteurella*. Filtrovaná suspenze po projití 80 ml přes 1 cm<sup>2</sup> filtrační plochy byla inkubována při 37 °C po dobu 48 hodin a pak sledována po 10 dní při laboratorní teplotě.

## VÝSLEDKY PRÁCE

Virus slintavky a kulhavky v záchovném mediu Earle byl filtrován přes filtry EKS 1 Seitz, EKS 2 Seitz, EKS 2 Carlsson, KK 3 Seitz a Slavia 10. Výsledné hodnoty představují průměry z 1, 2 až 4 opakování stejně postavených pokusů.

### FILTR EKS 1 SEITZ

Tento filtr byl preparován želatinou v množství 1 a 2 mg/cm<sup>2</sup> plochy filtru. Původní hodnotu TCID<sub>50</sub> (tj. 100 % filtraci) jsme u dávky 1 mg/cm<sup>2</sup> želatiny dostali ve vzorku po průtoku 12 ml/cm<sup>2</sup>, u dávky 2 mg/cm<sup>2</sup> želatiny po průtoku 8 ml filtrátu přes 1 cm<sup>2</sup> filtru (viz tab. I a graf 1a).

Jestliže jsme virus filtrovali přes filtr, který byl předem navlhlčen pouze fosfátovým pufrům M/150 pH 7,6 v množství 7,5 ml/cm<sup>2</sup>, pak se virus začínal objevovat v minimálním množství až po průchodu 20 ml filtrátu přes 1 cm<sup>2</sup> plochy filtru (tab. I).

### I. Vliv množství želatiny (na 1 cm<sup>2</sup> plochy filtru) na průběh filtrace viru SLAK

| Filtrát<br>ml/cm | EKS 1 Seitz   |          |         | EKS 2 Seitz   |           |           |           |           | EKS 2 Carlsson |           |           |           | Slavia  | KK 3    |
|------------------|---------------|----------|---------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------|-----------|-----------|-----------|---------|---------|
|                  | fosf.<br>pufr | 1<br>mg* | 2<br>mg | fosf.<br>pufr | 0,4<br>mg | 1,2<br>mg | 2,9<br>mg | 3,7<br>mg | sérum          | 0,5<br>mg | 2,0<br>mg | 3,0<br>mg | 1<br>mg | 1<br>mg |
| 4                | 0             | 14**     | 25      | 0             | —         | —         | 7         | 35        | —              | —         | 4         | 100       | 90      | 100     |
| 8                | 0             | 30       | 100     | 0             | 0         | 3         | 20        | 100       | 13             | 3         | 95        | 100       | 100     | 100     |
| 12               | 0             | 100      | 100     | 0             | —         | —         | 90        | 100       | 40             | —         | 100       | 100       | 100     | —       |
| 16               | 0             | 100      | 100     | 0             | 0         | 13        | 100       | 100       | 62             | 15        | 100       | —         | 100     | —       |
| 20               | 0,025         | —        | —       | 0             | 1         | 46        | 100       | —         | 75             | 48        | —         | —         | —       | —       |
| 30               | —             | —        | —       | —             | —         | 100       | 100       | —         | —              | —         | —         | —         | —       | —       |
| 40               | —             | —        | —       | 0             | 3         | 100       | —         | —         | —              | —         | —         | —         | —       | —       |

\* množství želatiny v mg na 1 cm<sup>2</sup> filtrační plochy

\*\* procento z původního titru TCID<sub>50</sub> virového media před filtrací

— nestanoveno

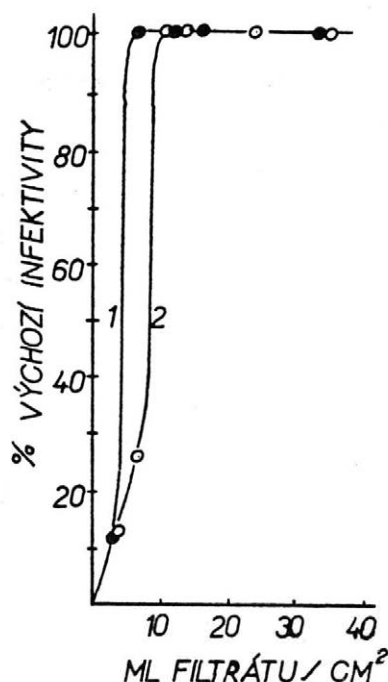
Jak je patrné z grafu 2a, dostáváme u tohoto filtru filtrát s původní hodnotou TCID<sub>50</sub> po průchodu 30 ml/cm<sup>2</sup> při použití 1 mg želatiny/cm<sup>2</sup>, a po průchodu 20 ml/cm<sup>2</sup> při použití 2 mg želatiny/cm<sup>2</sup>. Při filtraci bez preparace želatinou získáváme ve filtrátu po projití 20 ml/cm<sup>2</sup> jen zcela nepatrné stopy původního množství viru (0,025 %).

Tento podstatně hustší filtr jsme preparovali želatinou ve stoupajících dávkách 0,4, 1,2, 2,9 a 3,7 mg/cm<sup>2</sup> plochy filtru. Jak ukazuje tab. I a graf 1b mělo množství želatiny 0,4 mg/cm<sup>2</sup> jen minimální vliv na snížení adsorbce viru, neboť vzorek filtrátu po projití 40 ml/cm<sup>2</sup> měl jen 3 % původní hodnoty TCID<sub>50</sub>. Tento výsledek je jen teoreticky lepší než filtrace bez želatiny s pouhým předběžným propláchnutím fosfátovým pufrem M/150 pH 7,6. V tomto případě byla adsorbční schopnost tohoto filtru i po průchodu 40 ml/cm<sup>2</sup> prakticky 100 %. Adsorbovaný virus nebylo možno extrahovat ani následným vyplachováním fosfátovým pufrem v dávce 50 ml/cm<sup>2</sup> filtru.

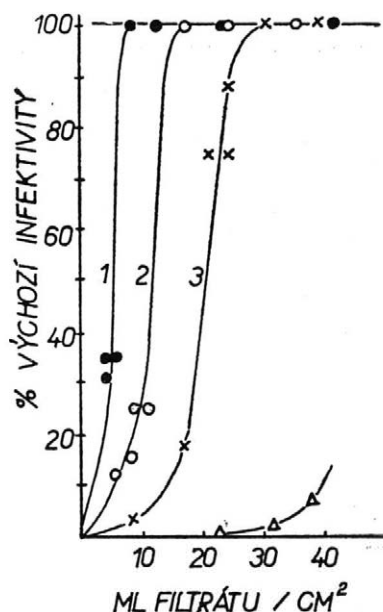
Zvýšené množství želatiny na 1,2 mg/cm<sup>2</sup> mělo již velmi průkazný vliv na snížení adsorbce viru: po průchodu 30 ml přes 1 cm<sup>2</sup> byl již v odebraném vzorku původní titr TCID<sub>50</sub>. Množství želatiny 2,9 mg/cm<sup>2</sup> umožnilo dosáhnout 100 % filtrace po průchodu 16 ml/cm<sup>2</sup> a 3,7 mg/cm<sup>2</sup> již po projití 8 ml filtrátu/cm<sup>2</sup>.

Při použití 1,2 mg želatiny/cm<sup>2</sup> jsme dostali filtrát s původní hodnotou TCID<sub>50</sub> po přefiltrování 40 ml filtrátu/cm<sup>2</sup>. Dávka 2,9 mg želatiny snížila nutné množství filtrátu na 20 ml a použijeme-li 3,7 mg želatiny/cm<sup>2</sup> pak získá-

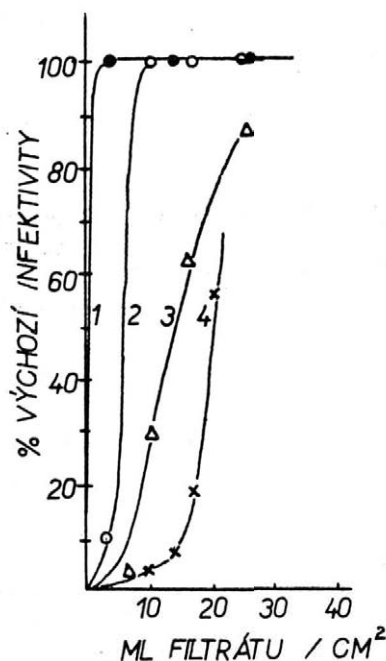
Graf 1. Vliv koncentrace želatiny na adsorbci viru slintavky u různých druhů filtračních desek.



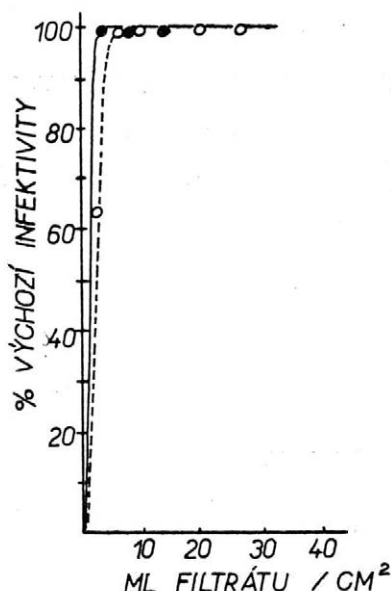
1a. Seitz-EKS 1:  
křivka 1—2 mg želatiny  
křivka 2—1 mg želatiny



1b. Seitz-EKS 2:  
křivka 1—3,7 mg želatiny  
křivka 2—2,9 mg želatiny  
křivka 3—1,2 mg želatiny  
křivka 4—0,4 mg želatiny



1c. Carlsson-EKS 2:  
 křivka 1—3 mg želatiny  
 křivka 2—2 mg želatiny  
 křivka 3—0,5 mg želatiny  
 křivka 4—2 ml séra/cm<sup>2</sup>



1d. Seitz-KK 3: 1 mg želatiny —  
 Slavia 10: 1 mg želatiny - - - - -

váme filtrát s 80% TCID<sub>50</sub> po projití 10 ml media přes 1 cm<sup>2</sup> a plnou hodnotu po 20 ml/cm<sup>2</sup> (graf 2b).

#### FILTR EKS 2 CARLSSON

Z tab. I a grafu 1c je patrné, že dávka želatiny 0,5 mg/cm<sup>2</sup> není dostatečná pro vyhovující výsledek filtrace. Po projití 20 ml filtrátu/cm<sup>2</sup> neobsahuje odtekající vzorek ani polovinu původní hodnoty TCID<sub>50</sub>. Při použití 2 mg želatiny/cm<sup>2</sup> dosahuje vzorek filtrátu 100% TCID<sub>50</sub> po 12 ml/cm<sup>2</sup> a při množství 3 mg želatiny/cm<sup>2</sup> již po průchodu 4 ml/cm<sup>2</sup>. U tohoto typu filtru má 2 mg želatiny prakticky stejný efekt jako 3,7 mg želatiny u filtru EKS 2 Seitz.

V grafu 2c je patrné, že u tohoto filtru získáváme filtrát s původní hodnotou TCID<sub>50</sub> s 1 mg želatiny/cm<sup>2</sup> po průchodu 30 ml/cm<sup>2</sup> filtrátu, s 2 mg želatiny/cm<sup>2</sup> a po 20 ml/cm<sup>2</sup> a s 3 mg želatiny/cm<sup>2</sup> již po 10 ml/cm<sup>2</sup>.

U tohoto typu filtru jsme porovnali účinek želatiny s účinkem normálního telecího séra, kterým byl filtr nasycen před vlastní filtrací viru. Filtr byl nejprve navlhčen Earlovým roztokem (3 ml/cm<sup>2</sup>) a pak nasycen sérem v dávce 2 ml/cm<sup>2</sup>. Nakonec byl filtr propláchnut Earlovým roztokem v množství

4 ml/cm<sup>2</sup>. Při tomto způsobu filtrace byl získán vzorek se 75% aktivitou původní nefiltrované suspenze až po průchodu 20 ml/cm<sup>2</sup>, což je podstatně horší než u želatiny v dávce 2 mg/cm<sup>2</sup>.

#### FILTR KK 3 SEITZ A SLAVIA 10

Z čeřících filtrů jsme orientačně ověřili filtr KK 3 a Slavia 10. 1 mg želatiny/cm<sup>2</sup> postačil k získání vzorku s plnou hodnotou po průchodu 4 ml/cm<sup>2</sup> u filtru KK 3 a po 8 ml/cm<sup>2</sup> u filtru Slavia 10 (tab. I a graf 1d).

Filtrát s plnou hodnotou TCID<sub>50</sub> získáváme u obou filtrů již po průchodu prvních 10 ml/cm<sup>2</sup>.

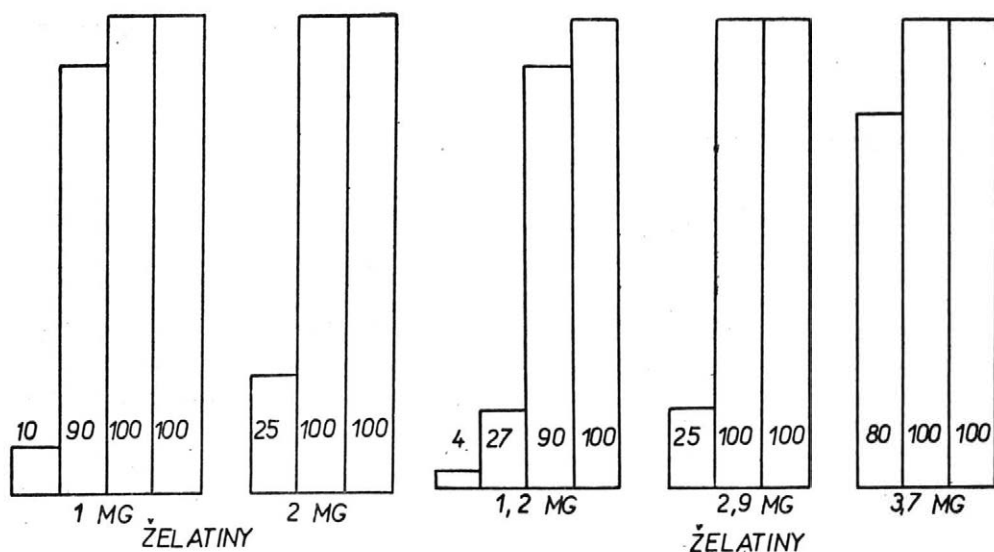
Sterilizační účinnost filtrů, které byly preparovány želatinou, byla provedena u filtru EKS 2 Seitz a EKS 2 Carlsson v třikrát opakovaných pokusech. Nezjistili jsme narušení sterilizační účinnosti filtrů ani po projití 80 ml uměle kontaminovaného media přes 1 cm<sup>2</sup> plochy filtrů.

#### DISKUSE

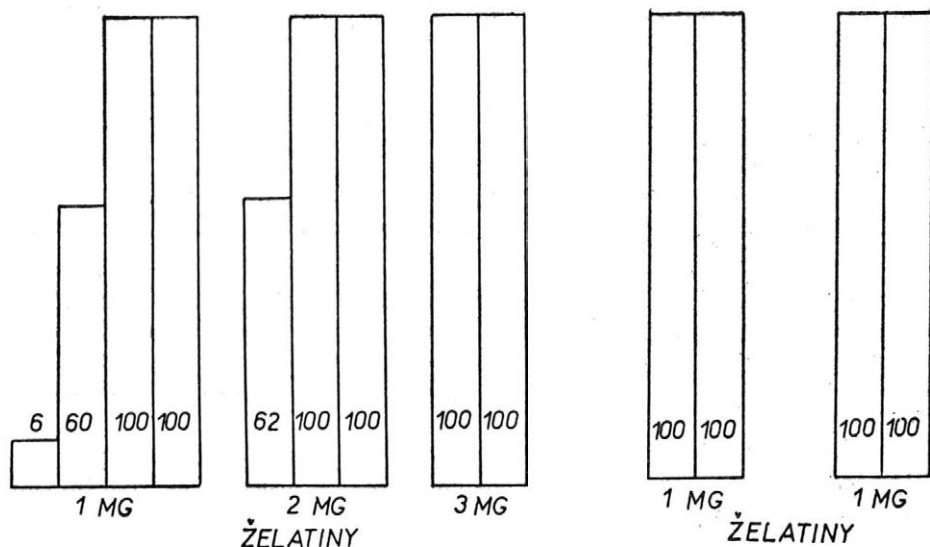
Snížení, resp. úplné odstranění ztrát viru při filtraci v důsledku adsorbce virových částic na hmotu filtrů je velmi důležitým faktorem při výrobě inaktivovaných vakcín proti slintavce. Ztráty viru při filtraci se projevují zvláště nepříznivě při výrobě koncentrovaných vakcín z infekčních medií tkáňových kultur, která jsou relativně velmi chudá na bílkoviny, v důsledku čehož je adsorbce viru velmi silná.

Již Ubertini a spol. (1958) prověřovali filtraci viru slintavky z tkáňových

Graf 2. Vliv koncentrace želatiny na adsorbci viru slintavky u různých druhů filtračních desek.







2c. Carlsson — EKS 2

2d. Seitz KK 3  
Slavia 10

(Čísla ve sloupcích značí procento výchozí infekitivity v po sobě následujících objemech, vždy po přefiltrování 10 ml suspence na 1 cm<sup>2</sup> filtrační plochy)

kultur přes filtry EK Carlsson. Autoři prokázali, že vzniklé ztráty viru není možno odstranit ani dodatečným vyplavováním viru pomocí fosfátového pufru M/180 pH 7,6 v množství 2,5 ml/cm<sup>2</sup>, ani předběžným nasycením filtru bujonem nebo normálním koňským sérem (0,58 ml/cm<sup>2</sup> nebo 0,86 ml/cm<sup>2</sup>) včetně následného propláchnutí fosfátovým pufrem.

V naší práci jsme studovali vliv různých dávek želatiny na filtraci viru slintavky. Ukázalo se, že potřebné množství želatiny není pro různé druhy filtrů stejné a že pro každý druh filtru je třeba ověřit optimální množství želatiny. Je možné, že i různé serie téhož typu filtru se mohou do určité míry lišit, jak na to poukázal již Moosbrugger (cit. podle Ubertini).

Pro filtry EKS 1 Seitz lze vystačit s množstvím 1 mg želatiny/cm<sup>2</sup>, pro filtry EKS 2 Carlsson je ke stejnému účinku zapotřebí 2 mg želatiny/cm<sup>2</sup>, zatím co pro filtry EKS 2 Seitz je nutno použít nejméně 2,9 mg želatiny/cm<sup>2</sup>.

Při volbě příslušného množství želatiny je třeba brát v úvahu skutečnost uváděnou Slonimem a spol. (1961), podle níž není účelné zcela saturovat adsorbční schopnosti filtrů, neboť tím vzniká nebezpečí event. průchodu nevirových balastních látek do filtrátu. Při stanovení koncentrace použité želatiny je třeba zachovávat tendenci k minimálně účinnému množství želatiny i z dalšího důvodu a tou je možnost event. přechodu proteinu želatiny do filtrátu a tím i do očkovací látky (Hyslop, 1961). Toto riziko však pokládáme za relativně velmi malé, neboť při daném postupu je před filtrací volná želatina z filtru vyplavena dostatečným množstvím Earlova roztoku.

Výsledky práce ukázaly, že pomocí želatiny lze účinně snižovat ztráty viru slintavky při filtraci přes sterilizační filtry typu EK. Použití želatiny je podstatně efektivnější než nasycování filtrů sérem nebo bujonem. Fosfátový pufr M/150 pH 7,6 se ukázal zcela nedostatečný pro přípravu filtrů k účinné filtraci viru slintavky, připraveného na tkáňových kulturách. Použití želatiny odstraňuje nutnost následné eluce viru z filtrů proplachováním fosfátovým pufrem, což je výhodné ze dvou důvodů: filtrace příliš velkého množství tekutiny přes jednotku plochy filtrů ohrožuje

sterilizační kapacitu filtru a samotné proplachování fosfátovým pufrem nežádoucně zvyšuje objem přefiltrovaného viru, což je samo o sobě překážkou přípravy koncentrovaných vakcin proti slintavce.

## ZÁVĚR

1. Byl prověřen účinek různých koncentrací želatiny na snížení adsorbčních schopností filtrů EK na virus slintavky z tkáňových kultur primárních telecích ledvinových buněk.

2. U filtru EKS 1 Seitz je 1 mg želatiny/cm<sup>2</sup> postačující k zajištění 100% filtrace viru po průchodu 12 ml virového média přes 1 cm<sup>2</sup> plochy filtrů. Filtrát s původní hodnotou TCID<sub>50</sub> získáme po přefiltrování 20 ml média přes 1 cm<sup>2</sup> filtru. Při použití 2 mg želatiny/cm<sup>2</sup> se tyto hodnoty snižují na 8 ml/cm<sup>2</sup> a 10 ml/cm<sup>2</sup>.

3. U filtru EKS 2 Carlsson zajistí 2 mg želatiny/cm<sup>2</sup> 100% filtraci po projití 12 ml média/cm<sup>2</sup> a původní hodnotu filtrátu získáme po přefiltrování 20 ml média/cm<sup>2</sup>.

4. U filtru EKS 2 Seitz dává 2,9 mg želatiny/cm<sup>2</sup> 100% filtraci po průchodu 16 ml média/cm<sup>2</sup> a filtrát s celkovým obsahem TCID<sub>50</sub> získáme po přefiltrování 20 ml média/cm<sup>2</sup>.

5. Předběžné nasycení filtrů želatinou nesnižuje jejich sterilizační účinnost vůči bakteriální kontaminaci.

Došlo dne 15. 12. 1966

## Literatura

1. ALBRECHT J.: Zur Filtration von Virussuspensionen durch Seitz-EK-Filterschichten. = „Naturwissenschaften“, 1957, 44, 90. — 2. HYSLOP G.: A Method of Treating Asbestos Filter Pads for Virus Filtration. = „Nature“, 1961, 191, 305-307. — 3. MAREŠ I., DŘEVO M., SLONIM D.: A Study of the Prevention of Poliomyelitis Virus Adsorption on Seitz Filter Discs. = „Acta Virol.“, 1961, 5, 220-227. — 4. MOSLET U.: Filtration Experiments in Connection with the Production of FMD Vaccine. = „Nord. Vet. Med.“, 1965, 17, 617-627. — 5. PYL G., HEINIG A.: Über Gewebvakzine gegen Maul- und Klauenseuche. = „Arch. Exp. Vet. Med.“, 1956, 378-383. — 6. RÖHRER H., MÖHLMANN H., PYL G.: Erfahrungen bei der Herstellung und Anwendung der Riemser Adsorbatimpfstoffes gegen MKS. = „Exp. Vet. Med.“, 1950, I., 1-13. — 7. SLONIM D., MAREŠ I., DŘEVO M., CINNEROVÁ O., MICHL J.: Some Experiences with the Preparation of Inactivated Poliomyelitis Vaccine in Czechoslovakia. = „Acta Virol.“, 1961, 5, 178-187. — 8. UBERTINI B.: Observations et recherches sur les différents virus de la fièvre aphteuse qui ont sévi dans la plaine du Po pendant les dix dernières années. = „Bull. OIE“, 1951, 35, 627-643. — 9. UBERTINI B., NARDELLI L., SANTERO G., PARRINA G.: Recherches sur la filtration du virus aphteux sur filtres du type Seitz. = „Symp. Inter. de Virol.“, Lyon, 1958, 101. — 10. WALDMANN O., PYL G., HOBOM K., MÖHLMANN H.: Die Entwicklung des Riemser Adsorbatimpfstoffes gegen MKS und seine Herstellung. = „Zblt. f. Bakt. Orig.“, 1941, 148. — 11. WILKE H., ALBRECHT J.: Adsorptionsfiltration von Viren mit Seitz-Entkeimungsfiltration. 1. Teil. = „Archiv f. Hyg. und Bakt.“, 1961, 145, 1. — 12. WILKE H., ALBRECHT J.: Adsorptionsfiltration von Viren mit Seitz-Entkeimungsfiltren. 2. Teil. = „Arch. f. Hyg. und Bakt.“, 1962, 146, 2.

## Влияние желатины на фильтрацию вируса ящура через фильтры типа SEITZ EK

1. Проверялось действие разной концентрации желатины на снижение абсорбционной способности фильтров EK на вирус ящура из тканевых культур первичных почечных клеток телят

2. У фильтра EKS 1 Seitz достаточно 1 мг желатины/см<sup>2</sup> для установления 100 % фильтрации вируса после прохождения 12 мл вирусной среды через 1 см<sup>2</sup> площади фильтров. Фильтрат с первоначальным значением TCID<sub>50</sub> мы получим после профильтровки 20 мл среды через 1 см<sup>2</sup> фильтра. При применении 2 мг желатины/см<sup>2</sup> эти показатели уменьшаются до 8 мл/см<sup>2</sup> и 10 мл/см<sup>2</sup>.

3. У фильтра EKS 2 Carlsson 2 мг желатины /см<sup>2</sup> даст 100 % фильтрацию после прохождения 12 мл среды/см<sup>2</sup>, а первоначальное значение фильтрата мы получим после профильтровки 20 мг среды/см<sup>2</sup>

4. У фильтра EKS 2 Seitz 2,9 мг желатины/см<sup>2</sup> дает 100% фильтрацию после прохождения 16 мл среды/см<sup>2</sup> и фильтрат с общим содержанием TCID<sub>50</sub> мы получим после профильтровки 20 мл среды/см<sup>2</sup>

5. Предварительное насыщение фильтров желатиной не снижает их стерилизационную эффективность против бактериальной контаминации.

## The Influence of Gelatine on the Filtration of Foot and Mouth Disease Virus through Filters of SEITZ EK Type

1. The influence of different gelatine concentrations on the minimizing of adsorption possibilities of EK filters for foot and mouth disease virus from primary calf kidney cells was studied.

2. For the EKS 1 Seitz filter 1 mg of gelatine/cm<sup>2</sup> is sufficient for 100% virus filtration after passing of 12 ml of virus medium through 1 cm<sup>2</sup> of filter area. After the filtration of 20 ml of the medium through 1 cm<sup>2</sup> of filter area we obtain a filtrate with an original value of TCID<sub>50</sub>. With the use of 2 mg gelatine/cm<sup>2</sup> these values are lowered to 8 ml/cm<sup>2</sup> and 10 ml/cm<sup>2</sup>.

3. In the EKS 2 Carlsson filter 2 mg gelatine/cm<sup>2</sup> ensures a 100% filtration after passing of 12 ml of the medium/cm<sup>2</sup>. After the filtration of 20 ml of the medium/cm<sup>2</sup> we obtain a filtrate with the original value.

4. In the EKS 2 Seitz filter 2.9 mg of gelatine/cm<sup>2</sup> after passing of 16 ml of the medium/cm<sup>2</sup> ensures a 100% filtration and after the filtration of 20 ml of the medium/cm<sup>2</sup> we obtain a filtrate with a total TCID<sub>50</sub> content.

5. The preliminary treatment of filter pods with gelatine does not reduce their sterilization effectiveness against bacterial contamination.

## Einfluß der Gelatine auf die Filtration des Virus der Maul- und Klauenseuche über die Filter des Types SEITZ EK

1. Es wurde die Wirkung verschiedener Gelatinekonzentrationen auf die Herabsetzung der Adsorptionsfähigkeit der EK-Filter gegenüber dem Maul- und Klauenseuchevirus aus den Gewebekulturen der primären Kälbernierenzellen überprüft.

2. Bei der Filterschichte EKS 1 Seitz ist 1 mg Gelatine/cm<sup>2</sup> für die Sicherung einer 100%igen Filtration des Virus nach dem Durchgang von 12 ml Virusmedium durch 1 cm<sup>2</sup> der Filterfläche ausreichend. Das Filtrat mit ursprünglichem Wert TCID<sub>50</sub> erreicht man nach dem Umfiltrieren von 20 ml Medium über 1 cm<sup>2</sup> des Filters. Bei der Anwendung von 2 mg Gelatine/cm<sup>2</sup> werden diese Werte auf 8 ml/cm<sup>2</sup> und 10 ml/cm<sup>2</sup> herabgesetzt.

3. Bei der Filterschichte EKS 2 Carlsson sichern 2 mg Gelatine/cm<sup>2</sup> eine 100%ige Filtration nach dem Durchgang von 12 ml/cm<sup>2</sup> des Mediums und man erreicht den ursprünglichen Wert des Filtrates nach dem Umfiltern von 20 ml/cm<sup>2</sup> des Mediums.

4. Bei der Filterschichte EKS 2 Seitz ergeben 2,9 mg Gelatine/cm<sup>2</sup> eine 100%ige Filtration nach dem Durchgang von 16 ml/cm<sup>2</sup> des Mediums und man gewinnt ein Filtrat mit einem Gesamtgehalt des TCID<sub>50</sub> nach dem Umfiltern vom 20 ml/cm<sup>2</sup> des Mediums.

5. Eine vorhergehende Sättigung der Filterschichten mit Gelatine setzt ihre Sterilisationswirksamkeit gegenüber der bakteriellen Kontamination nicht herab.

---

*Adresa autorů:*

RNDr. Gustav Petr, MVDr. Břetislav Barek, MVDr. Rudolf Hubík, Bioveta n. p., Terežín, okr. Litoměřice

---

*Ústav vědeckotechnických informací MZVŽ vydává již několik let studie o zahraničním zemědělství pod souhrnným označením*

## STUDIJNÍ INFORMACE

Tyto materiály obsahují původní studijní práce, kompilace, analytické referáty a někdy též překlady. Poskytují z nejnovějších dostupných pramenů přehled o současné světové úrovni jednotlivých oborů zemědělské a lesnické vědy. Slouží jako zdroj aktuálních informací a podnětů pro pracovníky ve výzkumu, v řídicích, správních a v jiných organizačních složkách, na odborných a vysokých školách i v praxi.

## Řada VETERINÁŘSTVÍ

uveřejní v roce 1967 následující práce:

**Diagnostika březosti u prasat**

**Enzymatické cesty v kontrole zdraví hospodářských zvířat**

**Fasciolóza**

**Veterinární problematika moderních krmných směsí**

**Metabolismus mastných kyselin (dvojčíslo)**

**Krmné použití antibiotik z hlediska veterin. hygieny potravin**

**Nemoci norků**

*Objednávky pouze na celoroční předplatné 8 čísel za Kčs 40,—  
zašlete na Ústav vědeckotechnických informací, MZVŽ, Praha 2,  
Slezská 7.*

■ Při studiu myxovirových infekcí byla použita metoda fluorescenčních protilátek převážně u viru influenzy (viz literatura č. 2, 12, 14, 23, 28, 29, 30), méně u ostatních myxovirů (viz literatura č. 3, 6, 7, 8, 13, 17, 19, 20, 25, 27, 31).

## LITERÁRNÍ PŘEHLED

Omar (1965), Bürki a spol. (1966) prokazovali touto metodou boviní kmen myxoviru parainfluenzae-3 v buňkách tkáňových kultur a zjistili rozdíly v charakteru a lokalizaci specifické fluorescence v buňkách, při srovnání s virem influenzy.

Cílem naší práce bylo ověřit použitelnost metody fluorescenčních protilátek k průkazu a dalšímu studiu kmenů izolovaných Menšíkem a spol. (1967) v průběhu enzootií respiračních infekcí telat v letech 1964 a 1965.

## METODIKA

### KULTURY

K infekci byly použity dobře narostlé jednovrstevné TK primárních telecích ledvin, pěstované na podložních sklíčkách ve stacionárních zkumavkách.

### VIRUS

Tkáňové kultury byly infikovány 3 kmeny boviního myxoviru parainfluenzae-3 (T 1/11, T 1/25, T 6/3) tak, že infekční tkáňová tekutina ( $10^4$  TCID<sub>50</sub> viru v 0,1 ml) byla navrstvena na sklíčkové porosty kultur, uložené přechodně v Petriho miskách. Po jednogodinové adsorpci při 37 °C byla sklíčka opláchnuta v udržovacím mediu a přenesena do nových zkumavek s udržovacím mediem. Sklíčka k fixaci a barvení byla odebírána za 4, 8, 12, 24, 36, 48 a 52 hod. po infekci (p. i.).

### IMUNOFLUORESCENČNÍ TECHNIKA

Byla použita nepřímá metoda fluorescenčních protilátek podle Coonse a Kaplana (1950). Imunní morčecí séra byla připravena intranazální inokulací 0,2–0,3 ml infekční tkáňové tekutiny kmene T 6/3 v etherové narkó-

ze. Za 6 týdnů byla infekce stejným způsobem zopakována a 8 týdnů od první inokulace byla morčata vykrvena. HI titr použitých sér byl byvví než 1 : 10240. Séra byla skladována při teplotě  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### FIXACE, BARVENÍ

Odebraná sklíčka byla propláchnuta ve fosfátovém pufru pH 7,2 — M/100, usušena, fixována v acetonu a opět promyta v pufru. Potom byla 30 min. inkubována ve vlhké komůrce s imunním morčecím sérem, ředěným 1 : 4—1 : 8 fosfátovým puforem. Po promytí v pufru byl na sklíčka nakapán prasečí anti-morčecí g-globulin značený FITC (výrobce ÚSOL Praha) adsorbovaný na prášek z myších jater (Albrecht 1963), nebo na sediment buněk tkáňové kultury. Sklíčka byla znovu promyta v pufru a zamontována do směsi glycerin-fosfátový pufr (9 : 1) o pH 7,2. Ke kontrole specifity fluorescence byla použita séra od neinfikovaných morčat, séra morčat imunizovaných odlišným antigenem a neinfikované tkáňové kultury.

K cytologickému vyšetření byly sklíčkové kultury fixovány v Bouinově, Carnoyově, Susově tekutině a ve směsi alkohol-kyselina octová ledová 9 : 1. Barveny byly hematoxylin eosinem, phloxin-tartrasinem, metodou PAS (polysacharidy) methylzelení-pyroninem, akridinovou oranží a Feulgenovou reakcí.

#### MIKROSKOPICKÁ TECHNIKA

Používali jsme sovětský luminiscenční mikroskop ML-2, excitační filtry BS 8-2; SZS 7-2; SS 15-2; film Orwo 27<sup>0</sup> Din.

#### VÝSLEDKY

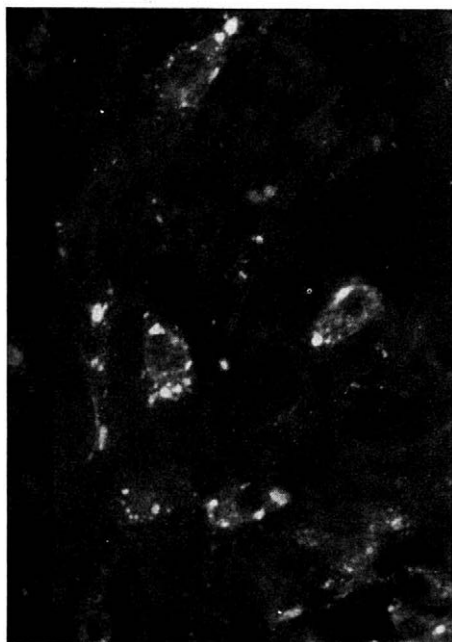
Za 2 a 4 hod. po infekci jsme nezjistili na tkáňových kulturách, ve srovnání s kontrolami, žádné rozdíly. Za 8 hod. jevílo několik ojedinělých buněk velmi jemnou, krupicovitou fluorescenci v cytoplasmě, jejíž intenzita byla perinukleárně poněkud silnější. Za 12—24 hod. se počet zářících buněk silně zvýšil, fluoreskující granula byla hojnější, hrubší zrnitosti a větší velikosti (obr. 1, 2). Při souběžném cytologickém barvení nacházeli jsme v cytoplasmě buněk za 24 hod. ojedinělé, drobné inkluze. Inkluze byly eosinofilní, phloxinofilní a byly ohraničeny světlou zonou (halo) od okolní cytoplazmy.

