

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

3

ROČNÍK 13 (XLI)
PRAHA,
BŘEZEN 1968
CENA 10 Kčs

ÚSTŘEDÍ ZEMĚDĚLSKÉHO A POTRAVINÁŘSKÉHO VÝZKUMU

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

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, CSc., MVDr. Andrej Mačička, MVDr. Ladislav Polák, CSc., doc. MVDr. Oldřich Svoboda, doc. MVDr. inž. Jan Vlček, pplk. MVDr. Miroslav Vojáček, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc., MVDr. Ladislav Zima, Doc. MVDr. Alojz Žuffa, CSc.

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1968

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací. 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. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Слезска 7.

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA published 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. 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. 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. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7.

PRÍSPĚVEK K PATOGENEZE KOLIMASTITID VYCHÁZEJÍCÍ Z PATOMORFOLOGICKÉHO POZOROVÁNÍ

Z. Pospíšil

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

POSPÍŠIL, Z. (Výzkumný ústav vet. lékařství, Brno.) *Príspevek k patogenezi kolimastitid vycházející z patomorfologického pozorování.* Vet. Med. (Praha) 13 (3) 137—142, 1968.

Je popsán patomorfologický obraz 12 typických případů kolimastitid, představovaných hlavně nekrotizací tkáně mléčné žlázy a alterací cév, při níž dochází k tvorbě trombů a výskytu fibrinu v lumenu či stěně cévní a k jeho výstupu perivaskulárně. Obraz pozorovaný v mléčné žláze u kolimastitid skotu odpovídá charakterem reakcí v hrubých rysech změnám, popisovaným u Arthusova fenomenu. Je diskutována možnost, zda by se na vzniku kolimastitid mohly alespoň částečně podílet i reakce závislé na předchozí sensibilizaci organismu odpovídajícími antigeny — tedy reakce alergické.

kolimastitida; skot; patomorfologie; patogenéza; endotoxin; alergická reakce; Arthusův fenomen.

Jednou z forem mastitid, které i přes nepříliš častý výskyt způsobují našemu hospodářství velké ztráty, jsou tzv. kolimastitidy. Tato onemocnění se v klinickém průběhu a patomorfologickém obraze značně liší od zánětů mléčné žlázy jiné etiologie. Klinicky pozorujeme náhlý vznik těžkého zánětu mléčné žlázy, lokalizovaného zpravidla jen na jednu čtvrtku vemene, který obvykle probíhá spolu s perakutně nastupujícími výraznými poruchami celkového zdravotního stavu. Léčebně se tato onemocnění dají jen velmi těžko zvládnout a často dochází k úplné ztrátě dojivosti, případně i k nutné porážce zvířete.

Pokud jde o jejich patomorfologický obraz, bývá většinou autorů popisován shodně. V mléčné žláze nacházíme těžký serofibrinózní nekrotizující zánět, spojený se sekvestrací a opouzdřením nekrotického ložiska.

Velmi cdiálně však bývá udávána patogenéza tohoto onemocnění. Chtěl bych proto na základě morfologických nálezů upozornit na některé závažné momenty, které by mohly mít určitý význam i při objasňování patogenézy kolimastitid u skotu.

MATERIÁL A METODIKA

V tomto sdělení budou popsány patomorfologické změny v mléčné žláze 12 krav, získaných z 5 lokalit. Materiál byl odebrán pouze od krav, u nichž klinické příznaky odpovídaly typickému průběhu kolimastitid a kdy byly kulti-vačně zjištěny zárodky *E. coli* nebo *A. aerogenes*. Excize byly odebrány nejpozději do 1 hod. po poražení, fixovány ve formolu, Bouinově a Zenkerově fixační tekutině. Řezy byly barveny HE, Malloryho trichromem-modifikace podle Grossmona a PTAH (Malloryho hematoxylinem).

VLASTNÍ POZOROVÁNÍ

1. PATOLOGICKO-ANATOMICKÝ NÁLEZ

U všech krav byla akutně zachváćena pouze jedna čtvrtka mléčné žlázy, která jevila značné zduření a při palpaci vykazovala tuhou konzistenci. V 10 případech se zánět lokalizoval na některé ze zadní čtvrtky, u 2 krav byly zachváćeny pravé přední čtvrtky.

Na řezu představuje zvětšená čtvrtka buď velké nekrotické ložisko světle žluté barvy, zachovávající si slabě zřetelnou strukturu lalůčkování, nebo je možno na řezné ploše pozorovat okrsky koagulační nekrózy, mající nepravidelný tvar a na jejichž okrajích nacházíme akutně zánětlivou tkáň kakaově růžové barvy. Ve větších mlékovodech a mléčné cisterně se vyskytuje žlutozelená vazká tekutina. Na jejich výstelce nepozorujeme žádné výraznější zánětlivé či nekrobiotické změny.

Korespondující mizní uzliny jsou ve všech případech značně zvětšené, serózně prosáklé, žlutohnědé barvy. Ve většině případů zde nacházíme nekrotická ložiska, podobná ložiskům v mléčné žláze, uložená většinou pod povrchem a klínovitě vcházející do centra mizní uzliny. Místy se zde vyskytují nepřiliš rozsáhlé hemorhagie.

2. PATOLOGICKO-HISTOLOGICKÝ NÁLEZ

V zachváćené čtvrci pozorujeme především perakutní nebo akutní procesy, představované zde těžkými změnami na žlaznatém parenchymu a hlavně poškozením cévního a lymfatického aparátu. U některých kusů se však vyskytují v okolí nekrotických ložisek již i proliferací procesy, oddělující nekrotickou a zachovalejší žlaznatou tkáň.

Ve vazivové složce, která je výrazně edematózní, nacházíme nestejně silnou infiltraci neutrofilními leukocyty, na kterých většinou zjišťujeme pokročilý stupeň nekrobiotických procesů. V některých částech sept se vyskytují také volné erythrocyty, avšak vytváření větších intenzivních krvácenin nebývá příliš časté.

Na žlaznaté tkáni pozorujeme různé stupně nekrobiotických procesů. Někdy zjišťujeme jen vakuolární degeneraci a deskvamaci epiteliálních buněk, většinou však dochází k výrazným nekrobiotickým změnám, které postihují celý žlaznatý parenchym. Alveolární buňky deskvamují do lumina, kde je většinou již rozpadlé nacházíme spolu s poškozenými polynukleáry a někdy i erythrocyty jako tkáňový detritus, rozptýlený v bílkovinné eosinofilní hmotě.

Tyto nekrotické procesy, které často zachvacují celé skupiny lalůčků, bývají na periferii ohraničeny výrazným valem, skládajícím se převážně z rozpadlých jader neutrofilních leukocytů a alveolárních buněk, někdy také již z histiocytů a kulatojaderného infiltrátu. V některých místech této části nacházíme i nepřiliš četné erythrocyty, vystouplé z krevního řečiště. V mnoha řezech je však i přes demarkační tendenci vidět splývání malých nekrotických okrsků ve větší ložiska.

Velmi těžké a výrazné změny pozorujeme na cévním aparátě mléčné žlázy. Nejčastěji je možno poškození vidět na venulách a postkapilárách, ale ani na arteriolách, lymfatických cévách či větších vénách nebývají cévní afekce nikterak řídke. Kromě zduření nebo i deskvamace endoteliální výstelky nacházíme v lumeně výše jmenovaných cév značné množství vláknitého fibrinu, uloženého buď podél endoteliální výstelky, nebo je zjišťujeme volně v lumeně. Fibrin zde

spolu s četnými trombocyty a ojedinělými erytrocyty a leukocyty vytváří často parietální nebo obturační tromby. V mnoha případech nacházíme fibrin ve stěně cévní, a to subendoteliálně, méně často i subintimálně. Dále pozorujeme výstup fibrinu do vazivových sept a méně často do alveolární tkáně, kde však nebývá jeho výskyt zjišťován příliš difúzně.

Výše popsané cévní změny pozorujeme buď v celé poškozené tkáni, nebo je často vidíme v okolí malých nekrotických ložisek na periferii demarkačního karyorhektického valu. Na fibrinových vláknech pozorujeme často fibrinolytické změny a místo vláknité struktury nacházíme shluky téměř amorfní acidofilní hmoty.

Také v korespondujících supramamárních mizních uzlinách zjišťujeme tromby se zrnitou strukturou, svědčící pro přítomnost konglutinovaných trombocytů. Kromě cévních změn, podobných změnám v mléčné žláze, jsou v parenchymu mizních uzlin patrné také ložiskové nekrotické procesy. V určitých folikulech pozorujeme úbytek lymfocytů, zjišťujeme jejich rozpad a četná Flemingova tělíska. Nápadný je i edém interfolikulárního vaziva a lokální silná hyperemie. V některých partiích mizních uzlin je patrné silné zmnožení bazofilních retikulárních buněk, lymfoblastů a hlavně plazmatických buněk.

DISKUSE

Pokud jde o patogenezu kolimastitid, není v literatuře jednotnost názorů. Kromě nejasnosti o cestě vstupu infekce (hematogenní-galaktogenní cesta), je problematická i otázka vlastního působení koliformních zárodků.

Podle některých autorů — Fey (1949), Rolle (1952), Baier a kol. (1954), Dierenhofer (1963), se na vzniku zánětu mléčné žlázy při kolimastitidách podílejí jen toxické varianty koli-zárodků, které se vyznačují schopností rychlého rozmnožení a masivní produkci toxinů, případně hemolytickými vlastnostmi. Rolle (1952) udává, že toxické kmeny vznikají změnou biologických vlastností koliflóry střevní při zažívacích poruchách, případně v nemocné děloze po porodu apod.

V pozdějších pracích však Fey a Stünzi (1958) zjistili, že nekrózy při kolimastitidách vznikají nezávisle na tom, zda bakteriální kmen tvoří nekrotoxin či nikoliv.

Podle Jensena a Steita (cit. podle 14), štěpí zárodky *E. coli* mléčné cukry a tvoří kyseliny, na které je tkáň vemene citlivá. Renk (1956) předpokládá, že toxicky působící agens vyvolá nejdříve cirkulační poruchy a poškození cév a pak vznikají další tkáňové reakce.

Někteří pracovníci se domnívají, že celkové těžké příznaky při kolimastitidách jsou projevem koliseptikemie a toxemie (Baier a kol. 1954), (Kudělka a kol. 1960).

Skupina amerických pracovníků, vedená Carrolem a Schalmem, předpokládá, že systemové příznaky toxemie, pozorované při perakutní koliformní mastitidě, je možno uvádět ve vztah s intramamárním rozrušením koliformních zárodků zánětlivým exsudátem, čím dojde k uvolnění endotoxinu, který se pak hematogenně rozšiřuje do organismu.

Salajka a kol. (1966) však vyslovují ve své práci pochybnost nad tím, že by množství endotoxinu, uvolněného rozrušením kolibakterií, stačilo k tomu, aby bylo schopno vyvolat tak těžkou alteraci celého organismu. Serologickým vyšetřením krav z lokality, kde se vyskytovalo hromadné onemocnění kolimastitidami, zjistili vysoký titr aglutininů jak proti O, tak i proti K antigenu bakteriálního kmene, který byl izolován z typických případů onemocnění. Vysoké titry protilátke proti těmto zárodkům zjistili i v chovech, kde se mastitidy nevyskytovaly.

Tito autoři vyslovují domněnku, že vznik perakutních kolimastitid je podmíněn specifickou hypersenzibilizací krav na antigeny určitých serotypů *E. coli*. Poukazují

na to, že lokálně jde při tomto onemocnění o alergickou reakci typu Arthusova fenomenu a celková reakce pak může být projevem anafylaktického šoku.