Za 36 hod. p. i. byla zasažena již převážná většina buněk. Některá fluoreskující granula v cytoplasmě odpovídala svou velikostí a tvarem, při srovnání ve fázovém kontrastu a barvení hematoxylin eosinem, cytoplazmatickým inkluzím (obr. 3, 4). Celistvost buněčného porostu byla porušena, vytvářela se „oka“ a bylo vidět značné množství silně zářících buněk v mitóze, odlučujících se od buněčného porostu.

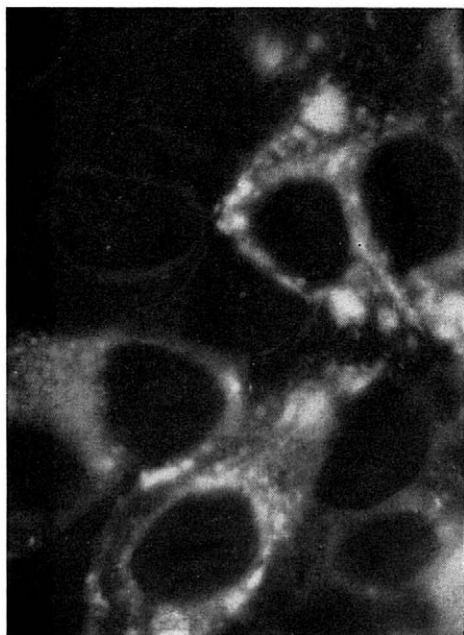
Cytologické změny v tkáňové kultuře jsou v této době charakterizovány zvětšením a zvýšením počtu cytoplazmatických inkluzí, zakulacováním buněk a vznikem mnohoaderných syncytií. V jádrech některých buněk se počínají vytvářet drobné, eosinofilní a phloxinofilní inkluze typu Cowdry B (obr. 6). V porovnání s cytoplazmatickými inkluzemi jsou však mnohem menší velikosti, kulovitěho tvaru a jejich počet je nižší. V některých jádrech je vidět hrubší uspořádání chromatinu.

Za 48—56 hod. je souvislost buněčného porostu silně porušena a jen zcela

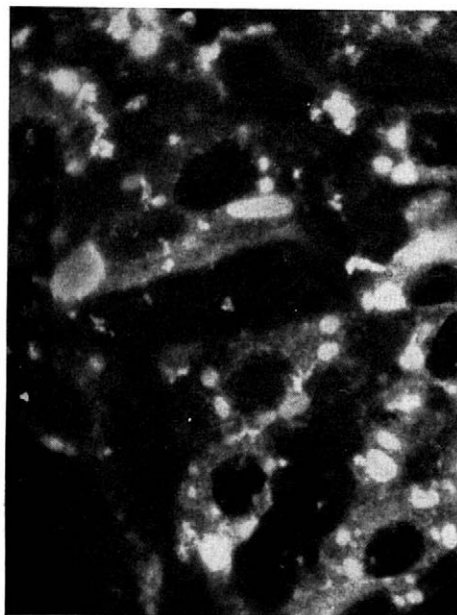




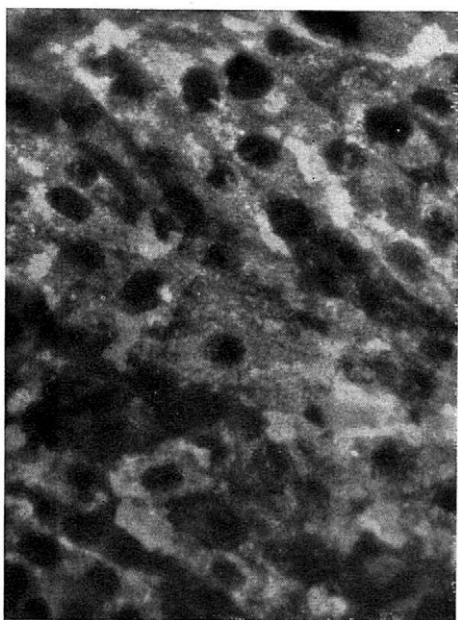
Obr. 1. Buňky telecích ledvin 12 hod. p. i. virem bovinní PI-3. Množství fluoreskujících granulí v cytoplasmě ojedinelých buněk (pův. zvětš. 60X).



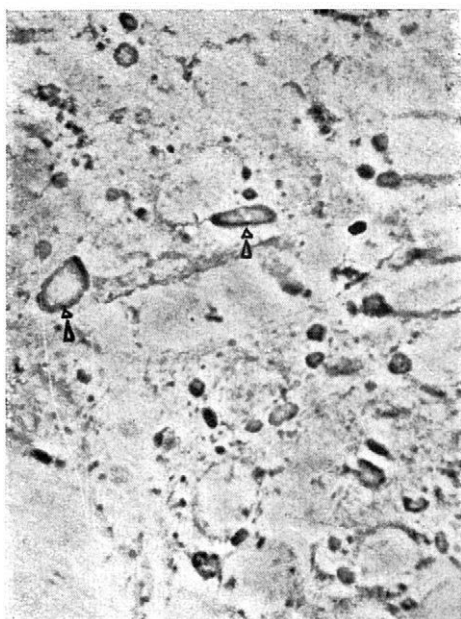
Obr. 2. 12 hod. p. i. (pův. zvětš. 270X).



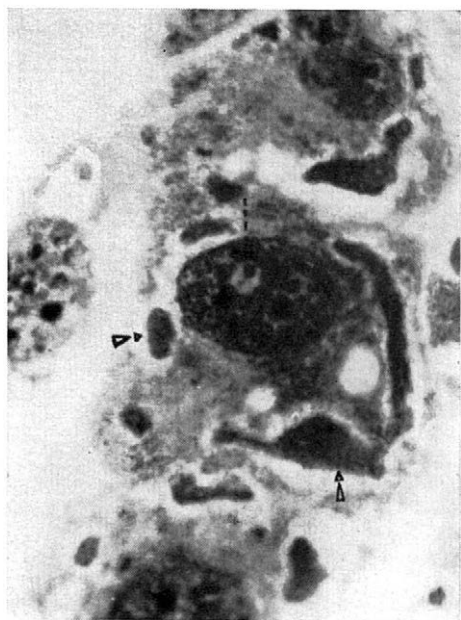
Obr. 3. Buňky telecích ledvin 36 hod. p. i. Pozitivní fluorescence v cytoplasmě, odpovídající při srovnání ve fázovém kontrastu (viz obr. 4) cytoplazmatickým inkluzím (pův. zvětš. 120X).



Obr. 5. TK telecích ledvin za 48 hod. p. i. Cytoplazma většiny buněk je vyplněna hrubými masami, vykazujícími silnou pozitivní fluorescenci (pův. zvětš. 60X).



Obr. 4. Fázový kontrast — stejné zorné pole jak na obr. 3.



Obr. 6. Buňka TK telecích ledvin 52 hod. p. i., s intranukleární inkluzí a rozsáhlými cytoplazmatickými inkluzemi (hematoxylin-eosin, pův. zvětš. 450X).

vyjíměčně se najde intaktní buňka (obr. 5), nevykazující silnou pozitivní fluorescenci cytoplazmy. V jádrech některých buněk jsou ojediněle vidět fluoreskující granula, velikosti jáderka, nebo poněkud větší.

Histochemicky byly intranukleární i cytoplazmatické inkluze Feulgen negativní a negativně se rovněž barvily v reakci PAS (polysacharidy). Při barvení metylzelení-pyroninem se některé cytoplazmatické inkluze přibarvovaly mírně pyroninem a při barvení akridinovou oranží jevíly nevýraznou tmavě červenou fluorescenci.

Nepřímou metodou fluorescenčních protilátek jsme nezjistili rozdíly v charakteru a lokalizaci fluorescence v buňkách telecích ledvin, při jejich infekci třemi různými kmeny viru PI-3, při použití jednoho imunního séra získaného po imunizaci kmenem T 6/3.

## ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A DISKUSE

V naší práci, v níž jsme sledovali virus PI-3 v systému tkáňové kultury primárních telecích ledvin, jsme prokazovali první výraznou specifickou fluorescenci v cytoplazmě buněk již za 8—12 hod. p. i. V souhlase s nálezy Cohena a spol. (1955), Coleho a spol. (1965) jsme také našli fluorescenci u buněk v mitóze a v pozdějších stádiích infekce i v jádrech některých buněk. Intenzita fluorescence v jádrech buněk byla však nižší, než v cytoplazmě. Nemůžeme s jistotou vyloučit, že jde o antigen vniknuvší do poškozeného jádra z cytoplazmy, jak předpokládají Bůrki a spol. (1966). Tito autoři zjistili pozitivní fluorescenci u buněk v mitóze a v kulturách s pokročilým porušením buněk v jádrech za 96—120 hod.

Reda a spol. (1964) prokazovali fluorescenci antigen v jádrech, při infekci buněk virem NDV, když použili sérum obsahující protilátky proti g-antigenu. Zdanov a spol. (1963) prokázali autoradiograficky virus Sendai v jádrech buněk v časných stádiích po infekci.

Tomu odporují výsledky Travera a spol. (1960), kteří došli, při srovnání multiplikačního cyklu viru Sendai, NDV a viru příušnic, k závěru, že množení těchto virů nevede k tvorbě antigenu v jádrech, detekovatelném fluorescenčními protilátkami.

Také Maassab a spol. (1962); Omar (1965), při studiu reprodukce viru parainfluenzae-3; Leššo a spol. (1963), Lavergne a spol. (1966) při průkazu viru příušnic v systému tkáňových kultur prokázali, že fluorescenčními protilátkami detekovatelná syntéza viru je omezena pouze na cytoplazmu infikovaných buněk.

Je dosud diskutabilní, do jaké míry mohou být výsledky při imunofluorescenci ovlivněny: a) použitím „celého“ nepurifikovaného viru, nebo pouze oddělených antigenních komponent viru k imunizaci, b) způsobem imunizace a separace protilátek ze séra, c) způsobem přípravy konjugátu. Je možné, že v časných stádiích infekce se nedá virus parainfluenzae-3 v jádrech buněk metodou fluorescenčních protilátek detekovat.

Histochemicky byly cytoplazmatické i intranukleární inkluze Feulgen negativní, nebarvily se v reakci PAS, po tartrasinové diferenciaci byly phloxinofilní, byly slabě pyroninofilní a při barvení akridinovou oranží vykazovaly tmavě červenou fluorescenci v souhlase se zjištěním Omara (1965), Bůrkého a spol. (1966), Maassaba a spol. (1962).

## SOUHRN

Nepřímá metoda fluorescenčních protilátek byla použita k průkazu tří boviních kmenů myxovirů parainfluenzae-3 v buňkách tkáňových kultur primárních telecích ledvin. Specifická fluorescence v cytoplazmě infikovaných buněk

byla detekována za 8–12 hod. p. i., kdy při cytologickém barvení buňky dosud nevykazovaly známky poškození. Intenzita a rozsah fluorescence v cytoplasmě, v pozdějších intervalech po infekci, souvisely s vývojem cytologických změn. Nález intranukleární fluorescence, jako důkaz přítomnosti antigenu v pozdních stádiích infekce, je diskutován.

Došlo dne 16. 12. 1966

## Literatura

1. ALBRECHT, P.: Vizualizácia antigénov metódou fluorescentných protilátok. = Praha, 1963, 157 s. — 2. ALBRECHT, P. - BLÁŠKOVÍČ, D. - STYK, B. - KOL-  
LER, M.: Course of A<sub>2</sub> influenza in intranasally infected mice examined by the  
fluorescent antibody technique. = „Acta virologica“, 7, 1963, 405-413. — 3. AZA-  
DOVA, N. B. - BUKRINSKAJA, A. G.: Dejstvie nepolnogo virusa Sendai na kletki  
kultury tkani pri izučeníi i metodom fluorescirujuščich antifel. = „Vopros. Viru-  
sol.“, 8, 1963, 243. — 4. BUKRINSKAJA, A. G. - ŽDANOV, V. M.: Obrazovanie  
sympplastov v kulturach privivajemych tkaněj, zaražených virusom Sendai. = „Vo-  
prosy Virusol.“, 6, 1961, 364-366. — 5. BÜRKE, F. - FISCHER, K. - FEY, H.: Ver-  
gleichende virologische fluorescenz-serologische und cytologische Untersuchungen  
mit einem bovinen Parainfluenza-3-virus. = „Zbl. Bakt., Parasit., Infek., Hyg.“,  
200, 1966, 191-201. — 6. COHEN, S. M. - BULIVANT, S. - EDWARDS, G. A.: A mor-  
phological study of FL cells infected with Parainfluenza-3-virus. = „Arch. ges.  
Virusforsch.“, 11, 1962, 493-515. — 7. COHEN, S. M. - GORDON, I. - RAPP, F. -  
MACAULAY, J. C. - BUCKLEY, S. M.: Fluorescent antibody and complement-  
fixation tests of agents isolated in tissue culture from measles patients. = „Proc.  
Soc. Exp. Biol. Med.“, 90, 1955, 118-122. — 8. COLE, F. E. - HETRICK, F. M.: Per-  
sistent infection of human conjunctiva cell cultures by myxovirus parainfluenza 3.  
= „Can. J. Microb.“, 11, 1965, 513. — 9. COONS, A. H. - KAPLAN, M. H.: Loca-  
lisation of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for detection of  
antigen by means of the fluorescent antibody. = „J. Exp. Med.“, 90, 1950, 1-3. —  
10. DAWSON, P. S.: The isolation and properties of a bovine strain (T 1) of para-  
influenza 3 virus. = „Res. Vet. Sci.“, 5, 1964, 81-88. — 11. DAWSON, P. S. -  
CRUICKSHANK, J. G.: The isolation of a bovine strain of parainfluenza 3 virus.  
= „Vet. Rec.“, 75, 1963, 388-389. — 12. FEDOVÁ, D. - ZELENKOVÁ, L.: The use  
of the fluorescent antibody method for the rapid identification of the A<sub>2</sub> influenza  
virus. I. The identification of influenza virus in the epithelial cell sediment of alan-  
toic or amniotic fluid of infected chick embryo. II. The identification of influenza  
virus in nasal smears by the fluorescent antibody technique. = „J. Hyg. Epid.  
Micr. Immunol.“, 9, 1965, 127-146. — 13. HINUMA, Y. - MIYAMOTO, T. S. - REI  
OHTA, - ISHIDA, N.: Counting of Sendai virus particles by an immunofluorescent  
technique. = „Virology“, 20, 1963, 405-412. — 14. CHIN, T. D. Y. - WELTON, E. R. -  
LIU, CH.: Rapid identification of influenza and parainfluenza viruses isolated in  
tissue cultures by immunofluorescence. = „Bact. Proceed.“, 64, 1964, 86-87. — 15.  
CHURCHILL, A. E.: Intranuclear inclusion produced by bovine parainfluenza. =  
„Nature“, 197, 1963, 409. — 16. KASHIWAZAKI, H. - ISHIDA, N.: Inhibition of  
Sendai virus by N<sup>1</sup>-isobutylbiquanide hydrochloride as studied by immunofluores-  
cent staining. = „Proc. Soc. Exp. Biol. Med.“, 120, 1965, 139-143. — 17. KASHI-  
WAZAKI, H. - HOMMA, M. - ISHIDA, N.: Assay of Sendai virus by immuno-  
fluorescence and hemadsorbed cell-couling procedures. = „Proc. Soc. Exp. Biol.  
Med.“, 120, 1965, 134-138. — 18. KASTEN, F. H. - CHURCHILL, A. E.: Cytoche-  
mistry of cytoplasmic and intranuclear inclusions induced by bovine parainfluenza  
3 virus (SF-4) in human cell cultures. = „J. Histochem. Cytochem.“, 14, 1966, 187-  
195. — 19. KETILADZE, E. S. - ŽILINA, N. N. - MEKLER, L. B. et al.: Primenenie  
metoda fluorescirujuščich antifel dlja bystroj differencialnoj diagnostiki grippa,  
paragrippoznych i adenovirusnych zaboľevanij. = „Voprosy Virusol.“, 9, 1964/1, 348-  
353. — 20. LAVERGNE, E. et al.: Studies of mumps virus in human thyroidcell  
cultures by the immunofluorescence technic. = „Ann. Inst. Pasteur (Paris)“, 110,  
1966, 290-297. — 21. LEŠŠO, J. - SZÁNTÓ, J. - ALBRECHT, P.: Mumps virus in-  
fection of Hela cells studies by the fluorescent antibody method. = „Acta virol.“,  
7, 1963, 37-41. — 22. LIU, CHIEN: Studies on influenza infection in ferrets by means

of fluorescein-labelled antibody. I. The pathogenesis and diagnosis of the disease. II. The role of „Soluble antigen“ in nuclear fluorescence and crossreactions. = „J. Exp. Med.“, 10, 1955, 665-685. — 23. LIU, CHIEN: Rapid diagnosis of human influenza infection from nasal smears by means of fluorescein-labelled antibody. = „Proc. Soc. Exp. Biol. Med.“, 92, 1956, 883-887. — 24. MAASSAB, H. F. - LOH, P. C.: Fluorescent antibody studies in tissue culture of Parainfluenza-3-infection. = „Proc. Soc. Exp. Biol. Med.“, 109, 1962, 897-900. — 25. MENŠÍK, J. - JURMANOVÁ, K. - KOČÍ, J.: Účast viru PI-3 při respiračních infekcích skotu ve velkokapacitních odchovných zařízeních. I. Vznik a průběh nákazy při přirozené infekci a frekvence viru u telat 1-8 týdnů starých. = 1967 (v tisku). — 26. OMAR, A. R.: Cytopathic effects and immunofluorescence produced by the J 121 strain of bovine parainfluenza 3 virus in tissue culture. = „J. Comp. Path.“ (G. B.), 75, 1965, 287-297. — 27. REDA, I. M. - ROTT, R. - SCHÄFER, W.: Fluorescent antibody studies with NDV-infected cell systems. = „Virology“, 22, 1964, 422. — 28. SUGIURA, A. - ENOMOTO, C. - AYAI, M.: Development of influenza virus antigens in tissue culture cells followed with the aid of fluorescent antibody technique. = „Jap. J. Exp. Med.“, 32, 1962, 415-432. — 29. TATENO, I. - SUZUKI, S. - NAKAMURA, S. - KAWANURA, A.: Rapid diagnosis of influenza by means of fluorescent antibody technique. I. Some basic information. II. Relation between immunocytological, serological and clinical findings. = „Jap. J. Exp. Med.“, 35, 1965, 383-410. — 30. TATENO, I. - KITAMOTO, O. - KAWAMURA, A.: Diverse immunocytologic findings of nasal smears in influenza. = „New Engl. J. Med.“, 274, 1966, 237-242. — 31. TRAVER, M. I. - NORTHROP, R. L. - WALKER, D. L.: Site of intracellular antigen production by myxoviruses. = „Proc. Soc. Exp. Biol. Med.“, 104, 1960, 268-273. — 32. VEEN, Van der-SONDERKAMP, H. J. A.: Secondary antibody response of guinea pigs to Parainfluenza and Mumps viruses. = „Arch. Gesam. Virusforsch.“, 15, 1965, 721-734. — 33. WATERSON, A. P. - ALMEIDA, J. D.: Taxonomic implications of myxoviruses. = „Nature“, 210, 1966, 1138-1140. — 34. WHEELOCK, E. F. - TAMM, I.: Enumeration of cell-infecting particles of Newcastle disease virus by the fluorescent antibody technique. = „J. Exp. Med.“, 113, 1961, 301-316. — 35. ŽDANOV, V. M. - BUKRINSKAJA, A. G. - RAMENSKAJA, G. P.: Autoradiographic study of the penetration of Sendai virus into the cell. III. Use of virus preparations labelled with Uracil-C<sup>14</sup>, P<sup>32</sup>, methionine-S<sup>35</sup>, or cysteine-S<sup>35</sup>. = „Acta virologica“, 7, 1963, 1-6. — 36. ŽDANOV, V. M. - BUKRINSKAJA, A. G. - RAMENSKAJA, G. P.: Lokalizacija vnutrikletočnogo sinteza RNK virusa Sendai. = „Voprosy Virusol.“, 8, 1963, 564-568.

#### **Иммунофлюоресцентное доказательство бычьего штамма миксовируса парайнфлюэнцы-3 в тканевой культуре почек телят**

Косвенный метод флюоресцентных антител применялся для доказательства трех бычьих штаммов миксовируса парайнфлюэнцы-3 в клетках тканевых культур первичных почек телят. Специфическая флюоресценция в цитоплазме инфицированных клеток была детектирована через 8—12 часов p. i., когда при цитологической окраске клетки до сих пор не показывали признаков повреждения. Интенсивность и объем флюоресценции в цитоплазме, позже в интервалах после инфекции, связаны с развитием цитологических изменений. Диагноз интрануклеарной флюоресценции, как доказательство наличия антигена в поздних стадиях инфекции, является предметом дискуссии.

#### **Immunofluorescence Demonstration of the Bovine Strain of Myxovirus parainfluenzae-3 in a Calf Kidney Tissue Culture**

The indirect method of fluorescent antibodies was used for the demonstration of three bovine strains of Myxovirus parainfluenzae-3 in the cells of calf kidney tissue cultures. The specific fluorescence in the cytoplasm of infected cells was detected in 8—12 hours p. i., when, in the case of cytological staining, the cells did not yet show any symptoms of damage. The intensity and the range of fluorescence in cytoplasm in the intervals following after the infection were connected with the development of cytological changes. The intranuclear fluorescence, which is found as the proof of the presence of antigen in the late stages of infection, is being discussed.

## **Der Immunofluoreszenznachweis des bovinen Stammes des Myxovirus parainfluenzae-3 in der Gewebekultur der Kalbnieren**

Zum Nachweis von drei bovinen Stämmen des Myxovirus parainfluenzae-3 in den Zellen der Gewebekulturen der primären Kalbnieren wurde die indirekte Methode der Fluoreszenz-Antikörper angewendet. Die spezifische Fluoreszenz im Zytoplasma der infizierten Zellen wurde nach 8—12 Stunden p. i., wo die Zellen bei zytologischer Färbung bisher keine Anzeichen der Beschädigung aufwiesen, festgestellt. Die Intensität und der Umfang der Fluoreszenz im Zytoplasma während der späteren Intervalle nach der Infektion standen im Zusammenhang mit der Entwicklung der zytologischen Veränderungen. Die Ermittlung der intranuklearen Fluoreszenz, als ein Nachweis der Anwesenheit des Antigens während der späteren Infektionsstadien, wird diskutiert.

*Adresa autorů:*

MVDr. Lubomír Valíček, MVDr. Bedřich Šmíd, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno-Medlánky

### **K uctění památky nedožitého 70. narozenin akademika profesora MVDr. V. Jelínka DrSc.**

vydává Veterinární medicína 10. číslo r. 1967 s tímto obsahem:

- M. Zendulka: Rozdílnost změn v játrech u prasat vyvolaných experimentární migrací larev *Ascaris suum* a *Toxocara canis*
- D. Šimková, R. Škarda, K. Boďa: Patohistologické afekce hypotalamického ventromediálního jádra a širšího okolia po aplikácii aurothioglukózy u myší
- M. Nevoľe: Príspevek k diagnostice novotvarů pohlavních orgánů slepic a průkazů nukleových kyselin v těchto novotvarech
- J. Bogdan: Morfológie čelenže v niektorých organoch vakcinovaných a revakcinovaných prasiat KVV proti moru ošipáných
- M. Lebeda, A. Buš: Acidobazický stav rozdílně krmených telat zjišťovaný Astrupovou metodou
- A. Buš: Některé hodnoty acidobazického stavu a krevních plynů v krvi kura domácího zjištěné Astrupovou metodou
- J. Surynek, J. Jančík: Postnatální vývoj esterifikovaných mastných kyselin v krvi telat
- E. Kóna: O zdrojoch glukózy u oviec

**Číslo možno objednat v ÚVTI, Vydavatelství časopisů  
Praha 2, Slezská 7**



Venované na pamiatku nedožitých 60tich narodenín doc. MVDr. et RNDr.  
Jana Hökla, laureáta štátnej ceny

■ Pri bakteriologickom vyšetrovaní rôznych chladených a mrazených surovín a potravín živočíšneho pôvodu sa často izolujú kmene psychrotolerantných gramnegatívnych bakteriálnych tyčínok, nepatriacich k enterobaktériám. Ide napr. o baktérie z rodov *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Vibrio*, atď. Pri ich typizovaní vznikajú určité problémy, pretože kultivačné prejavy a metabolické vlastnosti týchto baktérií môžu byť a bývajú — v porovnaní napr. s tými istými druhmi príp. rodmi mezofilných baktérií — do väčšej alebo menšej miery zmenené. Väčšina bežne používaných typizačných systémov je založená na vlastnostiach a prejavoch mezofilných mikroorganizmov. Preto je veľmi dôležité používať na tieto baktérie špeciálne zameraný postup kultivácie a typizácie.

V r. 1960 publikuje S h e w a n a spol. pomerne jednoduchý systém určený na typizovanie gramnegatívnych bakteriálnych tyčínok, nepatriacich k enterobaktériám. Používal ich najmä na typizáciu kmeňov, izolovaných z morských rýb.

V tejto práci uvádzam výsledky a poznatky, získané používaním tohto systému pri typizovaní kmeňov psychrotolerantných bakteriálnych tyčínok, izolovaných z morských rýb.

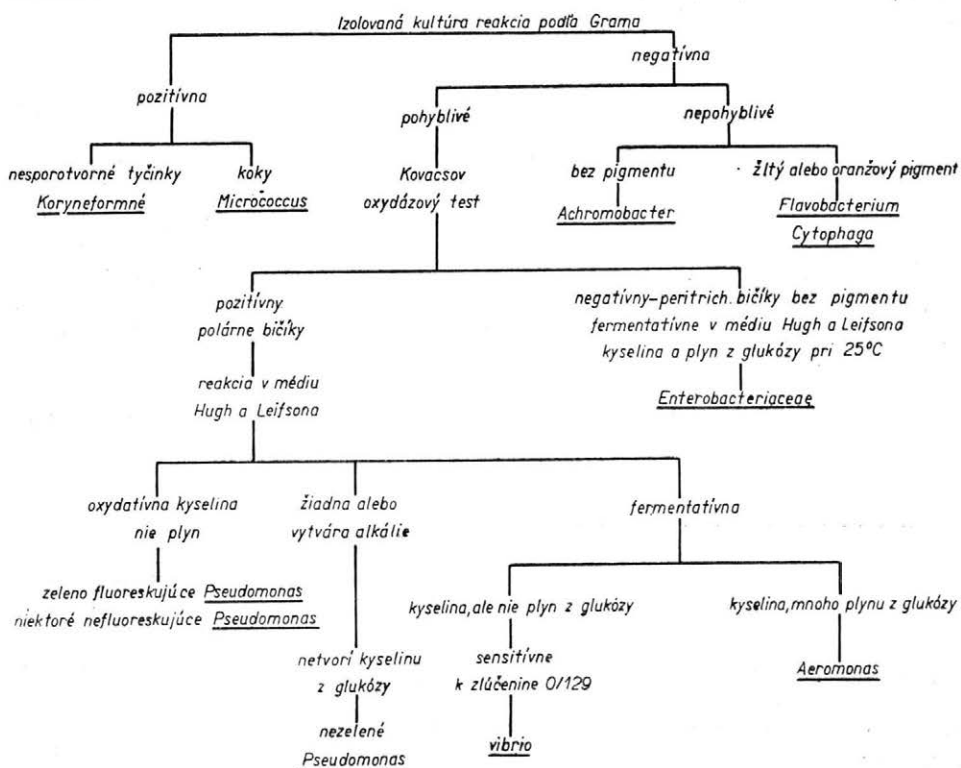
## MATERIÁL A METODIKA

Vyšetрил sa súbor 640 bakteriálnych kmeňov, izolovaných pri kvalitatívnom a kvantitatívnom kultivačnom vyšetrení 61 vzoriek morských rýb (tuniak, sleď, treska, palamída a veľryba). Rvby boli k nám importované z Nórska, Japonska, SSSR, Dánska, Švédska, NSR, Anglie a Islandu. Všetky vzorky odobrali pracovníci veterinárno-hygienickej služby v B. v závode Ryba n. p. Približne dve tretiny vzoriek boli vzorky mäsa tuniaka. Väčšina vzoriek mäsa rýb bola z hľadiska organoleptického posúdenia veľmi dobrej až dobrej akosti a bola odobraná ešte pred rozmrazením rýb. U ostatných vzoriek sa zistili určité, vcelku mierne nepriaznivé odchýlky v zmyslových vlastnostiach. Tieto vzorky pochádzali totiž z rýb, ktoré boli rozmrazované v zásade neodborným spôsobom a to 1—4 dni vo výrobnjej miestnosti pri teplote 15—18 °C alebo dlhšie pri teplote asi 5 °C. Podľa toho, v akom štádiu rozmrazovania boli vzorky odobrané, ako aj podľa toho, aké vplyvy od výlovu ryby až po rozmrazovanie na mäso pôsobili, javil sa potom akostný a mikrobiologický stav už pri vyšetrení hneď po doručení vzoriek do laboratória.

Vzorky mäsa boli odoberané a na živné pôdy inokulované spôsobom, bežne používaným pri laboratórnom vyšetrovaní potravín. Živné pôdy boli inkubované 7—10 dní pri teplote 4 °C v chladničke. Používal sa obyčajný mäsopeptónový bujón a agar, rybí bujón a agar, krvný a Endov agar, Christensenova pôda a agar s brómtymolovou modrou a trypaflavínom. Živné pôdy sa pripravili podľa Rašku a kol. — 1958, len u rybích živných pôd sa použilo miesto mäsa hovädzieho mäso tuniaka a tresky.

Pri kultivácii vzoriek rybieho mäsa bolo izolovaných spolu 640 kmeňov gramnegatívnych psychrotolerantných bakteriálnych tyčínok. Z tohto počtu kmeňov počas typizovania a určovania psychrotolerantnosti uhynulo, alebo sa nepodarilo z iných dôvodov stypizovať 161 kmeňov. Stypizovalo sa teda 479 kmeňov.

Izolované kmene po preskúšaní na čistotu a po určení ich psychrotolerantnosti sa typizovali systémom podľa Shewana a spol. — 1960. Systém je uvedený na gr. 1. Používali sa nasledovné testy, médiá, pracovné postupy a hodnotenia:



Obr. 1. Typizačné schéma podľa Shewana a spol.

## FARBENIE PODĽA GRAMA

Robilo sa metódou, uvedenou v Raškovi a kol. — 1958.

## FARBENIE BIČÍKOV

Robilo sa metódou podľa Peplera (Manninger — 1960).

## POHYBLIVOSŤ

Pohyblivosť baktérií sa sledovala v natívnom preparáte a bralo sa do úvahy aj farbenie bičiekov.

## KOVACSOV OXYDÁZOVÝ TEST

### MÉDIUM:

mäsopeptónový agar na Petriho miskách.

### REAGENS:

1 ml 1% vodný roztok dimethyl — p — fenyldiamínu

0,5 ml 1% alkoholický roztok alfa — naftolu.

Poznámka: roztoky treba pripraviť vždy čerstvé, vydržia najviac 1 týždeň v chladničke.

### ODČÍTANIE:

na filtračný papier Whatman No I sa naniesie niekoľko kvapiek reagensu a kľučkou trochu 1—2dňovej bakteriálnej kultúry, narastenej pri 28 °C na mäsopeptónovom agare.

+ = modré sfarbenie počas 5—30 sekúnd

X = modré sfarbenie počas 1 minúty.

## TYP VYUŽÍVANIA GLUKÓZY

Metóda popísaná r. 1953 Hughom a Leifsonom je založená na schopnosti mikróba tvoriť kyselinu z glukózy v médiu s nízkym obsahom peptónu buď za aerobných aj anaerobných podmienok — potom ide o fermentatívny spôsob, alebo len za aerobných podmienok — potom ide o oxydatívny spôsob.

### MÉDIUM:

0,2 % Bacto — trypton

0,5 % chlorid sodný

0,03 % sekundárny fosforečnan draselný

0,3 % agar

1,5 % 0,2% vodný roztok brómtymolovej modrej

1,0 % glukózy

pH 7,1; sterilizácia 20 minút pri 115 °C; plní sa do skúmaviek 12 X 120 mm po 5 ml, povrch sa preleje 0,5 cm vrstvou parafínového oleja a očkuje sa vpichom.

Kultivácia: 11 dní pri 28 °C.

### ODČÍTANIE:

+ = žlté zafarbenie najmenej do poloviny média do 3 dní

(+) = žlté zafarbenie do poloviny média od 3 do 11 dní

X = žlté zafarbenie menej ako do poloviny média alebo nejasná zmena indikátora do 11 dní.

## TVORBA FLUORESCÉINU

Používali sa dve médiá: 1. čerstvý rybí alebo mäsopeptonový agar;  
2. médium podľa Georgia a Poeho.

Postup dôkazu fluoresceínu bol v oboch médiách rovnaký.

### MÉDIUM PODĽA GEORGIA A POEHO:

1,12 g síranu horečnatého kryst.

0,5 g sekund. fosforečnan draselný

3,0 g asparagín

pH 7,6; sterilizácia 15 minút pri 115 °C, plní sa do skúmaviek 10 X 120 mm po 3 ml.

Kultivácia: 7 dní pri 28 °C.

Odčítanie: ako fluoresceín bol odčítaný žltozelený až žltavý pigment, rozpustný v médiu a fluoreskujúci v ultrafialovom svetle.

+ = tvorba fluoresceínu výrazná

X = tvorba fluoresceínu nevýrazná až sporná.

Kmene sa typizovali pri teplote inkubácie 28 °C.

Výsledky hodnotenia testov sa zaznačili na nami upravené dierne karty a vyhodnotili bežným spôsobom.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky stypizovania súboru 479 kmeňov gramnegatívnych baktérií sú uvedené v tabuľke I.

I. Stypizovanie súboru 479 bakteriálnych kmeňov systémom podľa Shewana a spol.

| Rod — čelaď               | Počet kmeňov | Tj. % |
|---------------------------|--------------|-------|
| <i>Pseudomonas</i>        | 295          | 61,7  |
| <i>Achromobacter</i>      | 122          | 25,5  |
| <i>Flavobacterium</i>     | 37           | 7,7   |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | 21           | 4,3   |
| <i>Aeromonas</i>          | 2            | 0,4   |
| <i>Vibrio</i>             | 2            | 0,4   |
| Spolu                     | 479          | 100,0 |

Vlastná typizácia psychrotolerantných gramnegatívnych bakteriálnych tyčínok naráža na mnoho špeciálnych problémov, ktorými sa zaoberá celý rad autorov, ako ich v prehľade uvádza Lysenko — 1961, Gilmour — 1937, Sneath — 1961, Shewan — 1949, — 1962, Shewan a spol.

— 1960, — 1960a, Watanabe — 1960, Ingraham a Stokes — 1959 a i. Problémy spočívajú v mnohých nejasnostiach v taxonómii týchto baktérií, v nejednotnosti používaných metodík a kritérií, v neobjasnenej problematike psychrotolerantných baktérií a v množstve vplyvov z prostredia, ktoré môžu pôsobiť na zmeny vlastností a znakov baktérií, atď. Preto sa mohli stať prípady, že jeden a ten istý druh zárodku bol rôznymi autormi inak typizačne zaradený.

Tieto a ďalšie dôvody viedli viacerých autorov (Shewan — 1961, — 1962, Shewan a spol. — 1960, Watanabe — 1960, Hultsch — 1962, a i.) k odporúčaniu, aby sa bakteriálne kmene zaraďovali len do rodov a nie až do druhov v tých prípadoch, ak to nie sú patogenné zárodky alebo ak to nie je z hľadiska posúdenia potravín nutné.

K začleneniu bakteriálnych kmeňov do rodov sa nám systém podľa Shewana a spol. dobre osvedčil. Je to systém zameraný na typizovanie gramnegatívnych tyčín, nepatriacich k enterobaktériám; je pomerne jednoduchý, založený na novších testoch a je prehľadný; nie je veľmi náročný na kvantum používaného skla, chemikálií, prácu a odčítanie výsledkov; je dostačujúci pre účely bežnej bakteriologickej diagnostiky; pri používaní rôznych inkubačných teplôt je ním možné typizovať ako psychrotolerantné, tak i mezofilné zárodky; je ním možné odlišiť jednoduchým spôsobom enterobaktérie od ostatných gramnegatívnych tyčín.

Na základe poznatkov z predchádzajúcich prác (Havelka — 1964) ako i na základe literárnych údajov je možné označiť systém podľa Shewana a spol. za dostatočne spoľahlivý. Porovnávali sme viacej typizačných systémov navzájom pri typizovaní tých istých bakteriálnych kmeňov: ako základný systém podľa Bergey's Manual — 1957, ďalej systém podľa Watanabe — 1960 a systém podľa Shewan a spol. — 1960, s prihliadnutím na systémy v prácach Kauffmann — 1954, Sedlák — 1955, Raška a kol. — 1958, Muzikář — 1958, Sedlák a Rische — 1961, Rhodes — 1958 a Lysenko — 1961. Pritom sme zistili u sty-pizovaných kmeňov vysokú zhodnosť výsledkov ( $96 \pm 2\%$ ).

Ako vyplýva z tabuľky I, typizačným systémom podľa Shewana a spol. je možné typizovať gramnegatívne baktérie, patriace k bežnej mikroflóre rýb. Zistili sme pritom, že viac ako 60 % flóry vyšetrených vzoriek rýb tvorili kmene z rodu *Pseudomonas*. Zloženie flóry nami vyšetrených rýb vcelku odpovedá zloženiu flóry morských rýb, uvedenému v prácach Shewana — 1961, Muzikára — 1958, Noskovej a Peka — 1960, Watanabeho — 1960, Lercheho a spol. — 1957, Svobodu — 1962, a i.

Inkubačná teplota 28 °C pri typizovaní kmeňov sa zvolila preto, že asi 85 % kmeňov súboru bolo psychrotolerantných. Za psychrotolerantné sa považovali kmene, ktoré dobre narástli na tuhých živných pôdach za dobu 7 dní pri teplote 4 °C, ale nerástli pri teplote 42 °C (Havelka — 1964).

Čo sa týka vlastného prevádzania jednotlivých testov, nevyskytli sa žiadne väčšie nezvyčajné ťažkosti. Určité problémy vznikli pri robení nasledovných testov:

- v začiatkových fázach typizovania kmeňov používané farbenie bičiek podľa Leifsona nedávalo uspokojivé výsledky; preto po zistení farbiacej metódy podľa Pepplera sa táto s úspechom používala;
- výsledky oxydázového testu veľmi záviseli od kvality chemikálií a od čerstvosti urobených roztokov;
- vo väčšine prípadov bolo možné nazelenalú fluorescenciu dobre posúdiť na tuhom obyčajnom alebo rybom agare;
- test na spôsob využívania glukózy podľa Hugh a Leifsona bol asi u 80 % kmeňov pozitívny už po 3 dňoch inkubácie; u ostatných kmeňov bolo treba čakať na konečné posúdenie až 11 dní, čo je určitou časovou nevýhodou testu a tým i systému.

Všetky testy boli v predpokusoch preverované na viacerých zbierkových kmeňoch s dobrými výsledkami.

Na základe dosiahnutých výsledkov je možné odporúčať typizačný systém podľa Shewana a spol. — 1960 do bežnej laboratórnej diagnostickej praxe na typizovanie niektorých gramnegatívnych bakteriálnych tyčínok, nepatriacich k enterobaktériám.

## ZÁVER

V práci sú uvedené výsledky typizovania súboru 640 kmeňov gramnegatívnych bakteriálnych tyčínok, prevažne psychrotolerantných a nepatriacich k enterobaktériám. Kmene boli typizované systémom podľa Shewana a spol. — 1960, ktorý je zameraný na tieto baktérie. Kmene boli izolované zo 61 vzoriek morských rýb (tuniak, sleď, treska, palamída a veľryba) rôznej proveniencie.

Diskutuje sa o dosiahnutých výsledkoch. Na základe výsledkov a poznatkov z tejto práce — ako i z našich predchádzajúcich prác a poznatkov z literatúry — možno hodnotiť používaný systém ako vhodný a dostatočne spoľahlivý na typizovanie kmeňov z rodov *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Aeromonas* a *Vibrio*. Diskusia sa uzaviera odporúčaním systému pre účely bežnej laboratórnej diagnostiky najmä na úseku hygieny potravín.

Došlo dňa 14. 11. 1966

## Literatúra

BREED, R. S. - MURRAY, E. G. D. - SMITH, N. R.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore 1957. — GILMOUR, J. S. L.: A taxonomic problem. = „Nature (London)“, 139, 1937: 1040-1042. — HAVELKA, B.: Hygienický význam pôsobenia niektorých psychrotolerantných gramnegatívnych baktérií na rozklad mäsa tuniaka za vzniku histamínu. = Kand. diz. práca, Bratislava, 1964. — HULTSCH, M.: Versuche zur Isolierung von *Pseudomonas*-stämmen aus Lebensmittelprodukten. = „Mh. Vet. Med.“, 17, 1962: 786-788. — INGRAHAM, J. L. - STOKES, J. L.: Psychrophilic bacteria. = „Bact. Rev.“, 23, 1959: 97-108. — KAUFFMANN, F.: *Enterobacteriaceae*. Kopenhagen 1954. — LERCHE, M. - RIEVEL, H. - GOERTLER, V.: *Lehrbuch der Tierärztlichen Lebensmittelüberwachung*. Jena 1957. — LYSENKO, O.: Taxonómie rodu *Pseudomonas*. = Kand. dis. práce, Praha, 1961. — MANNINGER, R.: Allatorvosi bakteriológia immunitásán és általános járványtan. Budapest 1960. — MUZIKÁŘ, V.: Výskyt a hodnocení saprofytické mikroflóry v mořských rybách. = „Průmysl potrav.“, 9, 1958: 7-11. — NOSKOVA, G. L. - PEK, G. J.: *Mikrobiologija choolodilnogo chranenija piščevých produktov*. Moskva 1960. — RAŠKA, K. a kol.: *Mikrobiologické vyšetřovací metody*. Praha 1958. — RHODES, M. E.: The cytology of *Pseudomonas* sp. as revealed by a silver - plating staining method. = „J. Gen. Microbiol.“, 18, 1958: 639-640. — SEDLÁK, J.: *Enterobacteriaceae*. Praha 1955. — SEDLÁK, J. - RISCHE, H.: *Enterobacteriaceae - Infektionen*. Leipzig 1961. — SHEWAN, J. M.: Some bacteriological aspects of handling, processing and distribution of fish. = „J. Roy. Sanit. Inst.“, 59, 1949: 394-421. — SHEWAN, J. M.: *The Microbiology of Sea-Water Fish*. = „Fish as Food“, 1, 1961: 487-544. — SHEWAN, J. M.: The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. = „Recent Advanc. in Food Sci.“, 1962: 167-193. — SHEWAN, J. M. - HOBBS, G. - HODGKISS, W.: The *Pseudomonas* and *Achromobacter* groups of bacteria in the spoilage of marine white fish. = „J. Appl. Bact.“, 23, 1960: 463-468. — SHEWAN, J. M. - HOBBS, G. - HODGKISS, W.: A determinative scheme for the identification of certain genera of gram-negative bacteria,



with special reference to the Pseudomonadaceae. = „J. Appl. Bact.“, 23 (3), 1960/a : 379-390. — SNEATH, P. H. A.: Cultural and biochemical characteristics of the genus *Chromobacterium*. = „J. Gen. Microbiol.“, 15, 1956 : 70. — SVOBODA, J.: Použitelnost některých laboratorních metod k průkazu hygienicky významných změn vznikajících při spracování sledů na marinády a uzenáče. = Kand. dis. práce, Brno, 1962.

#### **K problematice typizace některých gramotričatelných bakterií, ne относящихся к энтеробактериям**

V práci приводятся результаты типизации совокупности 640 штаммов граммотричателных бактериальных палочек, преимущественно психротолерантных и не относящихся к энтеробактериям. Штаммы типизировались системой согласно Шевену и колл. — 1960, которая направлена на эти бактерии. Штаммы были изолированы из 61 образца морских рыб (тунец, сельдь, треска, паламида и кит) разного происхождения.

V práci обсуждаются полученные результаты. На основе результатов и данных настоящей статьи — как и наших предшествующих работ и данных литературы — можно применяемую систему считать пригодной и достаточно надежной для типизации штаммов родов *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Aeromonas* и *Vibrio*. Дискуссия заканчивается рекомендацией системы для целей обычной лабораторной диагностики, главным образом в области гигиены пищевых продуктов.

#### **A Contribution to the Standardization Problem of some Gram-Negative Bacteria not Pertaining to Enterobacteria**

In the study the results of standardizing a group of 645 strains of gram-negative bacterial rods, in the majority psychrotolerant and not pertaining to enterobacteria, are shown. The strains were standardized according to Shewan's et al. (1960) system, which refers to these bacteria. The strains were isolated from 61 samples of sea fish (tunny, herring, cod, palamida, and whale) of different origin.

The results obtained are being discussed. On the basis of the results of this study — as well as on the basis of our preceding studies and information in the literature — it was possible to evaluate the system used as a suitable one and sufficiently reliable for strain standardization of the genera *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Aeromonas*, and *Vibrio* into genera, and strains of Enterobacteria into families. The discussion results in a recommendation of this system for the purposes of common laboratory diagnostics especially in the field of alimentary hygiene.

#### **Beitrag zur Problematik der Typisierung einiger grammnegativer Bakterien, die nicht zu den Enterobakterien gehören**

In der Arbeit werden Ergebnisse der Typisierung einer Kollektion von 640 Stämmen grammnegativer, größtenteils psychrotoleranter Stabbakterien, die nicht zu den Enterobakterien gehören, angeführt. Die Stämme wurden nach dem System von Shewan u. Mitarb. — 1960, das auf diese Bakterien gerichtet ist, typisiert. Die Stämme wurden aus 61 Seefischproben verschiedener Provenienz (Thunfisch, Hering, Dorsch, Palamide und Walfisch) isoliert.

Man diskutiert über die erreichten Ergebnisse. Auf Grund dieser Ergebnisse und Erkenntnisse aus dieser Arbeit (nebst unserer vorangehenden Arbeiten und Literaturangaben) kann man das angewandte System für die Bestimmung der Stäm-

me in die Gattungen *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Aeromonas* und *Vibrio* als geeignet und ausreichend verlässlich an betrachten. Die Diskussion wird mit der Empfehlung des Systems zu Zwecken der gebräuchlichen Labordiagnostik, vor allem auf dem Gebiete der Nahrungsmittelhygiene abgeschlossen.

*Adresa autora:*

MVDr. Božej Havelka, CSc., Ústřední štátní veterinární ústav, odbor speciální diagnostiky, Bratislava, Pri botanickej záhr. 3

**Výběr z nových přírůstků**  
**Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI MZVŽ**  
**na úseku veterinářství**

**World federation for the protection of animals.** B 1.757  
Veterinary sociology: (Veterinary social science). Luton, WFPA 1961. 5 s.  
(Veterinární sociologie — brožury / Ochrana zvířat — sociologické otázky)

**Report on the international transit of animals.** B 1.769  
World federation for the protection of animals. Council of Europe. Consultative assembly. Luton, n. vl. 1. 1960. 4 s., 2. 1961. 10 s. (Jatečná zvířata — doprava — směrnice Světové federace pro ochranu zvířat)

**Use chemicals safety in the production of beef, cattle, swine, sheep.** C 16.185/727  
Washington, U. S. Depart. of agric. 1966. 4. s., obr. PA-727. (Pesticidy veterinární — použití — bezpečnost práce — brožury)  
Šmidt, G. A. D 54.033

**Evolutionäre Ontogenie der Tiere.** Übersetzung. Berlin, Akademie-Verlag 1966. XII-364 s. obr. (Embryologie zvířat / Ontogenie zvířat)  
Freeman, B. M. D 53.676/47

**The effect of cold, noradrenaline and adrenaline upon the oxygen consumption and carbohydrate metabolism of the young fowl (*Gallus domesticus*).** Houghton, Poultry research station 1965. 369—382 s. 8 obr. 6 tb. Repr. from Comp. biochem. physiol. vol. 18. (Kuřata — kyslík — potřeba — chlad — vliv — výzkum / Kuřata — uhlohydráty — látková přeměna — adrenalin — vliv — výzkum / Kuřata — uhlohydráty — látková přeměna — noradrenalin — vliv — výzkum — Anglie)  
Reis, P. J. — Williams, O. B. D 53.101/50

**Variations in the sulphur content of wool from Merino sheep on two semi-arid grasslands.** B. m., Division of animal physiology, CSIRO 1965. S. 1011—20. 4 obr. 1 tb. Aust. j. agric. res., 1965, 16. (Vlna ovčí — síra — obsah — pastviny — vliv — výzkum — Austrálie)  
Neseni, R. — Fiedler, H. D 37.699/1966/17

**Euter, Milchbildung und Milchleistung.** (Souhrn též rus., angl.) Berlin, DALW 1966. 48 s. Fortschrittsberichte für die Landwirtschaft 17. 1966. (Mléko — tvorba — studijní zprávy — NDR)  
Karlsson, B. — Kjellberg, B. D 32.851/73

**Changes in the lactic dehydrogenase isoenzyme pattern of porcine milk throughout the lactation period.** Alnarp, Dairy depart. 1966. 20 s. 4 obr. Report — Milk and dairy research No. 73. (Prasnice — mléko — dehydrogenáza mléčná — isoenzymy — laktace — vliv — výzkum — Švédsko)

■ V rámci komplexního ověřování plodnosti plemenných kanců, ať už při jejich výběru nebo během působení v plemenitbě, má mimořádný význam z hlediska zdravotně diagnostického znalost nejzávažnějších kritérií pro kvalitativní a kvantitativní hodnocení jejich ejakulátů. Závažnost těchto kritérií pak vzrůstá při využívání plemeníků pro inseminaci.

#### LITERÁRNÍ PŘEHLED

Studiem vlastností kančích ejakulátů se zabývala celá řada pracovníků jak z hlediska jejich vztahu k plodnosti plemeníků, tak zejména s aspektem na vhodnost a způsob ředění či konzervace kančího semene pro účely inseminace.

Údaje o průměrných a krajních hodnotách objemu kančích ejakulátů se značně různí podle jednotlivých autorů: Ito (1948) — 225 ml (65—680), Götze (1949) — 50—580 ml, Mann (1954) — 250 ml (150—500 ml), Hansen a Jacobsen (1960) — 225 ml (30—650), Polge (1956) — 200 ml (100—500), Ožin (1959) — 250 ml, Rothe (1962) — 153 ml (30—300). Obdobné hodnoty uvádějí Kvasnickij (1962), Smidt (1962), Sokolovskaja (1962) a Pitkjanen (1964). Průměrnou koncentraci spermií sledoval Kaplan (1964), jenž uvádí, že činila 214 miliónů spermií v jednom ml přefiltrovaného kančího ejakulátu a jako průměrný celkový počet spermií v ejakulátu zjistil 45,335 miliard, s kolísáním od 30 do 60 miliard. Kozumplík (1961) zjistil průměrnou koncentraci spermií v jednom ml kančího ejakulátu 221 miliónů a celkové průměrné množství spermií v ejakulátu 53,6 miliard. Průměrné hodnoty koncentrace spermií v 1 ml kančího semene, uváděné zahraničními autory, kolísají mezi 220—244 milióny, se značně varírujícími krajními hodnotami; totéž platí pro údaje o celkovém počtu spermií v ejakulátu kance, jež např. Aamdal a Högset (1957) uvádějí ve výši 37,6 miliard, stejně tak Willems (1959); Ito et al. (1948) zjistili rozmezí mezi 5,13—142,25 miliard. Hodnota pH kančího ejakulátu je uváděna v literatuře mezi 7,2—7,8; Ito et al. (1948) udává 6,4—7,4, Polge (1956) 7,3—7,9, Karg a Leidl (1959) 7,4—7,6, Kozumplík (1961) zjistil průměrnou hodnotu 7,35, s kolísáním od 7,1 do 7,9. Uvedené hodnoty sledoval v jednotlivých frakcích kančích ejakulátů Hof (1956), Mašek (1964) a další.

Specifické váhy a dalších biofyzikálních vlastností kančích ejakulátů si všímal Niwa (1958), Mac Kenzie et al. (1938). Anderson (1945) uvádí specifickou váhu želatinózní substance (1,03—1,04) tekuté, filtrované složky ejakulátu (1,01—1,02). O želatinózní substancí semene kanců pojednává ve své práci Johari (1956).

Souborných prací z tohoto úseku je u nás poměrně malý počet; tak produkci semene u kanců našeho BU plemene se věnují Mašek (1960, 1964), Kozumplík (1964) a Kaplan (1964). Chceme proto tímto příspěvkem rozšířit poznatky týkající se uvedené problematiky se zaměřením na kritéria užitých hodnot kvality ejakulátů kanců našeho BU plemene.

## MATERIÁL A METODY

Do pokusu bylo zařazeno 13 kanců našeho bílého ušlechtilého (BU) plemene, ve stáří od 1 do 4 roků, ustájených v dřevěných zimních boudách s tvrdým a měkkým výběhem — v objektu VÚVL a krmených podle krmných norem pro plemenné kance. Šlo o plemenníky průměrné chovné hodnoty, nakoupené na nákupních trzích Jihomoravského kraje, udržované v dobré kondici a dobrém zdravotním stavu, bez poruch reprodukčních funkcí.

Vlastní technika odběru semene od kanců pomocí umělé vaginy, umístěné v dřevěném fantomu, odpovídala běžně užívaným postupům. Převážná část ejakulátů byla filtrována už během jejich odběru pomocí filtru, umístěného přímo ve sběrači, při dodržování odpovídajícího tpeelného režimu uvnitř fantomu — v prostoru kolem sběrače. Ejakuláty byly ihned po odběru podrobovány v laboratoři makroskopickým, mikroskopickým, biochemickým, příp. biofyzikálním prověrkám. Koncentrace spermií byla stanovena vždy s použitím Bürkerovy komůrky. Objem ejakulátů byl měřen jednak pomocí kalibrovaných skleněných válců a jednak ve speciálních skleněných, dvouplášťových a kalibrovaných lahvích. Celkem bylo vyšetřeno 824 ejakulátů, odebraných od 13 kanců, s průměrným intervalem mezi odběry 4,2 dne.

## VÝSLEDKY

Na základě sledování byla zjištěna průměrná hodnota objemu ejakulátu 263,92 ml a průměrný počet spermií v celém ejakulátu 39,463 miliard. Hodnoty objemu želatinózní složky ejakulátu, koncentrace spermií v 1 ml semene a krajní hodnoty všech kritérií vyjadřuje tab. I. Pokud jde o motilitu spermií,

### I. Kritéria kvantitativních a kvalitativních hodnot kančích ejakulátů

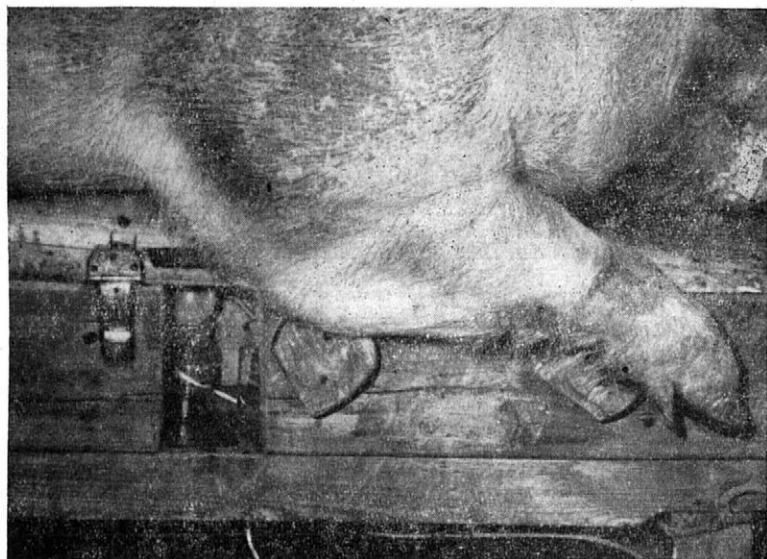
| Vyhodnoceno 824 ejakulátů odebraných od 13 kanců |                  |                 |
|--------------------------------------------------|------------------|-----------------|
| Sledovaná kritéria                               | průměrná hodnota | krajní hodnoty  |
| Objem ejakulátu v ml                             | 263,92           | 35 — 555        |
| Objem filtr. ejakulátu v ml                      | 224,77           | 30 — 455        |
| Objem želatin. složky ejak. v ml                 | 39,15            | 5 — 100         |
| Koncentrace spermií v mil/ml                     | 185,503          | 3,200 — 476,800 |
| Počet spermií v celém ejakulátu v mlrd           | 39,463           | 1,024 — 130,560 |
| pH                                               | 7,38             | 6,5 — 8,0       |

hodnocené pětibodovým systémem, u cca 92 % ejakulátů (z uvedeného počtu) vykazovala hodnotu 5; hodnota 4 se vyskytovala ve 4–6 % případů, hodnota 3 od 1,3–3,7. S ejakuláty s motilitou spermií 2 a 1, resp. 0 jsme se setkali jen velmi sporadicky (v 1,0–1,4 % případů).

Při zjišťování hodnoty pH kančího spermatu bylo používáno jednak indikátorových papírků a kontrolně u části ejakulátů byly ověřovány hodnoty pH rovněž potenciometricky. Získané hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 6,5–8,0 s průměrnou hodnotou pH ejakulátů 7,33 (tab. I). Srovnání metod neprokázalo podstatných rozdílů.

Průměrná specifická váha, propočtená z 69 ejakulátů odebraných od tří dospělých kanců, činila u celého ejakulátu 1,068, s kolísáním od 0,82–1,4, u přefiltrovaného ejakulátu 1,057 – (resp. 0,727–1,375) a u želatinózní složky 1,220 – (resp. 1,012–2,0).

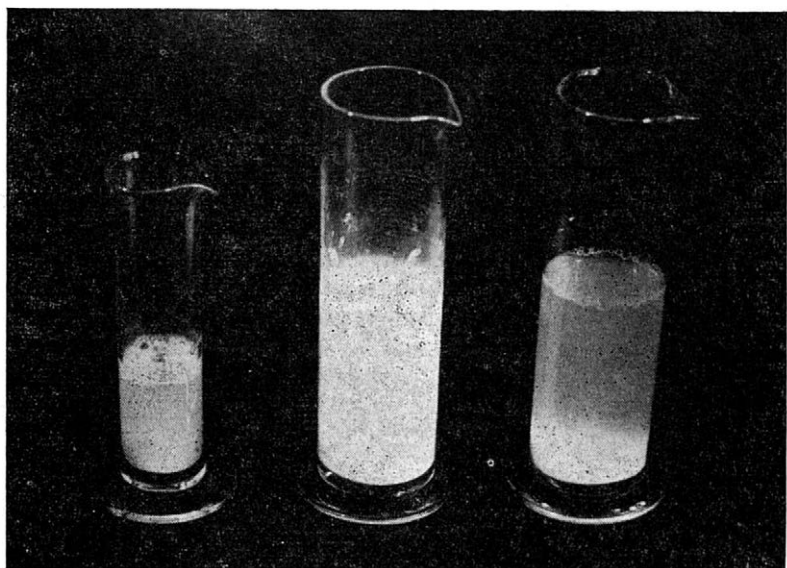
V rámci pokusných sledování byl proveden frakční odběr 45 ejakulátů od 5 kanců s použitím fantomu a vybavení patrného z obr. 1. Otvor vyříznutý na



Obr. 1. Detailní záběr vybavení pro frakční odběr ejakulátu (Foto Brázdilová)

pravé straně fantomu v místě sběrače umožnil výměnu kolektorů pro jednotlivé frakce ejakulátu, jejichž odlišení se dalo výhradně vizuálně. Byly získány 3 frakce: I. — přespermiová — byla vodnatá, bělavé barvy; II. — bohatá na spermie — byla hustší, sytě bílá; III. — pospermiová — byla opět vodnatější, obsahovala nejvíce želatinózní substance a měla bělavý nádech. Jejich vzhledovou rozdílnost vystihuje obr. 2. Se zřetelem na obvyklý objem jednotlivých frakcí a kratší intervaly v ejakulaci mezi nimi bylo možné jejich spolehlivé odebírání. Trvání odběru jednotlivých frakcí ejakulátů, jejich objem, koncentrace spermií a pH, je názorně vyjádřeno v tab. II. Z celkového objemu nefiltrovaného ejakulátu zaujímala I. frakce 5 %, II. frakce 36,6 % a III. frakce pak 58,4 %. Želatinózní substance byla objemově zastoupena nejvíce v III. frakci — 61,5 % a rovnoměrně v I. a II. frakci (19,1 % resp. 19,4 %). Nejvyšší koncentrace spermií byla zjištěna v II. frakci — 66,7 %, oproti 25,4 % ve frakci III. Hodnoty pH od I. do III. frakce činily: 6,7; 7,17 a 7,26.

V rámci pokusu bylo sledováno rozložení četnosti průměrné koncentrace spermií, (vyjádřené v miliardách na 1 ml filtrovaného ejakulátu). Rozložení



Obr. 2. Tři frakce ejakulátu získané po děleném odběru semene od kance (Foto Brázdilová)

#### Základní hodnoty jednotlivých

| Frakce | Trvání odběru |      |        |              | Objem ejak. v ml |      |      |              | Objem filtr. ejak. v ml |      |      |              |
|--------|---------------|------|--------|--------------|------------------|------|------|--------------|-------------------------|------|------|--------------|
|        | prům.         | min. | max.   | % ze 3 frak. | prům.            | min. | max. | % ze 3 frak. | prům.                   | min. | max. | % ze 3 frak. |
| I      | 1' 01"        | 25"  | 2' 30" | 22,9         | 12,14            | 2    | 90   | 5,0          | 9,69                    | 1    | 65   | 4,3          |
| II     | 1' 39"        | 20"  | 2' 45" | 31,5         | 88,25            | 35   | 135  | 36,6         | 83,32                   | 26   | 130  | 37,5         |
| III    | 2' 01"        | 45"  | 4' 11" | 45,6         | 140,65           | 25   | 280  | 58,4         | 129,81                  | 20   | 250  | 58,2         |

#### Rozložení četnosti koncentrace

| Rozmezí v mlrd/ml                     | Do 0,05 | 0,051—0,10 | 0,101—0,150 | 0,151—0,200 |
|---------------------------------------|---------|------------|-------------|-------------|
| Počet případů                         | 2       | 38         | 129         | 211         |
| % podíl                               | 0,3     | 5,9        | 20,3        | 33,2        |
| Průměrný objem ejak. v ml             | 260     | 310        | 284         | 266         |
| Průměrný počet spermií v ejak. v mlrd | 14,1    | 32,15      | 38,11       | 47,36       |



četnosti koncentrace spermií v 637 ejakulátech získaných od 9 kanců BU plemene je vyjádřeno v tab. III, spolu s údaji o průměrných hodnotách objemu ejakulátů a celkového počtu spermií v nich. Vyplyvá z ní skutečnost, že největší počet ejakulátů je soustředěn do průměrné koncentrace spermií od 0,151 do 0,200 miliard, což vyjádřeno v % činí 33,2, resp. do rozmezí od 0,201 do 0,250 miliard (20,6 %). Obě skupiny zahrnují tedy 53,8 %, tj. více než polovinu ejakulátů. Průměrnou koncentraci 0,101–0,150 miliard mělo 20,3 % ejakulátů a v rozmezí od 0,251 do 0,300 miliard spermií bylo zastoupeno 12,2 % ejakulátů. Vzhledem ke skutečnosti, že skupiny ejakulátů z koncentrací spermií od 0,151–0,250 miliard v 1 ml filtrovaného semene zahrnují přes polovinu všech ejakulátů, sestavili jsme pro hodnocení koncentrace semene u kanců našeho BU plemene následující stupnici:

| označení hustoty<br>semene | zkratka | koncentrace spermií v 1 ml filtr.<br>semene v miliardách |
|----------------------------|---------|----------------------------------------------------------|
| řídke                      | Ř       | pod 0,100                                                |
| středně husté              | S       | 0,101–0,150                                              |
| husté                      | H       | 0,151–0,250                                              |
| velmi husté                | VH      | nad 0,251                                                |

Z údajů v tab. III je patrné, že průměrné hodnoty objemu ejakulátů se od sebe nijak významně nelišily u skupin nejpočetnějších, tj. u ejakulátů středně hustých, hustých a velmi hustých. Celkový průměrný počet spermií v celém

#### frakcí kančích ejakulátů

| Objem želat. slož. v ml |      |      |                    | Koncentrace spermií v ml/ml |      |       |                    | pH    |      |      |
|-------------------------|------|------|--------------------|-----------------------------|------|-------|--------------------|-------|------|------|
| prům.                   | min. | max. | %<br>ze 3<br>frak. | prům.                       | min. | max.  | %<br>ze 3<br>frak. | prům. | min. | max. |
| 6,67                    | 1    | 25   | 19,1               | 41,5                        | 0    | 91,5  | 7,9                | 6,70  | 6,5  | 7,5  |
| 6,79                    | 0    | 15   | 19,4               | 347,7                       | 96,0 | 412,8 | 66,7               | 7,17  | 6,9  | 7,7  |
| 21,47                   | 5    | 100  | 61,5               | 132,7                       | 16,0 | 230,0 | 25,4               | 7,26  | 6,9  | 7,8  |

#### spermií kančích ejakulátů

| 0,201–0,250 | 0,251–0,300 | 0,301–0,350 | 0,351 a více | Celkem |
|-------------|-------------|-------------|--------------|--------|
| 131         | 78          | 34          | 14           | 637    |
| 20,6        | 12,2        | 5,3         | 2,2          | 100 %  |
| 235         | 241         | 226         | 224          |        |
| 54,11       | 66,66       | 70,16       | 83,24        |        |

ejakulátu je proto v přímé závislosti na koncentraci a objemu kančích ejakulátů a jeho hodnoty se pohybují u středně hustých ejakulátů v průměru kolem 38 mlrd spermií, u hustých ejakulátů kolem 51 mlrd a u velmi hustých ejakulátů kolem 72 mlrd spermií.

Sledování četnosti průměrné koncentrace spermií v ejakulátech 4 kanců BU plemene, stejného stáří a se stejnou frekvencí odběru semene, ukázalo zajímavé individuální rozdíly. U dvou kanců s průměrnou plodností bylo rozložení četnosti koncentrace spermií v ejakulátech obdobné hodnotám uvedeným v tab. III — (jako průměrné); u kance s nejnižší plodností zaujímaly ejakuláty s koncentrací spermií od 0,151 do 0,200 miliard spermií v 1 ml semene 45,3 % a ejakuláty v další nepočetnější skupině, tj. s koncentrací od 0,101—0,150 mlrd spermií, pak 29,5 %. Naproti tomu čtvrtý plemeník, s nejvyšší plodností, měl průměrnou koncentraci spermií zastoupenou nepočetněji ve vyšších rozmezích; 28,1 % jeho ejakulátů spadalo do rozmezí od 0,251 do 0,300 mlrd spermií a 23,9 % ejakulátů pak do rozmezí koncentrace spermií od 0,301 do 0,350 miliard. Nutno také uvést, že průměrné objemy ejakulátů uvedených 4 plemeníků se od sebe nijak podstatně nelišily; u kance s nejvyšší plodností šlo o 221 ml, u kanců s průměrnou plodností o 253 resp. 213 ml a u kance s nejnižší plodností o 271 ml. Celkový počet spermií v celém ejakulátu byl nejvyšší u kance s nejlepší plodností, tj. v průměru 64,75 mlrd, u plemeníků s průměrnou plodností činil v průměru 57 resp. 51,6 mlrd a u kance s nejnižší plodností pak 43,9 mlrd spermií.

## DISKUSE

Námi získané hodnoty kančích ejakulátů ukazují při srovnání s údaji jiných autorů, že i naše hodnoty — byť v podstatě obdobné — kolísají jak u jednotlivých kanců, tak pokud se týká jejich krajních hodnot (po jejich celkové sumarizaci). Při porovnání např. průměrné koncentrace spermií v 1 ml přefiltrovaného ejakulátu (v milionech) a celkového počtu spermií v celém ejakulátu (v miliardách) udávaných Kaplanem (1964) jako 214 resp. 45,335 a Kozumplíkem (1961) jako 221 resp. 53,6 musíme konstatovat, že jsme dosáhli nižších průměrných hodnot, tj. konkrétně 185 resp. 39,463. Námi zjištěná průměrná hodnota pH filtrovaného kančího semene — 7,38 se shoduje s výsledky většiny jiných autorů; při srovnávání zkušeností a výsledků měření pH jsme dospěli k obdobným poznatkům a závěrům jako Kozumplík (1961). Srovnáme-li námi zjištěné specifické váhy nefiltrovaného ejakulátu (1,068), filtrovaného ejakulátu (1,057) a jeho želatinózní složky (1,22) s výsledky Ito et al. (1948), jenž zjistil specifickou váhu celého semene v rozmezí 1,0075—1,025, nebo s výsledky Mac Kenzieho et al. (1938), který zjistil specifickou váhu u tekuté složky ejakulátu 1,01—1,02 a u želatinózní substance 1,03—1,04, pak nutno konstatovat, že jsme dospěli k poněkud vyšším hodnotám.