Arthusův fenomen je vlastně místní anafylaktická reakce, kterou Movat (1962), Sabesin a kol. (1963), Movat a kol. (1963) aj. charakterizují jako tkáňovou reakci, představovanou hlavně výraznou alterací cév, serofibrinózním zánětem a nekrotizací tkáně. Na cévách je možno pozorovat tvorbu trombů, ukládání fibrinu v lumen či jejich stěnách a výstup fibrinu perivaskulárně. Podobné změny jsem získal v mléčné žláze králíků při experimentálně vyvolaném Arthusově fenomenu u králíků (dosud nepublikováno).

Z patomorfologických změn popsaných v mléčné žláze a supramamárních mizních uzlinách krav vidíme, že základní charakter tkáňových reakcí odpovídá skutečně změnám, popisovaným u Arthusova fenomenu. Kromě výrazné nekrotizace žlaznaté tkáně jde hlavně o těžké změny na cévním aparátě, představované ukládáním fibrinu v lumen nebo stěnách malých cév, tvorbu trombů obsahujících velké množství trombocytů a prostup fibrinu perivaskulárně do poškozené tkáně.

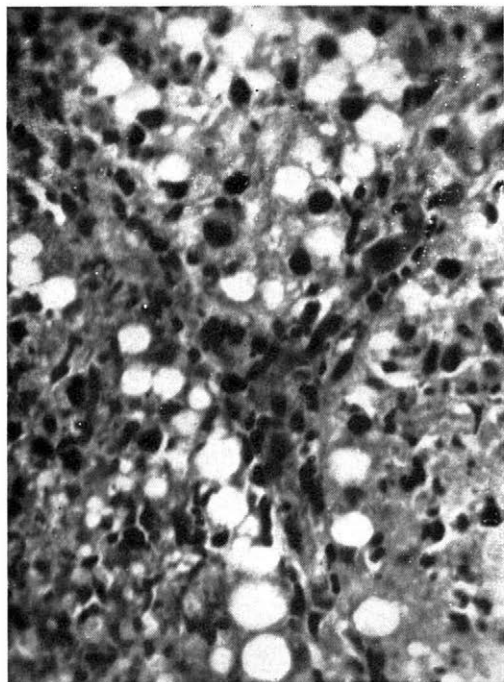
Pro objasnění patogenyze kolimastitid je nutno vzít v úvahu i nejnovější poznatky o působení endotoxinu, který se uvolňuje při rozpadu koliformních bakterií. Watson a kol. (1963), Kim (1966) uvádějí dvojí princip působení endotoxinu: jednak jeho primární toxicitu a dále toxicitu založenou na podkladě hypersenzitivní organismu. Hraje zde zřejmě úlohu i schopnost endotoxinu reagovat s nespecifickými protilátkami.

Vezmeme-li kromě morfologického obrazu kolimastitid, jejichž základní charakter reakcí je podobný Arthusově fenomenu, v úvahu hlavně nejnovější poznatky o působení endotoxinu a výsledky serologického vyšetřování velkého počtu krav, kdy byly zjišťovány vysoké titry protilátek proti koliformním zárodkům izolovaným z případů kolimastitid a dále klinické zjištění, že při vzniku akutních kolimastitid dochází téměř současně s onemocněním mléčné žlázy i k alteraci celkového zdravotního stavu, který se terapeuticky jen velmi těžko ovlivňuje, je možno předpokládat, že by se na vzniku kolimastitid alespoň částečně mohly podílet i reakce závislé na předchozí sensibilizaci organismu odpovídajícími antigeny.

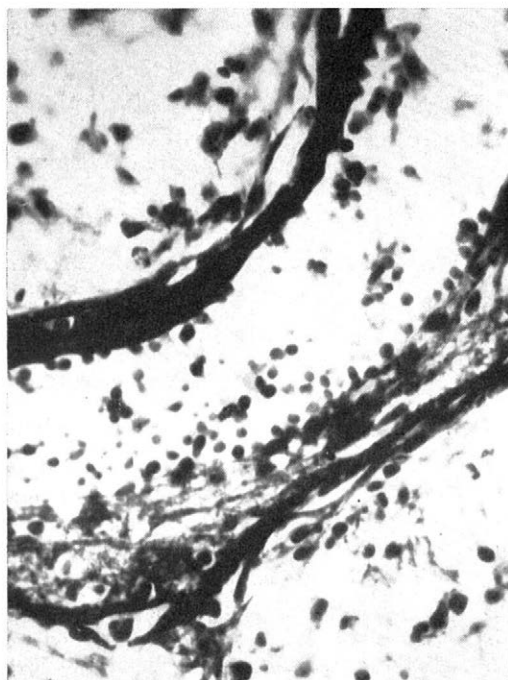
Došlo dne 15. 6. 1967

Literatura

1. BAIER, W. - KALICH, J. - KRIEGER, U.: Beitrag zur Ätiologie der Kolimastitis. = „Zbl. VetMed.“, 1, 1954 : 265-268.
2. CARROLL, E. J. - SCHALM, O. W. - LASMANIS, J.: Experimental Coliform (Aerobacter. aerogenes) Mastitis. Characteristics of the Endotoxin and its Role in Pathogenesis. = „Am. J. vet. Res.“, 25, 1964 : 720-726.
3. DIERNHOFER, K.: Diagnostik der Euterentzündungen. = „Wien. tierärztl. Mschr.“, 37, 1950 : 809-866.
4. DIERNHOFER, K.: Coliform Mastitis in Cattle. = „Bull. Off. int. Epizoot.“, 60, 1963 : 485-499.
5. FEY, H.: Die bovine coliforme Mastitis und ihre Behandlung mit Streptomycin. = „Schweizer Arch. Tierheilk.“, 91, 1949 : 623.
6. FEY, H.: Serologische, biochemische und biologische Untersuchungen an Stämmen aus boviner Colimastitis mit spezieller Berücksichtigung der Colisäuglingsenteritis. = „Habilitationsschrift“, Zürich, 1955.
7. HEIDRICH, H. J. - RENK, W.: Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren. Berlin-Hamburg, Paul Parey Verl. 1963, 450 s.
8. JENSEN, STREIT (cit. podle 14).
9. KIM, Y. B. - WATSON, D. W.: Role of Antibodies in Reactions to Gram-Negative Bacterial Endotoxins. = „Ann. N. Y. Acad. Sci.“, 133, 1966 : 727-745.
10. KUDELKA, E. - HOLEC, J.: Příspěvek k etiologii, diagnostice a léčbě kolimastitid u krav. = „Veterinářství“, 10, 1960 : 405-414.
11. MOVAT, H. Z.: Antigen-Antikörperkomplexe und allergische Entzündung. = „Verhandl. deutsch. Ges. Path.“, 46, 1962 : 48-74.

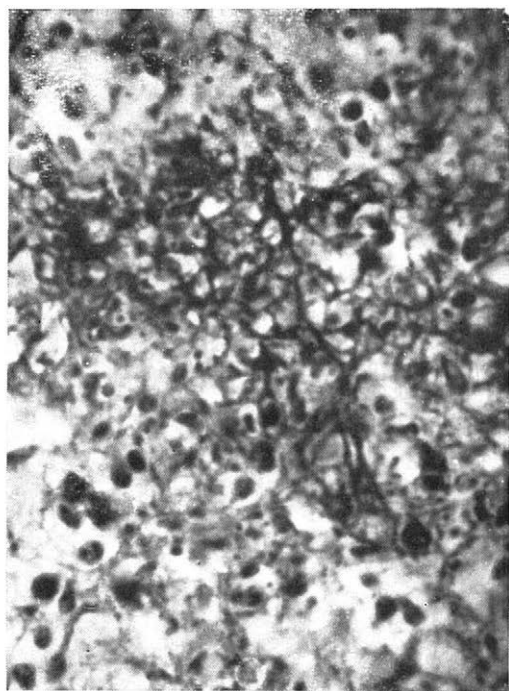
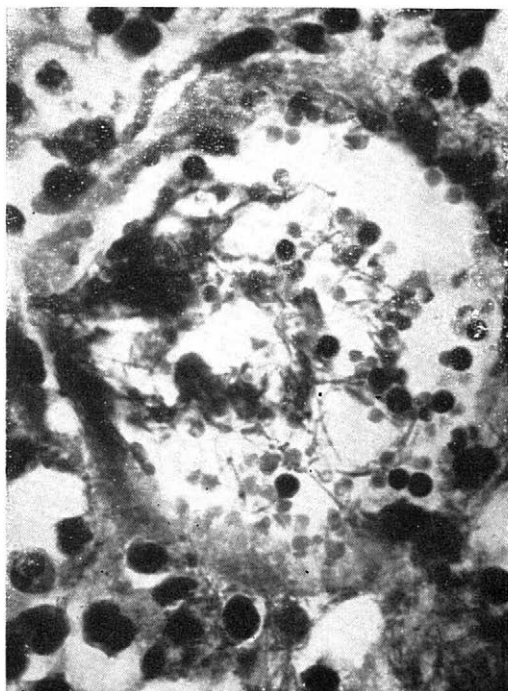


Obr. 1 — Nekrobiotické procesy v alveolární tkáni. Kráva č. 51, barv. HE, zv. 60×3,2 (vlevo)

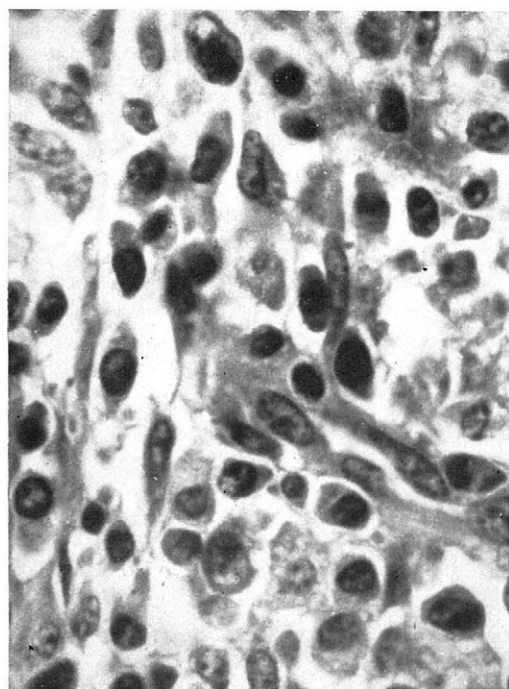


Obr. 2 — Narůstající parietální trombus ve venule. Kráva č. 17, barv. trichromem, zv. 6,3×3,2 (nahore)

Obr. 3 — Výskyt fibrinu v lumen i ve stěně cévní. Kráva č. 17, barv. trichromem, zv. 60×3,2



Obr. 4 — Počínající tvorba trombu — konglutinace trombocytů a vypadávání fibrinu v lumen cévy mizní uzliny. Kráva č. 17, barv. trichromem, zv. $60\times 3,2$ (nahore)



Obr. 5 — Síťovina fibrinu v nekrotické tkáni mizní uzliny. Kráva č. 11, PTAH, zv. $60\times 3,2$ (nahore vpravo)

Obr. 6 — Celulizát v granulační tkáni kolem nekrotických ložisek. Kráva č. 51, barv. HE, zv. 60×5