Sledované hodnoty jednotlivých frakcí kančích ejakulátů, vyjádřené v tab. II, se při srovnání s výsledky pozorování Maška (1964) liší a to zejména u hodnot první frakce ejakulátu, což možno případně vysvětlit postupem při získávání a rozlišování jednotlivých frakcí (a především první a druhé). V jeho případě šlo o hodnocení 35 ejakulátů dvou kanců, v našem případě však 34 ejakulátů od 5 kanců. V tomto směru nutno upozornit na individuální vlastnosti jednotlivých plemeníků projevující se nezřídka i na průběhu ejakulace a konkrétně na trvání případně i opakování jednotlivých frakcí (Derivaux — 1959); někteří autoři rozdělují kan-

ce dokonce na 5 typů podle počtu ejakulačních vln (Ito et al. — 1948). Aamdal et al. (1959) uvádějí např., že mezi frakcemi není zřetelných hranic. Mašek (1964) zjistil průměrné pH nejnižší u první frakce (7,04), stejně jako my (6,70), a u druhé a třetí frakce 7,13 resp. 7,27; v našem případě 7,17 a 7,26. Naproti tomu Hof (1956) uvádí pro první frakci hodnotu pH 8, pro druhou frakci 7,4—7,8 a pro třetí 7,8—8,2.

Námi zjištěné rozložení koncentrace spermií u ejakulátů kanců našeho BU plemene je rozdílné oproti údajům Kvasnického a spol. (1962) především ve vyšším podílu ejakulátů s vyšší koncentrací spermií u našich plemenů. Naproti tomu se shodují nebo značně přibližují naše zjištění výsledkům pozorování Kaplan a (1964), především pak v rozmezí koncentrace spermií od 0,101—0,150 a 0,201—0,250 miliard; v rozmezí od 0,151—0,200 mld spermií jsme zjistili 33,2 % ejakulátů oproti 25,88 % u Kaplan a. V této souvislosti nutno však uvést, že rozdíly mezi našimi a zahraničními zjištěními mohou být do určité míry ovlivněny i plemennou příslušností zvířat.

Námi sestavená klasifikační stupnice pro hodnocení koncentrace semene u kanců vystihuje objektivní skutečnost v rozložení koncentrace spermií v ejakulátech kanců a především pak okolnost, že převážná, tj. nadpoloviční část ejakulátů u kanců s ověřenou normální, tj. dobrou plodností je hodnocena označením H, tj. jako husté. Toto označení považujeme za logičtější než dosud u nás používaný a ze zahraničních pramenů převzatý způsob hodnocení hustoty kančích ejakulátů a doporučujeme jeho širší i praktické zavedení. Při celkovém posouzení ejakulátu je nezbytné nutné, zejména u kanců používaných pro inseminaci, brát vždy v úvahu vedle uvedeného kritéria, tj. koncentrace spermií, také objem ejakulátu a jako jejich výslednici pak celkový počet spermií v celém ejakulátu. Rovněž nelze opomenout otázku plemenné příslušnosti kance, jeho stáří a možnost individuálního kolísání s ohledem na jeho celkový zdravotní a výživný stav; u plemenů využívaných k inseminaci pak svou roli hraje v tomto případě i jejich nervový typ (zejména při návyku na fantom a umělou vaginu).

## SOUHRN

Vyhodnocení sledovaných kvantitativních a kvalitativních kritérií u 824 ejakulátů, odebraných od 13 kanců našeho BU plemene, určilo následující průměrné hodnoty: objem ejakulátu 263,92 ml, počet spermií v celém ejakulátu 39,463 miliard, pH 7,38. Průměrná specifická váha (z 69 ejakulátů) činila 1,068 u nefiltrovaného, 1,057 u filtrovaného ejakulátu a 1,22 u želatinózní substance.

Dělením odběrem 45 ejakulátů od 5 kanců byly získány následující průměrné hodnoty tří jejich jednotlivých frakcí: I. objem celkový 12,14 ml, objem po filtraci 9,69 ml, koncentrace spermií 41,5 milionů/ml, pH 6,7; II. — objem celkový 88,25 ml, objem po filtraci 83,32 ml, koncentrace spermií 347,7 milionů/ml, pH 7,17; III. — objem celkový 140,65 ml, objem po filtraci 129,81 ml, koncentrace spermií 132,7 milionů/ml, pH 7,26.

Vzhledem k přímé závislosti mezi koncentrací spermií v 1 ml ejakulátu, jeho objemem a celkovým počtem spermií v něm, možno a nutno používat koncentraci spermií v 1 ml kančího ejakulátu jako závažné hodnotící kvalitativní kritérium.

Na základě šetření o rozložení četnosti koncentrace spermií (637 ejakulátů od 9 kanců) se pak navrhuje hodnotit hustotu ejakulátů kanců našeho BU plemene pomocí následující klasifikační stupnice: ejakuláty s koncentrací spermií v 1 ml filtrovaného semene pod 0,100 miliard označit jako řídké — Ř, ejakuláty s koncentrací spermií od 0,101 do 0,150 miliard jako středně husté — S, ejakuláty s koncentrací spermií od 0,151 do 0,250 miliard jako husté — H a ejakuláty s koncentrací spermií nad 0,251 miliard jako velmi husté — VH.

Došlo dne 13. 1. 1967

Technická spolupráce: Jiří Kotas a Ludmila Zavřelová.

## Literatura

1. AAMDAL, J. - HÖGSET, I.: Artificial insemination in swine. = „J. Am. Vet. Med. Ass.“, 131, 1957: 59-64. — 2. AAMDAL, J.: Artificial insemination of pigs in Norway. = „Ann. Zootechnie“, Ser. D, 1959: 7-13. — 3. ANDERSON, J.: The semen of animals and use for artificial insemination Edinburg, 1945. — 4. DERIVAUX, J.: L'insem. artif. porcine. = „Ann. de Med. Vet.“, 6, 1959: 369. — 5. GÖTZE, R.: Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere. = Verlag M. & H. Schaper, Hannover, 1949. — 6. HANSEN, L. H. - JAKOBSEN, K. F.: Forsek Med. brunstfremkaldende midler til svin. = „Aarsberetn. Inst. Sterilitetsforsk. K. vet.-og. Lendbohghsk.“, 1960: 283-292. — 7. HOF, H.: Die künstliche Besamung des Schweines im Schrifttum. = „Diss.“, 1956. — 8. ITO, S. - NIWA, T. - KUDO, A.: Studies on the artif. insem. in swine. I. On the method of collection of semen and the condit. of ejaculation. = „Zoot. Exptl. Sta. Bull.“, 55, 1948: 1-15. — 9. JOHARI, N. P.: The gel mass in the semen of the boar. = „Vet. Rec.“, 68, 1956: 158-163. — 10. KAPLAN, F.: Produkce semene u kanců BU plemene. = „Živ. výr.“, 9, 1964: 191-200. — 11. KARG, H. - LEIDL, W.: Untersuchungen über die Zusammensetzung von Schweinesperma. = „Zuchthygiene“, 3, 1959: 237. — 12. MCKENZIE, F. F. - MILLER, J. C. - BAUGUESS, L. C.: The reproductive organs and semen of the boar. „Mo. Agr. Exp. Res. Bull.“, 279, 1938: 122. — 13. KOZUMPLÍK, J.: Inseminace prasat. = „Kand. dis. práce“, 1961. — 14. KOZUMPLÍK, J.: Spermogram kanců s poruchami plodnosti. = „Habil. práce vet. fak.“, 1964. — 15. KVASNICKIJ, A. V. - KOŇUCHOVÁ, V. A. - KOŇUCHOVÁ, L. A.: Umělé osemenování prasnic (frakční metoda). = „SZN“, 1962. — 16. MANN, T.: The biochemistry of Semen, Methuen, London, 1954. — 17. MAŠEK, N.: Příspěvek k nové technice odběru ejakulátu kanců a k studiu některých vlivů na biologii spermií. = „Dis. práce“, Brno, 1960. — 18. MAŠEK, N.: Příspěvek ke studiu některých kvant. a kvalit. vlast. ejakulátů kanců. = „Habilit. práce“, Brno, 1964. — 19. NIWA, T.: Artif. insem. with swine in Japan. = „Ed. Net. Inst. Agr. Sci., Chiba-city, Japan.“, 1958. — 20. OŽIN, F. V. - RODIN, I. I. - PARŠUTIN, G. V. - SKATKIN, N. P. - ŠERGIN, N. P.: Iskusst. osem. seľskochoz. život., Moskva, 1959. — 21. PITKJANEN, I. G.: Biologie rozmnožování prasat. = „Habilit. práce, Leningrad“, 1964. — 22. PODANÝ, J.: Příspěvek k inseminaci prasat. = „5 mez. kongr., Trento“, 4, 1964: 562-565. — 23. POLGE, C.: Artif. insem. in pigs. = „Vet. Rec.“, 68, 1956: 62-76. — 24. PRIBYL A kol. aut.: Inseminace hosp. zvíř., SPN Praha, 1963. — 25. ROTHE, K.: Beitrag z. Verbess. d. Konservier. u. d. Transportfähigkeit des Spermas. = „Zuchthyg.“, 1962: 303-304. — 26. SMIDT, D.: Sexuelpotenz und Fruchtbarkeit beim Schwein. = BLV-Verlagsg.: München 1962. — 27. SOKOLOVSKAJA, I. I.: Iskusstvennoe osemenenie sviněj. = „Selchoziz“, Moskva 1962. — 28. WILLEMS, C. N.: K. I. bij varkens. = „Tijdschr. Diergenesk.“, 84, 1959: 208.

## Изучение критериев основных показателей качества эякулятов хряков

Оценка изучаемых количественных и качественных критериев у 824 эякулятов, взятых от 13 хряков нашей белой улучшенной породы, дала следующие средние показатели: объем эякулята 263,92 мл, количество сперматозоидов в общем эякуляте 39,463 млрд, pH 7,38. Средний удельный вес (из 69 эякулятов) составлял 1,068 у нефiltroванного, 1,057 у фильтрованного эякулята и 1,22 у желатинозной субстанции.)

В результате раздельного отбора 45 эякулятов от 5 хряков были получены следующие средние показатели трех их отдельных фракций:

- I — Объем общий 12,14 мл, объем после фильтрации 9,69 мл, концентрация сперматозоидов 41,5 млн/мл, pH 6,7;
- II — Объем общий 88,25 мл, объем после фильтрации 83,32 мл, концентрация сперматозоидов 347,7 млн/мл, pH 7,17;
- III — Объем общий 140,65 мл, объем после фильтрации 129,81 мл, концентрация сперматозоидов 132,7 млн/мл, pH 7,26

Учитывая прямую зависимость между концентрацией сперматозоидов в 1 мл эякулята, его объемом и общим числом содержащихся в нем сперматозоидов, можно и нужно применять концентрацию сперматозоидов в 1 мл эякулята хряка в качестве важного оценочного критерия.

На основе обследования распределения частоты концентрации сперматозоидов (637 эякулятов от 9 хряков) рекомендуется оценивать густоту эякулята хряков нашей белой улучшенной породы при помощи следующей классификационной шкалы: эякуляты с концентрацией сперматозоидов в 1 мл фильтрованного семени ниже 0,100 млрд, считать жидкими — Ж, эякуляты с концентрацией сперматозоидов от 0,101 до 0,150 млрд — среднегустыми — С, эякуляты с концентрацией сперматозоидов от 0,151 до 0,250 млрд — густыми — Г и эякуляты с концентрацией сперматозоидов свыше 0,251 млрд очень густыми — ОГ.

### **A Study of the Criteria of the Basal Quality Values of Boar's Ejaculate**

The study of the quantitative and qualitative criteria in 824 ejaculates from 13 boars of our Large White breed showed the following average values: the volume was 263,92 ml, the number of spermatozoa in the whole ejaculate 39.463 milliard, pH-7.38. The average specific weight (of 69 ejaculates) was 1.068 in non-filtered ejaculate and 1.22 in gelatine substance.

By means of divided collection of 45 ejaculates from 5 boars the following average values of three single fractions were obtained:

I. Total volume 12.14 ml, volume after filtration 9.69 ml, concentration of spermatozoa 41.5 million/ml, pH 6.7;

II. Total volume 88.25 ml, volume after filtration 83.32 ml, spermatozoa concentration 347.7 million/ml, pH 7.17;

III. Total volume 140.65 ml, volume after filtration 129.81 ml, spermatozoa concentration 132.7 million/ml, pH 7.26.

With regard to the direct dependence of the spermatozoa concentration in 1 ml of ejaculate, to its volume and to its total spermatozoa number, it is possible as well as necessary to use the concentration of spermatozoa in 1 ml of boar ejaculate as an important evaluating qualitative criterion. As a result of our study on the spermatozoa concentration (637 ejaculates of 9 boars) we propose to evaluate the density of boar ejaculates (of our Large White breed) with the aid of the following classification scale:

Ejaculates with a spermatozoa concentration in 1 ml of filtrated ejaculate of below 0.1000 milliard to indicate as thin (T), sperm with a spermatozoa concentration of from 0.101 to 0.150 milliard as medium dense (MD), sperm with a spermatozoa concentration of from 0.151 to 0.250 milliard as dense (D) and sperm with a spermatozoa concentration of above 0.251 milliard as very dense (VD).

### **Studium der Kriterien der Grundwerte der Qualität der Eberjakulate**

Durch die Auswertung der verfolgten quantitativen und qualitativen Kriterien bei 824 Ejakulaten, die von 13 Ebern unseren Weißen Edelschweines entnommen wurden, konnten folgende Durchschnittswerte festgelegt werden: Ejakulat-Volumen 263,92 ml, Anzahl der Spermien im gesamten Ejakulat 39,463 Mld., pH-Wert 7,38. Das durchschnittliche spezifische Gewicht (von 69 Ejakulaten) betrug 1,068 beim unfiltrierten, 1,057 beim filtrierten Ejakulat und 1,22 bei der Gelatinesubstanz.

Durch geteilte Entnahme von 45 Ejakulaten von 5 Ebern gewann man folgende Durchschnittswerte ihrer drei einzelnen Fraktionen:

I. — Gesamtvolumen 12,14 ml, Volumen nach der Filtration 9,69 ml, Spermienkonzentration 41,5 Millionen/ml, pH-Wert 6,7;

II. — Gesamtvolumen 88,25 ml, Volumen nach der Filtration 83,32 ml, Spermienkonzentration 347,7 Millionen/ml, pH-Wert 7,17;

III. — Gesamtvolumen 140,65 ml, Volumen nach der Filtration 129,81 ml, Spermienkonzentration 132,7 Millionen/ml, pH-Wert 7,26.

Mit Rücksicht auf die direkte Abhängigkeit zwischen der Konzentration der Spermien in 1 ml Ejakulat, seinem Volumen und der gesamten Spermienzahl desselben besteht die Möglichkeit und die Notwendigkeit der Anwendung der Spermienkonzentration in 1 ml des Eberjakulates als eines wichtigen wertenden qualitativen Kriteriums.

Auf Grund der Untersuchung der Verteilung der Häufigkeit der Spermienkonzentration (637 Ejakulate von 9 Ebern) wird vorgeschlagen, die Dickflüssigkeit des Ejakulates der Eber unseres weißen Edelschweines mittels folgender Klassifi-



kationsskala zu bewerten: Ejakulate mit einer Spermienkonzentration in 1 ml filtrierten Samens unter 0,100 Mld sind als dünn (R), Ejakulate mit einer Spermienkonzentration von 0,101 bis 0,150 Mld als mitteldicht (S), Ejakulate mit einer Spermienkonzentration von 0,151 bis 0,250 Mld. als dicht (H) und Ejakulate mit einer Spermienkonzentration über 0,251 Mld. als sehr dicht (VH) zu bezeichnen.

*Adresa autorů:*

MVDr. Jan Podaný, CSc., ing. Jaroslav Muzikant, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno-Medlánky

**Výběr z nových přírůstků  
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI MZVŽ  
na úseku veterinářství**

Lattaueur, J. P. D 53.101/148

**Cobalt deficiencies and sub-deficiencies in ruminants.** Brussels, Centre d'information du cobalt 1962. 48 s. 2 bar. obr. tab. (Převýkavci — nemoci z nedostatku výživy — kobalt — výzkum — Belgie)

Artemičev, M. A. E 32.006

**Recepturnyj spravocnik po boleznam ptic.** Moskva, Kolos 1966. 151 s. (Drůbež — nemoci — příručky)

**Atti del 3<sup>o</sup> Convegno di patologia aviare.** D 54.170/1964/2

Varese, Camera di commercio industria e agricoltura 1964. 103 s. Gironate avicole Varesine 18—22 giugne 1964, fasc. 2. (Drůbež — nemoci — konference — Itálie — 3. (1964) — Varese — sborníky)

Howell, D. G. C 16.977/92

**Principles of immunisation in animals and man.** A review of some immunological problems associated with veterinary preventive medicine. Greenford, Glaxo lab. 1965. 7 s. Repr. from veterinary record (1965) 77, 1391—1395. (Veterinární imunologie / Vakcíny — veterinářství — použití — brožury)

Wallace A. L. C. — Sobey, W. R. C 16.977/128

**Immunological studies of a bovine growth hormone preparation.** Melbourne, S. C. I. R. O. 1965. 321—327 s., obr. 2 tb. 2 příl. (Hormonální přípravky růstové — výroba — výzkum imunologický — skot)

**Losses of pigs due to toxic gases from sludge.** C 17.610/54

Aberdeen, The North of Scotland college of agric. — Farm buildings depart. 1965. 3 s. (Prase — plyny z hnoje — jedovaté účinky — ochrana — brožury)

**Manual of livestock ticks for animal disease** C 12.925/91-49

**eradication division personnel.** Washington, U. S. Depart. of agric. 1965. 78 s. 142 obr. ARS 91-49. (Veterinární parasitologie — cizopasnici vnější — klišatovití — systematika — příručky)

**Gelminty životnych Kirgizii i sopredelnych** D 54.163

**territorij.** Frunze, Ilim 1966. 151 s. obr. tb. AN Kirg. SSR. Inst. biologii. (Helminthosy — sborníky — SSSR)

Clarke, J. N. D 53.676/67

**Methods of lamb castration.** Wellington, New Zealand depart. of agric. 1965. 7 s. 4 obr. Repr. from the Proc. of the Ruskura farmers' conference week 1965. (Kastrace — jehňata — metody — srovnání — výzkum — Nový Zéland)

Brännäng, E. — Sundgren, P. E. — Skärman, S. D 39.343/65



■ Druhá příslušnost ozářeného zvířete ovlivňuje nejen velikost použité dávky při stanovení biologického účinku záření, ale i morfologické nálezy na některých orgánech. Tato skutečnost je patrna především při srovnání intenzity hemoragického syndromu u jednotlivých druhů pokusných zvířat, a vystupuje také do popředí různým charakterem hypobiotických změn na jednotlivých orgánech a tkáních ozářeného organismu.

#### LITERÁRNÍ PŘEHLED

První zprávy o použití koz jako pokusných zvířat k testování účinků pronikavé radiace podávají Tullis a Warren (1947), kteří nenašli nápadné rozdíly v pitevních nálezech uhynulých koz a prasat. Zvířata hynula za příznaků rozvinuté hemoragické diatézy a hypobiotických změn na zažívacích. Na vcelku obdobné nálezy u telat ozářených gama paprsky upozorňují Rosenfeld (1958), Schulze a j. (1959), u koz pak Hayashi a Miyao (1963), u ovcí Jegorov a Kamalov (1965), kteří podobně jako Zícha a Pospíšil (1965) pozorovali zvláště výraznou epilaci rouna. Tato nebyla u ostatních druhů zvířat ve větší míře zjištěna.

Na druhové rozdíly v intenzitě makroskopicky zjištělné hemoragické diatézy upozornil Mole (1953). Mikroskopicky zjistili nekrobiotické změny v parenchymatózních orgánech ve své obsáhlé klinickopatologické studii na kozách ozářených gama paprsky nebo neutrony Edmondson a Batchelor (1966).

#### MATERIÁL A METODIKA

Jako materiál k patomorfologickému vyšetření sloužily dvě skupiny koz ve stáří dvou až sedmi let, uhynulých případně poražených v různou dobu od ozáření letální dávkou gama paprsky.

Zvířata byla ozařována celotělově na gama poli se zdrojem  $\text{Co}^{60}$ , s přílivem 140r za hodinu. Kozy byly po dobu ozařování fixovány v kleci, aby jim byla znemožněna změna polohy vůči zdroji. Dávka byla aplikována na laterální plochu stojícího zvířete. Vždy po exponování polovinou celkové dávky byla klec se zvířetem otočena a druhou polovinou dávky bylo ozařováno zvíře z dříve odvrácené strany.

\*) Předneseno na 17. celostátní konferenci patologických anatomů, sekce Čs. lékařské společnosti J. E. Purkyně 14. října 1965 v Praze.

Dělení do dvou skupin bylo provedeno vzhledem k velikosti použité dávky a tím i ke klinickému průběhu nemoci z ozáření.

1. Skupina koz s perakutním průběhem onemocnění po dávce 1600r nebo 1200r — (k hynutí docházelo od 4. do 8. dne po expozici; do skupiny bylo zařazeno 5 zvířat).
2. Skupina koz s akutním průběhem onemocnění po dávce 700r (k hynutí docházelo 10.—30. den; do skupiny bylo zařazeno 6 zvířat).

Zvířata byla pitvána bezprostředně po uhynutí, nebo se zpožděním několika hodin. Tři zvířata z druhé skupiny byla ke konci sledovaného období — kolem 30. dne poražena. Pro histologické vyšetření byly odebrány slezina, mízní uzliny submandibulární, cervikální superficiální a mezenterální, játra a ledvina. Vzorky byly zality do parafinu a barveny přehledně hematoxylinem — eozinem; barvení na tuk z mražených řezů bylo prováděno šarlachovou červení a ledviny kromě toho byly barveny na hyalinová granula.

## VÝSLEDKY

### A. PATOANATOMICKÉ VYŠETŘENÍ

Pitvou ozářených zvířat byly zjištěny změny charakteristické pro akutní a perakutní průběh nemoci z ozáření. Všeobecně možno říci, že stupeň rozvinutí makroskopicky zjištěných změn, především rozsahu a intenzity projevů hemoragické diatézy byl většinou nepřímo závislý na výši absorbované dávky pronikavé radiace.

#### 1. SKUPINA ZVÍŘAT — DÁVKY 1600 A 1200 R, PERAKUTNÍ PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ

Pitvaná zvířata byla většinou ve zhoršené výživné kondici s ojedinělými projevy hemoragické diatézy na dásních a ventrální ploše jazyka, na viscerální ploše sleziny, pod pleurou kostální a pulmonální. Dále jsme pozorovali ojedinělé hemoragie pod peritoneem stěny břišní, na sliznici slezu a v regionálních mízních uzlinách. Poměrně častější byly projevy krvácivosti pod epikardem. Ostatní orgány a tkáně nevykazovaly nápadnější makroskopické změny.

#### 2. SKUPINA — ZVÍŘATA OZÁŘENÁ DÁVKOU 700 R — AKUTNÍ PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ

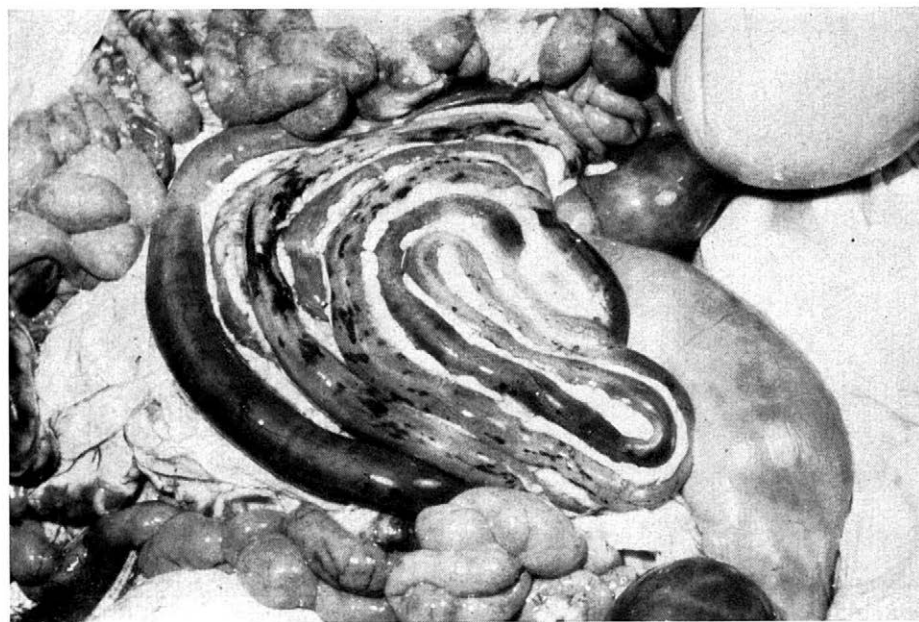
Kozy byly většinou vyhublé, s projevy ložiskové epilace srsti, zejména na hlavě, boku a hřbetu. Projevy hemoragické diatézy jsme pozorovali na spojivce a dásních i když ne příliš často. Na měkkých částech hlavy a v mezisaniči jsme nacházeli poměrně výrazné otoky vzniklé serózní a částečně i hemoragickou infiltrací podkoží.

V podkoží bylo dále pozorováno větší množství serózní, načervenalé tekutiny s lokalizací na ventrální spodině těla. Na vnitřní ploše kůže se vyskytovaly hemoragie, ojediněle i rozsáhlejší krevní výlevy a to především na spodině břišní a v okolí kloubů.

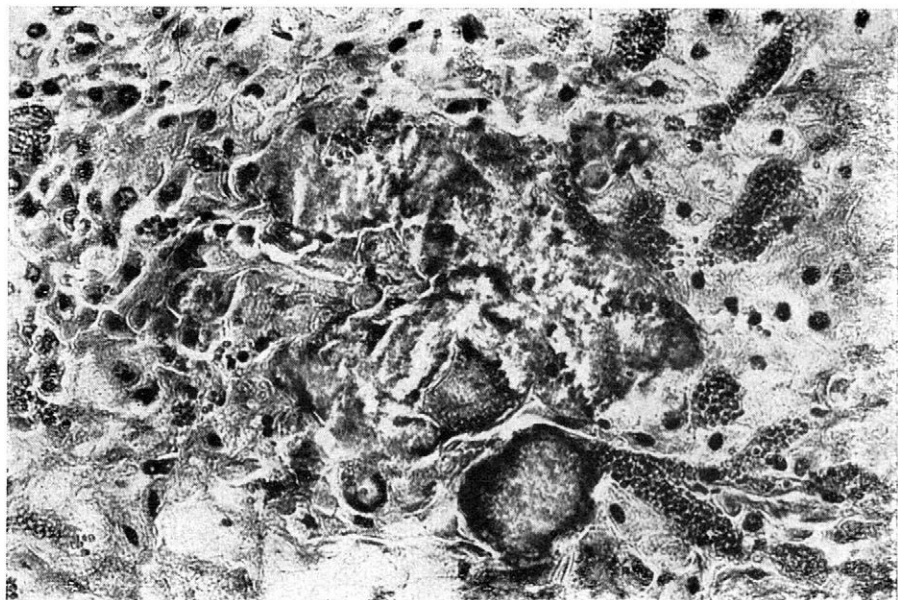
Mízní uzliny byly většinou výrazně zvětšené, hemoragicky a edematózně prosáklé. U některých zvířat pitvaných kolem 30. dne po ozáření byly mízní uzliny již bez zjevných makroskopických změn. Na stěnách dutiny hrudní a břišní byly projevy hemoragické diatézy nejvýraznější. Pod pleurou kostální jsme nacházeli hemoragie různé velikosti a lokalizace. Byly pozorovány i rozsáhlejší krevní výlevy. Četnými petechiemi byla poseta bránice



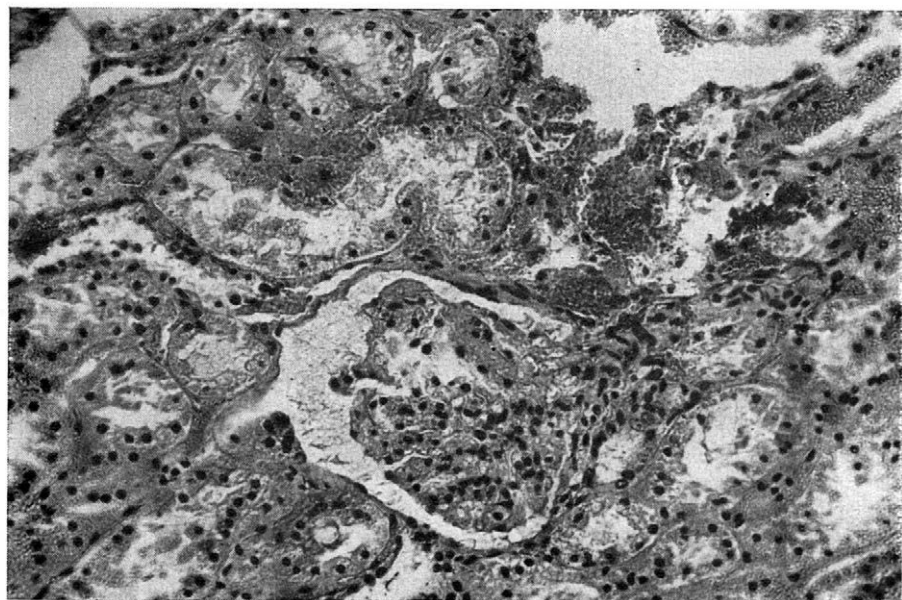
1. Koza uhynulá 10. den po ozáření dávkou 700 r — výrazné hemoragie pod endokardem levé srdeční komory.



2. Koza uhynulá 12. den po ozáření dávkou 700 r — pohled na četné hemoragie pod serózou zažívacího traktu.



3. Koza ozářená dávkou 1200 r — uhynulá 8. den po ozáření — játra — nekrobiotické ložisko se shluky bakterií (obj. 20, proj. K 4 : 1)



4. Koza poražená 28. den po ozáření dávkou 700 r — ledvina — výrazné dystrofické změny na epitelu vývodných kanálků, hemoragie, edém Bowmanova pouzdra (obj. 20, proj. K 4 : 1)

a serózy dutiny břišní včetně střev. V dutině hrudní bylo nejvýrazněji změněno srdce, menší rozsah krvácení byl pak pozorován na plicích. Srdce bylo vždy výrazně dilatováno s výraznými hemoragiemi na epikardu zejména v okolí koronárních a při výstupu velkých cév. Hemoragie byly méně časté pod endokardem na intimě velkých cév a v hloubce svaloviny srdeční.

Slezina byla ve většině případů ochablá, retrahovaná, s ojedinělými hemoragiemi pod pouzdrum na visceralní ploše.

Na játrech byla u pěti případů z jedenácti pitvaných zjištěna ložiska nekrobiózy zasahující do hloubky parenchymu, velikosti hrachu až vlašského ořechu, většinou s výrazným hemoragickým lemem. Méně časté byly hemoragie na sliznici žlučového měchýře.

Předžaludky a slez. Hemoragie na předžaludcích se vyskytovaly pod serózou a vcelku jen ojediněle. Mnohem výraznější bylo krvácení do sliznice slezu ať již ve formě četných petechií nebo jako rozsáhlejší krevní výlevy.

Velmi intenzivní bylo krvácení v celém průběhu tenkého a tlustého střeva, které bylo zřetelné již při otevření dutiny břišní. Hemoragie byly mnohočetné, často splývající ve větší okrsky. Mezenterální mízní uzliny byly často zvětšené, hemoragicky provlhlé.

Ledviny byly většinou anemické, s lehce slupitelnou kapsulou, ojedinělými hemoragiemi v koře nebo dřeni a na sliznici močového měchýře.

## B. HISTOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

### 1. SKUPINA — PERAKUTNÍ PRŮBĚH — DÁVKY 1600 a 1200 R

Slezina: Celková výrazná hyperemie až rozsáhlé extravazáty. Bílá pulpa silně prořídla až vymizela, v ojedinělých zachovalých Malpighiho těliscích byly pozorovány ojedinělé destruované lymfocyty, blasty a více retikulárních buněk a plazmacytů. Na trabekulárním systému a stěně cévní známky edému a rozvláknění. Místy hemosideróza.

Mízní uzliny: tělové (preskapulární, submandibulární, inguinální superficiální). Celkové prořidnutí lymfoidní tkáně s výrazným edémem sinů. Mírná hyperemie a ve dvou případech i extravazáty. Na vazivovém stromatu a stěnách cévních některých cév edém a rozvláknění vazivových snopců. V buněčné sestavě ojedinělé zralé lymfocyty, v sinech četné plazmacyty, blasty a aktivní buňky endoteliální.

Mízní uzliny mezenterální: Téměř úplné vymizení lymfoidní tkáně, edém sinů. Byla pozorována i ojedinělá nekrotická ložiska v koře a shluky bakterií ve formě ložisek. V buněčném složení lymfoidní tkáně převládají blasty, plazmacyty, buňky retikulární a ojedinělé eozinofily.

Játra: Acinózní struktura a trámce většinou málo zřetelné. Buňky jaterní jsou zvětšené, některé s výrazným poškozením, v cytoplazmě vakuolizace a poškození jader ve formě lyze. Tukovou infiltraci se podařilo prokázat jen v jednom případě a to perilobulárně. U zvířete uhynulého v této skupině nejpozději — 8. den byla nalezena nekrobiotická ložiska s koloniemi mikrobů a hyperemií. Vzhledem k poměrně častému nálezu diseminovaných eozinofilně se barvících jaterních buněk v plazmě s různě poškozeným jádrem lze celkový nález hodnotit jako monocelulární a v jednom případě i ložiskovou hepatonekrobiózu.

Ledvina: Celková struktura vcelku zchovalá, mírná hyperemie a ložiskové extravazáty. Difuzní degenerativní změny na epitelu některých proximálních kanálků (odlupování epitelu a v jiných případech ztráta barvitelnosti jeho jader), přičemž epitel sestupného kanálku není atakován. V luminu větší



ny kanálků a v rozšířeném Bowmanově pouzdře serózní eozinofilní tekutina. Barvení na hyalinní substance bylo negativní.

## 2. SKUPINA — AKUTNÍ A SUBAKUTNÍ PRŮBĚH — DÁVKA 700 R

**Slezina:** Celková hyperemie, hemosideróza v místech rozsáhlejšího nahromadění erytrocytů. Silné prořidnutí lymfoidní tkáně, Malpighiho tělíska byla nacházena ojediněle, nebo byla zcela vymizelá. Kolem 10. dne byly nalézány roztroušeně ojedinělé zralé lymfocyty, všeobecně však převládají v bílé složce buňky retikula, blasty, plazmacyty, buňky endoteliální i dosud ojedinělé destruované lymfocyty. U zvířat uhynulých kolem 30. dne je nález zralých difuzně roztroušených lymfocytů mnohem bohatší. Malpighiho tělíska jsou zřetelná a tvoří je blasty, plazmacyty, ojedinělé lymfocyty.

**Mízní uzliny tělové:** Vykazovaly silné překrvení s hemosiderózou zejména v koře. Lymfoidní tkáň dosud zřetelně prořidlá, v některých případech však zřetelnější difuzní regenerace lymfatické tkáně zejména v uzlinách submandibulárních. Ve většině případů vykazují siny výrazný edém stejně tak některé cévy a úseky vazivového stromatu. U zvířat uhynulých v pozdějším období vykazují uzliny zřetelnou difuzní i počínající ložiskovitou regeneraci lymfoidní tkáně. V buněčné sestavě převládají mladší formy lymfocytů, ojedinělé zralé lymfocyty, zatímco plazmacyty a buňky retikula ustupují do pozadí. Je možno pozorovat první obnovené folikuly.