12. MOVAT, H. Z. - FERNANDO, N. V. P.: Allergic Inflammation. I. The earliest fine structural changes at the blood-tissue barrier during antigen-antibody interaction. = „*Amer. J. Path.*“, 42, 1963 : 41-60.
13. NIEBERLE, K. - COHRS, P.: *Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere*. Jena, VEB G. Fischer Verl., 1961 : 1067 s.
14. RENK, W.: Besondere Befunde bei der nekrotisierenden Mastitis. = „*Mh. Vet-Med.*“, XI, Sonderheft 2, 1956 : 701-703.
15. RENK, W.: Beiträge zur Diagnose und Pathogenese der akuten Mastitiden. = „*Zbl. VetMed.*“, 4, 1957 : 325-340.
16. RENK, W.: Zur Diagnose und Einteilung der Euterentzündungen. = „*Dt. tierärztl. Wschr.*“, 65, 1958 : 497-503.
17. ROLLE, M.: Die Bedeutung des Bact. coli für die Krankheitsentstehung und Gesunderhaltung. = „*Pr. tierärztl. Wschr.*“, 59, 1952, 81.
18. SABESIN, S. M. - BANFIELD, W. G.: Electron Microscopy of Hypersensitivity Reactions: the Arthus Phenomenon. = „*Amer. J. path.*“, 42, 1963 : 551-570.
19. SALAJKA, E. - CIMR, J. - NOVÁK, J.: Přspěvek k problematice kolimastitid u krav. = „*Veterinářství*“, 16, 1966 : 120-123.
20. SCHALM, O. W.: Pathogenesis of Coliform Mastitis (*Aerobacter aerogenes*). = „*Tijdschr. Diergeneesk.*“, 89, 1964 : 25-30.
21. SCHALM, O. W. - CARROLL, E. J. - LASMANIS, J.: The Leukocyte Barrier and Serologic Investigations of Experimental Coliform (*Aerobacter aerogenes*) Mastitis in Cattle. = „*Am. J. vet. Res.*“, 25, 1964 : 90-96.
22. SCHALM, O. W. - LASMANIS, J. - CARROLL, E. J.: Pathogenesis of Experimental Coliform (*Aerobacter aerogenes*) Mastitis in Cattle. = „*Am. J. vet. Res.*“, 25, 1964 : 75-82.
23. STETSON, C. A.: Vascular Effects of Endotoxins. = „*Bull. N. Y. Acad. Med.*“, 37, 1961 : 486-492.
24. WATSON, D. W. - KIM, Y. B.: Modification of Host Responses to Bacterial Endotoxins. I. Specificity of Pyrogenic Tolerance and the Role of Hypersensitivity in Pyrogenicity, Lethality and Skin Reactivity. = „*J. exp. Med.*“, 118, 1963 : 425-446.

ПОСПИШИЛ З. (НИИ ветеринарии в Брно, Чехословакия). К патогенезу колимаститов согласно патоморфологическому наблюдению. *Вет. мед. Прага* 13 (3) 137-142, 1968.

Описана патоморфологическая картина 12 типичных колимаститов, представленных главным образом некролизацией ткани молочной железы и альтерацией капилляров, что вызывает образование тромбов и появление фибрина в лумине или в стенках капилляров и его периваскулярный вывод. Картина, наблюдаемая в молочной железе у колимаститов крупного рогатого скота, в общих чертах по характеру своих реакций отвечает изменениям, описанным у феномена Артура. Обсуждается возможность хотя бы частичного участия во возникновении колимаститов тех реакций, которые зависят от предшествующей сенсибилизации организма соответствующими антигенами — следовательно, аллергических реакций.

колимастит; крупный рогатый скот; патоморфология; патогенез; эндотоксин; аллергическая реакция; феномен Артура

POSPÍŠIL, Z. (Research institute of veterinary medicine in Brno, Czechoslovakia) *A Contribution to Pathogenesis of Coli-Mastitis Based on Pathomorphological Observation* *Vet. Med. (Praha)*. 13 (3) 137—142, 1968.

A pathomorphological picture of 12 typical coli-mastitis is described. The characteristic sign of this disease is the necrotization of the tissue of the mammary gland and the alteration of the vessels involving the formation of thrombs and the occurrence of fibrin in the lumen or wall of vessels and its perivascular leakage. The reactions observed in the mammary gland of cattle with coliform mastitis corresponded to the changes described in the Arthus phenomenon. A possibility is being discussed, whether reactions dependent upon previous sensitization of the organism by specific antigens, i.e. allergic reactions, might be at least partially involved in the development of coliform mastitis.

coli-mastitis; cattle; pathomorphology; pathogenesis; endotoxin; allergic reactions; Arthus phenomenon

POSPÍŠIL Z. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin in Brno, Tschechoslowakei). *Beitrag zur Pathogenese der Kolimastitide, die aus der pathomorphologischen Beobachtung herausgeht.* Vet. Med. (Praha) 13(3)—000. 1968.

Es wird das pathomorphologische Bild von 12 typischen Kolimastitiden beschrieben, die hauptsächlich durch die Nekrotisierung des Gewebes der Milchdrüse und Alteration der Adern vorgestellt werden, wobei es zu einer Bildung der Thrombe und zum Vorkommen des Fibrins im Lumen oder an der Aderwand und zu seinem perivasculären Austritt kommt. Das in der Milchdrüse bei Kolimastitiden des Rindes beobachtete Bild entspricht durch den Charakter der Reaktionen in groben Zügen den Änderungen, die beim Arthus-Phänomen beschrieben werden. Es wird über die Möglichkeit diskutiert, ob an der Entstehung der Kolimastitiden wenigstens teilweise auch die Reaktionen teilnehmen könnten, die von der vorgehenden Sensibilisierung des Organismus durch entsprechende Antigene — also allergische Reaktionen — abhängig sind.

Kolimastitide; Rind; Pathomorphologie; Pathogenese; Endotoxin; allergische Reaktion; Arthus-Phänomen.

Adresa autora:

MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno—Medlánky

Ředitel: prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc.

MALE INFORMACE

● Používání děrných štítků ve veterinární dokumentaci

M. Fedida, G. Dannacher, J. Perraud

Laboratoř živočišné virologie, Lyon, Francie

Bibliografická veterinární dokumentace se musí přizpůsobovat stále vzrůstajícímu počtu publikací, a to především používáním moderních postupů, jako jsou tzv. děrné štítky. Za tím účelem je nutno vypisovat z každého článku vůdčí myšlenky (idées-maitresses), nazývané též klíčovými hesly či slovy (mots-clés), a pak přenášet na zvláštní kartotéční lístky všechny takto podchytené informace ve formě perforací nebo zářezů (encoches), jejichž význam je určen počtem a rozmístěním. Aby se získala rychlá odpověď na danou otázku, je zdlouhavé a namáhavé čtení lístku za lístkem nahrazeno mechanickým zkoumáním, a to buď optickým, elektrickým nebo perforací. Mezi různými existujícími postupy, jako jsou lístky s předem připravenými okrajovými nebo centrálními perforacemi, mechanické karty a lístky s tzv. optickou selekcí, je tento poslední způsob zvláště vhodný pro dokumentaci, specializovanou na jeden vědní obor, a to pro svou poměrnou levnost, pružnost při používání a pro svou schopnost poskytnout rychlou odpověď. Bylo při tom získáno již mnoho konkrétních zkušeností, které mluví ve prospěch těchto metod.

(Bull. Soc. Sci. Vét. 1966, 68, 429—464. Zprac. Dr. Stan. Mudra)

EXPERIMENTÁLNE OVPLYVNENIE ALKALICKEJ REZERVY KRVNEJ PLAZMY U PREŽÚVAVCOV NIEKTORÝMI BACHOROVÝMI METABOLITMI

L. Slanina

Katedra vnútorných chorôb párnokopytníkov Veterinárskej fakulty VŠP v Košiciach

SLANINA L. *Experimentálne ovplyvnenie alkalickkej rezervy krvnej plazmy u prežúvavcov niektorými bachorovými metabolitmi.* Vet. Med. (Praha), 13(3) 143–148, Veterinární fakulta Košice, 1968.

Alkalická rezerva krvnej plazmy u oviec bola experimentálne ovplyvnená v obidvoch smeroch bachorovými metabolitmi aplikovanými vo vodnom roztoku *per os*. Sacharóza znížila alkalickú rezervu v dávkach 5,10 a 15 g/kg ž. v. u oviec. Maximálny pokles alkalickkej rezervy bol štatisticky významný v rozmedzí 8–24, resp. 36 hod. po aplikácii. Kyselina mliečna v dávke 1 ml/kg ž. v. nemala markantnejší vplyv na alkalickú rezervu, kým dávka 2 ml/kg ž. v. vyvolala štatisticky významný pokles alkalickkej rezervy v rozmedzí 0,5 až 2 hodín po aplikácii. Laktát sodný v dávke 2,5 ml/kg ž. v. zreteľne zvýšil alkalickú rezervu. K normalizácii hladiny došlo za 72 hod. Štatisticky významný vzostup bol medzi 3–24 hod. po aplikácii. Laktát vápenatý v dávke 2,5 g/kg ž. v. vyvolal len nepatrné, štatisticky nevýznamné zvýšenie alkalickkej rezervy. Propionát sodný v dávke 0,4 g/kg ž. v. nemal žiadny vplyv. Dávka 1 g/kg ž. v. zreteľne zvýšila alkalickú rezervu s kulmináciou medzi 4–8 hod. (štatisticky významné) po aplikácii s priemernými hodnotami až o 50 % vyššími ako boli východzie. Znášanlivosť všetkých podaných metabolitov u oviec až na dávku 15 g sacharózy/kg ž. v. (mierna hnačka a apatia) bola dobrá.

alkalická rezerva; krvná plazma; prežúvavec; bachorový metabolit; kyselina mliečna; mliečnan sodný, vápenatý, propionát sodný, acidóza, alkalóza.

Použité skratky: AR = alkalická rezerva krvnej plazmy

Výkyvy acidobázickej rovnováhy krvi v obidvoch smeroch sú častým doprovodom rôznych metabolických ochorení u prežúvavcov a nie zriedka odrazom nesprávne zloženej krmnej dávky najmä v intenzívnych podmienkach chovu. Klinicky manifestný alebo skrytý priebeh týchto porúch má zpravidla za následok pokles účinkovosti zvierat. Faktory ovplyvňujúce acidobázickú rovnováhu vyjadrenú alkalickou rezervou krvi alebo krvnej plazmy u prežúvavcov sú menej preskúmané. Ich najčastejší pôvod zo strany bachorového metabolizmu bol predmetom skúmania uvedenej práce, ktorá je časťou širšieho komplexu.

Zatiaľ nám nie je známa literatúra pojednávajúca špeciálne o experimentálnom ovplyvnení alkalickkej rezervy krvnej plazmy (ďalej len AR) bachorovými metabolitmi.

Dirksen (1965) uvádza mliečnu kyselinu pri tzv. bachorovej acidóze po kyseline mliečnej ako príčinu zníženej AR. Uvedené súvislosti komentujú aj práce Krogha (1963) a Forenbachera (1966). U nás študoval ovplyvnenie alkalickkej rezervy zásaditými minerálnymi prísadami Lebeda a spol. (1965).

METODIKA

Alkalická rezerva krvnej plazmy bola stanovovaná titračnou metódou podľa Holasek a Flashka (1961) v 1 ml systéme. Krv bola odoberaná z *vena jugularis* pod parafín do skúmavky prepláchnutej heparínom vo fyziologickom roztoku, v množstve na jednu Wassermannovu skúmavku cca 25 m. j. Analýza bola prevedená do 6 hod., v ojedinelých prípadoch do 24 hodín. Metóda pracuje s chybou $\pm 2,1$ Vol. %.

Dávky metabolitov sú uvedené u pokusov. Aplikácia sa prevádzala u oviec merino, 2–4 roč., vždy ráno, s predchádzajúcim večerným kŕmením zloženým zo sena, šrotu, otrúb kŕmnej repy a minerálnych prísad. V deň aplikácie sa skrmovalo len 1 kg lúčneho sena a voda. V nasledujúcich dňoch kŕmenie bolo normálne.

Použitie metabolitov boli rozpustené, resp. rozriedené v 1,5 l vody a aplikované sondou do bachora.

Štatistické hodnotenie: okrem aritmetických priemerov uvádzaných v grafoch bola vypočítaná štatistická významnosť pomocou Wilcoxonovho testu (Roth a spol. 1962).

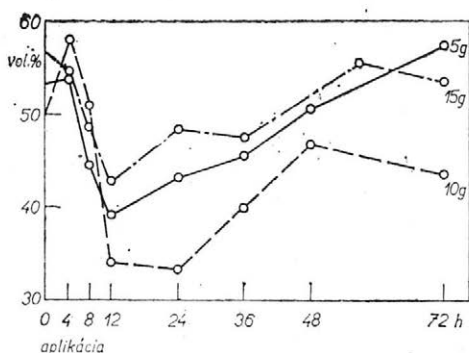
VLASTNÉ POKUSY

1. APLIKÁCIA SACHARÓZY U OVIEC

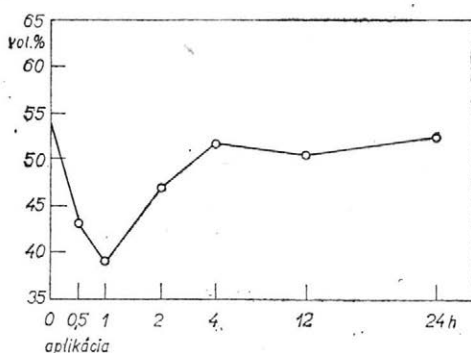
Sacharóza rozpustená v 1,5 l vody bola aplikovaná sondou do bachora u oviec merino, ž. v. 35–67 kg ťažkých. Aplikovali sme trom skupinám oviec a 6 kusov: 5, 10 a 15 g sacharózy na kg ž. v.

Výsledky v x hodnotách zachycuje graf 1.

Z grafu vidieť, že vo všetkých troch skupinách došlo k ráznemu poklesu AR už po 8–12 hod., s kulmináciou medzi 8–24 hod. Pritom je pozoruhodné, že dávka nie je vždy priamoúmerná poklesu AR, ale tendencia je zpravidla po všetkých troch dávkach rovnaká. K úprave hladín došlo spravidla okolo 56 hodiny po aplikácii sacharózy.



Graf 1. Dynamika alkalické rezervy krvnej plazmy u oviec (priemerné hodnoty zo 6 zvierat v skupine) po perorálnej aplikácii sacharózy v dávke 5 g/kg ž. v. (plná čiara), 10 g (prerušovaná čiara) a 15 g/kg ž. v. (bodkočiarkovaná čiara).



Graf 2. Dynamika alkalické rezervy u oviec po aplikácii mliečnej kyseliny 2 ml/kg ž. v. per os. Priemerné hodnoty, $n = 6$.

Vedľajšie účinky po dávke 5 a 10 g/kg ž. v. neboli žiadne, po dávke 15 g sa u 3 oviec objavila po 4 hod. prechodná, miernejšia hnačka a ovce boli v prvom a druhom dni malátnejšie.

Štatistická významnosť:

dávka 5 g/kg: 0 a 8 hod. na 10 %, 0 a 12 h na 2 %, 0 a 24 h na 10 % hladine významnosti; dávka 10 g/kg: 0 a 12 h na 1 %, 0 a 24 h na 1 %, 0 a 36 h na 1 % hladine významnosti; dávka 15 g/kg: 0 a 12 h na 2 %, hladine významnosti.

2. APLIKÁCIA KYSELINY MLIEČNEJ

bola prevedená v dávke 1 ml/kg ž. v. a 2 ml/kg ž. v. u dvoch skupín oviec à 6 kusov. Po dávke 1 ml/kg ž. v. došlo len k miernemu poklesu AR po 4 hod. (na hranici významnosti 10 %, ostatné nevýznamné), avšak po dávke 2 ml/kg ž. v. pokles bol zreteľný, s kulmináciou po 1 hod. (graf 2). Štatistická významnosť: 0 a 0,5 h, 0 a 1 h, 0 a 2 h významný rozdiel na 5 % hladine významnosti, 0 a 4 h a ďalší rozdiel nevýznamný.

Znášanlivosť kyseliny mliečnej u oviec bola dobrá.

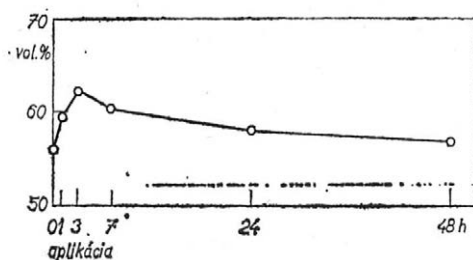
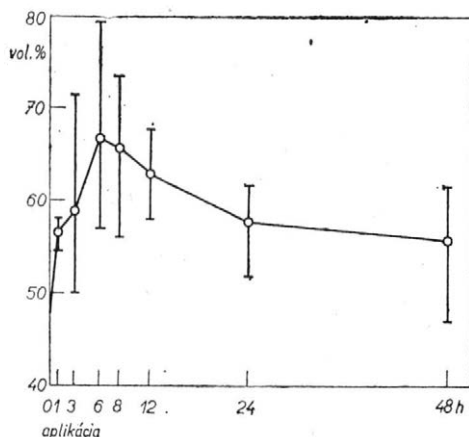
3. LAKTÁT SODNÝ

bol aplikovaný v dávke 2,5 ml/kg ž. v. u 6 oviec. Znášanlivosť u oviec bola veľmi dobrá. Výsledky v hodnotách x ako aj limitné hodnoty sú zachytené na grafe 3. Z grafu je pozoruhodná opačná dynamika AR ako v prvých dvoch prípadoch s maximálnou kulmináciou medzi 6–8 hod. po aplikácii. K úprave hladiny AR došlo až po 72 hodinách po aplikácii.

Štatistická významnosť je medzi hodnotami v 0 a 3 hod. na 5 % hladine významnosti, 0 a 6 h na 1 %, 0 a 8 h na 2 %, 0 a 12 h na 2 %, 0 a 24 h na 10 % hladine, 0 a 48 h na hranici významnosti 10 %.

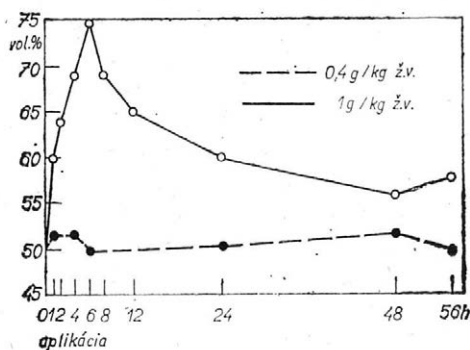
4. LAKTÁT VÁPENATÝ

bol aplikovaný skupine o 6 ovciach *per os* v dávke 2,5 g/kg ž. v. Znášanlivosť u oviec bola veľmi dobrá. Priemerné hodnoty vidieť na grafe 4. Z grafu je vidieť, že AR len mierne stúpla s kulmináciou medzi 3–7 hodinami. Štatistická významnosť: rozdiely nevýznamné vo všetkých bodoch.



Graf 3. Dynamika alkalickej rezervy u oviec po perorálnej aplikácii laktátu sodného 2,5 ml/kg ž. v. Priemerné hodnoty, n = 6. (vľavo)

Graf 4. Alkalická rezerva u oviec po perorálnej aplikácii laktátu vápenatého 2,5 g/kg ž. v. Priemerné hodnoty, n = 6.



Graf 5. Dynamika alkalické rezervy krvnej plazmy u oviec po perorálnej aplikácii propionátu sodného v dávkách 0,4 g/kg ž. v. (plná čiara) a 1 g/kg ž. v. (prerušovaná čiara). Priemerné hodnoty, $n = 6$.

5. PROPIONÁT SODNÝ

bol aplikovaný u oviec v dvoch skupinách à 6 kusov v dávkách 0,4 a 1 g/kg ž. v. Priemerné hodnoty vidieť z grafu 5. Kým v prvej skupine po dávke 0,4 g/kg ž. v. nedošlo k žiadnym pozoruhodným zmenám AR, zatiaľ pri dávke 1 g/kg ž. v. došlo k zreteľnému vzostupu AR v priemere o 50 % s kulmináciou medzi 4–8 hod. V 56 hod. hladina AR bola ešte mierne zvýšená.

Štatistická významnosť: dávka 0,4 g/kg: štatisticky nevýznamné rozdiely vo všetkých bodoch; dávka 1 g/kg: 0 a 4 h, 0 a 8 h na hladine 10 % významnosti, 0 a 24 h a 0 a 48 h nevýznamné rozdiely. Znášanlivosť u oviec bola veľmi dobrá.

DISKUSIA A ZHODNOTENIE VÝSLEDKOV

Z prevedených pokusov vyplýva, že alkalická rezerva krvnej plazmy je prechodne ovplyvniteľná použitými bachorovými metabolitmi, aplikovanými jednorázovo do bachora a celkovo v malých dávkach, pri ktorých bola u oviec dobrá znášanlivosť. Dá sa predpokladať, že aplikácia použitých metabolitov vo vyšších dávkach a ich aplikácia dvakrát v priebehu dňa by mohla výkyvy alkalické rezervy ešte prehĺbiť, nakoľko po aplikácii propionátov a kyseliny mliečnej v našich pokusoch výkyv bol priamoúmerný dávke metabolitu (graf 5 a 2).

Alkalická rezerva v pokusoch bola vychýlená obidvoma smermi. Kým kyselina mliečna a sacharóza, ktorá je v bachorovom prostredí fermentovaná rovnako v kyselinu mliečnu, viedli k poklesu hodnôt alkalické rezervy (graf 1 a 2), zatiaľ soli kyseliny mliečnej a propionovej mali za následok vzostup alkalické rezervy (graf 3, 4 a 5).

Pozoruhodné výsledky boli dosiahnuté pri aplikácii sodnej a vápenatej soli mliečnej kyseliny v rovnakej dávke. Kým laktát sodný zreteľne zvýšil alkalickú rezervu s vysokou štatistickou významnosťou (graf 3), zatiaľ laktát vápenatý len nevýrazne, kde neboli rozdiely štatisticky významné (graf 4). Z literatúry je známe, že sodíkový ión sa resorbuje veľmi rýchlo už v bachore i proti koncentračnému gradientu, kým vápnikový ión sa v bachore resorbuje len keď je jeho koncentrácia vyššia päťnásobne oproti krvi (Hörnigke 1964).

Teda intenzita výchyliek alkalické rezervy závisí od druhu bachorového metabolitu a jeho dávky.

Rýchlosť ovplyvnenia alkalické rezervy a kulminácia výchyliek bola rozdielna. Kým kyselina mliečna vyvolala pokles AR už za 30 minút po aplikácii s kulmináciou po 1 hod., zatiaľ sacharóza ovplyvnila AR až po 4–8 hod. s kulmináciou medzi 12–24 hod. Jav je možno vysvetliť neskorším procesom metabo-

iziacie sacharózy v kyselinu mliečnu, kde k maximálnemu nahromadeniu mliečnej kyseliny dochádza po 1—4 hod. po nakrmení (Slanina 1966).