**Mízní uzliny mezenteriální:** Vykazují hyperemii, hemosiderózu jako pozůstatek po výraznějších extravazátech a výrazné prořidnutí lymfoidní tkáně. Jsou nalézány především blasty, plazmacyty a aktivované buňky endoteliální. Ojediněle dosud poškozené lymfocyty. U zvířat uhynulých 29. a 31. den známky převážně difuzní regenerace lymfoidní tkáně s naznačenými folikuly. Vyskytují se difuzně zralé lymfocyty. Přetrvává však místy edém sinů a rozvláknění vazivové části pouzdra.

**Játra:** Všeobecně shledána hyperemie, acinózní struktura poměrně málo zřetelná. Jaterní buňky jakoby zduřelé u většiny vakuolizace cytoplazmy s negativním nálezem při barvení na neutrální tuky. Jádro některých jaterních buněk se špatně barví, u jiných je zcela vymizelá. Chromatin vykazuje většinou lokalizaci při jaderné membráně. Obdobně lze tento stav hodnotit jako monocelulární hepatonekrobiózu. Byly zjištěny též nahloučeniny kolonií bakterií ve formě nodulů s nekrobiotickým poškozením okolních jaterních buněk a výraznou hyperemií. U kozy uhynulé 31. den byla nekrobiotická ložiska značného rozsahu s vazivovou proliferací, v okolí s nahloučenými koloniemi bakterií a řídkou infiltrací lymfoidních elementů.

**Ledvina:** Celková struktura celkem zřetelná s nálezem hemoragií v koře i ve dřeni. Asi v polovině případů byly nalezeny starší chronické pozánětlivé změny ve formě ložiskového zmnožení vaziva, jak v dřeni tak i v koře. Periglomerulární edém s eozinofilní serózní tekutinou rozšířených, vazivově zbytnělých Bowmanových pouzdrech. Serózní tekutina byla nalezena též ve vzestupných kanálcích, z nichž některé měly odloupaný epitel a část buněk vykazovala ztrátu barvitelnosti jader. V Bowmanově pouzdře byla též pozorována eozinofilní granula. Barvení na hyalin bylo kromě jednoho případu negativní.

## DISKUSE

Porovnáme-li výsledky našich pozorování s údaji Tullise, Warrena (1947), Rybaka (1959), Jegorova, Kamalova (1965) a dal-



ších autorů, kteří popisují patoanatomický nález při akutní nemoci z ozáření u přežvýkavců, shodují se zcela v základní charakteristice změn. Hemoragická diatéza jako hlavní makroskopický nález celotělově ozářených zvířat byla zjištěna téměř na všech serozách tělních dutin i většiny orgánů.

Za téměř typickou lokalizací hemoragií je třeba i podle našich pitevních nálezů považovat většinou dosti rozsáhlé krvácení pod pleuru kostální. Dále hemoragie na srdci, a to častěji na epikardu v okolí průběhu koronárních a při výstupu velkých cév, méně časté byly hemoragie pod endokardem a zcela ojediněle ve svalovině srdeční. Tyto nálezy byly pozorovány i u koz ozářených dávkami 1600 a 1200r, kde hemoragická diatéza byla méně výrazná. S podobnými nálezy jsme se setkali i u jiných druhů pokusných zvířat — psa a prasete (O t o u p a l, 1963, O t o u p a l, P a w e l, K a l o u s o v á 1965), které se rovněž shodují s literárními údaji většiny autorů, kteří sledovali patoanatomické nálezy při akutní nemoci z ozáření u prasete a psa (T u l l i s 1951, 1955, G l e i s e r 1954, K r a j e v s k i j 1957, I v a n o v 1962 a další). Dalším orgánem s častým a intenzivním výskytem hemoragií byla bránice. Z těchto nálezů vyplývá, že k intenzivnímu vzniku hemoragií napomáhá fyziologický neustálý pohyb, mechanická námaha svalů mezižebních, srdce a bránice. V ostatních částech kosterní svaloviny a kůži nebyly u koz podobné jako u psů pozorovány rozsáhlejší hemoragie. Serózní a hemoragické prosáknutí podkoží pozorované ve vlastním materiálu u psů a prasat zejména na končetinách bylo u koz méně časté.

Lokalizace podkožních edémů byla u koz hlavně na hlavě v mezisaničí a na spodině těla.

Regresivní změny jsou vedle projevů krvácivosti nejčastější v pitevním nálezu ozářeného zvířete. Jejich lokalizací jsou u koz podle T u l l i s e a W a r r e n a (1947) a K r a j e v s k é h o (1957) především zažívadla, sliznice slezu, tenkého i tlustého střeva. Podobné nálezy ve formě vředů na sliznici slezu u ovcí zjistili K a m a l o v a J e g o r o v (1965). My jsme však tento druh poškození zažívacího traktu u koz nepozorovali, i když se u prasat tyto změny vyskytovaly poměrně často. Rovněž nebyly v našem pitevním materiálu nalezeny odlitky amorfní hmoty v tenkém střevě, jak je popsali E d m o n d s o n a B a t c h e l o r (1966). V souhlase s posledně uvedenými autory, kteří zjistili mikroskopická nekrobiotická ložiska v játrech u koz byla i v našem pitevním materiálu zjištělná tato ložiska již makroskopicky u 5. z 11. pitvaných koz.

Postižení močového aparátu zjišťované pitvou bylo omezeno na mnohem slabší projevy hemoragické diatézy než byly popisovány u jiných druhů domácích zvířat.

Celkové poškození lymfoidní tkáně v mízních uzlinách a slezině je charakteristické pro radiosenzitivitu tkáně u všech použitých dávek. K její regeneraci, to znamená objevení se většího počtu blastů i zralých lymfocytů, dochází po 10. dnu po ozáření. V tomto období byly zjištěny známky obnovy lymfoidní tkáně, jak difuzní, tak byla pozorována i tendence k obnově jednotlivých folikulů. Námi zjištěná dynamika reparace lymfoidní tkáně odpovídá i údajům S c h u l t z e a s p o l. (1959), který u telat ozářených dávkou 250 r popisuje známky regenerace v koře mízní uzliny 8. den po expozici. U zvířat se subakutním průběhem onemocnění, pitvaných kolem 30. dne po ozáření jsme zjistili vždy již zřetelnou, i když ne dosud úplnou regeneraci ve všech sledovaných mízních uzlinách.

Všeobecně bylo možno konstatovat, že stěna cévní, vazivo pouzdra, sept a trabekul sleziny a mízní uzliny byly mnohem méně poškozeny edémem a rozvolněním vazivových snopců než jsme měli možnost pozorovat u vepřů. Rovněž krvácení do mízních uzlin a sleziny bylo řidším jevem a méně masivní (O t o u p a l 1965). Výraznější byl pozorován perifolikulární edém sinů, kde bylo nashromážděno větší množství aktivovaných buněk endoteliálních, plasmacytů a blastů. K obnově Malpighiho

tělísek ve slezině docházelo později než k obnově folikulů mizních uzlin u téhož zvířete.

Pozorované difuzní dystrofické změny na jaterní tkáni zvířat obou skupin svým charakterem monocelulární hepatonekrobiózy odpovídají názorům Brauna (1963), který popírá relativní rezistenci jaterních buněk vůči záření. Několikrát byly zjištěny v játrech výrazné nekrobiotické ložiskové změny jako následek rozvinuté postiradiační bakteriémie. Ve všech případech byly v těchto ložiscích pozorovány shluky bakterií, což odpovídá údajům o kterých také referoval Smith a Jones (1957), u skotu Brown (1962) a u koz Edmondson a Batchelor (1966). Ve vlastním materiálu u ozářených prasat jsme však ložiskovité dystrofické změny v játrech tohoto charakteru nepozorovali.

Epitel kanálků ledvin byl většinou poškozen změnami dystrofického charakteru. Podobné změny jsme nacházeli rovněž i u ozářených prasat v souhlase s nálezy Nüsselových (1961) a jak o nich referovali Tiktinskij a Tovstoles (1961). Hemoragie v parenchymu ledvinám byly zjištěny asi v polovině sledovaných případů a byly lokalizovány převážně v koře.

## SOUHRN

Bylo pitváno a histologicky vyšetřeno 11 koz ve stáří od 2 do 7 let. Z toho 5 zvířat bylo ozářeno dávkou 1200 nebo 1600r, u nichž hynutí probíhalo od 4. do 8. dne po ozáření. Šest koz bylo ozářeno dávkou 700r s hynutím resp. poražením od 10. do 30. dne po expozici. Ozařování bylo provedeno celotělově gama paprsky ze zdroje  $\text{Co}^{60}$  s přílivem 140r za hodinu.

Pitevni nález byl charakterizován rozvinutou hemoragickou diatézou s lokalizací na serózách, především dutiny hrudní a to především u zvířat pitvaných po 8. dnu po ozáření. Typický výskyt hemoragií byl shledán na svalových partiích fyziologicky namáhaných — svalech mezižebních, bránici a srdečním svalu.

Regresivní změny ve formě vředů na zaživadlech nebyly pozorovány. Nekrobiotická ložiska v játrech byla zjištěna již makroskopicky, histologicky byly pak v centru těchto ložisek zjištěny shluky bakterií.

Počátek regenerace lymfoidní tkáně v mizních uzlinách u koz ozářených dávkou 700r byl zjištěn 10. den po expozici.

V koře ledvin byly pozorovány dystrofické změny epitelu vývodních kanálků s edémem a vypadáváním bílkovinných substancí do Bowmanova pouzdra.

V patomorfologickém nálezu ozářených koz byly pozorovány některé odchylné nálezy, o kterých se autoři domnívají, že jsou do jisté míry závislé na druhové příslušnosti pokusného zvířete. Jsou to zejména celková intenzita, rozsah a lokalizace hemoragií na kůži a ve svalovině a lokalizace regresivních, zvláště nekrobiotických změn na sliznici střevní a játrech.

Došlo dne 8. 9. 1966

## Literatura

1. BRAUN, H.: Radiation effects on cells of important organs. Liver. In: SCHERER, E., STENDER, H. S.: Strahlenpathologie der Zelle. Stuttgart 1963, str. 233-247. — 2. BRAUN, W., STAUBESAND, J., WOLF, V.: Strahlenschäden am Schwein und deren Beeinflussung durch Amino-äthyl-isouronium-chlorid-hydrochlorid. - 1961, = „Arzneimittel-Forsch.“ 11: 630-642. — 3. EDMONDSON, P. W., BATCHELOR, A. L.: The clinical and pathological response of goats to whole-body irradiation by gamma-rays and fission neutrons. = „Int. J. Rad. Biol.“ 10, 1966, č. 5, s. 451. — 4. GLEISER, Ch. A.: The pathology of total body radiation in dogs which died following exposure to a lethal dose. = „Am. J. vet. Res.“ 15, 1954: 329-335. — 5. HAYASHI, M., MIYAO, N.: Studies on the effect of  $^{60}\text{Co}$  gamma irradiation on the goat. II. Lethal effect of  $^{60}\text{Co}$  gamma irradiation on the goat. = „Nat. Inst. Animal Health Quart.“ 3, 1963: 156-165. — 6. IVANOV, A. E.: Izmenenija serdca i sudov. In: KRAJEVSKIJ, N. A.: Patologičeskaja anatomija radiacijonnych poraženij - Mnogotomnoje rukovodstvo po patologičeskoj anatomii VIII. Moskva, Medgiz 1962,

s. 135-148. — 7. JEGOROV, V. G., KAMALOV, M. B.: Lučevaja bolezn' u ovec vznavnaja letalnym rentgenoblučenijem. = „Veterinarija“ 42, 1965, č. 6, s. 65-69. — 8. KRAJEVSKIJ, N. A.: Očerki patologičeskoj anatomii lučevoj boleznj. Moskva 1957, 228 s. — 9. MOLE, R. H.: Whole Body Irradiation - Radiobiology or Medicine? (Read of the Annual Congress of the Brit. Inst. of Radiobiology 1952) = „Brit. J. Rad.“ 26, 1953: 234-241. — 10. NÜSSEL, M., SCHUCK, J.: Über Nierenveränderungen bei ganzkörperbestrahlten Schweinen. = „Strahlentherapie“ 116, 1961: 502-522. — 11. OTOUPAL, P.: Příspěvek k patomorfologickým změnám při experimentální akutní nemoci z ozáření u některých druhů domácích zvířat. = „Sborník věd. prací VVS Praha“ 1963, s. 135-140. — 12. OTOUPAL, P., PAWEL, O., KALOUSOVÁ, V.: K patoanatomickým nálezům u prasat ozářených celotělově gama paprsky. = „Vet. medicína“ 10, 1965: 641-646. — 13. OTOUPAL, P.: Histopatologické změny u celotělově ozářených prasat gama paprsky. = „Vet. medicína“ 10, 1965: 647-656. — 14. ROSENFELD, G.: Effects of a single lethal dose of total-body  $Co^{60}$  gamma radiation on calves. = „Radiation Res.“ 9, 1958: 346-357. — 15. RYBAK, P. J.: Osnovy radiačionnoj patologii u životnych. Moskva, Selchozizdat 1959, 226 s. — 16. SCHULTZE, M. O., PERMAN, V., MIZUNO, N. S., BATES, F. W., SAUTTER, J. H., ISBIN, H. S., LOKEN, M. K.: Effect of gamma radiation on calves. = „Radiation Res.“ 11, 1959: 399-408. — 17. SMITH, H. A., JONES, T. C.: Pathologic effect of ionizing radiations. In: SMITH-JONES = „Veterinary Pathology“. London, Kimpton 1957, s. 520-533. — 18. TULLIS, J. L., WARREN, S.: Gross autopsy observations in the animals exposed at Bikini (Preliminary report). = „J. Am. med. Assoc.“ 134, 1947: 1155-1158. — 19. TULLIS, J. S.: The sequence of pathologic changes in swine exposed to the LD 100/30 of total body supervoltage X-radiation. = „Milit. Surgeon“ 109, 1951: 271-278. — 20. TULLIS, J. L., LAMSON, B. G., MADDEN, S. C.: Pathology of swine to total-body gamma radiation exposed on atomic bomb surge. = „Amer. J. Path.“ 31, 1955: 41-71. — 21. ZÍCHA, B., POSPÍŠIL, J.: Akutní nemoc z ozáření u hospodářských zvířat. = „Veterinářství“ 15, 1965: 275-280.

#### Некоторые патоморфологические изменения при острой лучевой болезни коз

Вскрытию и гистологическому исследованию подверглось 11 коз в возрасте 2—7 лет. 5 из этих животных было облучено дозой 1200 или 1600 p; гибель протекала с 4 по 8 день после облучения, 6 коз облучали дозой 700 p. Гибель или убой начались с 10 по 30 день после экспозиции. Облучение проводили гамма лучами по всему телу из источника  $Co^{60}$  с интервалом облучения 140 p в час.

Патолого-анатомическая картина была характеризована развитым геморагическим диатезом с локализацией на серозах, прежде всего грудной клетки, особенно у животных, вскрытых на 8 день после облучения. Типичное наличие геморагий установлено на физиологически напряженных мышечных частях — на межреберных мускулах, диафрагме и на сердечной мышце.

Регрессивные изменения в форме язв на пищеварительном тракте не наблюдались. Некробиотические очаги в печени были установлены уже макроскопически, путем гистологического исследования были в центре этих очагов обнаружены скопления бактерий.

Начало регенерации лимфоидной ткани в лимфатических узлах у коз облученных дозой 700 p, установили спустя 10 дней после экспозиции. В коре почек наблюдались дистрофические изменения эпителия выводных каналов с эдемой и выпадением белковых субстанций в капсулу Баумена.

В ходе патоморфологического обследования облученных коз были установлены некоторые другие изменения, о которых авторы полагают, что они в известной степени зависят от видовой принадлежности подопытного животного. Это особенно общая интенсивность, объем и локализация геморагий на коже и в мышечной ткани и локализация регрессивных, особенно некротических изменений на слизистой оболочке кишок и печени.

#### On some Pathomorphological Findings in the Case of Acute Radiation Sickness in Goats

11 goats of an age of from 2 to 7 years were dissected and examined histologically. Of these, 5 animals had been irradiated with doses of 1200 or 1600 r and their death occurred between the 4th and 8th day after irradiation. 6 goats had been irradiated with a dose of 700 r and they died or were killed between the 10th and 30th after exposure. Irradiation was applied to the whole body by means of gamma rays from a  $Co^{60}$  source at a rate of 140 r per hour.

The dissection finding was characterized by a well-developed hemorrhagic diathesis with localization on serosas particularly in the thoracic cavity, and that especially in animals dissected after the eighth day after irradiation. A typical occurrence of hemorrhages was found in physiologically strained muscles — in intercostal muscles, in the diaphragm, and in the myocardium.

No regressive changes in the form of ulcers in the digestive organs were found. Necrobiotic deposits in the livers were found already macroscopically, and aggregations of bacteria were determined histologically in the centres of these deposits.

A beginning of the regeneration of lymphoid tissue in the lymphatic nodes of goats that had been irradiated with a dose of 700 r was ascertained on the 10th day after exposure.

In the adrenal cortex dystrophic changes in the epithelium of the efferent canals with an oedema were observed and a falling out of proteinic substances into Bowman's capsule.

In the pathomorphological finding obtained in irradiated goats some deviations were observed which the authors consider to be, to a certain extent, dependent on the species of the experimental animal. These are, in particular, the total intensity, extent, and localization of hemorrhages in the skin and muscles, and localization of regressive, and particularly of necrobiotic changes in intestinal mucous membranes and in the livers.

### **Zu einigen pathomorphologischen Befunden bei akuter, durch Bestrahlung verursachter Erkrankung von Ziegen**

Es wurden insgesamt 11 Ziegen im Alter von 2 bis 7 Jahren seziert und histologisch untersucht. Von diesen Ziegen wurden fünf mit Dosen von 1200 oder 1600 r bestrahlt. Diese Tiere verendeten im Verlaufe des 4. bis 8. Tages nach der Bestrahlung. Sechs Ziegen wurden mit 700 r-Dosen bestrahlt. Sie verendeten bzw. wurden geschlachtet im Verlaufe des 10. bis 30. Tages nach der Exposition. Die gesamtkörperliche Bestrahlung wurde durch Gammastrahlen aus der  $Co^{60}$ -Quelle bei Zufuhr von 140 r je Stunde verwirklicht.

Der Sektionsbefund war durch eine entwickelte hämorrhagische Diathese und Lokalisierung auf den serösen Häuten, vor allem in der Brusthöhle insbesondere der nach dem 8. Tag nach der Bestrahlung seziierten Tiere, charakterisiert. Typisch war das Vorkommen von Hämorrhagien auf den physiologisch belasteten Muskelpartien — den Zwischenrippenmuskeln, dem Zwerchfell und dem Herzmuskel.

Regressive Veränderungen in Form von Abszessen auf den Verdauungsorganen wurden nicht beobachtet. Nekrobiotische Herde in der Leber wurden bereits makroskopisch festgestellt und bei der histologischen Untersuchung wurden in ihren Zentren Bakterienzusammenballungen ermittelt.

Der Beginn der Regeneration des Lymphoidgewebes in den Lymphknoten wurde bei den mit 700 r Dosen bestrahlten Ziegen am 10. Tag nach der Exposition festgestellt.

In der Leberinde wurden dystrophische Veränderungen des Epithels des Ausgangskanälchen mit Ödem und Ausfall von Eiweißsubstanzen in die Bowman-Kapsel beobachtet.

Im pathomorphologischen Befund der bestrahlten Ziegen wurden Abweichungen festgestellt, welche nach Ansicht der Autoren bis zu einem gewissen Maße von der Artzugehörigkeit des Versuchstieres bedingt sind. Das betrifft insbesondere die Gesamtintensität, das Ausmaß und die Lokalisierung der Hämorrhagien auf der Haut und der Muskulatur und die Lokalisierung der regressiven, insbesondere nekrobiotischen Veränderungen in der Darmschleimhaut und der Leber.

---

*Adresa autorů:*

MVDr. Pavel Otoupal, MVDr. Otto Pawel CSc., MVDr. Eduard Dvořák,  
Veterinární výzkumné středisko, Praha-Motol

---

■ Diagnostika pečenných ochorení je obohacovaná v poslednej dobe stanovením aktivít celej rady sérových enzýmov. Najbežnejšie sa využíva pri chorobách pečene určovanie aktivít transamináz a sorbitdehydrogenázy. Pomerne malá pozornosť vo veterinárnej medicíne bola však doposiaľ venovaná diagnostickému významu sérových proteináz a peptidáz. Príčina takéhoto stavu tkvie hlavne v pomerne ťažkej terajšej dostupnosti celej rady peptidických substrátov.

Naväzujúc na našu predchádzajúcu prácu (Bartík, Michnová, 1966 a), v ktorej sme uviedli fyziologické hodnoty sérového pepsínu a katepsínu u niektorých domácich zvierat, vzali sme si teraz za úkol sledovať zmeny uvedených sérových proteáz u oviec pri poškodení pečene, vyvolanej podaním tetrachlormetanu ( $\text{CCl}_4$ ).

Zo sérových peptidáz pre dostupnosť vhodného substrátu určovali sme súčasne aktivitu cystinaminopeptidázy (CAP). Ako substrát sme použili L-cystin-di-beta-naftylamid.

Keďže u zvierat zatiaľ dynamika zmien sérového katepsínu a cystinaminopeptidázy pri pečenných ochoreniach sledovaná ešte nebola, naše šetrenie pre porovnanie doplnili sme aj stanovením známych už zmien aktivít transamináz GOT a GPT, sorbitdehydrogenázy (SODH) a laktikodehydrogenázy (LDH).

## MATERIÁL A PRACOVNÉ POSTUPY

Experimenty boli prevádzané na 5-tich dospelých ovciach. Toxická hepatída bola vyvolávaná jednorázovou perorálnou aplikáciou  $\text{CCl}_4$  v dávke 0,5 ml/kg ž. v. Aktivita enzýmov sa stanovovali v 24 hodinových intervaloch. Krv bola odoberaná z *vena jugularis* a analyzovaná najpozdšie do 24 hodín v dvoch paralelných vzorkách. Krvné séra do doby spracovania boli uchovávané v chladničke asi pri 4°C. Pred aplikáciou  $\text{CCl}_4$  boli stanovené u každej ovce zvlášť základné hodnoty aktivít vyšetrovaných enzýmov v rozpätí 3 dní.

Aktivitu pepsínu (pri pH = 1,6) a katepsínu (pri pH = 3,7) určovali sme fotometricky a polarograficky metodikami popísanými v našej predchádzajúcej práci (Bartík, Michnová, 1966 a). Aktivita cystinaminopeptidázy bola určovaná postupom navrhnutým W. Müllerom-Hartburgom a spol. (1959) pre stanovenie sérovej oxytocinázy. Na skutočnosť, že v krvných sérach zvierat sa uvedenou metodikou nestanovuje aktivita oxytocinázy, ale iba cystinaminopeptidázy, sme poukázali v našom príspevku metodického charakteru (Bartík, Michnová, 1966 b).



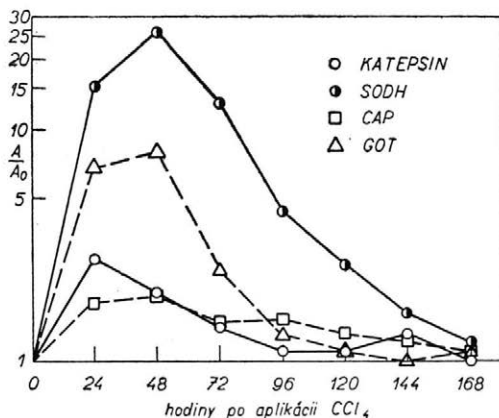
Aktivita sérových transamináz (GOT a GPT) sa určovala v úprave ako uvádza V. Neuman a spol. (1960 a, b), aktivitu SODH sme stanovovali podľa Ševelu a Továrka (1961). Celková aktivita LDH bola stanovovaná podľa knihy J. Hořejšího (1964), izoenzymy LDH boli určované podľa J. Kamarýta (1964) a v. d. Helma (1962).

Aktivitu jednotlivých enzýmov vyjadrujeme v nasledujúcich jednotkách: GOT a GPT v Karmenových jednotkách; pepsín a katepsín kolorimetricky: v mEkv uvoľneného tyrozínu; pepsín a katepsín polarograficky: ako rozdiel výšok vln séra inkubovaného a neinkubovaného v mm; SODH v  $\mu\text{Mol}$  vzniklej fruktózy; CAP v mg uvoľneného beta-naftylamínu. Celková aktivita LDH sa udáva v medzinárodných jednotkách. (Bližšie údaje pozri v citovanej a príslušnej literatúre.)

## VÝSLEDKY

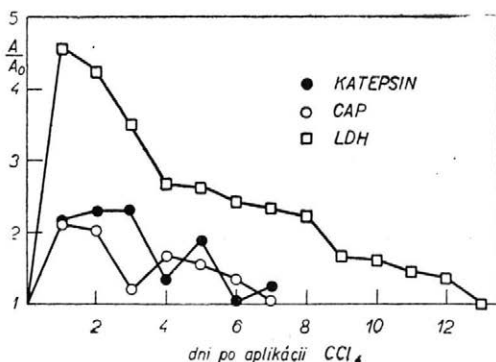
Zo sledovaných sérových proteáz nenašli sme pri afekcii pečene tetrachlormetanom významnejšie aktivita pepsínu; nepatrné zvýšenie, zaznamenané niekedy po 24–72 hodinách od aplikácie  $\text{CCl}_4$  je spôsobené zvýšenou aktivitou katepsínu, ktorý môže zasahovať do oblasti účinku pepsínu. (Zdôvodnenie je v citáciách [1, 8].)

Aktivita katepsínu, stanovená fotometricky i polarograficky, sa v priebehu ochorenia pečene vždy viac alebo menej výrazne zvýšila. Maximálne zvýšenie



Obrázok 1. Aktivita sérových enzýmov ovce č. 667 uvedené v relatívnych hodnotách v závislosti na dobe po aplikácii  $\text{CCl}_4$ .

Relatívne hodnoty aktivít boli vypočítané a vynesené do grafu zo vzťahu  $\frac{A}{A_0} = f(t \text{ hod.})$ , kde  $A$  = zistená aktivita enzýmu v čase  $t$  po aplikácii  $\text{CCl}_4$  a  $A_0$  = zistená aktivita enzýmu pred aplikáciou  $\text{CCl}_4$ . (Použité skratky: SODH — sorbitdehydrogenáza; CAP — cystinamino-peptidáza; GOT — transamináza glutamát-oxaloctová).



Obrázok 2. Aktivita sérových enzýmov ovce č. 667 uvedené v relatívnych hodnotách v závislosti na dobe po aplikácii  $\text{CCl}_4$ .

(Výpočet relatívnych hodnôt ako u obrázku č. 1.) Skratky: LDH = celková laktikodehydrogenáza; CAP = cystinamino-peptidáza.

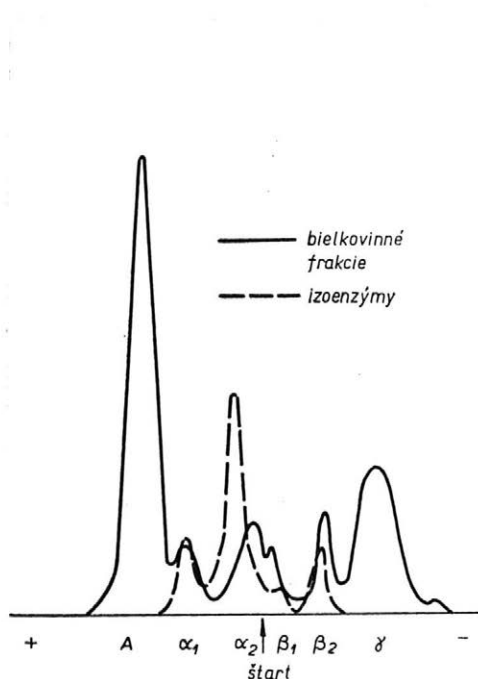


katepsínovej aktivity sa dosahovalo zhruba za 24–48 hodín po aplikácii  $\text{CCl}_4$ . Zvýšené hodnoty katepsínu sa upravili na pôvodné asi po 3–4 dňoch. Maximálne zvýšenie aktivity sérového katepsínu za našich podmienok experimentov dosahovalo priemerne asi dvojnásobku (1,5–3,0-násobku) základnej hodnoty katepsínu v sére pred aplikáciou  $\text{CCl}_4$ . Vzostup aktivity katepsínu už po 24 hod. aplikácie  $\text{CCl}_4$  je štatisticky vysoko významný ( $P < 0,005$ ).

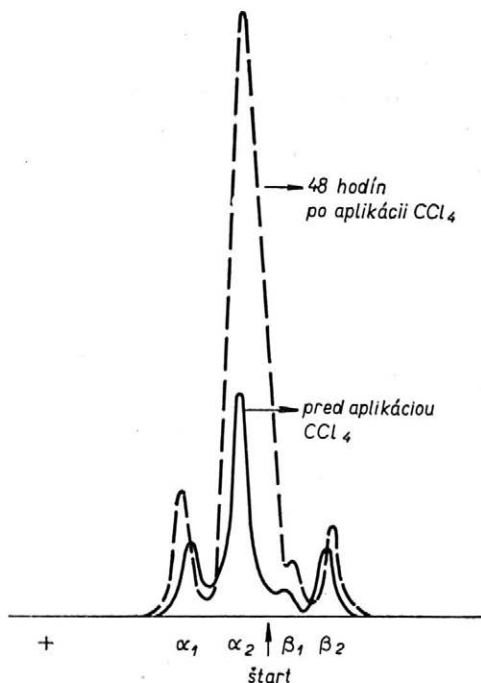
Dynamika zmien aktivity cystinaminopeptidázy je v porovnaní s katepsínom len málo odlišná. Maximálnych hodnôt, ktoré činia 1,5–2-násobok hodnoty pred aplikáciou sa dosahuje síce tiež za 24–48 hodín po podaní  $\text{CCl}_4$ , avšak návrat k východným hodnotám je o niečo pozvoľnejší. Východzie hodnoty aktív sa dosahujú niekedy až po 6–7 dňoch po aplikácii chloridu uhličitého. Štatistická významnosť pri vzraste aktivity cystinaminopeptidázy je preukázateľná ešte aj po 96 hod. od aplikácie  $\text{CCl}_4$ . ( $P < 0,01$ .) V dobe od 24–72 hod. je vzostup aktivity štatisticky vysoko významný ( $P < 0,005$ ).

## DISKUSIA

Autoproteolytickú katepsínovú aktivitu u ľudí sledoval pri rôznych chorobách pečene J. Homolka (1965) a došiel k uzáveru, že katepsínová skúška nie je síce úplne špecifickou pre poškodenie pečene, ale je univerzálnejšou a v mnohých prípadoch vhodnejšou ako testy na aktivitu transamináz.



Obrázok 3. Rozdelenie sérových bielkovín a aktivity izoenzýmov LDH ovce č. 623 pred aplikáciou  $\text{CCl}_4$ . Delenie sérových bielkovín a izoenzýmov bolo prevedené elektroforézou v agarovom géle.



Obrázok 4. Aktivita izoenzýmov LDH v krvnom sére ovce č. 623 pred aplikáciou  $\text{CCl}_4$  a 48 hodín po aplikácii  $\text{CCl}_4$ . Označenie jednotlivých izoenzýmov je prevedené písmenami gréckej abecedy.

### I. Dynamika zmien sérových enzýmov u oviec po podaní $\text{CCl}_4$

| Ovca č.     | Enzým                   | Hodnoty pred aplikáciou CCl <sub>1</sub> | Čas a hodnoty aktivity enzýmov po aplikácii CCl <sub>1</sub> |         |         |         |          |          |          |
|-------------|-------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
|             |                         |                                          | 24 hod.                                                      | 48 hod. | 72 hod. | 96 hod. | 120 hod. | 144 hod. | 168 hod. |
| Ovca č. 665 | Pepsín fotometricky     | 0,55                                     | 0,70                                                         | 0,70    | 0,82    | 0,51    | 0,48     | 0,55     | 0,57     |
|             | Katepsín fotometricky   | 0,32                                     | 1,17                                                         | 0,89    | 0,40    | 0,33    | 0,43     | 0,34     | 0,33     |
|             | Cystinaminopeptidáza    | 1,47                                     | 2,57                                                         | 2,28    | 2,28    | 1,93    | 2,02     | 1,69     | —        |
|             | Sorbitdehydrogenáza     | 0,41                                     | 5,3                                                          | 9,72    | 6,54    | 4,50    | 0,76     | 0,44     | 0,36     |
|             | Transamináza GOT        | 196                                      | 638                                                          | 385     | 297     | 209     | 216      | 102      | 168      |
|             | Transamináza GPT        | 44                                       | 39                                                           | 30      | 34      | 30      | 23       | 15       | 18       |
|             | Pepsín polarograficky   | 36                                       | 40                                                           | 50      | 40      | 37      | 38       | 38       | 39       |
|             | Katepsín polarograficky | 14,5                                     | 44                                                           | 35      | 13      | 13      | 14       | 12       | 18       |
| Ovca č. 667 | Pepsín fotometricky     | 1,15                                     | 1,16                                                         | 1,21    | 1,28    | 1,19    | 1,18     | 1,21     | 1,15     |
|             | Katepsín fotometricky   | 0,33                                     | 0,93                                                         | 0,67    | 0,48    | 0,37    | 0,37     | 0,45     | 0,36     |
|             | Cystinaminopeptidáza    | 1,47                                     | 2,72                                                         | 2,85    | 2,30    | 2,20    | 2,00     | 1,84     | 1,69     |
|             | Sorbitdehydrogenáza     | 0,50                                     | 7,88                                                         | 13,2    | 6,6     | 2,20    | 1,32     | 0,82     | 0,64     |
|             | Transamináza GOT        | 148                                      | 1023                                                         | 1199    | 378     | 204     | 162      | 150      | 162      |
|             | Transamináza GPT        | 27                                       | 25                                                           | 18      | 26      | 28      | 23       | 21       | 25       |
|             | Pepsín polarograficky   | 58                                       | 57                                                           | 56,5    | 60      | 65      | 65       | 58,5     | 55       |
|             | Katepsín polarograficky | 18,5                                     | 26                                                           | 22,5    | —       | 16      | 23       | 23       | 20       |
| Ovca Oc.    | Pepsín fotometricky     | 0,58                                     | 0,59                                                         | 0,53    | 0,44    | 0,53    | 0,48     |          |          |
|             | Katepsín fotometricky   | 0,50                                     | 0,75                                                         | 0,67    | 0,40    | 0,46    | 0,42     |          |          |
|             | Cystinaminopeptidáza    | 1,56                                     | 2,33                                                         | 2,20    | 2,20    | 1,74    | 1,63     |          |          |
|             | Sorbitdehydrogenáza     | 0,82                                     | 15,18                                                        | 15,84   | 3,92    | 2,22    | 1,28     |          |          |
|             | Transamináza GOT        | 148                                      | 1156                                                         | 979     | 528     | 232     | 336      |          |          |
|             | Transamináza GPT        | 30                                       | 35                                                           | 25      | 27      | 25      | 28       |          |          |
|             | Pepsín polarograficky   | 34                                       | 33                                                           | 31      | 30      | 39      | 37       |          |          |
|             | Katepsín polarograficky | 15                                       | 23                                                           | 25      | 17      | 20      | 22       |          |          |

|  |                                                                                              |                             |                              |                              |                              |                             |                             |                             |                             |
|--|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|  | Pepsín fotometricky<br>Katepsín fotometricky<br>Cystinaminopeptidáza<br>Celková aktivita LDH | 0,39<br>0,44<br>1,16<br>248 | 0,43<br>0,96<br>2,50<br>1295 | 0,39<br>1,00<br>2,39<br>1210 | 0,38<br>1,00<br>1,39<br>996  | 0,34<br>0,59<br>1,93<br>755 | 0,31<br>0,64<br>1,75<br>747 | 0,33<br>0,44<br>1,56<br>682 | 0,38<br>0,56<br>1,19<br>657 |
|  |                                                                                              |                             | 192hod.<br>633               | 216hod.<br>468               | 240hod.<br>453               | 264hod.<br>408              | 288hod.<br>388              | 312hod.<br>299              |                             |
|  | Pepsín fotometricky<br>Katepsín fotometricky<br>Cystinaminopeptidáza<br>Celková aktivita LDH | 0,77<br>0,59<br>1,49<br>355 | 0,83<br>0,84<br>2,20<br>692  | 0,72<br>0,92<br>2,52<br>1434 | 0,88<br>0,89<br>2,21<br>1035 | 0,77<br>0,46<br>2,21<br>971 | 0,77<br>0,53<br>2,13<br>847 | 0,67<br>0,47<br>1,65<br>781 | 0,72<br>0,54<br>1,38<br>796 |
|  |                                                                                              |                             | 192hod.<br>767               | 216hod.<br>682               | 240hod.<br>627               | 264hod.<br>528              | 288hod.<br>488              | 312hod.<br>423              |                             |

Vysvetlivky k tabuľke: Enzymatické jednotky: Pepsín a katepsín: mEkv uvoľneného tyrozínu.