Podobné poznatky sme získali (Slanina 1966) s glukózou u oviec aplikovanou *per os*. Propionát sodný v dávke 1 g/kg ž. v. a laktát sodný v dávke 2,5 ml/kg ž. v. mali približne rovnaký vplyv na alkalickú rezervu čo do doby trvania výchyľky, avšak propionát sodný zvyšoval hladinu alkalickrej rezervy výraznejšie. Na rozdiel od nich laktát vapenatý mal len nepatrný vplyv na hladinu AR.

Po uvedenom jednorazovom aplikovaní použitých metabolitov došlo k úprave AR do 48 hodín s výnimkou sacharózy, kde tieto trvali až do 72 hodín po aplikácii. Kyselina propionová bola dieteticky ťažko znášaná u oviec a preto po predbežnom preskúšaní sme od ďalších pokusov upustili.

Došlo dňa 9. 11. 1967

Literatúra

1. DIRKSEN G.: Über die Pansenazidose des Rindes = „Vet. Med. Nachrichten“ 18, 1965 : 79-108.
2. FORENBACHER S. - JEZIC B. - ZDELAR F.: O odnosima između procesa probave i mijene tvari u goveda pod uvjetima alimentarne indigestije = „Vet. archiv“ 37, 1967 : 1-33.
3. HOLASEK A. - FLASHKA A.: Komplexometrische und andere titrimetrische Methoden des klinischen Laboratoriums = Wien, 1961.
4. HÖRNICKE H.: Der Stoffaustausch durch die Wand des Wiederkäuermagens „Zschr. f. Tierphysiol.“ 19, 1964 : 92-117.
5. KROGH N.: Clinical and microbiological studies on spontaneous cases of acute indigestion in ruminants = „Acta vet. scand.“ 74, 1963 : 27-40.
6. LEBEDA M. - SURYNEK J.: Studie genese změn alkalické rezervy krve a plazmy dojníc = „Vet. Med.“ 10, 1965 : 331-338.
7. ROTH - JOSÍFKO - MALÝ - TRČKA: Statistické metody v experimentální medicíne, Praha, 1962.
8. SLANINA L.: Alimentárne acidoze goveda = „Vet. glasnik“ 20, 1966 : 933-937.

СЛАНИНА Л. (Кафедра внутренних болезней парнокопытных, вет. факультет СХИ в Кошицах, Чехословакия). Экспериментальное воздействие некоторых рубцовых метаболитов на щелочной запас кровяной плазмы у жвачных. Вет. мед. Прага 13 (3) 143-148, 1968.

Щелочной запас кровяной плазмы у овец в экспериментальном порядке обрабатывался в двух направлениях метаболитами рубца, вводимыми через рот в форме водного раствора. У овец сахаразы понизила щелочной запас в дозах 5, 10 и 15 г/кг ж. в. Максимальное понижение щелочного запаса статистически значимое в пределах 8—24, т. е. 36 час. после введения.

Молочная кислота в дозе 1 мл/кг ж. в. не оказала отчетливого влияния на запас, тогда как доза 2 мл/кг ж. в. вызвала синтетически значимое понижение щелочного запаса в пределах 0,5—2 часа после введения.

Лактат натрия в дозе 2,5 мл/кг ж. в. отчетливо увеличил этот запас. Нормализация уровня произошла спустя 72 часа. Статистически значимым было повышение между 3—24 час. после введения. Лактат кальциевый в дозе 2,5 г/кг ж. в. вызвал лишь слабое, статистически незначительное повышение щелочного запаса. Пропионат натрия в дозе 0,4 г/кг ж. в. не оказал никакого действия. Доза 1 г/кг ж. в. отчетливо увеличила запас с кульминацией между 4—8 час. (статистически значимо) после введения со средними величинами, более высокими на 50 % по сравнению с исходными.

Овцы переносили хорошо все метаболиты кроме дозы 15 г сахарозы/кг ж. в. (слабый понос и апатия).

щелочной запас; кровяная плазма; жвачное животное; метаболит; молочная кислота; молочнокислый натрий, кальций, пропионат натрия; ацидоз, алкалоз.

SLANINA, L. (Chair of Internal Diseases of Even-Toed Animals. Faculty of Veterinary Medicine of the Agricultural College, Košice. Czechoslovakia). *Experimental Influencing of the Alkaline Reserve of Blood Plasma in Ruminants by Some Rumen Metabolites*. Vet. Med. 13(3) (Prague) 143—148, 1968. —

The alkaline reserve of the blood plasma of sheep was influenced experimentally in both directions by means of rumen metabolites applied in a water solution per os. In sheep saccharose lowered the alkaline reserve in doses of 5, 10, and 15 g/kg of body weight. A maximum decrease of the alkaline reserve was statistically significant within limits of 8—24, or 36 hours after application. Lactic acid in a dose of 1 ml/kg of body weight had no marked influence on the alkaline reserve, whereas a dose of 2 ml/kg of body weight caused a statistically significant decrease of the alkaline reserve within limits ranging from 0.5 to 2 hours after application. Sodium lactate in a dose of 2.5 ml/kg of body weight markedly raised the alkaline reserve. Normalization of the level occurred after 72 hours. A statistically significant increase occurred between 3 and 24 hours after application. Calcium lactate in a dose of 2.5 g/kg of body weight caused only a negligible, statistically insignificant rising of the alkaline reserve. Sodium propionate in a dose of 0.4 g/kg of body weight had no influence whatsoever. A dose of 1 g/kg of body weight distinctly increased the alkaline reserve with a culmination between 4—8 hours (statistically significant) after application with average values higher by up to 50 per cent than were the original ones. The toleration of sheep to all administered metabolites with the exception of the dose of 15 g of saccharose per/kg of body weight (slight diarrhoea and apathy) was good.

alkaline reserve, blood plasma, ruminant, metabolite, lactic acid, sodium lactate, calcium lactate, sodium propionate, acidosis, alkalosis.

SLANINA L. (Lehrstuhl für innere Krankheiten der Paarhufer, Fakultät für Veterinärmedizin der Landwirtschaftlichen Hochschule in Košice, Tschechoslowakei). *Experimentelle Beeinflussung der alkalischen Reserve von Blutplasma bei Wiederkäuern durch einigen Pansenmetaboliten*. Vet. Med. (Praha) 13(3) 143—148, 1968.

Alkalische Reserve des Blutplasmas bei Schafen wurde in beiden Richtungen durch die in einer Wasserlösung per os verabreichten Pansenmetaboliten beeinflusst. Die Saccharose setzte die alkalische Reserve bei Schafen in Dosen von 5, 10 und 15 gr/kg Lebendgewicht herab. Die maximale Herabsetzung der alkalischen Reserve war statistisch signifikant in einer Zeitspanne von 8 bis 24, bzw. 36 Stunden nach der Applikation. Die Milchsäure in einer Dosis von 1 ml/kg Lebendgewicht übte keinen ausgeprägteren Einfluß auf die alkalische Reserve aus, wogegen eine Dosis von 2 ml/kg Lebendgewicht eine statistisch signifikante Herabsetzung der alkalischen Reserve in einer Zeitspanne von 0,5 bis 2 Stunden nach der Applikation hervorrief. Das Natriumlaktat in einer Dosis von 2,5 ml/kg Lebendgewicht hatte eine deutliche Erhöhung der alkalischen Reserve zur Folge. Eine Normalisierung des Niveaus trat in 72 Stunden ein. Eine statistisch signifikante Steigerung konnte zwischen 3 und 24 Stunden nach der Applikation beobachtet werden. Das Kalziumlaktat in einer Dosis von 2,5 gr/kg Lebendgewicht rief eine nur geringfügige, statistisch nicht signifikante Erhöhung der alkalischen Reserve hervor. Das Natriumpropionat in einer Dosis von 0,4 gr/kg Lebendgewicht hatte keinen Einfluß. Eine Dosis von 1 g/kg Lebendgewicht erhöhte deutlich die alkalische Reserve, mit einem Höhepunkt zwischen 4 bis 8 Stunden (statistisch signifikant) nach der Applikation von Durchschnittsdosen, die bis um 50 % höher als die Ausgangswerte waren. Die Schafe vertrugen die gesamten verabreichten Metaboliten gut, bis auf die Dosis von 15 g Saccharose/kg Lebendgewicht, wo ein leichter Durchfall und eine Apathie zu verzeichnen war.

alkalische Reserve; Blutplasma; Pansenwiederkäuer; Metabolit; Milchsäure; Natriumlaktat; Kalziumlaktat; Natriumpropionat; Azidose; Alkalose.

Adresa autora:

Doc. MVDr. Ludovit Slanina, CSc., VŠP, veter. fakulta, Košice, Komenského 71

PENICILINÁZOVÁ AKTIVITA ANTRAXOVÝCH A CEROVÝCH KMENŮ

K. Prokůpek

Ústřední státní veterinární ústav — SLD, Gottwaldov

PROKŮPEK K. Ústř. stát. veter. ústav, stanice labor. diagnostiky, Gottwaldov. *Penicilinázová aktivita antraxových a cereových kmenů*. Vet. Med. (Praha) 13(3) 149—158, 1968

Metodou prokainpenicilinového testu byla zjišťována penicilinázová aktivita u 152 kmenů *Bacillus anthracis* a 136 kmenů *Bacillus cereus*. Za daných experimentálních podmínek byla produkce penicilinázy u antraxových kmenů velmi nízká a pohybovala se u převážné většiny kmenů v rozsahu do 5 jednotek. Penicilinázová aktivita cereových kmenů byla za těchto podmínek různorodá. U malé části kmenů nebyla prokázána nebo zůstala na velmi nízké úrovni. Většinou se však vyznačovala výraznou produkcí penicilinázy (mezi 50—500 jednotkami), která v některých případech dosupovala relativně vysokých hodnot. Produkce penicilinázy je ovlivněna vnějšími podmínkami (pH media, dobou a teplotou inkubace, induktor).

penicilináza; produkce penicilinázy; prokainpenicilinázový test; *Bacillus anthracis*; *Bacillus cereus*; penicilinázová aktivita; vnější podmínky.

Studium penicilinázové aktivity mikrobních druhů je stále přitažlivým problémem. Vedle čistě vědeckého aspektu o povaze a vlastnostech enzymu zajímaly pracovníky hlavně dvě otázky, a to zda a jak působí penicilináza při inaktivaci penicilinu a zda a jakým podílem se zúčastní na vytváření rezistence na penicilin u mikrobů. Některé z těchto otázek nejsou dosud uspokojivě vyřešeny. Z praktického hlediska lze použít penicilinázy léčebně při alergických stavech po aplikaci penicilinu a k odstraňování residuí antibiotika v potravinářství (např. v mléce). V této práci jsme se zabývali penicilinázovou aktivitou a aerobně sporulujících mikrobů, zejména antraxových a cereových kmenů, a některými podmínkami její produkce *in vitro*. Tomu předcházelo vyhledání vhodné metodiky a její důkladné prověření.

Penicilináza byla poprvé zjištěna A b r a h a m e m a C h a i n e m (1940) v kultuře *E. coli*. Později byla nalezena také v četných dalších druzích mikroorganismů, zejména u některých příslušníků rodu *Bacillus*.

Enzym je protein s molekulární vahou 35200 a izoelektrickým bodem málo nad pH 5,0. Působí jako katalyzátor hydrolýzy laktamového kruhu penicilinu, při čemž antibioticky účinný penicilin se mění v neúčinnou kyselinu penicilinovou. Penicilinová kyselina není antigenní, je nealergická a nemá antibiotickou aktivitu.

Jiný enzym, inaktivující penicilin, je acyltransferáza, která štěpí amidové skupiny postranního řetězce penicilinu při zachování laktamového kruhu. Tato reakce je na rozdíl od penicilinázy reverzibilní. Zdali tento enzym má ně-

jaký význam pro rezistenci mikrobů na penicilin není známo. Penicilináza je pravým obranným fermentem. Dosud známé peniciliny jsou, až na malé výjimky (cephalosporin), penicilinázou hydrolyzovány.