Cystinaminopeptidáza: mg uvoľneného  $\beta$ -naftylamínu.

Pepsín a katepsín polarograficky: rozdiel výšok vln séra inkub. a neinkub. v mm.

SODH:  $\mu$ Moly vzniklej fruktózy.

GPT, GOT: Karmenove jednotky.

LDH: medzinárodné jednotky.

Naše pokusy prevedené na 5-ich ovciach, ktoré dopadli jednoznačne, ukazujú tiež na vhodnosť katepsínovej skúšky ako pečeneového enzymatického testu. Ukázalo sa však, že na rozdiel od človeka u oviec meranie katepsínovej aktivity je testom menej citlivým, než stanovenie aktivít transamináz. Tak je tomu aspoň u toxickej hepatitídy po podaní  $\text{CCl}_4$ . Príčiny takejto rozdielnosti bude možné odhaliť pravdepodobne až po určení aktivity katepsínu v jednotlivých orgánoch zvierat. Z priložených grafov dá sa zreteľne porovnať i citlivosť oproti testom na určenie aktivít SODH, GOT, LDH ako aj izoenzýmov LDH. (Izoenzýmami LDH v sérach hospodárskych zvierat budeme sa podrobnejšie zaoberať na inom mieste.) Aktivity izoenzýmov LDH sú uvedené na gr. č. 3 a 4. Zvýšená je aktivita izoenzýmu s pohyblivosťou  $\alpha_2$ -globulínov čo má tiež prispieť ku enzymatickej charakteristike daného pečeneového ochorenia.

Zvýšenie aktivity cystinaminopeptidázy v krvnom sére oviec po podaní  $\text{CCl}_4$  je približne na takej úrovni ako zvýšenie katepsínu. Prevedené experimenty sú tiež dôkazom, že L-cystin-di-beta-naftylamid nie je špecifickým substrátom pre určenie sérovej oxytocinázy.

Pre jednoduchosť laboratórnej analýzy môžeme doporučiť klinickým pracovníkom, aby stanovenie katepsínu bolo pri pečeneových chorobách ďalej rozpracovávané u rôznych druhov zvierat. Je tu oprávnená nádej, že i katepsínový test, hoci u oviec nie tak citlivý, môže sa stať diagnosticky užitočným aj vo vet. medicíne.

## SÚHRN

U 5-tich oviec po perorálnej aplikácii  $\text{CCl}_4$  v dávke 0,5 ml/kg ž. v. bola v krvnom sére sledovaná aktivita pepsínu (pH 1,6), katepsínu (pH 3,7) a cystinaminopeptidázy (CAP). Aktivita sérového katepsínu a CAP po poškodení pečene tetrachlormetanom sa zvyšuje.

Zvýšenie aktivity katepsínu a CAP nie je tak výrazná ako zvýšenie aktivity sérovej sorbitdehydrogenázy (SODH), transaminázy GOT, laktikodehydrogenázy (LDH) a  $\alpha_2$ -izoenzýmu LDH. Tieto enzýmy sa sledovali súčasne pre porovnanie.

Aktívia sérového pepsínu a GPT-transaminázy sa v priebehu pokusu prakticky nemenili.

Navrhuje sa použiť katepsínového testu ako diagnostickej pomôcky pri vyšetrovaní pečeneových ochorení zvierat.

Došlo dňa 8. 7. 1966

## Literatúra

1. a) BARTÍK M. - MICHNOVÁ E.: Autoproteolytická aktivita séra v závislosti na pH a stanovenie aktivity pepsínu a katepsínu u jednotlivých druhov domácich zvierat. = „Veterinární medicína“ 1966 (v tlači). — 2. MÜLLER - HARTBURG W. - NESVATBA H. - TUPPY H.: Die Anwendung einer chemischen Methode zur Bestimmung des Oxytocinasespiegels im Schwangerenserum. = „Archiv für Gynäkologie“ 191, 1959 : 442-456. — 3. a) MADĚROVÁ V. - NEUMAN V.: Transamináza kyseliny glutamové - oxaloctové v krevním séru klinicky zdravých koní. = „Veterinární medicína“ 5 (XXIII), 1960 : 423-428. — 4. b) NEUMAN V. - MADĚROVÁ V.: Transamináza kyseliny glutamové-pyrohroznové v krevním séru klinicky zdravých koní. = „Veterinární medicína“ 5 (XXXIII), 1960 : 433-438. — 5. NEUMAN V. -

ŠINDELÁŘOVÁ K. - TOVÁREK J.: Aktivita SODH v krevním séru koní a skotu. = „Veterinární medicína“ 6 (XXXIV), 1961: 215-222. — 6. HOMOLKA J. - SOUŠEK O.: Proteolytická aktivita séra a její klinický význam. „Čas. Lék. čes.“ CIV, 1965: 941-943. — 7. b) BARTÍK B. - MICHNOVÁ E.: Polarografické stanovení oxytucinázy a příspěvek ku charakteristice aminopeptidáz. = „Veterinární medicína“ 1966 (v tlači). — 8. BARTÍK M. - MESTER J.: Stanovení proteolytické aktivity krvního séra pomocí radioaktivního substrátu I. Stanovení autoproteolytické aktivity v kyslé oblasti pH. = „Veterinární medicína“ 11, 1965: 695-704. — 9. HOŘEJŠÍ J. a kol.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. Praha, Státní zdravotnické nakladatelství, 1964. — 10. KAMARÝT J. - ZÁZVORKA Z.: Izoenzymy laktikodehydrogenázy. = „Čas. Lék. čes.“ CIII, 1964: 375-378. — 11. HELM H. J.: A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase isoenzymes in serum. = „Clin. Chim. Acta“ 7, 1962: 124-128.

#### **Динамика изменений активности сывороточного катепсина, пепсина и цистинаминопептидазы у овец, заболевших токсическим воспалением печени**

У 5 овец исследовали после перорального введения  $\text{CCl}_4$  дозой в 0,5 мл/кг живого веса в кровяной сыворотке активность пепсина (pH 1,6), катепсина (pH 3,7) и цистинаминопептидазы (CAP). Активность сывороточного катепсина и CAP повышается после повреждения печени тетраchlорметаном.

Повышение активности катепсина и CAP не настолько выразительно, как повышение активности сывороточной сорбитдегидрогеназы (SODH), трансаминазы GOT, лактикодегидрогеназы (LDH) и  $\text{D}_2$  — изоэнзима LDH. Приведенные энзимы одновременно исследовали с целью сравнения.

Активность сывороточного пепсина и GOT — трансаминазы в течение опыта практически не менялась.

Авторы предлагают пользоваться катепсиновым тестом в качестве диагностического пособия при обследовании заболеваний печени у животных.

#### **The Dynamics of Changes in the Activity of Serum Cathepsin, Pepsin, and of Cystinaminopeptidase in Sheep Suffering from Toxic Hepatitis**

After the per os application of  $\text{CCl}_4$  in a dose of 0.5 ml per 1 kg of live weight the activity of pepsin (pH 1.6), cathepsin (pH 3.7), and of cystinaminopeptidase (CAP) was examined in the blood serum of 5 sheep. The activity of serum cathepsin and CAP increases after injury to the liver caused by tetrachlormethane.

The increasing of the activity of cathepsin and CAP is not so marked as is the increasing of the activity of serum sorbitdehydrogenase (SODH), transaminase GOT, lacticodehydrogenase (LHD), and of the  $\alpha_2$ -isoenzyme of LDH. These enzymes were examined simultaneously for the purpose of comparison.

In the course of the experiment the activity of serum pepsin and GPT-transaminase practically did not change.

The authors suggest the cathepsin test as a diagnostic expedient in the examination of diseases of the livers of animals.

#### **Dynamik der Aktivitätsveränderungen des Serumkathepsins, des Pepsins und der Zystinaminopeptidase bei Schafen mit toxischer Hepatitis**

Bei 5 Schafen wurde nach peroraler  $\text{CCl}_4$ -Applikation einer 0,5 ml/kg Lebendgewicht — Dosis im Blutserum die Aktivität des Pepsins (pH 1,6), des Kathepsins (pH 5,7) und der Zystinaminopeptidase (ZAP) verfolgt. Die Aktivität des Serumkathepsins und der ZAP nimmt nach Beschädigung der Leber durch Tetrachlormethan zu.

Die Erhöhung der Kathepsin- und ZAP-Aktivität ist im Vergleich mit der Erhöhung der Aktivität der Serumsorbitdehydrogenase (SODH), der GOT-Transami-

nase, der Laktikodehydrogenase (LDH) und des  $\alpha$ 2-Isoenzym der LDH weniger ausgeprägt. Diese Enzyme wurden zu Vergleichszwecken gleichzeitig verfolgt.

Die Aktivität des Serumpepsins und der GPT-Transaminase blieb im Verlaufe des Versuchs praktisch unverändert.

Es wird die Benützung des Kathepsintestes als diagnostisches Hilfsmittel bei Untersuchungen von an Leberkrankheiten leidenden Tieren vorgeschlagen.

---

*Adresa autorov:*

Prof. MVDr. Michal Bartík, MVDr. J. Marcaník, MVr. Eva Michnová, VŠP, veterinárska fakulta, katedra chémie, biochémie a toxikológie, Košice, Komenského 71

---

**Rozvoj zemědělské výroby přináší sebou jako doprovodný zjev hromadné rozšíření antropozoonóz**

**Úkoly z toho vyplývající, vzhledem k ochraně lidí i zvířat jsou společné pro humánní i veterinární medicínu**

**V tomto duchu je koncipováno tematické číslo 9./67. časopisu Veterinární medicína. Vědeckým redaktorem čísla je**

**MVDr. F. Nižnásky, člen korespondent SAV**

**Tematické číslo obsahuje tyto práce a studie:**

Nižnásky F.: Antropozoonózy v ČSSR a aspekty boja proti nim

Rossi L., Dokoupil S., Pavlas M.: Příčiny výskytu reakcí na aviární tuberkulín u skotu v zemědělských závodech prostých tuberkulózy skotu

Sýkora F., Grígelová R.: Epidemiológia a klinika tuberkulózy miazgových uzlín u detí

Matějka M., Kubín M.: Vrabci (*Passer domesticus*) jako zdroj infekce aviárními mykobakteriemi pro skot

Kubín M., Matějka M.: Atypická mykobakteria u havranů (*Corvus frugilegus*)

Nižnásky F., Krčmery V., Krušpán J.: Kultivácia brucelových kmeňov na selektívnych živných podach zo silne kontaminovaného materiálu

Hrůzík J.: Príspevok k otázke výskytu leptospirózy u ľudí

Elischerová K., Drhová A., Egnerová A.: Poznatky z vyšetrovania ohnisk živočíšnej listeriózy so zreteľom k infekcii ľudí

Parráková E., Sečkářová A., Krčmery V.: Štúdium vybraných biologických vlastností *E. coli* v podmienkach hospodárskych zvierat

Duben Z., Haladěš Š.: Výskyt některých drůbežích antropozoonóz v ČSSR

Hrůzík J.: K diagnostike tularémie

**9. číslo Veterinární medicíny můžete objednat v ÚVTI — Vydavatelství Praha 2, Slezská 7**



## HLADINA GLYKOPROTEÍNOV A BIELKOVÍN SÉRA U NEKOTNÝCH OVIEC, KRMENÝCH TUKOVO-BIELKOVINNOU DIÉTOU A HLADUJÚCICH

■ Glykoproteíny séra predstavujú cukry viazané na bielkoviny séra a sú dôležitými látkami organizmu.

### LITERÁRNY PREHLAD

Za rôznych patologických procesov a po nešpecifickom poškodení tkanív ako aj po strese sa v séru ľudí a laboratórnych zvierat tieto látky zvyšujú (napr. Williamson so sp. 1963, Stary 1957), v sére krýs pri hladovaní (Shetlar a Shetlarová 1955, Weimer a Nishihara 1957) a po parciálnej hepatektómii (Miettinen 1961) sa znižujú. Pri experimentálnej urolitiáze oviec sa zaznamenalo (Cornelius so sp. 1959) zvýšenie mukoidnej frakcie séra a glykoproteínov moča, u kotných hladujúcich oviec bolo zase výrazné zníženie pomeru viazaných hexóz na bielkoviny séra ku celkovej bielkovine séra, avšak hladina viazaných hexóz sa nemenila a bola v tesnej závislosti na hladine celkovej bielkoviny séra (Kóňa 1967). Po silnom krvácaní u oviec sa tento pomer viazaných hexóz na bielkoviny séra ku celkovej bielkovine séra zvyšoval (Kóňa so sp. 1966).

Pretože sérové bielkoviny sú senzitívne k nutričným vplyvom a tieto vplyvy sa zdajú meniť hladinu sérových glykoproteínov u oviec, čo by mohlo byť významné ako počas rôznych fyziologických podmienok, tak i počas patologických procesov, vyšetrovala sa hladina viazaných hexóz na bielkoviny séra ako aj celková bielkovina séra u nekotných hladujúcich oviec i u oviec, kŕmených cez slezovú fistulu tukovo-bielkovinou diétou. Pri tomto sa tiež sledoval vzťah viazaných hexóz ku celkovej bielkovine séra a ku glukóze krvi ako aj relatívne zastúpenie bielkovinových frakcií v sére.

### MATERIÁL A METODIKA

K pokusom sa použili dospelé nekotné ovce plemena merino so slezovými fistulami, rozdelené do dvoch skupín. Prvá skupina oviec (7 kusov) sa tri dni kŕmila cez slezovú fistulu trikrát denne tukovo-bielkovinovou diétou, pozostávajúcou z 50 g vlhkej váhy mliečneho tuku, 135 g vlhkej váhy mliečnych bielkovín pre jedno kŕmenie, rozmixované s vodou. Druhá skupina oviec (5 kusov) tri dni hladovala a každý deň miesto krmiva dostávala trikrát vodu. Každý deň počas pokusu, dostali ovce 2,25 l vody. V deň pred pokusom zvieratá dostali 800 g sena, predtým sa kŕmili dobrým senom *ad libitum* s prídav-

kom šrotu a k vode mali voľný prístup. Krv na analýzy sa odobrala z *v. jugularis* vždy ráno. Prvý odber sa urobil po 16hodinovom nočnom časovom intervale bez príjmu potravy (východzí odber pred pokusným kŕmením, resp. hladovaním), ďalšie odbery sa urobili po 1, 2 a 3 dňoch kŕmenia, resp. hladovania.

Celkové viazané hexózy (v mg) na bielkoviny v 100 ml séra sa stanovili antrónovou metódou podľa von Holta (1954). Ako výsledky sa použili tieto hodnoty (v mg/100 ml séra) ako i prepočítané, za použitia hodnôt celkovej bielkoviny séra, na percento (resp. pomer) obsahu viazaných hexóz z celkovej bielkoviny séra (v g viazaných hexóz/100 g bielkovín séra). Výsledky sú priemerom dvoch paralelných stanovení. Stanovenie viazaných hexóz na bielkoviny séra vo všetkých štyroch vzorkoch odobratých v rôzne dni za sebou od jedného zvieraťa sa previedlo súčasne po poslednom odbere.

Celková bielkovina séra (v g %) sa určila refraktometricky (Homolka 1956), relatívne zastúpenie bielkovinových frakcií séra v paralelných vzorkoch papierovou elektroforézou (Kóňa 1957).

Glukóza v celej heparinizovanej krvi sa určovala v dvoch paralelných vzorkoch po deproteinizácii uranylacetátom glukózo-oxydázovou metódou pomocou testu TC-M (fa Boehringer) v podstate opísanou Huggettom a Nixonom (1957).

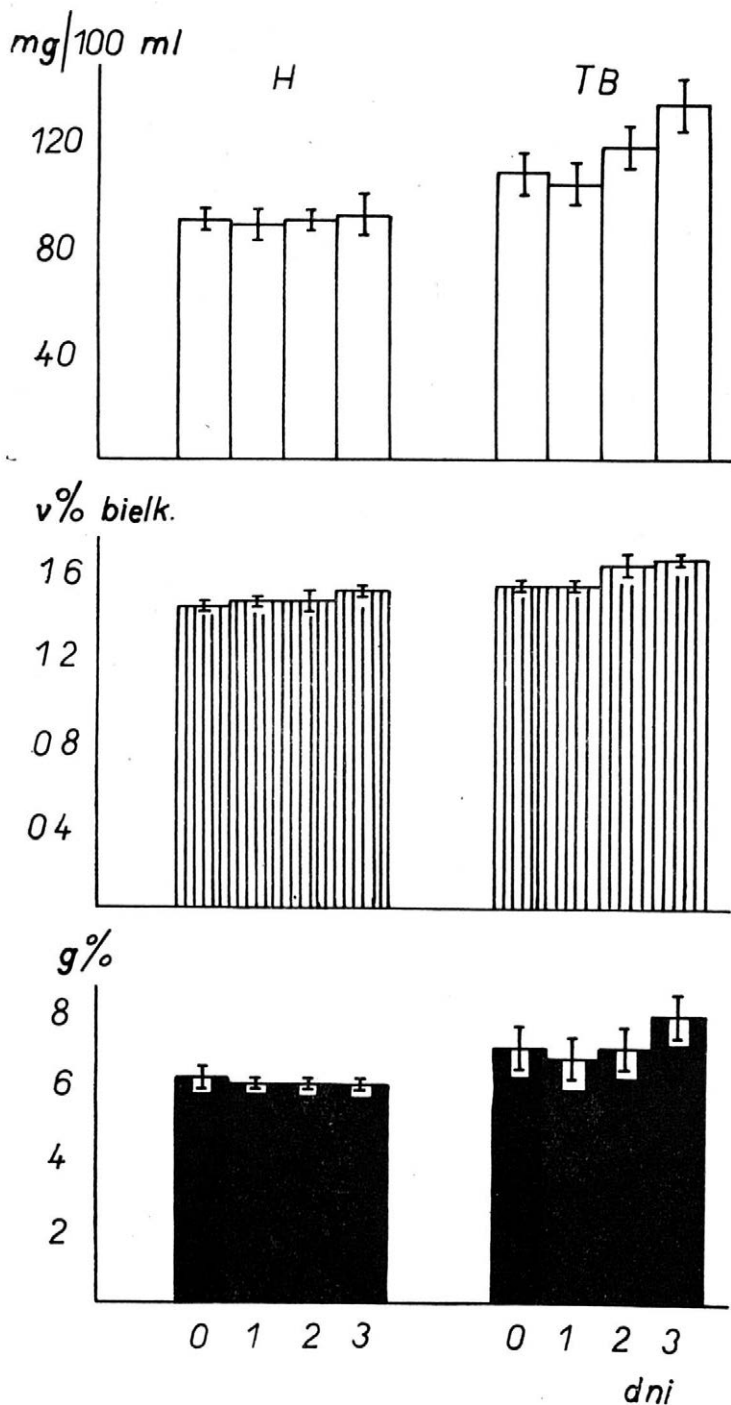
Pre štatistickú analýzu výsledkov sa použil Studentov t-test a z príslušných párových hodnôt sa vypočítal korelačný koeficient (Picko 1956).

## VÝSLEDKY

Hladina hexóz, viazaných na bielkoviny séra (v mg/100 ml) sa u oviec, krátkodobe hladujúcich (H) prakticky nemení, u oviec, krátkodobe kŕmených tukovo-bielkovinovou diétou (TB) je tendencia ich postupného zvyšovania, avšak rozdiely nie sú štatisticky významné ( $0,05 < P < 0,10$ ) (obr. 1, prázdne stĺpce) pravdepodobne pre väčší rozptyl hodnôt, pretože ich hodnoty po troch dňoch kŕmenia sú u každej ovce vyššie než pred kŕmením. Podobne i hladina hexóz, viazaných na bielkoviny séra (v % celkovej bielkoviny séra) u hladujúcich zvierat sa nemení, u zvierat kŕmených tukovo-bielkovinovou diétou je v priemeroch mierna tendencia ich postupného zvyšovania (obr. 1, šrafované stĺpce) a tiež tu po troch dňoch kŕmenia u každej ovce sú individuálne hodnoty vyššie než pred kŕmením. Taktiež i hladina celkovej bielkoviny séra u hladujúcich sa nemení, u kŕmených tukovo-bielkovinovou diétou na tretí deň sa zvýši (obr. 1, plné stĺpce).

V relatívnom pomere bielkovinových frakcií krvného séra (tab. I) u oboch skupín zvierat nepozorovať výrazných zmien. Je náznak zvyšovania alfa a beta globulínov u oviec kŕmených tukovo-bielkovinovou diétou.

Pri vyšetrovaní vzájomného vzťahu hodnôt hexóz, viazaných na bielkoviny krvného séra (v mg/100 ml) a celkovej bielkoviny séra u všetkých oviec oboch skupín pred i počas trojdňového hladovania, resp. kŕmenia, sa našiel vysoký korelačný koeficient závislosti hladín viazaných hexóz (v mg/100 ml) na hodnotách celkových bielkovín séra ( $r = +0,898 \pm 0,019$ ;  $P < 0,001$ ) (obr. 2). Vzťah medzi viazanými hexózami na bielkoviny séra (v % biel. séra) a glukózou krvi (v mg/100 ml) sa nenašiel ( $r = +0,041 \pm 0,099$ ;  $0,10 < P$ ).



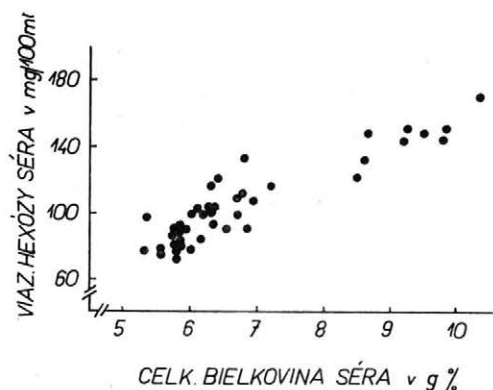
Obr. 1. Hladina hexóz, viazaných na bielkoviny séra (mg/100 ml) (prázdné stĺpce), pomer viazaných hexóz ku celkovej bielkovine séra (v % celkovej bielkoviny séra) (šrafované stĺpce) a celková bielkovina séra (v g %) (plné stĺpce) u oviec tri dni hladujúcich (H) a tri dni kŕmených tukovo-bielkovinovou diétou (TB). Krátke úsečky vyznačujú strednú chybu priemeru.

I. Relatívne zastúpenie (v %) bielkovinových frakcií krvného séra u nekotných oviec hladujúcich a kŕmených tukovo-bielkovinovou diétou

| Kŕmenie             | Frakcie   | Pred | Po 1 dni | Po 2 dňoch | Po 3 dňoch |
|---------------------|-----------|------|----------|------------|------------|
| Hladovka            | Albumíny  | 33,9 | 36,4     | 37,7       | 36,8       |
|                     | Globulíny | alfa | 11,7     | 9,9        | 9,5        |
|                     |           | beta | 20,5     | 18,9       | 20,7       |
|                     |           | gama | 33,9     | 34,8       | 32,1       |
| Tukovo-bielkovinové | Albumíny  | 31,6 | 31,2     | 29,6       | 30,6       |
|                     | Globulíny | alfa | 8,6      | 8,7        | 9,3        |
|                     |           | beta | 22,8     | 22,9       | 23,7       |
|                     |           | gama | 37,0     | 37,2       | 37,4       |

## DISKUSIA

U nekotných oviec tri dni hladujúcich sa nemenila hladina hexóz, viazaných na bielkoviny séra (v mg/100 ml), ani pomer viazaných hexóz na bielkoviny séra ku celkovej bielkovine séra (v % bielkoviny) a ani hladina celkovej bielkoviny séra. V kontraste s týmto u kotných oviec tri dni hladujúcich sa počas hladovky znižoval pomer viazaných hexóz na bielkoviny séra ku celkovej bielkovine séra, avšak u týchto zvierat sa ani hladina viazaných hexóz a ani celková bielkovina séra nemenila (K ó ň a 1967). Tento nález poukazuje na to, že pomer viazaných hexóz ku bielkovine séra sa u hladujúcich oviec bude znižovať vtedy, keď ich metabolické požiadavky a požiadavky na živiny budú zvýšené ako napr. pri vysokej kotnosti, kedy by mohla byť buď väčšia utilizácia bielkovín, bohatých na uhľohydráty, ako predpokladajú počas bielkovinového



Obr. 2. Vzájomný vzťah hladiny hexóz viazaných na bielkoviny krvného séra a celkovej bielkoviny séra u všetkých dospelých nekotných oviec pred i počas hladovania, resp. kŕmenia tukovo-bielkovinovou diétou ( $r = +0,898 \pm 0,019$ ;  $P < 0,001$ ).

vyčerpania u krýs Weimer so sp. (1959), buď bude zmenšenie syntézy sérových glykoproteínov, čo môže spôsobovať zvýšená glukoneogenéza z bielkovín, pretože potreba glukózy u kotných oviec sa zvyšuje (Kronfeld 1958).

U nekotných oviec tri dni kŕmených tukovobielkovinovou diétou je mierna tendencia zvýšenia ako viazaných hexóz tak i celkovej bielkoviny séra najmä po troch dňoch kŕmenia, čo poukazuje na ich ovplyvňovanie prídomom krmovínových bielkovín. Možno uvažovať, že mliečne bielkoviny obsahujú určité množstvo glykoproteínov a ich zvýšenie v sére ide na účet privádzaných bielkovín, čo by podporoval i nález zvýšenia celkovej bielkoviny séra po kŕmení bielkovinovo depletovaných krýs krmivom bohatým na kazeín, no sérové glykoproteíny v tomto čase sa vrátili len na hladinu pred bielkovinovým vyčerpaním (Weimer a Nishihara 1959). Treba však tiež vziať do úvahy, že takáto diéta stekucuje výkaly, s čím je spojené zvýšené vylučovanie vody z organizmu, čo zase má za následok určitú hemokonzentráciu, kedy sa môže zvýšiť koncentrácia sérových bielkovín a tým i glykoproteínov. Podobne uvažujú o znížení hodnôt séromukoidnej frakcie bielkovín u krýs pri väčšom stupni hemodilúcie Weimer a Nishihara (1959). Možno však tiež predpokladať, že po bohatom bielkovinovým kŕmením sa aspoň mierne zvýši schopnosť bielkovín séra viazať hexózy ako je to naznačené i zvýšeným pomerom viazaných hexóz ku bielkovine séra. Keď tukovo-bielkovinové kŕmenie pokračuje, naznačená schopnosť sérových bielkovín viazať hexózy, vyjadrená v mg/100 ml séra, sa prejavuje menej zreteľne, ak sa táto väzba vyjadruje v pomere viazaných hexóz na bielkoviny séra ku celkovej bielkovine séra, pri čom nepozorovať výrazné zmeny v relatívnom zastúpení bielkovinových frakcií, hoci možno považovať za naznačené zvyšovanie alfa a beta globulínových frakcií, ktoré obsahujú najviac glykoproteínov.

U nekotných oviec hladajúcich i kŕmených tukovo-bielkovinovou diétou sa našla vysoká závislosť pomeru viazaných hexóz na celkovej bielkovine séra, podobne ako sa zistila takáto vysoká závislosť u kotných hladajúcich i nehladajúcich oviec a tiež u dospelých intaktných oviec i u oviec počas masívneho krvácania (Kóňa 1967). Podobne Dimopoulos (1961) našiel významnú závislosť medzi celkovými viazanými polysacharidami séra a celkovými bielkovinami séra u zdravého hovädzieho dobytká rôzneho veku. Nezistila sa však u nekotných hladajúcich oviec a u oviec kŕmených tukovo-bielkovinovou diétou závislosť pomeru viazaných hexóz na hladine glukózy krvi ako bolo naznačené v predchádzajúcej práci (Havassy a Kóňa 1966) u kŕmených nekotných intaktných oviec.

Dosiahnuté výsledky ako i predchádzajúce výsledky ukazujú, že sérové glykoproteíny u oviec môžu byť ovplyvňované nutričnými podmienkami, najmä počas zvýšených nárokov organizmu na živiny ako je napr. kotnosť, zdá sa však, že tieto látky i u oviec by mohli viacej podliehať zmenám počas patologických procesov ako je to známe u ľudí a laboratórnych zvierat (napr. Williamson so sp. 1963, Stary 1957).

## Z A V E R

U nekotných oviec tri dni hladajúcich a tri dni kŕmených tukovo-bielkovinovou diétou cez slezovú fistulu sa vyšetrovala hladina viazaných hexóz na bielkoviny krvného séra (v mg/100 ml), pomer viazaných hexóz na bielkoviny séra ku celkovej bielkovine séra (v % celkovej bielkoviny séra), celková bielkovina séra a relatívny pomer bielkovinových frakcií séra. Ďalej sa sledoval vzťah viazaných hexóz ku celkovej bielkovine séra a ku glukóze krvi.

Hladina hexóz, viazaných na bielkoviny séra (v mg/100 ml i v % bielkoviny) ako aj celková bielkovina séra sa u hladajúcich oviec nemení, u oviec, kŕmených tukovo-bielkovinovou diétou je tendencia ich zvýšenia. V relatívnom pomere bielkovinových frakcií séra u oboch skupín sa nezaznamenali výrazné zmeny.

U všetkých oviec oboch skupín medzi hodnotami hexóz, viazaných na bielkoviny krvného séra (v mg/100 ml) a celkovou bielkovinou séra sa našiel vysoký a kladný korelačný koeficient závislosti ( $r = +0,898 \pm 0,019$ ;  $P < 0,001$ ). Nezistil sa vzťah medzi viazanými hexózami na bielkoviny séra (v % bielkoviny séra) a glukózou krvi ( $r = +0,041 \pm 0,099$ ;  $0,10 < P$ ).

Došlo dňa 27. 12. 1966

## Literatúra

1. CORNELIUS C. E., MOULTON J. E., Mc GOWAN B.: Ruminant urolithiasis. = „Amer. J. vet. Res.“, 20, 1959, s. 863-871. — 2. DIMOPOULLOS G. T.: Polysaccharide and protein relationships of normal bovine serum. = „Amer. J. vet. Res.“ 22, 1961, s. 986-989. — 3. HAVASSY I., KÓNA E.: Vzájomná súvislosť hladiny glukózy krvi a hexóz viazaných na bielkoviny krvného séra oviec. = „Čs. Fysiol.“ 15, 1966, s. 376. — 4. HOLT C. von.: Eine Methode zur Bestimmung des neutralen Hexoseanteiles der Proteine des Blutserums. = „Klin. Wschr.“ 32, 1954, s. 661-662. — 5. HOMOLKA J.: Chemická diagnostika v detském věku. Stát. zdravotn. naklad., Praha, 1956. — 6. HUGGETT A. St. G., NIXON D. A.: Enzymic determination of blood glucose. = „Biochem. J.“ 66, 1957, s. 12P. — 7. KÓNA E.: Zmeny hladiny glykoproteínov séra u oviec a ich vzťah k celkovej bielkovine séra a glukóze krvi. = „Poľnohospodárstvo“ 13, 1967, s. 363-373. — 8. KÓNA E.: Elektroforéza krvného séra oviec, chorých na fasciolózu. = „Vet. Med.“ (Praha) 2, 1957, s. 159-164. — 9. KÓNA E., HAVASSY I., ZIMMERMANN J., KADUK J.: Niektoré biochemické zmeny v krvi oviec po silnom krvácaní. = „Vet. Med.“ (Praha) 11, 1966, s. 517-522. — 10. KRONFELD D. S.: The fetal drain of hexose in ovine pregnancy toxemia. = „Cornell Vet.“ 48, 1958, s. 394-404. — 11. MIETTINEN T.: Hexosamine and sialic acid in the plasma and urine of the rat. = „Scand J. clin. Lab. Invest.“ 13, 1961, s. 1-101. — 12. PICKO V.: Statistické hodnotení výsledků v kn. HOMOLKA J.: Chemická diagnostika v detském věku. Stát. zdravotn. naklad., Praha, 1956. — 13. SHETLAR M. R., SHETLAR C. R.: Effect of cortisone on serum glycoprotein and serumucoid levels of rats. = „Proc. Soc. exp. Biol. Med.“ (N. Y.) 88, 1955, s. 622-624. — 14. STARY Z.: Mucoproteins in clinical chemistry. = „Clin. Chem.“ 3, 1957, 557-567. — 15. WEIMER H. E., NISHIHARA H.: The influence of the protein levels of the diet on serum glycoprotein concentrations in the rat. = „J. Nutr.“ 67, 1959, s. 137-147. — 16. WEIMER H. E., NISHIHARA H.: Effect of protein depletion and inanition on serum glycoprotein concentrations in the rat. = „Proc. Soc. exp. Biol. Med.“ (N. Y.) 95, 1957, s. 677-678. — 17. WEIMER H. E., NISHIHARA H., LING S. H.: Serial determination of serum protein-bound carbohydrates and proteins during protein depletion and repletion in the adult rat. = „J. Nutr.“ 69, 1959, s. 151-157. — 18. WILLIAMSON M. B., DI LALLO L., HALEY H. B.: Serum glycoprotein levels during wound tissue regeneration. = „Clin. Chem.“ 9, 1963, s. 274-282.

## Уровень гликопротеинов и белков сыворотки у холостых овцематок, кормленных жирно-белковой диетой и голодающих

У холостых овцематок, три дня голодающих и три дня кормленных жирно-белковой диетой при помощи сужужной фистулы, исследовался уровень связанных гексоз с белками кровяной сыворотки (в мг/100 мл), отношение связанных гексоз с белками сыворотки к общим белкам сыворотки (в процентах общего белка сыворотки), общие белки сыворотки и относительное отношение белковых фракций сыворотки. Далее изучалось отношение связанных гексоз к общим белкам сыворотки и к глюкозе крови.

Уровень гексоз, связанных с белками сыворотки (в мг/100 мл и в % белков), так же как и общие белки сыворотки у голодающих овец не меняются; у овец, кормленных жирно-белковой диетой, тенденция их повышается. В относительном отношении белковых фракций сыворотки у обеих групп не были отмечены отчетливые изменения.

У всех овец обеих групп между значениями гексоз, связанных с белками кровяной сыворотки (в мг/100 мл) и общими белками сыворотки, был установлен высокий положитель-



ный корреляционный коэффициент зависимости ( $r = +0,898 \pm 0,019$ ;  $P < 0,001$ ). Не было установлено отношения между связанными гексозами с белками сыворотки (в % белков сыворотки) и глюкозой крови ( $r = +0,041 \pm 0,099$ ;  $0,10 < P$ ).

### **Glycoprotein and Serum Protein Level in Non-Pregnant Sheep fed with a Fat-Proteinic Diet and in Starved Non-Pregnant Sheep**

In non-pregnant sheep starving for 3 days and fed for 3 days with a fat-proteinic diet through an abomase fistula, the level of hexoses bound on blood-serum proteins (in mg/100 ml), the relation of these hexoses to the amount of total serum-protein (in % of the total serum-protein), the total serum-protein and the relative relation of proteinic serum fractions were studied. Also the relation of bound hexoses to the total serum-protein and to the blood-glucose was studied.

The level of hexoses, bound on serum-proteins (in mg/100 ml and in % of protein) as well as the total serum-protein in the starving sheep were not changed, but in sheep fed with a fat-proteinic diet there was a trend to its elevation. In both groups no significant changes in the relative relation of proteinic serum fractions were found.

In all sheep of both groups there was found a high positive correlation coefficient of dependence between the values of hexoses bound on the blood serum proteins (in mg/100 ml) and the total serum protein ( $r = +0,898 \pm 0,019$ ;  $P < 0,001$ ). No relation between the hexoses bound on serum-proteins (in % of serum-proteins) and the blood glucose ( $r = +0,041 \pm 0,099$ ;  $0,10 < P$ ) was found.

### **Das Niveau der Glykoproteine und des Serumeiweißes bei nicht trächtigen Schafen, die mit einer Fett-Eiweißdiät gefüttert wurden und bei hungernden Schafen**

Bei nicht trächtigen, drei Tage hungernden und bei den mit einer Fett-Eiweißdiät über die Labmagenfistel gefütterten Schafen wurde das Niveau der auf das Blutserumeiweiß gebundenen Hexosen (in mg/100 ml), das Verhältnis der auf das Serumeiweiß gebundenen Hexosen zum gesamten Serumeiweiß (in % des gesamten Serumeiweißes), das gesamte Serumeiweiß und das relative Verhältnis der Serumeiweißfraktionen untersucht. Ferner verfolgte man die Beziehung der gebundenen Hexosen zum gesamten Serumeiweiß und zur Glukose im Blut.

Das Niveau der an das Serumeiweiß gebundenen Hexosen (in mg/100 ml und in % des Eiweißes) sowie das gesamte Serumeiweiß verändert sich bei hungernden Schafen nicht; bei den mit einer Fett-Eiweißdiät gefütterten Schafen ist eine Tendenz der Erhöhung dieser Werte zu verzeichnen. Beim relativen Verhältnis der Eiweißserumfraktionen konnte man bei beiden Gruppen keine wesentlichen Veränderungen bemerken.

Bei sämtlichen Schafen beider Gruppen fand man zwischen den Werten der auf das Serumeiweiß gebundenen Hexosen (in mg/100 ml) und dem gesamten Serumeiweiß einen hoch positiven Korrelationskoeffizient der Abhängigkeit ( $r = +0,898 \pm 0,019$ ;  $P < 0,001$ ). Eine Beziehung zwischen den auf das Serumeiweiß gebundenen Hexosen (in % des Serumeiweißes) und der Glukose im Blut konnte keine Beziehung festgestellt werden ( $r = +0,041 \pm 0,099$ ;  $0,10 < P$ ).

---

#### **Adresa autora:**

Doc. MVDr. Eugen Kóňá, CSc., VŠP, veterinárska fakulta, katedra patologickej morfológie a fyziológie, Košice, Komenského 71

---

# Veterináři v literatuře a o literatuře

• **Veterinář v beletrii** je tematem eseje M. D. Jensenové v časopise *The Cornell Veterinarian* (Millie D. Jensen: The veterinarian in fiction, *Cornell Veterinarian* 57, 1, 79-87, 1967). V článku jsou hodnoceny 3 romány, jejichž hlavním hrdinou je veterinář. Pro zajímavost uvádíme citace:

Roothaert A. „Dutch Vet.“ Macmillan, New York, 1940.

Birne H. „Wait for the new grass“, St. Martin's Press, New York, 1961.

Gardner R. „Scandalous John“. Doubleday and Comp. New York, 1963.

První román je příběhem veterináře v ortodoxních podmínkách holandského venkova, druhý tematicky využívá rozsáhlé akce vlády Spojených Států a Mexika na eradikaci slintavky v letech 1946–48; třetí román je příběhem veterináře z rodu hrdinů donkichotovského typu a odehrává se na americkém západě.

V závěru článek cituje Somerseta W. Maughana: „Kdybych si mohl vybrat, mnohem raději bych ztrávil měsíc na pustém ostrově se zvěrolékařem, než s ministerským předsedou“.

Lis

• **Veterinář nemusí být jenom pasivním objektem literárního vyprávění**, může se sám podílet na výkladu a zajímavém rozboru velkého literárního díla jako je např. nikoho menšího než nesmrtelného W. Shakespeara. Ve sbírce *HISTORIA MEDICINAE VETERINARIAE*, kterou vydává Ústřední státní veterinární ústav, Kabinet veterinární osvěty Pardubice vyšla práce Shakespeareův svět zvířat (Shakespeare and the animal world) jejímž autorem je MVDr. František Nevrla.

Autor, překladatel Shakespeara a jak z citátů vidno velmi dobrý znalec velkého dramatika cituje z jednotlivých jeho děl a ukazuje nám Shakespeara jako výtečného znalce koní — kůň zejména jezdecký byl v jeho době tím, čím jsou nám dnes všechny ostatní dopravní prostředky dohromady — a nevyznat se v koních bylo tehdy jistě velkým společenským handicapem. Dr. Nevrla upozorňuje na pasáž zvanou „koňské námluvy“ ve hře „Venuše a Adonis“ kde velký dramatik na šesti řádcích vypočítává neméně než čtrnáct zootechnických znaků popisu koně a domnívá se, že by Shakespeare složil i dnes zkoušku z hipologie před kteroukoliv veterinární fakultou světa i před přísným profesorem Hrůzou! Cituje dále ze „Zkrocení zlé ženy“ Biondellův popis příjezdu Petruchiova na svatbu — kůň na němž Petruchio přijíždí je téměř úplným soupisem všech koňských nemocí tehdy známých. V dalším cituje autor ze S. pasáže týkající se ovcí, včel, lovné zvěře, ptáků, plazů, hmyzu a různých nestvůr.

Rozhodně je to knížka zajímavá a nedejte se odradit tím, že je na titulní stránce natištěno „Pro služební potřebu“ — mohla by docela dobře vyjít jako literární bibliografie.

red.

## Americké recenze české veterinární literatury

• **Cornell Veterinarian** (57, 1, 165-66, 1967) uveřejnil recenzi německého překladu knihy Hökl - Štěpánek „Hygienu mléka a mléčných výrobků“. Autorem je F. W. Oehme. Recenze je velmi příznivá a vyzdvíhá je zejména část pojednávající o různých vlivech na složení mléka. Tato část recensent hodnotí jako nejúplnější přehled, jaký kdy na uvedené téma viděl. Kapitoly o technickém vybavení a metodách v hygieně mléka prý pro případného amerického čtenáře nepřinášejí nic nového. Kniha však bude podle názoru recensenta velmi cenná, zvláště pro experty pracujících v cizích zemích s méně dokonalým technickým vybavením, hlavně pro důkladné zpracování nemocí přenosných mlékem.

Lis

■ Pri štúdiu biochemických vlastností huby *Stachybotrys alternans*, ktorej toxíny sú pôvodcom mykotoxikózy hovädzieho dobytku a koní (Sarkisov 1954, Forgacs a Carll 1962, Spesivceva 1964, Beseda a spol. 1965), sme považovali za potrebné vopred sa oboznámiť s obsahom základných látok, ktoré vytvárajú jej bunkovú štruktúru. V tejto práci uvádzame zloženie aminokyselín, mastných kyselín a cukrov, tak ako sme ho stanovili v hydrolyzátoch z mycélia uvedeného druhu.

## MATERIÁL A METÓDY

Kultúry *S. alternans* po štrnásťdennej inkubácii pri 25 °C na Czapek-Doxovom agare bežného zloženia boli opatrne zoškrabané bez poškodenia agarovej vrstvy a hydrolyzované 18 hodín pri 105 °C v zatavených ampulkách jednak 6 N HCl a jednak 1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Hydrolyzáty s kyselinou solnou sa použili na stanovenie aminokyselín a hydrolyzáty s kyselinou sírovou na stanovenie glycidov. Stanovenie aminokyselín a cukrov sa robilo pomocou chromatografie a vysokovoltovej elektroforézy na papieri (Ferenčík 1962a, b, Ferenčík a Čižnár 1965).

Lipoidné látky sa z vysušených kultúr húb extrahovali zmesou chloroformu a metanolu (2:1). Po odparení extrahovadla v atmosfére dusíka sa k odparku pridal 2 N roztok KOH v metanole a zmes sa 6 hodín hydrolyzovala na vriacom vodnom kúpeli pod spätným chladičom. Hydrolyzáty po ochladení sa zriedi vodou, okyslí kyselinou chlorovodíkovou na pH 3,0 a extrahuje éterom. Po odparení éteru sa odparok rozpustí v presnom množstve chloroformu, ktorý sa nanáša na papier Whatman 3 impregnovaný parafrínovým olejom. Jednotlivé mastné kyseliny sa delia chromatograficky pri použití 93% kyseliny octovej ako mobilnej fázy. Presný postup je uvedený na inom mieste (Krajčiová a spol. 1962).

Okrem *S. alternans* sme pre porovnanie analyzovali aj kmene niektorých iných húb. Všetky tieto huby boli izolované z krmív pre hospodárske zvieratá.

Toxicita jednotlivých kmeňov sa určovala na koži kráľika, prvokoch druhu *Tetrahymena pyriformis* a metódou podľa Vasina (Ladzińska 1967).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Všetky sledované huby obsahovali 18 aminokyselín: cysteín, lyzín, histidín, arginín, serín, glycín, treonín, alanín, prolín, tyrozín, metionín, valín, fenyľalanín, leucín, izoleucín, tryptofán, asparágovú a glutamovú kyselinu. V mycéliu niektorých húb sa nachádzali aj ďalšie aminokyseliny a to  $\alpha$ -aminomaselná ( $\alpha$ -ABA), citrulín (Cit), ornitín (Orn) a taurín (Tau) (tabuľka I).

### I. Obsah niektorých aminokyselín

| Huby                           | Toxicita | Pôvod         | $\alpha$ -ABA | Cit | Orn | Tau |
|--------------------------------|----------|---------------|---------------|-----|-----|-----|
| <i>S. alternans</i> 14 a 857   | ++++     | slama         | +             | +   | +   | —   |
| <i>S. alternans</i> 36 a 93    | ++++     | slama         | —             | —   | +   | —   |
| <i>S. alternans</i> 862        | ++++     | slama         | —             | —   | —   | +   |
| <i>S. alternans</i> 1282       | ++++     | ster zo steny | —             | —   | —   | +   |
| <i>S. alternans</i> 276 a 1249 | +++      | slama         | —             | —   | —   | —   |
| <i>S. alternans</i> 19         | +++      | siláž         | —             | —   | —   | —   |
| <i>S. alternans</i> 815        | —        | ster zo steny | —             | —   | —   | —   |
| <i>A. niger</i>                | —        | krm. zmes     | —             | +   | +   | +   |
| <i>A. fumigatus</i>            | —        | krm. zmes     | —             | +   | +   | +   |
| <i>A. flavus</i>               | —        | krm. zmes     | —             | +   | +   | +   |
| <i>A. clavatus</i>             | —        | krm. zmes     | —             | +   | +   | +   |
| <i>Fusarium</i> sp. 1 a 3      | —        | seno          | —             | +   | +   | +   |
| <i>Fusarium</i> sp. 2          | —        | seno          | —             | +   | +   | —   |

Je zaujímavé, že uvedené štyri aminokyseliny boli zistené u *S. alternans* len u kmeňov s vysokou toxicitou. Mycélium porovnávacích kmeňov *Aspergillus* a *Fusarium* obsahovalo Cit, Orn a Tau, ale nie  $\alpha$ -ABA.

Kmene *S. alternans* 14 a 857 sme analyzovali po 1., 5., 11., 20. a 29. pasáži cez pevnú Czapek-Doxovu pôdu. Oba kmene po 1. a 5. pasáži obsahovali aj Cit a Orn, kým po 11. a ďalších pasážach sme tieto dve aminokyseliny už u nich nenašli, ale objavila sa nová aminokyselina a to Tau. Táto skutočnosť by mohla súvisieť s niektorými metabolickými zmenami, hlavne v močovinovom cykle.

Spomedzi cukrov sa u všetkých sledovaných húb dokázala galaktóza, glukóza, glukozamín, arabinóza a rafinóza. Určité rozdiely sme pozorovali u maltózy (MAL), manózy (MAN), xylózy (XYL), glukurónovej kyseliny (GLU-UA) a galaktozamínu (GAL-NH<sub>2</sub>) (tabuľka II).

Niektoré kmene *S. alternans* obsahovali MAL, MAN, XYL, GLU-UA a jeden tiež ramnózu (RAM). Všetky kmene *Aspergillus* a *Fusarium* mali MAN a stopové množstvá XYL, niektoré aj GAL-NH<sub>2</sub>. Obdobné zmeny ako u aminokyselín sme počas pasážovania *S. alternans* cez Czapek-Doxovu pôdu v zložení cukrov nezistili.

Vo všetkých kmeňoch húb sa z nasýtených mastných kyselín nachádzala kyselina stearová, palmitová a myristová, z nenasýtených to bola kyselina linolová. Mycélium niektorých kmeňov *S. alternans* obsahovalo tiež kyselinu arachidovú

## II. Obsah niektorých glycidov

| Huby                      | MAL | MAN | XYL | RAM | GLU-UA | GAL-NH <sub>2</sub> |
|---------------------------|-----|-----|-----|-----|--------|---------------------|
| <i>S. alternans</i> 14    | +   | +   | +   | +   | +      | —                   |
| <i>S. alternans</i> 857   | +   | +   | —   | —   | +      | —                   |
| <i>S. alternans</i> 93    | —   | —   | +   | —   | +      | —                   |
| <i>S. alternans</i> 276   | —   | +   | ±   | —   | —      | —                   |
| <i>S. alternans</i> 815   | —   | +   | +   | —   | +      | —                   |
| <i>A. niger</i>           | —   | +   | ±   | —   | —      | —                   |
| <i>A. fumigatus</i>       | —   | +   | ±   | —   | —      | —                   |
| <i>A. flavus</i>          | —   | +   | ±   | —   | —      | +                   |
| <i>Fusarium</i> sp. 1 a 3 | —   | +   | ±   | —   | —      | +                   |
| <i>Fusarium</i> sp. 2     | —   | +   | ±   | —   | —      | —                   |

## III. Obsah niektorých mastných kyselín

| Huby                           | ARA | OLE | LIN | "X" |
|--------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| <i>S. alternans</i> 14         | +   | +   | —   | +   |
| <i>S. alternans</i> 857 a 1282 | —   | +   | —   | +   |
| <i>S. alternans</i> 862        | +   | +   | +   | —   |
| <i>S. alternans</i> 93         | —   | +   | +   | —   |
| <i>S. alternans</i> 276        | ±   | +   | —   | —   |
| <i>A. niger</i>                | —   | +   | +   | —   |
| <i>A. fumigatus</i>            | —   | +   | +   | —   |
| <i>A. flavus</i>               | —   | —   | +   | —   |
| <i>Fusarium</i> 1 a 2          | +   | +   | +   | —   |

(ARA), olejovú (OLE), linolénovú (LIN) a ďalšiu, bližšie neidentifikovanú („X“). Táto posledná sa nedokázala ani v jednom prípade u ostatných druhov húb (tabuľka III).

Arachidová kyselina bola u kmeňa *S. alternans* 14 zistená len po 1. pasáži. U kmeňa *S. alternans* 857 sa kyselina olejová a linolová objavila len po 5. a ďalších pasážach cez Czapek - Doxovo pevné médium. Tento kmeň mal vtedy ešte dve ďalšie, bližšie neidentifikované nenasytené mastné kyseliny. Jednu z nich obsahoval aj kmeň 14 a 1282.

Všetky výsledky analýz uvedené v tab. I—III boli získané u húb po tretej alebo štvrtej pasáži cez pevnú Czapek - Doxovu pôdu.

Pozorované zmeny v zložení aminokyselín a mastných kyselín, ku ktorým došlo v priebehu dlhodobého pasážovania (29 pasáží) cez Czapek - Doxovo médium u niektorých kmeňov *S. alternans*, sú zrejme zapríčinené rozdielmi v zložení substrátov, ktoré mali huby k dispozícii v porovnaní s prirodzeným prostredím, z ktorého sa izolovali. Toxicita sledovaných kmeňov sa pri tomto pasážovaní prakticky nemenila a teda zmeny v obsahu aminokyselín a mastných kyselín nemali pravdepodobne žiadny súvis s produkciou toxínu.

Zisťoval sa obsah aminokyselín, mastných kyselín a glycidov v hydrolyzátoch mycélia zo *Stachybotrys alternans* a pre porovnanie aj u niektorých kmeňov *Aspergillus* a *Fusarium*. Hydrolyzáty obsahovali 18–22 rôznych aminokyselín, 5–11 cukrov, 3–4 nasýtené a 1–5 nenасыtených mastných kyselín. U *Stachybotrys alternans* sa medzi jednotlivými kmeňmi pozorovali malé rozdiely v zložení týchto látok. Rozdiely v zložení aminokyselín a mastných kyselín sa u niektorých kmeňov *Stachybotrys alternans* dokázali aj počas ich dlhodobého pasážovania cez pevnú Czapek-Doxovu pôdu. Tieto zmeny však neboli v korelácii s produkciou toxínu.

Došlo dňa 31. 1. 1967

## Literatúra

1. BESEDA M., LADZIANSKA K., HALIK J.: Mykotoxikózy hospodárskych zvierat. Slov. vyd. pôdohosp. lit., Bratislava 1965. — 2. FERENCÍK M.: Stanovenie histamínu a histidínu pomocou vysokovoltovej papierovej elektroforézy. = „Chem. Listy“, 56, 289, 1962. — 3. FERENCÍK M.: Stanovenie aminokyselín a aminov pomocou vysokovoltovej elektroforézy na papieri za použitia tmivých roztokov o nízkej iónovej sile. = „Vet. Čas.“, 11, 306, 1962. — 4. FERENCÍK M., ČIŽNÁR I.: Separácia cukrov pomocou vysokovoltovej elektroforézy na papieri. = „Chem. Listy“, 59, 332, 1965. — 5. FORGACS J., CARLL W. T.: Mycotoxicoses. = „Adv. Vet. Sci.“, 7, 273, 1962. — 6. KRAJČIOVÁ V., ČIŽNÁR I., KRČMÉRY V.: Chromatografické určovanie mastných kyselín v endotoxínoch a v celých bunkách *Salmonella cholerae suis*. = „Biológia“ (Bratislava), 17, 148, 1962. — 7. LADZIANSKA K.: Dôkaz toxicity huby *Stachybotrys alternans*. = „Vet. Med.“, 1967 - v tlači. — 8. SARKISOV A. Ch.: Mikotoxikózy. Gos. izd. sel'skochoz. lit., Moskva 1954. — 9. SPESIVCEVA N. A.: Mikozy i mikotoxikózy. Kolos, Moskva 1964.

## Содержание аминокислот, жирных кислот и некоторых глицидов у гриба *Stachybotrys alternans*

Определялось содержание аминокислот, жирных кислот и глицидов в гидролизатах мицелия из *Stachybotrys alternans*, а для сравнения также и у некоторых штаммов *Aspergillus* и *Fusarium*. Гидролизаты содержали 18–22 разных аминокислот, 5–11 сахаров, 3–4 насыщенные и 1–5 ненасыщенных жирных кислот. У *Stachybotrys alternans* между отдельными штаммами наблюдались небольшие различия в составе этих веществ. Мы доказали различия в составе аминокислот и жирных кислот у некоторых штаммов *Stachybotrys alternans* даже во время их долгосрочного пассажирования через твердую пит. среду Чапек-Докса. Однако эти изменения не были в корреляции с продукцией токсина.

## Content of Amino Acids, Fatty Acids and Some Glycides in the Fungus *Stachybotrys alternans*

The authors determined the content of amino acids, fatty acids and glycidides in hydrolysates of the mycelium of *Stachybotrys alternans* and, for reasons of comparison, also of some strains of *Aspergillus* and *Fusarium*. The hydrolysates contained 18–22 various amino acids, 5–11 sugars, 3–4 saturated and 1–5 unsaturated fatty acids. In the case of *Stachybotrys alternans*, the individual strains exhibited small differences in the composition of these substances. Differences in the composition of amino acids and fatty acids were found in some strains of *Stachybotrys alternans* even after their long-lasting passage through solid Czapek-Dox substrate. However, these changes were not in correlation with toxin production.



## Der Gehalt an Aminosäuren, Fettsäuren und einigen Glyziden beim Pilz *Stachybotrys alternans*

Der Gehalt an Aminosäuren, Fettsäuren und Glyziden in den Hydrolysaten des Myzeliums des Pilzes *Stachybotrys alternans* und zwecks Vergleich auch bei einigen Stämmen von *Aspergillus* und *Fusarium* wurde festgestellt. Die Hydrolysate enthielten 18–22 verschiedene Aminosäuren, 5–11 Zucker, 3–4 gesättigte und 1–5 ungesättigte Fettsäuren. Bei *Stachybotrys alternans* wurden zwischen den einzelnen Stämmen kleine Unterschiede in der Zusammensetzung dieser Stoffe beobachtet. Unterschiede in der Zusammensetzung der Amino- und Fettsäuren konnte bei einigen Stämmen von *Stachybotrys alternans* auch während einer langfristigen Passage über den festen Czapek-Dox-Boden nachgewiesen werden. Zwischen diesen Veränderungen und der Toxinproduktion bestand jedoch keine Korrelation.

### Adresy autorov:

Ing. Miroslav Ferencík, MVDr. Klára Ladzińska, Ústredný štátny veterinárny ústav, Bratislava, Pri Botanickéj zahr. 3,

ing. Ivan Čižnár, Obl. ústav epidemiológie a mikrobiológie, Bratislava, Sasinkova 9.

### MALE INFORMACE

#### Kniha o diagnostice plísňových onemocnění

• Současný zvýšený zájem o plísňové choroby se projevuje v mezinárodním měřítku a souvisí s přechodem na velkovýrobní metody v živočišné výrobě a doposud nedostatečně zvládnutou velkovýrobní technologií sklizně a konzervace píce (zaplísňení slámy, siláže i ostatních krmiv). Zvýšenému vědeckému zájmu i potřebám praxe vychází vstříc kniha, kterou jsme dostali do redakce „Patomorfologie mykóz u zvířat“ (Pathomorphologie der Systemmykosen des Tieres) jejímž autorem je doc. MVDr. Bruno Schiefer Mníchov a vydavatelem VEB Gustav Fischer Verlag, Jena. Autor této monografie se snaží, na podkladě obšírného vyličení patomorfologických okolností a vyšetřovacích technik určit význam, možnosti a hranice určení diagnózy na podkladě histologického preparátu. Kniha by tudíž mohla sloužit vedle přehledu dosud určených a popsáných plísňových onemocnění, jakožto stručné vodítko pro diagnostiku zvířecích mykóz. Obšírně je popsána technika diagnostiky plísní a speciální patologie mykóz. Kniha má 175 stran na velmi dobrém křídovém papíře, přináší vyobrazení 31 preparátů a téměř čtyřicetistránkový seznam literatury. Českoslovenští autoři jsou v tomto seznamu zastoupeni velmi skromně, seznam cituje B. Klimeše, Dvořákovou a Očenáška, Šandulu, Kočkovou-Kratochvílovou a Zámečnickovou, Tomika a v jednom případě také Veterinární medicínu z r. 1961: Škarda - Hoch str. 927-930. Pokus o morfológickou standardizaci plísňových afekcí, podle přetisku v Landwirtschaftliches Zentralblatt č. 7. r. 1962. Novější práce z tohoto oboru byly u nás zřejmě publikovány již v době, kdy byla kniha redakčně uzavřena. Ke knize je připojen výběr doporučených barvicích metod. Stojí vázaná 44 marek. Kniha západoněmeckého autora vydaná v NDR zřejmě ukazuje, že pro vědu neexistují hranice, které v Bonnu, tak vehementně zdůrazňují.

red.

**Výběr z nových přírůstků**  
**Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI MZVž**  
**na úseku veterinářství**

Capstick, P. B. — Garland, A. J. D 52.978/175

**Observations on the use of BHK 21 clone 13 cells for foot-and-mouth disease vaccine production.** Pirbright, Woking, Surrey — The animal virus research institute 1965. S. 216-223. 4 tb. The animal virus res. inst. Repr. No. 175. (Protislantavkové vakcíny — výroba — buňky BHK 21 kmen 13 — výzkum)

**Proizvodstvo protivojaščurných vakcín v Itálii.** E 30.423/1965/10  
 Moskva, Vses. inst. naučno-issled. informacii po sel'skomu chozjajstvu 1965. 53 s. 14 obr. tab. Sel'skochoz. nauka i praktika za rubežom 10. (Vakcíny slintavkové — výroba průmyslová — Itálie — studijní cesty — SSSR)

Jones, A. L. D 52.978/165

**Growth of foot-and-mouth disease virus in organ cultures on mouse pancreas.** B. m. n. 1965. 4 s. obr. Reprinted from Nature, Vol. 207, No. 4997, 1965. (Slintavka a kulhavka — virus — výzkum — metody — tkáňové kultury — pankreas myši)

Mammerickx, M. — Leunen, J. C 17.765

**Étude des cultures de longue durée des virus aphteux O, A et C, produits sur cellules renales de foetus bovine sa flacons roulants.** Louvain, L. Wouters 1966. 93 s. (Slintavkový virus — kultivace — ledvinová tkáň — skot — výzkum — Belgie)

Box, P. G. — Keeble, S. A. — Berry, D. M. C 17.757/13

**Field experience with the control of Newcastle disease and infectious bronchitis with inactivated vaccines.** Kiev, b. n. 1966. 10 s. 5 tab. 13. World's poultry congress. Proceedings. Section papers. Kiev, SSSR 1966. (Drůbež — nemoci nakažlivé — ochrana — vakcíny inaktivované — výzkum — Anglie)

**The immunogenicity of inactivated cowpox vaccine** D 53.676/140  
 in rabbits. Kashiwa City (Japan), Kitasato inst. 1964. S. 43-52. The Kitasato archives of exp. medicine Vol. 37, No. 1-4. 1964. (Vakcíny inaktivované — neštovice kravské — ultrafialové záření — výzkum — Japonsko)

**Antigenic potency tests on a single batch** C 16.977/87  
 of Newcastle disease vaccine used as a working standard. B. m. n. 1963. S. 424-427. obr. tb. Repr. f. the journal of comparat. pathology and therapeutics 1963, Vol. 73, No. 4 (Drůbež — nemoci vırové — léčení — vakcíny — dávky — jednoduché — antigenický výzkum — Anglie)

Vasiljev, N. T. — Rumjancev, N. V. — Černjak, V. Z. E 31.938

**Lejkozy sel'skochozjajstvennych žıvotnych.** Moskva, Kolos 1966. 301 s. 57 obr. 38 tb. (Leukosa — hospodářská zvířata — příručky)

Peterson, K. J. — Bodyfelt, F. D 38.943/70

**Questions and answers about leukocytes in milk.** Washington, A Pacific Northwest coop. 1965. 6 s. obr. (Dojnice — nemoci — mastitis — mléko — krvinky bílé — počet — vztahy — letáky)

**Gutachten über die viruzide Wirkung von Jodophoren.** C 17.786  
 (text též angl.) Basel, Ciba Aktiengesellschaft 1966. 32 s. tb. (Vırové nemoci — hospodářská zvířata — desinfekční přípravky — jodofory — Ciba — výzkum)

Schönherr, W. E 11.466/15/8

**Die Bekämpfung chronischer Seuchen des Rindes unter besonderer Berücksichtigung der Euterkrankheiten.** Berlin, DALW 1966. 14 s. Sitzungsberichte. Bd. 15. H. 8. (Skot — nemoci — brucelosa, tuberkulosa, mastitis — ochrana — studijní zprávy — NDR)

**Parazity žıvotnych i bořba s nimi.** Riga, Zinatne 1966. D 54.240  
 193 s. obr. tb. (Veterinární parazitologie — sborníky)

■ Tuk je ve výživě mnohem vydatnějším zdrojem energie nežli např. glycidy. Vysoká energetická hodnota tuku spočívá především v nízkých hladinách kyslíku a ve značném množství  $\text{CH}_2$  skupin, jež jsou vestavěny do tukových molekul. Význam tuku v biologii a výživě organismu je všeobecně znám.

Používání tuků v krmných směsích se uplatňuje v poslední době čím dále tím ve větší míře. To má několik všeobecných příčin. Jednou je zvýšená produkce jatečných zvířat na jedné straně a snižující se spotřeba tuků v lidské výživě na straně druhé. Další příčinou je podstatně zdokonalená technologie olejářského průmyslu, což způsobuje pokles obsahu tuků v pokrutinách pod 1 %. Zvýšila se rovněž výtěžnost uhynulých zvířat, a to vedlo k dalšímu zdroji živočišných tuků. Zlepšení skladovací techniky a možnost dnes už také tuky lépe stabilizovat, má rovněž kladný význam pro technologii krmiv a jejich průmyslovou výrobu.

V našich poměrech se jeví také velmi slibným zdrojem krmných tuků možnost využití některých odpadních tuků, jako je kafilerický tuk a rafinační mastné kyseliny, obzvláště v krmných směsích pro drůbež.

Poněvadž tuky jsou současně důležitým rozpouštědlem mnohých látek, které mohou být škodlivé pro organismus, zaměřili jsme výzkum k těmto možnostem. Proto sledujeme v předložené práci vliv kafilerického tuku v potravě na krevní změny, aktivity transamináz, leucinaminopeptidázy, alkalické fosfatázy a hladiny minerálií. Sledování enzymatických aktivit považujeme za dosud nejcitlivějšího ukazatele změn, které se odehrávají v živém organismu již intracelulárně, tedy daleko před klinickými projevy. Správný poměr minerálů zajišťuje fyziologické funkce orgánů, tvorbu tkání a dále slouží stopové prvky často jako kofaktory některých enzymů. Pro metabolismus minerálních látek v organismu mají tuky důležitý význam.

V odborné literatuře jsme se nesetkali s obdobnými pracemi o výživě domácích zvířat, které by byly úkol řešily uvedeným směrem.

## **METODIKA**

Pokus byl proveden ve dvou etapách na 22 pokusných a 20 kontrolních kohoutcích, plemene bílých plymoutek, kteří byli chováni po dobu pokusu v klecích se sítí. Od stáří 1 týdne byla kohoutkům v pokusné skupině předkládána krmná směs s 5 % kafilerického tuku. Tuk byl přidáván do krmiva na úkor jeho kukuřičné složky. Takto upravené krmivo bylo kohoutkům podáváno po

dobu 9 týdnů. Krmné směsi do 5 týdnů a nad 5 týdnů výkrmu byly sestaveny podle receptur na r. 1966 pro BR I a BR II. Vážení kohoutků a zjišťování spotřeby krmiv bylo prováděno týdně.

| Složení použitého kafilerického tuku: |       | Charakter a rozbor tuku:    |       |
|---------------------------------------|-------|-----------------------------|-------|
| vody . . . . .                        | 0,51  | barva žlutohnědá . . . . .  | 19    |
| N-látek (N × 6,25) . . . . .          | 3,17  | číslo zmýdelnění . . . . .  | 185,3 |
| popele . . . . .                      | 0,88  | číslo jodové . . . . .      | 57,6  |
| K cal/g . . . . .                     | 9,551 | obsah tuku % . . . . .      | 99,11 |
|                                       |       | netuky % . . . . .          | 0,89  |
|                                       |       | číslo kyselosti . . . . .   | 20,3  |
|                                       |       | nezmýdel. látky % . . . . . | 2,1   |

Po dobu pokusu byl současně sledován zdravotní stav, přijímání potravy, chuť a vylučování výkalů. V průběhu pokusu bylo provedeno koprologické šetření a kontrolní šetření hematologické.

K analytickému šetření byla krev získána po ukončení pokusu, tedy po 9 týdnech stáří kuřat. K získání hemocytologických výsledků bylo použito venózní krve, k ostatnímu šetření byla krev získána vykrvením. Z pokusné skupiny bylo vyšetřeno 22, z kontrolní 20 kohoutků. Erytrocyty byly počítány modifikovanou metodou podle Sadeka (Fried 1962) stejně jako leukocyty. Šikmá krevní sedimentace byla sledována ve Westergreenových rourkách. Hemoglobin byl stanoven pomocí metody cyanhemiglobinu s určením hodnot na Pulfrichově fotometru (Šlesinger, Šašínska 1964). Diferenciace bílých krvinek byla provedena po obarvení buněk Pappenheimovou metodou. Počítáno bylo vždy 200 buněk. Ze získaných hodnot byl vyjádřen střední objem erytrocytů (Očk) v  $\mu^3$ , barvivo erytrocytů (Bčk) v g 100 ml krvinek a barvený koeficient (B koef.) v  $\gamma\gamma$  ( $10^{-12}$  g).

Obsah minerálií byl sledován v krevním séru kuřat. K tomu účelu byla krev po koagulaci ihned odcentrifugována, krevní sérum bylo odděleno a ihned vyšetřováno. Vápník a draslík byl stanoven pomocí plamenového fotometru metodou podle Kulendy a Quadráta (1961). Sodík byl stanoven fotometrickou metodou podle Maška a Vyhnálka (1961). Fosfor byl stanoven fotometrickou metodou pomocí molybdenové modři (Homolka 1956). Železo bylo stanoveno fotometrickou metodou podle Votočka (Homolka 1956). Chlor byl stanoven metodou citovanou Hořejším (1963). Sledované minerály jsou pro možnost snadnějšího porovnání udány v mg% a miliekvivalentech. Železo je měřeno v  $\gamma\%$ .