Teprve od doby, kdy byl připraven penicilin syntetickou cestou, podařilo se získat penicilin rezistentní k účinku penicilinázy. Rychlost štěpení penicilinu je možno zjistit manometricky. Různé penicilinázy se vyznačují různou rychlostí štěpení penicilinu. Nechybějí snahy vyřadit nepříznivý vliv penicilinázy při penicilinové terapii specifickými inhibitory. Takovými látkami jsou např. alkylsulfáty, které však pro toxický účinek nelze použít. S úspěchem však bylo použito kombinace penicilinu citlivého a rezistentního k penicilináze.

Antialergický účinek penicilinázy se projevuje snížením koncentrace penicilinu v krvi, což můžeme zaznamenat už za 1 hod. po podání. Penicilináza zůstává aktivní v tělních tekutinách po 4 dny.

Za normálních životních podmínek tvoří bakterie jen relativně malé množství penicilinázy. Penicilináza patří k enzymům, jejichž syntéza je indukována substrátem. Dobrymi induktory penicilinázy jsou např. těžko štěpitelné peniciliny, jako je oxacilin a methicillin. Podprahové dávky penicilinu, přidané do živného media, zvyšují podstatně tvorbu penicilinázy. Pokusně bylo stanoveno indukční období asi na 2–4 hodiny. Proto jsou rychle se štěpící peniciliny špatnými induktory. Podle Pollocka (1950) nasvědčují výsledky této enzymové adaptace hypotéze, že penicilin reaguje s některými receptory uvnitř buňky a vytváří komplex, který působí jako specifický katalyzátor, stimulující tvorbu penicilinázy.

Pollock (1965) udává, že z produkované penicilinázy připadá na exocelulární penicilinázu 85–95 %. Perret (1954) uvádí, že množství penicilinu inaktivovaného při konstantním množství penicilinázy, je závislé na různém pH s maximem mezi 5,5–7,0 a teplotě v rozsahu od 30–45 °C.

Smith a Hamilton-Miller (1963) došli k poznatku, že penicilináza grampozitivních bacilů se ukázala aktivnější při inaktivaci penicilinu než penicilináza gramnegativních mikrobů. Raubenbusch (1963) podává přehled o účincích penicilinázy v souvislosti s novými polosyntetickými peniciliny. Pollock (1965) popisuje produkci, purifikaci a vlastnosti penicilinázy získané z *Bac. licheniformis* a podává srovnání vlastností z hlediska chemického a fyziologického.

Weiss (1963) poukazuje na zajímavý fakt, že reakce mezi penicilinem a penicilinázou spočívá na tom, že vázaná penicilináza reaguje ve zřetelně kyselém prostředí, že tedy povrch bakterií musí poukazovat na nižší hodnotu než je pH hodnota celkové bakteriální suspenze.

MATERIÁL A METODY

Produkce penicilinázy byla zjišťována u 152 antraxových kmenů a 144 cereových kmenů. Z cereových kmenů bylo 136 taxonomicky zařazeno jako *Bacillus cereus* a 8 jako *Bacillus cereus* var. *cylindrosporus*. Mimo to byla sledována tvorba penicilinázy orientačně ještě u některých dalších aerobně sporulujících mikrobů (*Bac. mycoides* — 5 kmenů, *Bac. megaterium* — 6 kmenů a *Bac. subtilis* — 13 kmenů). Všechny použité kmeny byly z naší sbírky, kromě kmenů cylindrosporových, které jsme získali laskavostí prof. Ivanovicze (Budapest).

Po orientačních pokusech s jodometrií zvolili jsme výhodnější metodu prokainpenicilinovým testem (Körnlein a Koch, 1954). Podstatou testu je, že

suspenze prokainpenicilinu ve fosfátovém pufru, o nejméně 0,5% koncentraci, vytváří spolu s agarem mléčné bílé medium, kde se produkce penicilinázy projeví vytvářením projasněných inhibičních zon. Metodu jsme důkladně prověřili, propracovali a přizpůsobili naší potřebě zjišťování produkce penicilinázy v mikrobiálních suspenzích. Takto upravenou metodu použili jsme v naší práci při zjišťování penicilinázové aktivity antraxových a cereových kmenů.

Při provádění prokainpenicilinového testu jsme použili Petriho misek s rovným dnem. Spodní díl media tvořila vrstva $2\frac{1}{2}\%$ bezpeptonového agaru. Vrchní vrstva pozůstávala z $2\frac{1}{2}\%$ masopeptonového agaru, k němuž bylo přidáno fosfátového pufru (0,15M), v němž bylo rozpuštěno příslušné množství prokainpenicilinu. Přepočítavací faktor na plochu $1\text{ cm}^2 : 0,2\text{ ml } 2\frac{1}{2}\%$ bezpeptonového agaru a $0,1\text{ ml } 2\frac{1}{2}\%$ masopeptonového agaru + $0,05\text{ ml}$ prokainpenicilinové emulze ve fosfátovém pufru. Koncentraci prokainpenicilinu se rozumí příslušné množství antibiotika na testovací jednotku o standardně stanovené ploše (např. na jednu Petriho misku), nikoliv na 1 cm^2 této plochy. Používali jsme testovací jednotku na misce o ploše 28 cm^2 , na desce z plexiskla o ploše 25 cm^2 . Vrchní vrstva se nalila na ztuhlou spodní vrstvu agaru. Připravené medium bylo mléčně bílé, při čemž sytost barvy záležela na koncentraci prokainpenicilinu.

V našich pokusech jsme vystačili v převážné většině případů s koncentrací 150 000 jednotek prokainpenicilinu. Tato koncentrace byla pro naše poměry nejvhodnější, protože jí bylo možno stanovit penicilinázovou aktivitu v rozsahu od 3 do 2000 jednotek. V malém počtu případů jsme použili koncentrace 300 000 jednotek prokainpenicilinu, která v našem uspořádání měla rozsah od 10 do 10 000 jednotek penicilinázy. To bylo v těch případech, kdy jsme očekávali vysokou produkci penicilinázy. Rovněž koncentraci o 100 000 jednotkách prokainpenicilinu (rozsah od 1,0 do 1000 jednotek penicilinázy) jsme použili zřídka. Koncentraci 150 000 jsme používali nejčastěji proto, že měla široký rozsah a testovací půda byla ještě výrazně mléčně zbarvena. Při použití 100 000 jednotek má už půda šedobílé zabarvení, což poněkud znesnadňuje hodnocení reakce. Nižší koncentraci nelze použít, protože testovací půda ztrácí už svůj výrazný mléčně bílý odstín, takže nelze s určitostí odlišit inhibiční zonu od ostatní půdy.

Při provádění testu jsme použili podobného uspořádání jako při agarové difuzní precipitaci. Za startovací jamky nám sloužily výseče o průměru 18 mm, protínající obě vrstvy živné půdy. Místo jamek lze použít kovových válečků, kterých se používá při titraci antibiotik. Startovací jamky jsme plnili dávkou 0,5 ml testovaného materiálu, kterým byl zpravidla supernatant bujonové kultury příslušného mikrobiálního druhu. Test jsme posuzovali po 24 hod. inkubací při teplotě laboratoře podle šířky inhibiční zony. Inhibiční zóna se projevila úplným projasněním mléčně bílého media v podobě mezikružích, za předpokladu, že medium bylo ve vodorovné poloze. Šířku inhibiční zony jsme měřili posuvným měřidlem a vyjadřovali v milimetrech. Kontrolu jsme prováděli s živným mediem, které bylo substrátem pro produkci penicilinázy.

Je třeba dbát toho, aby testovací půda byla ve vodorovné poloze (polohu vyrovnat vodováhou). Není-li tento požadavek dodržen, není inhibiční zóna symetrická. Symetrie může být někdy porušena z jiných důvodů (nestandardní příprava půdy, změna difuzní rychlosti v určitém směru apod.). Zpravidla vždy se však najde místo, kde lze kruhovou výseč dobře změřit. Mimoto se doporučuje každý test provádět na 2 až 3 testovacích jednotkách a výsledek hodnotit jako aritmetický průměr. Testovací půdu s prokainpenicilinovým mediem je nutno chránit před přímým slunečním světlem, protože dochází k samovolnému projasňování živné půdy.

Vyhodnocování testu jsme prováděli porovnáním inhibiční zony testovaného materiálu s inhibiční zónou standardu. Za standard nám složil penicilinázový preparát Neutrapen, výrobek Riker Laboratories, Loughborough England. Neutrapen představuje preparát vysoce purifikované penicilinázy pro injekční účely. Je to enzym získaný z kultury *Bac. cereus*. Každá jednotlivá dávka obsahuje 800 000 jednotek v lyofilizované formě. Podle návodu rozpustili jsme Neutrapen ve 2 ml sterilní redestilované vody. Získaný izotonický roztok je třeba použít čerstvý.

Test byl vyhodnocován na semilogaritmickém papíře, kde na abscisu (osa x) jsme nanášeli naměřené hodnoty inhibičních zon v mm lineárně a na ordinátě jsme odečítali v logaritmickém měřítku počet jednotek penicilinázy.

Nejdůležitějším úkolem bylo stanovení vyhodnocovací přímky pro příslušné koncentrace prokainpenicilinu. Vyhodnocovací přímka byla stanovena z hodnot standardního preparátu neutrapenu. Na abscisu byly vyneseny hodnoty inhibičních zón stanovených dávek neutrapenu (5, 10, 20, 40, 80, 160 jednotek). Výsledná hodnota byla vypočítána jako aritmetický průměr z deseti samostatných měření. Z polohy vynesených bodů byl stanoven průběh vyhodnocovací přímky.

Z technických důvodů se nepodařilo vždy připravit testovací půdu standardně stejné kvality, a proto je třeba počítat při provádění každé nové série testu s individuální odchylkou od generální vyhodnocovací přímky. Tuto odchylku stanovíme tak, že vyhodnotíme určitou dávku neutrapenu (např. 20 jednotek). Zjištěnou hodnotu inhibiční zóny vyneseme na semilogaritmický papír a daným bodem vedeme rovnoběžku s generální vyhodnocovací přímkou. Tím jsme stanovili korekční vyhodnocovací přímku, platnou pro serii vyšetření s určitou šarží media. Korekční vyhodnocovací přímka je někdy velmi blízká generální přímce, jindy se může od ní dosti lišit.

Zpočátku jsem testovali na Petriho miskách, později jsme začali používat desky z plexiskla velikosti 25krát 25 cm, o celkové ploše 625 cm². Deska je uložena v kovových rámečcích, které ji fixují a zabráňují sklouznutí agarové vrstvy z desky. Z hlediska rutinní práce jsou desky praktické a manipulace s nimi je jednoduchá.

Citlivost prokainpenicilinového testu je relativně vysoká a při správně prováděné metodě dostačující k tomu, aby touto metodou mohla být vyjádřena penicilinázová aktivita biologického materiálu.

VÝSLEDKY

PRODUKCE PENICILINÁZY V ZÁVISLOSTI NA PŮSOBNÍ SPECIFICKÉ LÁTKY (INDUKOVANÁ SYNTÉZA ENZYMU)

Byla sledována produkce penicilinázy při konstantním složení živné půdy (masopeptonový bujon) pH 7,4 a inkubaci (24 hod. při 37 °C) ve srovnání s přidávkou specifické látky G-penicilinu a syntetického penicilinu a oxacilinu. Dávka induktoru odpovídala 1 j. na 1 ml živné půdy za podmínek statické

I.

Závislost produkce penicilinázy na pH media						
Označení kmene	Produkce penicilinázy (v jednotkách)					
	MPB		MPB + G-penicilin		MPB + oxacilin	
	STK	SMK	STK	SMK	STK	SMK
C 115/62	29	15	200	110	94	94
C 460/62	30	44	200	320	500	340
C-Biotika	400	260	210	320	300	320
C 203-4/332	62	60	175	400	200	165
Celkem	521	379	785	1150	1094	919

STK — statická kultivace SMK — submerzní kultivace

a submerzní kultivace (denně 2 hod. protřepávání). K pokusu bylo použito 4 cereových kmenů vlastní sbírky. Penicilinová produkce byla stanovena prokainpenicilinovým testem. Výsledky jsou uvedeny v tabulce I.

Z výsledku v tabulce I. lze vyvodit, že za podmínek pokusu je produkce penicilinázy zřetelně vyšší, použijeme-li přídatku vhodného induktoru do živné půdy. Nebylo však výrazného rozdílu při použití G-penicilinu nebo oxacilinu jako induktoru. Rovněž nebylo většího rozdílu při použití statické a submerzní kultivace.

ZÁVISLOST PRODUKCE PENICILINÁZY NA PH MEDIA, DOBĚ A TEPLOTĚ INKUBACE

V první fázi pokusů jsme sledovali vliv pH živného media při konstantní teplotě (37°) a době inkubace (6 hod.). Jako media bylo použito masopeptonového bujonu s přídatkem G-penicilinu (1j/ml). K pokusu vybrány tytéž 4 cereové kmeny jako v předchozím. Výsledky jsou souhrnně uvedeny v tabulce II. a vyjádřeny graficky (graf 1).

Z tabulky vyplývá, že největší produkce penicilinázy se dosahuje při alkalické reakci živné půdy s optimem pH v rozsahu 8,0–9,5. Tento vztah vyjadřuje také graf 1.

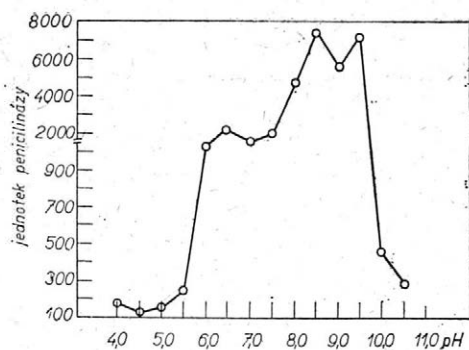
Vztah mezi produkcí penicilinázy a dobou inkubace při neměnném pH media (8,5) a teplotě inkubace (37 °C) ukazuje tabulka III. a graf 2.

Čísla uvedená v tabulce III. zdají se nasvědčovat tomu, že optimum doby inkubace leží v rozsahu 6–24 hod. Současně je však třeba počítat se značnou individualitou jednotlivých kmenů.

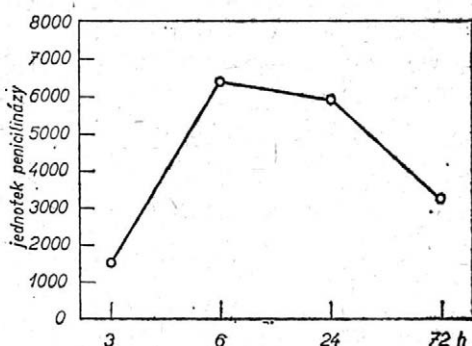
V třetí serii pokusů byl sledován vliv inkubační teploty na produkci penicilinázy při nezměněném pH media (7,4 a 8,5) a době inkubace 18 hod. Tento vztah vyjadřují tabulky IV a V a graf 3.

II. Závislost produkce penicilinázy na pH media při konstantní teplotě (37° C) a době inkubace (6 hod.)

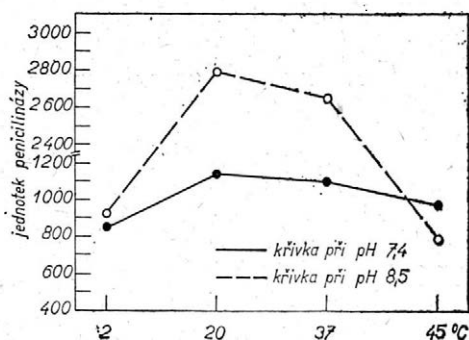
Označení kmene	Produkce penicilinázy v jednotkách														
	pH media														
	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	
C 155/62	4	4	6	56	110	240	110	180	280	500	500	250	4	6	
C 460/62	4	4	5	50	260	640	340	290	800	1300	1000	2200	14	60	
C-Biotika	170	110	110	110	120	210	130	280	1700	1800	2000	900		220	
C-203-4/332	8	4	6	45	620	1100	900	1000	2000	3800	2500	2800	50	7	
Celkem	186	122	127	261	1110	2090	1480	1750	4780	7300	5860	7250	968	293	



1. Závislost produkce penicilinázy na pH media při konstantní teplotě (37°C) a době (6 hod.) inkubace



2. Závislost produkce penicilinázy na době inkubace při pH media 8,5 a teplotě inkubace 37°C



3. Vliv inkubační teploty na produkci penicilinázy při konstantní době inkubace (18 hod.) a pH media (7,4 a 8,5)

III. Vztah mezi produkcí penicilinázy a dobou inkubace při neměnném pH media (8,5) a teplotě inkubace (37°C)

Označení kmene	Produkce penicilinázy v jednotkách				
	doba inkubace v hodinách				
	3	6	24	48	72
C 155/62	110	500	930	720	500
C 460/62	430	1300	1500	1050	900
C-Biotika	200	1700	1720	1250	700
C 203-4/332	800	2800	1710	1100	980
Celkem	1540	6300	5860	4020	3080

Z obou tabulek (IV. a V.) je vidno, že za nejvhodnější inkubační teplotu můžeme považovat teplotu v rozsahu mezi 20 a 37°C , pravděpodobně s optím při 30°C . Tyto vztahy vypadají také graf 3.

IV. Produkce penicilinázy při různé inkubační teplotě a konstatní inkubační době (18 hod.) a pH media 7,4

Označení kmene	Produkce penicilinázy v jednotkách			
	Inkubační teplota °C			
	2	20	37	45
C 155/62	94	110	160	66
C 460/62	360	400	400	400
C-Biotika	110	160	165	130
C 203-4/332	300	500	360	340
Celkem	864	1170	1085	930

V. Produkce penicilinázy při proměnné inkubační teplotě a konstantní inkubační době (18 hod.) a pH media (8,5)

Označení kmene	Produkce penicilinázy v jednotkách			
	Inkubační teplota °C			
	2	20	37	45
C 155/62	67	145	265	80
C 460/62	357	1000	1087	597
C-Biotika	330	1080	653	83
C 203/332	165	573	613	12
Celkem	919	2798	2618	772

STANOVENÍ PENICILINÁZOVÉ AKTIVITY ANTRAXOVÝCH A CEREOVÝCH KMENŮ

ANTRAXOVÉ KMENY

Penicilinázová aktivita byla zjišťována u 152 sbírkových kmenů. Postupováno bylo tak, že kultura byla inkubována v MPB s přídavkem 1 jednotky G-penicilinu na 1 ml media při 37 °C za občasného protřepávání po dobu 20 hod. Po odstranění bylo supernatantu použito ke stanovení penicilinázy.

Výsledky:	počet kmenů
penicilinázová aktivita neprokázána	2
penicilinázová produkce do 5 jednotek	108
od 6 — do 10 jednotek	34
od 11 do 20 jednotek	6

Toliko u dvou kmenů přesahovala produkce penicilinázy obvyklý rozsah. U jednoho kmene byla zjištěná penicilinázová aktivita vyjádřena 24, u druhého 32 jednotkami.

Z uvedeného přehledu je patrné, že převážná většina antraxových kmenů se vyznačuje nízkou penicilinázovou aktivitou. Tato aktivita se pohybuje většinou v rozsahu od 2 do 5 jednotek. Jen zcela výjimečně dosahuje vyšších hodnot, ale nepřesahuje zpravidla rozsah 40–50 jednotek. Naše výsledky se v podstatě shodují s nálezy uváděnými v literatuře, třebaže bylo použito jiné metody stanovení penicilinázy.

CEREOVÉ KMENY

Testováno bylo 144 cereových kmenů, z toho 136 kmenů *Bac. cereus* a 8 kmenů *Bac. cereus v. cylindrosporus*.

Bac. cereus

Výsledky:	počet kmenů
Penicilinázová aktivita neprokázána	25
Penicilinázová produkce do 10 jednotek	19
do 50 jednotek	18
do 100 jednotek	14
do 200 jednotek	16
od 201 do 500 jednotek	24
od 501 do 1000 jednotek	17
nad 1000 jednotek	3
(1 × 1100 j., 1 × 1400 j., 1 × 1800 j.)	

Poměrně u dosti vysokého počtu cereových kmenů (18 %) nebyla za experimentálních podmínek prokázána penicilinázová aktivita anebo byla velmi nízká. U převážné většiny ostatních cereových kmenů byla zjištěna podstatně vyšší produkce penicilinázy než u kmenů antraxových. 55 % vyšetřovaných cereových kmenů vykazovalo vyšší penicilinázovou aktivitu než 100 jednotek. U některých kmenů byla prokázána vysoká penicilinázová aktivita.

Bac. cereus v. cylindrosporus

V této skupině jsme otestovali 8 kmenů.

Výsledky:	počet kmenů
Penicilinázová aktivita neprokázána	1
Penicilinázová produkce do 20 jednotek	1
od 21 do 50 jednotek	2
od 51 do 100 jednotek	2
od 101 do 200 jednotek	1
od 201 do 500 jednotek	1

Hodnoty získané na tak malém počtu kmenů je třeba považovat za orientační. Zdá se, že penicilinázová aktivita cylindrospоровých kmenů odpovídá kmenům cereovým.

Dodatkem jsme prověřovali penicilinázovou aktivitu ještě jiných aerobně sporulujících mikroby.

Výsledky:	počet kmenů
<i>Bac. mycoides</i> do 50 jednotek	4
do 200 jednotek	1
<i>Bac. megaterium</i> do 10 jednotek	2
do 100 jednotek	1
do 200 jednotek	3

<i>Bac. subtilis</i>	do 10 jednotek	5
	do 20 jednotek	3
	do 50 jednotek	4
	do 300 jednotek	1

Uvedené hodnoty penicilinázové produkce jsou jen orientační, protože poměrně malý počet kmenů nedovoluje jiné závěry.

DISKUSE

Ke stanovení produkce penicilinázy v biologickém materiálu, zejména penicilinázové aktivity bakteriálních kultur, se dobře osvědčila metoda prokain-penicilinového testu. Metoda byla důkladně prověřena a její postup upraven tak, aby vyhovovala požadovanému směru vyšetření. Metodou lze stanovit i malé množství penicilinázy.

Optimální produkce penicilinázy *Bac. cereus* jsme dosáhli za těchto podmínek: přídavek G-penicilinu (1 j/ml) k MPB, při alkalickém pH media (8,0 až 9,0), doba inkubace 18 hod. při teplotě 30–37 °C.

Metodou prokainpenicilinového testu byla sledována penicilinázová aktivita antraxových a cereových kmenů. Bylo zjištěno, že antraxové kmeny ve své převážné většině produkují jen malé množství penicilinázy (do 5 jednotek). Naproti tomu se cereové kmeny i někteří jiní příslušníci aerobně sporulujících mikrobu vyznačují podstatně vyšší penicilinázovou aktivitou, která v závislosti na vnějších a vnitřních podmínkách se pohybuje v širokých mezích, většinou však v rozsahu 50–500 jednotek. Téměř u jedné třetiny testovaných kmenů nebyla prokázána penicilinázová aktivita anebo velmi nízká (do 10 jednotek).