Alkalická a kyselá fosfatáza byla stanovena metodou King-Armstrongovou a její hodnoty jsou udány v jednotkách KA na základě vzorce  $\frac{Et - Ek \cdot 30}{Es}$

(Homolka 1956) a metodou Bessev, Lowry, Brockovou (Winkelhaus 1964) kde hodnoty aktivity alkalické fosfatázy jsou vyjádřeny v mikromolech (1 ml/1 hod/37 °C) při použití filtru S 41. Obě metody tj. King-Armstrongovu a Bessevovu jsme zvolili z důvodu možnosti porovnat výsledky alkalické fosfatázy a dále proto, poněvadž jsme zjistili při používání metody King-Armstrongovy rozdíly účinnosti dinatriumfenylfosfátu jednotlivých šarží. Proto bylo také v práci použito tohoto substrátu pouze z jedné šarže. Aktivity fosfatáz

## I. Hematologické výsledky u kohoutků

| Skup.     | Poč. | Ery                     | Leu    | Hk   | Hb g% | Sedimentace |       |       |        | Diferenciál |      |    |    |     |     |
|-----------|------|-------------------------|--------|------|-------|-------------|-------|-------|--------|-------------|------|----|----|-----|-----|
|           |      |                         |        |      |       | 30'         | 1hod. | 2hod. | 24hod. | lym.        | lyv. | hf | Eo | Ba  | Mo  |
| Kontrolní | 10   | $\bar{x} = 1\,900\,000$ | 31 100 | 22   | 9,1   | 16          | 42    | 62    | 119    | 76          | 7    | 9  | 5  | 0,5 | 0,2 |
|           |      | $s = 357\,100$          | 7 030  | 1,12 | 2,11  | 6,86        | 11,78 | 13,17 | 8,95   | —           | —    | —  | —  | —   | —   |
|           |      | $V = 18,7$              | 22,5   | 5,0  | 23,1  | 43,5        | 28,0  | 21,2  | 7,5    | —           | —    | —  | —  | —   | —   |
| Pokusná   | 12   | $\bar{x} = 1\,715\,000$ | 33 200 | 19   | 7,2   | 15          | 42    | 62    | 122    | 79          | 7    | 11 | 3  | 0,3 | 0,2 |
|           |      | $s = 134\,927$          | 8 538  | 2,30 | 2,19  | 4,52        | 11,18 | 14,25 | 4,85   | —           | —    | —  | —  | —   | —   |
|           |      | $V = 7,7$               | 25,7   | 12,1 | 30,4  | 30,1        | 26,6  | 22,9  | 3,9    | —           | —    | —  | —  | —   | —   |

lym. = malé lymfocyty

lyv. = velké lymfocyty

## Ia. Střední objem, barvivo a barevný koeficient erytrocytů

| Skupina   | Očk   | Bčk    | B koef. |
|-----------|-------|--------|---------|
| Kontrolní | 115,7 | 41,3   | 42,6    |
| Pokusná   | 117,7 | 37,8** | 42,3    |

Průměrné hodnoty pokusu č. I a II.

## II. Hematologické výsledky u kohoutků

| Skupina   | Počet | Ery mil.                                   | Leu                     | Hk   | Hb g%                |
|-----------|-------|--------------------------------------------|-------------------------|------|----------------------|
| Pokusná   | 10    | $\bar{x}$ = 1 650<br>s = 586,6<br>V = 35,5 | 28 900<br>7 733<br>26,8 | 20,6 | 7,24<br>2,65<br>36,6 |
| Kontrolní | 10    | $\bar{x}$ = 1 825<br>s = 503,3<br>V = 27,5 | 28 400<br>8 400<br>34,0 | 20,6 | 8,5<br>2,4<br>28,2   |

## III. Výsledky minerálií v krevním séru u kohoutků

| Skupina   | Počet | K                                          |                       | Na                    |                        |
|-----------|-------|--------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
|           |       | mg%                                        | mE                    | mg%                   | mE                     |
| Kontrolní | 20    | $\bar{x}$ = 33,8<br>s = 7,92<br>V = 23,4   | 9,7<br>3,51<br>36,2   | 351<br>44,3<br>12,6   | 152<br>18,8<br>12,3    |
| Pokusná   | 22    | $\bar{x}$ = 33,62<br>s = 10,34<br>V = 30,4 | 8,628<br>2,67<br>31,0 | 345,8<br>38,4<br>11,1 | 149,9<br>16,12<br>10,7 |

mE = miliekvivalent.

Průměrné hodnoty obou pokusných etap.

a ostatních enzymů byly stanoveny vždy ze 2 vzorků krevního séra každého jedince. Ze získaných hodnot byl vypočítán průměr.

Aktivita transaminázy kyseliny glutamové oxalocetové (GOT) a transaminázy kyseliny glutamové pyrohroznové (GPT) byla stanovena podle Reitman-Frankela (Pojer 1963). Aktivita leucinaminopeptidázy (LAP) byla stanovena metodou podle Goldbarga a Rutenburga (Pojer 1963) na základě uvolněného naftylaminu, který se stanoví fotokolorimetricky při 560 milimikronech. Hodnoty aktivit enzymů (GOT, GPT, LAP) jsou udány v mikromolech (m M) (1 ml/1 hod./37 °C).

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Hodnotíme-li krevní obraz obou etap pokusu po stránce cytologické, je nutné zdůraznit nízký počet erytrocytů u pokusné i kontrolní skupiny kohoutků. (Tab. I a II). Průkaznost mezi oběma skupinami je vysoká ( $P < 0,01$ ).

Obsah hemoglobinu u pokusné skupiny kohoutků je nižší, s výsokými významnými rozdíly ( $P < 0,01$ ) mezi oběma skupinami.

Jak již vyplývá z nízkého počtu erytrocytů, je rovněž nízká hodnota hematokritová. Průkaznost rozdílů hematokritu mezi skupinou kontrolní a pokusnou je výsoké významná ( $P < 0,01$ ).



| Sedimentace |       |       |        | Diferenciál |      |     |     |     |     |
|-------------|-------|-------|--------|-------------|------|-----|-----|-----|-----|
| 30'         | 1hod. | 2hod. | 24hod. | lym.        | lyv. | hf. | Eo  | Ba  | Mo  |
| 12          | 52    | 76    | 116    | 87,1        | 2,8  | 8,2 | 2,6 | 0,1 | 0,8 |
| 11          | 51    | 65    | 113    | 80,7        | 2,5  | 5,9 | 2,3 | 0,3 | 1,1 |

| Ca                   |                      | Cl                 |                      | P                     |                       | Fe                  |
|----------------------|----------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| mg%                  | mE                   | mg%                | mE                   | mg%                   | mE                    | γ%                  |
| 11,27<br>1,06<br>9,4 | 5,635<br>0,54<br>9,5 | 411,5<br>36<br>8,6 | 116,90<br>35<br>29,8 | 8,02<br>1,013<br>12,5 | 4,654<br>0,57<br>12,2 | 168,5<br>33<br>19,6 |
| 11,52<br>1,06<br>9,1 | 5,760<br>0,53<br>9,2 | 403,5<br>15<br>3,7 | 115<br>4<br>3,4      | 7,96<br>2,104<br>26,4 | 4,625<br>1,22<br>26,2 | 158<br>28<br>17,6   |

Objem, barvivo a barevná koncentrace erytrocytů u ptáků jsou do značné míry ovlivněny přítomností jádra v červených krvinkách. Proto jsou také hodnoty těchto ukazatelů rozdílné v porovnání se savčími erytrocyty. Významný rozdíl u sledovaných skupin kohoutků vykazalo barvivo erytrocytů (Bčk), které představuje poměr mezi hemoglobinem a hematokritem. Hodnota barviva 37,8 g/100 je v našem případě zřejmě ovlivněna množstvím celkového hemoglobinu.

Šikmá sedimentace krevní (60° ↘) u kontrolní a pokusné skupiny kohoutků je mírně zrychlená, nevykazuje však téměř rozdíl v průběhu 24 hod. mezi skupinou kontrolní a pokusnou. Příčinou poněkud zrychlené sedimentace je pravděpodobně nižší počet erytrocytů u sledovaných skupin kohoutků. Za normální hodnoty erytrocytů u kuřat pokládáme počet kolem 2,5 mil. Vlivem intenzivního růstu kuřat často pozorujeme nižší hodnoty počtu červených krvinek.

Bílý krevní obraz vykazal u kuřat první pokusné etapy mírnou leukocytózu (tab. I). U kuřat druhé etapy při stejných podmínkách experimentálních i laboratorních byl zjištěn počet leukocytů nižší (tab. II). Značná labilita krevních elementů u drůbeže je všeobecně známá. V diferenciálu bílé krevní řady jsme nezjistili rozdílů mezi sledovanými skupinami. Je třeba upozornit na zvýšené % eosinofilů u sledovaných skupin. Příčina zvýšeného počtu eosinofilů zůstala nezjištěna. Parazitologické vyšetření bylo negativní. Negativní byly rovněž pitvění nálezy po odporažení kuřat.

Hladiny sledovaných minerálů — draslíku, sodíku, vápníku, fosforu, chló-

ru a železa zůstaly při uvedeném pokusu neovlivněny. (Tab. III.) Hodnoty všech minerálií odpovídají fyziologickým hladinám, jak je také stanovil Weiser (1965) a jsou navzájem bez rozdílů u obou sledovaných skupin.

Aktivity transaminázy GOT se pohybují při horní hranici normálu, jak je známe u kuřat. Aktivita LAP je však průkazně vyšší u pokusných kohoutků. Na vysokou aktivitu LAP u drůbeže v porovnání k ostatním zvířatům jsme upozornili dříve (Šlesinger 1966). Při jaterních poruchách lidí se její aktivita zvyšuje (Pojer 1963). Platí-li uvedené také pro drůbež, není ještě prokázáno.

Nižší aktivitu alkalické fosfatázy jsme naměřili shodně oběma metodami u pokusné skupiny kohoutků (tab. IV). Rozdíly aktivity mezi skupinami jsou vysoce významné ( $P < 0.01$ ). Zjištěné nižší hodnoty alkalické fosfatázy lze vysvětlit vlivem vyššího % tuku v potravě, neboť alkalická fosfatáza se přímo aktivně účastní při odbourávání lipidů ve střevě. (Straub 1962.) Obdobné výsledky v závislosti fosfatáz na obsahu a kvalitě bílkovin jsou v literatuře známy (Mötzok 1964, Weiss, Hock, Risse, Witt 1965). Naopak se zase okamžitě aktivuje vlivem vyššího přísunu magnesiových iontů (Straub 1962). Alkalická fosfatáza byla stanovena metodou King-Armstrongovou (Homolka 1956) a metodou Besseyovou (Winkelhaus 1964). Nižší hodnoty udané v KA j. v porovnání obou metod lze vysvětlit menší citlivostí substrátu. Naopak kyselá fosfatáza byla u pokusné skupiny kohoutků 3,5krát vyšší nežli u skupiny kontrolní. Tato fosfatáza je zatím u zvířat málo probádána a v dostupné literatuře jsme nenašli zatím citací ve smyslu řešeného problému u kuřat.

Pokud jde o vliv kafilerického tuku na váhové přírůstky u kohoutků je zřejmé, že pokusná skupina dosáhla nejvyšší váhu v 6 týdnech. ( $P < 0,05$ ) a 9 týdnech ( $P < 0,01$ ) (tab. V). Také váhový přírůst v 9. týdnu pokusu byl o 17,9 % vyšší oproti kontrolní skupině kohoutků. Spotřeba směsi na kg přírůstek byla v našem pokusu u skupiny dostávající kafilerický tuk o 8,7 % nižší než u kontroly (F se blíží tabulkové hodnotě pro  $P = 0,05$ ).

Na základě získaných výsledků je patrné, že 5 % přídavek tuku se neuplatnil stimulačně na erythropoetický systém. Je pravděpodobné, že v důsledku úhrady živin (bílkovin) tukem došlo k insuficienci látek, které jsou pro dynamiku krve tvorných orgánů, především u mladého organismu nepostradatelné i kdž na základě průzkumu bylo železa v krevním séru dostatek. Další negativní vliv

#### IV. Aktivity enzymů u kohoutků v mikromolech. (1 ml/1 hod./37 °C)

| Skupina   | Počet | GOT                                          | GPT                   | LAP                    | Alkalická fosfatáza   |                     | Kyselá fosfatáza KA j. |
|-----------|-------|----------------------------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|---------------------|------------------------|
|           |       |                                              |                       |                        | KA j.                 | mM                  |                        |
| Kontrolní | 20    | $\bar{x} = 2,73$<br>$s = 0,64$<br>$V = 23,7$ | 0,3<br>0,068<br>22,6  | 19,9<br>4,93<br>24,6   | 15,28<br>0,22<br>1,89 | 34<br>7,6<br>22,3   | 0,18<br>0,03<br>16,6   |
| Pokusná   | 22    | $\bar{x} = 2,81$<br>$s = 0,58$<br>$V = 20,8$ | 0,22<br>0,063<br>28,6 | 26,0**<br>7,23<br>27,8 | 11,04<br>0,4<br>3,6   | 31**<br>6,9<br>22,2 | 0,79**<br>0,08<br>10,1 |

mM = mikromoly.

Výsledky pokusu č. I a II.

# V. Váha i spotřeba směsi u sledovaných skupin kohoutků

|                                                                  | Skupina     |               |
|------------------------------------------------------------------|-------------|---------------|
|                                                                  | kontrolní   | pokusná       |
| Přídavky % : kafilerický tuk                                     | —           | 5             |
| Počet kusů                                                       | 10          | 12            |
| Počáteční váha v g                                               | 71,1        | 73,8          |
| Váha v 6 týdnech v g<br>index v %                                | 699<br>100  | 824*<br>117,9 |
| Váha v 9 týdnech v g<br>index v %                                | 1520<br>100 | 1783<br>116,5 |
| Přírůstek od 6 do 9 týdnů v g<br>index v %                       | 831<br>100  | 959<br>115,4  |
| Spotřeba směsi na 1 kg přírůstku<br>za 9 týdnů v kg<br>index v % | 2,53<br>100 | 2,31<br>91,3  |

Výsledky pokusu č. I.

tuku v potravě lze spatřovat ve snížené aktivitě alkalické fosfatázy, jejíž snížení bylo pravděpodobně také vyvoláno nižším % bílkovin v krmivu. Není ovšem také vyloučen vliv škodlivých látek, které mohly být v tuku v malém množství obsaženy a projevíly se zatím ve sféře enzymopatické, (mírně zvýšená aktivita GOT, která se pohybovala při horní hranici normálu a významně zvýšená aktivita LAP u pokusné skupiny kohoutků). Rutinním histologickým šetřením jaterního parenchymu však nebyly změny prokázány. Vliv kafilerického tuku, jak z práce vyplývá se přesto uplatnil kladně na růst a váhové přírůstky kohoutků.

## Z A V Ě R

V práci jsme sledovali vliv kafilerického tuku na hematologické změny, aktivitu transaminázy kyseliny glutamové oxalocetové, transaminázu kyseliny glutamové pyrohroznové, leucinaminopeptidázu, alkalickou fosfatázu, kyselou fosfatázu a obsah minerálií v krevním séru u pokusných kohoutků.

Na základě průkazných analýz neměl kafilerický tuk zkrmovaný v 5% směsi pro kuřata kladný vliv na hematologické výsledky. Aktivita transaminázy GOT se pohybovala u pokusné skupiny při horní hranici fyziologických hodnot (2,81 m M). Transamináza GPT se neaktivovala (0,22 m M). Průkazně zvýšená byla u pokusné skupiny aktivita leucinaminopeptidázy (26 mM). Aktivita alkalické fosfatázy byla u pokusné skupiny průkazně nižší (31 mM). Aktivita kyselé fosfatázy byla tři a půlkrát vyšší u pokusné skupiny nežli u kontrolní.

V hladinách Na, K, Ca, P, Cl a Fe jsme nezjistili rozdíl mezi sledovanými skupinami. Poněkud nižší hladina Na a Fe byla prokázána u pokusné skupiny kuřat.

Вáховé прírúстыкы былы у покúсныé скупины кохóуткú в шéстém тýдну покúсу прúказнэ вышшí. Такé спóтребá крмивá на 1 кг прírúстку была о 8,7 % нíжшí у покúсныé скупины кохóуткú.

Дошó дне 30. 1. 1967

## Literatura

1. FRIED, K., LUKÁČOVÁ, L.: K otázce počítání krviniek u hydiny. = „Vet. časopis“, 11, 1962 : 344-351. — 2. HOMOLKA, J.: Chemická diagnostika v dětském věku. SZN, Praha, 1956, s. 507. — 3. HOŘEJŠÍ, J., MAŠEK, K., PUHLÁK, P.: Základy klinické biochemie ve vnitř. lékařství. SZN, Praha, 1963, s. 459. — 4. HURWITZ, S.: Calcium metabolism of pullets at the onset of egg production as influenced by dietary Calcium level. = „Poultry Sci.“ 6, 1964 : 1962. — 5. KULENDA, Z., QUADRÁT, O.: Stanovení draslíku a vápníku v séru plamenovým fotometrem. = „U. N., Biochem. vyšetř. metod. M. Z.“, Praha, 1961. — 6. MOTZOK, I.: Effect dietary with D<sub>3</sub> and Ca on the intestinal phosphatase of Chicks. = „An. Report. Agr. Res. Inst. of Ontario.“ 31, 1964 : 151. — 7. OPICHAL, M.: Stopové prvky ve výživě zvířat. = „Živočišná výroba“, 4, 1965 : 4-86. — 8. POJER, J. a spol.: Enzymologie srdečního infarktu. = „Thomayerova sbírka“ č. 421, SZN, Praha, 1963, s. 197. — 9. PROKŠOVÁ, M.: Minerální látky ve výživě zvířat. UFTI, Studijní inf. = „Živočišná výroba“, 5-6, 1965, s. 136. — 10. ŠLESINGER, L., ŠAŠINKA, L.: Cyanhemoglobin - vhodná metodika k aktivnímu vyhledávání hyp. anémií hromadně se vyskytujících u dom. zvířat. = „Vet. med.“ 3, 1964 : 213-220. — 11. ŠLESINGER, L.: Leucinaminopeptidase - Aktivität im Blutserum gesunder Hühner. = „Wiener tierärztl. Mschr.“ 6, 1966 : 391-393. — 12. VYHNÁLEK, J., MAŠEK, K.: Stanovení natria v seru fotometricky. = „U. N. Biochem. vyšetř. metodiky M. Z.“, Praha, 1961. — 13. WEISS, H., HOCK, A., RISSE, L., WITT, H.: Einfluß von Nahrungsproteinen auf verschiedene Fermentaktivitäten, auf das Serumweiß, auf den Gehalt der Leber von Lysin, Methionin und Cystin. „Monatshefte. Veterinärmed.“ 19, 1965 : 783. — 14. WEISER, M.: Über die Konzentration einiger Metaboliten im Plasma von Eintagsküken. = „Wiener tierärztl. Mschr.“ 4, 1965 : 237. — 15. WINKELHAUS, F.: Vergleichende Untersuchungen der alkalischen und saueren Phosphatase sowie der α-Amylase im Serum gesunder und kranker Rinder mit kolorimetrischen Methoden. = „Inaugural-Dissertation, Hannover, 1964, S. 44.

## Утилизационный жир в питании цыплят с учетом гематологических и энзиматических результатов и уровня минеральных веществ в сыворотке крови

В работе изучалось влияние утилизационного жира на гематологические изменения, активность трансаминазы глутамовой оксалукусной кислоты, на трансаминазу глутамовой пировиноградной кислоты, лейцинаминопептидазу, щелочную фосфатазу, кислую фосфатазу и содержание минеральных веществ в кровяной сыворотке у подопытных петушков.

На основе достоверных анализов утилизационный жир, скормливаемый в 5% смеси цыплятам, не оказывали положительного влияния на гематологические результаты. Активность трансаминазы GOT колебалась у опытной группы на верхней границе физиологических значений (2,81 нМ). Трансаминаза GPT не активировалась (0,22 нМ). Достоверно повышенная была у опытной группы активность лейцинаминопептидазы (26 нМ). Активность щелочной фосфатазы у опытной группы была достоверно ниже (31 нМ). Активность кислой фосфатазы была в 3,5 раза выше у опытной группы, чем у контрольной.

В уровнях Na, K, Ca, P, Cl и Fe нами не было установлено различий между изучаемыми группами.

Привесы у опытной группы петушков на шестой неделе опыта были достоверно выше. Также расход кормов на 1 кг привеса был у опытной группы петушков на 8,7 % меньше.

## The Fat from Rendering Plants in Chicken's Nutrition with regard to Haematological, Enzymatic, and Mineral Change in the Blood Serum

The influence of fat from rendering plants on haematological changes, the activity of transaminase of glutamic oxalacetic acid, the transaminase of glutamic pyruvic acid, leucinaminopeptidase, alkaline phosphatase, acid phosphatase and mineral contents in blood serum in experimental cockerels were studied.

On the basis of conclusive analyses the fat from rendering plants given in a 50% mixture to chickens had no positive influence on haematological results. In the experimental group was leucinaminopeptidase activity significantly increased (26 mM). The activity of alkaline phosphatase was significantly lower (31 mM) in the experimental group. The activity of acid phosphatase was 3.5 times higher in the experimental group than in the control group.

In Na, K, Ca, P, Cl and Fe levels no difference between the observed groups was found. Still the level of Na and Fe was by the experimental group lower.

Weight gains in the experimental cockerel group on 6th week were significantly higher. Also the food consumption per 1 kg of body weight in the experimental group of cockerels was lower by 8,7%.

### **Das Kafillereifett in der Kükenernährung mit Rücksicht auf die hämatologischen und enzymatischen Ergebnisse und auf das Mineralstoffniveau im Blutserum**

In der Arbeit verfolgte man den Einfluß des Kafillereifettes auf die hämatologischen Veränderungen, auf die Aktivität der Transaminase der Glutamin-Oxallessigsäure, die Transaminase der Glutamin-Brenztraubensäure, die Leucinaminopeptidase, die alkalische Phosphatase, die saure Phosphatase und auf den Gehalt der Mineralstoffe im Blutserum der Versuchs-Hahnkücken.

Auf Grund signifikanter Analysen hatte das Kafillereifett, das in einem Anteil von 50% in Futtergemischen für Küken verfüttert wurde, keinen positiven Einfluß auf die hämatologischen Ergebnisse. Die Aktivität der Transaminase GOT bewegten sich bei der Versuchsgruppe bei der oberen Grenze der physiologischen Werte (2,18 mM). Die Transaminase GPT wurde nicht aktiviert. (0,22 mM).

Bei der Versuchsgruppe war die Aktivität der Leucinaminopeptidase signifikant erhöht (26 mM). Die Aktivität der alkalischen Phosphatase war bei der Versuchsgruppe signifikant niedriger (31 mM). Die Aktivität der sauren Phosphatase war bei der Versuchsgruppe 3,5mal höher als bei der Kontrollgruppe.

In den Niveaus des Na, K, Ca, P, Cl und Fe konnten wir keinen Unterschied zwischen den beobachteten Gruppen feststellen. Doch war der Spiegel von Na und Fe im Blutserum der Versuchsgruppe niedriger.

Die Gewichtszunahmen waren bei der Versuchsgruppe der Hahnkücken in der sechsten Woche des Versuches signifikant höher. Auch der Futterverbrauch je 1 kg Gewichtszunahme war bei der Versuchsgruppe der Hahnkücken um 8,7% niedriger.

---

*Adresa autora:*

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

---

**Odborné knihy sériového typu**

● V poslední době získávají na oblibě v nejrůznějších oborech odborné knihy sériového typu. Je to jistý kompromis mezi monografií a časopisem. Monografie totiž poměrně rychle stárnou a některé jsou zastaralé dokonce již v době kdy vyjdou. Časopiseckých informací je na druhé straně nepřehledná záplava, ve které je dosti namáhavé se rychle orientovat. Knihy sériového typu jsou složeny zpravidla z obsáhlých souborných referátů na různá temata hodnotící současný stav, či přinášející nejnovější poznatky. Knihy vycházejí zpravidla 1X ročně, nebo 1X za 2 roky. Nejznámější je kniha „Advances in Veterinary Science“, kterou vydává Academic Press, New York a která začala vycházet v r. 1953 pod redakcí C. A. Brandly a E. L. Jungherra a v r. 1965 vyšel již 10. díl pod redakcí C. A. Brandly a C. Corneliuse. Jednotlivé kapitoly mají zpravidla vysokou úroveň a přinášejí aktuální temata. Jen namátkou z obsahu posledních dvou dílů: „Mor skotu“; „Vývoj veterinární vědy: Některá historická hlediska a výhledy do budoucnosti“; „Enzootická leukosa skotu“; „Vesikulární Exanthem“; „Nitroděložní chirurgie plodu“ atd.

Odlíšné zaměření má kniha „Current Veterinary Therapy“, kterou vydává pod redakcí R. W. Kirka Saunders comp. Philadelphia. První díl vyšel 1964—1965, druhý díl 1966—1967. Je určen hlavně pro praxi na malých zvířatech, zejména psech. Přináší nejnovější a osvědčené léčebné postupy užívané při nejrůznějších chorobných stavech. Jednotlivé kapitoly jsou nadepisovány patologickým stavem či chorobou a je zde uveden i autor léčebného postupu. Po stručném klinickém úvodu je pak rozvedena příslušná terapie.

Velmi zajímavá, s promyšleným výběrem obsahu je každoročně vycházející „Year Book of Veterinary Medicine“, (Year book medical publishers, Chicago). Ta je rozdělena na 3 části, první část je věnována velkým zvířatům, druhá část malým zvířatům a třetí část laboratorním zvířatům. Jsou to velmi úsporně psané, stručné a jasné odstavce, často vybavené obrazovým materiálem, o nových zajímavých poznatcích a postupech. Jednotlivé odstavce s citací pramenů bývají často zakončeny výstižnou kritickou poznámkou odborného redaktora. Ročenka v této úpravě je svým obsahem užitečná jak praktikům, tak i pracovníkům ve výzkumu.

LIS

**Britská veterinární ročenka**

● Zároveň s výše uvedeným příspěvkem dostali jsme do redakce prospekt britského nakladatelství John Wright et Sons LTD, Bristol na knihu podobného typu „The Veterinary Annual“ chystanou pro letošní rok jako již osmou ročenku tohoto druhu. Kniha je rozdělena do pěti hlavních oborů: původní články věnované nejvýznamnějším novinkám oboru, které se objevily v běžném roce, přehled literatury (článků) v běžném roce vyšlých, soustředěných podle oborů a komentovaných, přehled nových léčiv a přípravků, seznam odborných knih vyšlých v běžném roce a podrobný rejstřík věcný, zpracovaný jako abstrakta publikovaných článků, takže je schopen poskytnout základní informaci o publikovaném předmětu.

Kniha má shrnout na padesát prací ze všech oborů včetně veřejné hygieny a k veterinářství se vztahujících nových zákonů a výnosů.

Kniha je oferována za 63 šilinků.

red.

**SDĚLENÍ REDAKCE**

● Redakce Veterinární medicíny upozorňuje všechny přispívatele, že mají za oznámením pracoviště sdělit také jméno jeho vedoucího, včetně všech hodností.

Pokud používáte ve své práci zkratky, zejména těch, které byly vytvořeny pouze pro tuto práci, prosíme vás snažně, aby byly v práci aspoň jednou zcela vypsány, aby se předešlo omylům při překladech do cizích jazyků.



|                                                                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Petr G., Barek B., Hubík R.: Vliv želatiny na filtraci viru slintavky a kulhavky přes filtry typu Seitz EK . . . . .                                    | 393 |
| Valíček L., Šmíd B.: Imunofluorescenční průkaz bovinního kmene myxoviru parainfluenzae-3 v tkáňové kultuře telecích ledvin . . . . .                    | 403 |
| Havelka B.: Príspevok k problematike typizovania niektorých gramnegatívnych baktérií, nepatriacich k enterobaktériám . . . . .                          | 409 |
| Podaný J., Muzikant J.: Studium kritérií základných hodnot kvality kančích ejakulátů . . . . .                                                          | 417 |
| Otoupal P., Pawel O., Dvořák E.: K některým patomorfologickým nálezům při akutní nemoci z ozáření u koz . . . . .                                       | 427 |
| Bartík M., Marcaník J., Michnová E.: Dynamika zmien aktivít sérového katepsínu, pepsínu a cystinaminopeptidázy u oviec s toxickou hepatitídou . . . . . | 435 |
| Kóňa E.: Hladina glykoproteínov a bielkovín séra u niektorých oviec, krmených tukovo-bielkovinovou diétou a hladujúcich . . . . .                       | 443 |
| Ferenčík M., Ladzińska K., Čižnár I.: Obsah aminokyselín, mastných kyselín a niektorých glycidov u huby <i>Stachybotrys alternans</i> . . . . .         | 451 |
| Šlesinger L.: Kafilerický tuk ve výživě kuřat se zřetelem na hematologické a enzymatické výsledky a hladiny minerálií v krevním séru . . . . .          | 457 |

## СОДЕРЖАНИЕ

Петр Г., Барек Б., Губик Р.: Влияние желатинны на фильтрацию вируса ящура через фильтры типа SEITZ EK (401). — Валичек Л., Шмид Б.: Иммунофлюоресцентное доказательство бычьего штамма миксовируса парайнфлюэнцы-3 в тканевой культуре почек телят (407). — Гавелка Б.: К проблематике типизации некоторых граммотрицательных бактерий, не относящихся к энтеробактериям (415). — Поданы Я., Музикант Я.: Изучение критериев основных показателей качества эякулятов хряков (424). — Отоупал П., Павел О., Дворжак Е.: Некоторые патоморфологические изменения при острой лучевой болезни коз (433). — Бартик М., Марцианик Й., Михова Е.: Динамика изменений активности сывороточного катепсина, пепсина и цистинаминопептидазы у овец, заболевших токсическим воспалением печени (441). — Коня Е.: Уровень гликопротеинов и белков сыворотки у холостых овцематок, кормленных жирно-белковой диетой и голодающих (448). — Ференчик М., Ладзианска К., Чижнар Й.: Содержание аминокислот, жирных кислот и некоторых глицидов у гриба *Stachybotrys alternans* (454). — Шлесингр Л.: Утилизационный жир в питании цыплят с учетом гематологических и энзиматических результатов и уровня минеральных веществ в сыворотке крови (464).

## CONTENT

Petr G., Barek B., Hubík R.: The Influence of Gelatine on the Filtration of Foot and Mouth Disease Virus through Filters of SEITZ EK Type (401). — Valíček L., Šmíd B.: Immunofluorescence Demonstration of the Bovine Strain of Myxovirus parainfluenzae-3 in a Calf Kidney Tissue Culture (407). — Havelka B.: A Contribution to the Standardization Problem of some Gram-Negative Bacteria not Pertaining to Enterobacteria (415). — Podaný J., Muzikant J.: A Study of the Criteria of the Basal Quality Values of Boar's Ejaculate (425). — Otoupal P., Pawel O., Dvořák E.: On some Pathomorphological Findings in the Case of Acute Radiation Sickness in Goats (433). — Bartík M., Marcaník J., Michnová E.: The Dynamics of Changes in the Activity of Serum Cathepsin, Pepsin, and of Cystinaminopeptidase in Sheep Suffering from Toxic Hepatitis (441). — Kóňa E.: Glycoprotein and Serum Protein Level in Non-Pregnant Sheep fed with a Fat-Protein Diet and in Starved Non-Pregnant Sheep (449). — Ferencík M., Ladzińska K., Čižnár I.: Content of Amino Acids, Fatty Acids and

Some Glycides in the Fungus *Stachybotrys alternans* (454). — Šlesinger L.: The Fat from Rendering Plants in Chicken's Nutrition with regard to Haematological, Enzymatic, and Mineral Change in the Blood Serum (464).

## INHALT

Petr G., Barek B., Hubík R.: Einfluß der Gelatine auf die Filtration des Virus der Maul- und Klauenseuche über die Filter des Types SEITZ EK (401). — Valíček L., Šmíd B.: Der Immunfluoreszenznachweis des bovinen Stammes des Myxovirus parainfluenzae-3 in der Gewebekultur der Kalbnieren (408). — Havelka B.: Beitrag zur Problematik der Typisierung einiger gramnegativer Bakterien, die nicht zu den Enterobakterien gehören (415). — Podaný J., Muzikant J.: Studium der Kriterien der Grundwerte der Qualität der Eberjakulate (425). — Otoupal P., Pawel O., Dvořák E.: Zu einigen pathomorphologischen Befunden bei akuter, durch Bestrahlung verursachter Erkrankung von Ziegen (434). — Bartík M., Marcaník J., Michnová E.: Dynamik der Aktivitätsveränderungen des Serumkanthepsins, des Pepsins und der Zystinaminopeptidase bei Schafen mit toxischer Hepatitis (441). — Kóňá E.: Das Niveau der Glykoproteine und des Serumeiweißes bei nicht trächtigen Schafen, die mit einer Fett-Eiweißdiät gefüttert wurden und bei hungernden Schafen (449). — Ferencík M., Ladziánská K., Čižnář I.: Der Gehalt an Aminosäuren, Fettsäuren und einigen Glyziden beim Pilz *Stachybotrys alternans* (455). — Šlesinger L.: Das Kaffireifett in der Kükenernährung mit Rücksicht auf die hämatologischen und enzymatischen Ergebnisse und auf das Mineralstoffniveau im Blutserum (465).

## TABLE DES MATIÈRES

Petr G., Barek B., Hubík R.: Influence de la gélatine sur la filtration du virus des aphtes primaires et secondaires à travers les filtres du type Seitz EK (res. An, Al/401). — Valíček L., Šmíd B.: Preuve par immunofluorescence de la souche bovine de myxovirus parainfluenzae-3 dans la culture de tissus des reins de veau (res. An/407, Al/408). — Havelka B.: Contribution aux problèmes de typification de certaines bactéries gram-négatives, n'appartenant pas aux entérobactéries (res. An, Al/415). — Podaný J., Muzikant J.: Etude des critères des valeurs fondamentales de la qualité des éjaculations de verrat (res. An, Al/425). — Otoupal P., Pawel O., Dvořák E.: Certains problèmes relatifs aux constatations pathomorphologiques faites au cours des maladies aiguës des chèvres, dues à l'irradiation (res. An/433, Al/434). — Bartík M., Marcaník J., Michnová E.: Dynamique des changements d'activité des catépsine, pepsine et cystinaminopeptidase sériques des brebis, atteintes d'hépatite toxique (res. An, Al/441). — Kóňá E.: Niveau des glycoprotéines et des matières albuminoïdes du sérum des brebis stériles, nourries d'une diète composées de graisses et de matières albuminoïdes et des brebis à jeun (res. An, Al/449). — Ferencík M., Ladziánská K., Čižnář I.: Teneur en acides aminés, en acides butyriques et en certains glycides dans le champignon *Stachybotrys alternans* (res. An/454, Al/455). — Šlesinger L.: Graisse de récupération dans l'alimentation des poulets par rapport aux résultats hématologiques, enzymatiques et au niveau des éléments minéraux dans le sérum sanguin (res. An/464, Al/465).