Došlo dne 8. 8. 1967

Poděkování: Za technickou spolupráci děkuji J. Kubešovi.

Literatura

1. ABRAHAM, E. P., - CHAIN, E.: = „Nature“ 146, 1940, 837
2. KÖRNLEIN, M., - KOCH, G.: Penicillinase-nachweis mit Procain-Penicillin. = „Arzneimittelforschung“ 4, 1954, 130-132
3. PARK, J. T., - STROMINGER, J. L.: Mode of action of penicillin. = „Science“ 125, 99-101
4. PERRET, C. J.: Iodometric Assay of Penicillinase. „Nature“, 174, 1954, 1012-1013
5. POLLOCK, M. R.: The Cell-bound penicillinase of *Bacillus cereus*. = „J. Gen. Microbiol.“ 15, 1956, 154-169
6. POLLOCK, M. R.: Penicillinase Adaptation in *Bacillus cereus*. = „Brit. J. Exp. Path.“ 31, 1950, 739
7. RAUENBUSCH, E.: Penicillinase und neue halbsynthetische Penicilline. = „Med. Chem.“ 7, 1963, 466-482
8. SMITH, J. T., - HAMILTON-MILLER, J. M.: Penicillinases from Gram-positive and Gram-negative bacteria. A thermodynamic difference. = „Nature“, 197, 1963, 769-770
9. WEISS, L.: The pH value at the surface of *Bacillus subtilis*. = „J. Gen. Microbiol.“ 32, 1963, 331-340

ПРОКУПЕК К. (Центральный государственный институт ветеринарии — станция лабораторной диагностики, Готвальдов-Лазы, Чехословакия). Пенициллиназная активность антропо- и цереовых штаммов. Вет. мед. Прага 13 (3) 149-158, 1968.

По методу прокаинпенициллинового теста была установлена пенициллиназная активность 152 штаммов *Bacillus anthracis* и 136 штаммов *Bacillus cereus*.

В данных экспериментальных условиях продукция пенициллиназы у антраксовых штаммов была очень низкой и у преобладающего большинства штаммов находилась в пределах 5 единиц. Пенициллиназная активность цереовых штаммов в этих условиях была разнородной. У небольшой части штаммов она не была доказана или же находилась на очень низком уровне. Но в большинстве случаев она отличалась повышенной продукцией пенициллиназы (между 50—500 един.), которая в некоторых случаях достигала относительно высоких величин. Продукция пенициллиназы зависит от внешних условий (рН среды, от продолжительности и температуры инкубации, от индикатора).

пенициллиназа; продукция пенициллиназы; прокаинпенициллиназовый тест; *Bacillus anthracis*; *Bacillus cereus*; пенициллиназная активность; внешние условия.

PROKÚPEK, K. (Central State Veterinary Institute — Station of laboratory diagnostics, Gottwaldov — Lazy, Czechoslovakia). *The Penicillinase Activity of Anthrax and Cereus Strains*. Vet. Med., 13(3) (Prague) 149—158, 1968.

By means of the method of the procaine-penicillin test the penicillinase activity of 152 strains of *Bacillus anthracis* and of 136 strains of *Bacillus cereus* was investigated. Under the given experimental conditions the production of penicillinase of the anthrax strains was very low and ranged, in a predominant majority of the strains, within limits of up to 5 units. Under these conditions the penicillinase activity of the cereus strains varied. In a small part of the strains no activity was proved or it remained at a very low level. However, a majority showed a marked production of penicillinase (between 50 and 500 units), which, in some cases, reached relatively high values. The production of penicillinase is influenced by external conditions (pH of the medium, time and temperature of incubation, inductor).

penicillinase; production of penicillinase; procaine-penicillinase test; *Bacillus anthracis*; *Bacillus cereus*; penicillinase activity; external conditions.

PROKÚPEK K. (Zentrales staatliches Institut für Veterinärmedizin — Station für Labordiagnostik, Gottwaldov-Lazy, Tschechoslowakei). *Die Penicillinaseaktivität der Anthrax- und Cereusstämme*. Vet. Med. (Praha) 13(3) 149—158, 1968.

Mittels der Methode des Prokain-Penicillintestes wurde die Penicillinasenaktivität bei 152 Stämmen des *Bacillus anthracis* und bei 136 Stämmen des *Bacillus cereus* ermittelt. Bei den gegebenen experimentellen Bedingungen war die Penicillinasenproduktion bei den Anthraxstämmen sehr niedrig und bewegte sich bei der Mehrheit der Stämme in einem Umfang bis 5 Einheiten. Die Penicillinasenaktivität der Cereusstämme war bei diesen Bedingungen verschieden. Sie konnte bei einem kleinen Anteil der Stämme nicht nachgewiesen werden oder blieb auf einem sehr niedrigen Niveau. Größtenteils war hier die Penicillinasenproduktion bedeutend (zwischen 50—500 Einheiten) und erreichte in einigen Fällen relativ hohe Werte. Die Penicillinasenproduktion wird durch äußere Bedingungen beeinflusst (pH-Wert des Mediums, Zeitdauer und Temperatur der Inkubation, Induktor).

Penicillinase; Penicillinaseproduktion; Prokain-Penicillintest; *Bacillus anthracis*; *Bacillus cereus*; Penicillinasenaktivität; äußere Bedingungen.

Adresa autora:

MVDr. Kamil Prokúpek, CSc., Ústřední státní veterinární ústav — Stanice laboratorní diagnostiky, Gottwaldov

CHEMOPROFYLAKTICKÁ ÚČINNOST HEXACHLOROFENU PŘI MOTOLIČNOSTI OVCÍ

J. Willomitzer, J. Kursá, E. Chroustová

Výzkumný ústav veterinárního lékařství v Brně, Ústřední státní veterinární ústav —
stanice klinické diagnostiky a terapie v Českých Budějovicích

WILLOMITZER J., KURSA J., CHROUSTOVÁ E. (Výzkumný ústav vet. lékařství Brno, Stanice klinické diagnostiky, České Budějovice.) *Chemoprophylaktická účinnost hexachlorofenu při motoličnosti ovcí*. Vet. Med. (Praha) 13 (3) 159—170, Praha 1968.

Byla prokázána vysoká chemoprophylaktická účinnost hexachlorofenu (96,5 %) v dávce 30 mg na kg ž. v. per os u ovcí při opakovaných pokusných invazích *Fasciola hepatica* použitím 4 aplikací léčiva v jednoměsíčních intervalech. Zvířata snášela léčbu dobře. Při tomto způsobu léčby nedochází k poškození jater vlivem léčiva jak ukázaly jaterní testy BSR, a stanovení enzymatické aktivity GOT a GPT. Rovněž byla potvrzena vysoká účinnost hexachlorofenu (88,6 a 92,6 %) na 3 a 4týdenní stadia *Fasciola hepatica* v uvedené dávce u pokusně invadovaných morčat. V běhu jsou ověřovací zkoušky chemoprophylaktické účinnosti hexachlorofenu u ovcí v terénu.

Fasciola hepatica; test BSR; GOT; GPT; vývojová stadia motolic; poškození jater; bahnatka *Limnaea tomentosa*; metoda umělé invaze plžů a hostitelů.

V této práci jsme na základě pokusných invazí měli možnost zhodnotit účinnost hexachlorofenu*) na vývojová stadia *Fasciola hepatica*. Výzkum jsme prováděli nejdříve v laboratorních zvířatech a v další etapě u ovcí. I když byla získána o léčbě fasciolózy celá řada poznatků zvláště v poslední době, spočívá hlavní problematika léčby v tom, že až dosud není známo léčivo, které by bezpečně zničilo mladá vývojová stadia motolic v hostitelském organismu a kterého by bylo možno použít k chemoprophylaktické dehelmintizaci. Z uvedeného důvodu jsme se zaměřili na studium účinnosti shora uvedeného preparátu a jeho eventuální použitelnosti k chemoprophylaktické dehelmintizaci.

Hexachlorofen je chemicky bis(2hydroxy 3,5,6-trichlorofenyl)methan, v literatuře se označuje jako preparát G 11. Poprvé jej při fasciolóze použil Hirschler (1957) u ovcí a Dorsman (1959) u skotu. V poslední době se dále ověřuje a doporučuje proti fasciolóze. Dávka 40 mg na kg ž. v. subkutánně je pro skot toxická, dávkou 5 mg na kg ž. v. se podařilo přechodně snížit počet vajíček motolic v trusu ošetřených zvířat, dávkou 10 mg na kg ž. v. Dorsman (1959) dosáhl trvalého snížení počtu vajíček. Dávka 15 mg na kg ž. v. u skotu zabíjí všechny dospělé motolice, mladá stadia nejsou léčbou postižena. Perorální aplikace v oleji nebo ve vodní suspensi je stejně účinná jako subkutánní aplikace. Tuto dávku doporučují Dorsman (1959, 1960), Santen (1960), Osinga (1960), Delak, Srblijič (1963). Vyšší dávky nad 15 mg na kg ž. v. doporučují Dellbrügge, Huck (1960, cit. Queiser et al. 1960), Bosman et al. (1961), Żarnowski et al. (1964), Rolínski (1965), i když někteří z těchto autorů popisují vedlejší příznaky po léčbě např. nechutenství, zrychlené dýchání apod. (Dorsman 1960). Lienert (1963) dávku

*) Výrobce: Spolana, n. p. Neratovice.

20 mg na kg ž. v. doporučuje. Teuscher (1962), Ullrich (1961, 1962) udávají, že dávka nad 40 mg na kg ž. v. je pro skot vysloveně toxická.

Pro ovce se preparát doporučuje *per os*, vzácněji s. c. v alkoholickém roztoku v dávkách 10–20 mg na kg ž. v. (Federman 1959; Kendall, Parfitt 1962; Teuscher 1962; Delak et al. 1963; Koopman et al. 1964; Pouplard et al. 1965; Kobulej 1966; Dyk et al. 1966; Pugh, Crowley 1966). Nižší dávky pod 10 mg jsou nespolehlivé a zpomalují pouze růst motolic (Boray, Happich 1966). Dávku nad 20 mg na kg ž. v., popř. kolem 30 mg doporučují např. Bosman et al. (1961), Delak et al. (1965), Demidov et al. (1965). Dávka 30–45 mg na kg ž. v. je toxická zvláště pro březí zvířata (Pugh, Crowley 1966), dávka 50–100 mg na kg ž. v. vysloveně toxická až smrtelná (Pugh, Crowley 1966; Demidov et al. 1965). Použitím vyšší dávky než běžné terapeutické tj. 20–30 mg na kg ž. v. byla dosažena určitá účinnost na 3–5týdenní vývojová stadia fasciol (Żarnowski et al. 1964; Kobulej 1966; Furmaga 1966), přestože se snad již jedná o dávku na hranici toxicity (Hiepe, Ribbeck 1966).

Hexachlorofen je v běžných terapeutických dávkách účinným prostředkem, jak potvrzuje řada autorů (Hirschler 1957; Dorsman 1959, 1963; Enigk 1960; Dellbrügge, Hück 1960, cit. Queiser et al. 1960; Kendall, Parfitt 1962; Ueno et al. 1964; Delak et al. 1965; Demidov et al. 1965 aj.). Dorsman (1963) podotýká, že stane-li se rozpustným pomocí Tweenu 80 zdá se, že je velmi účinný proti nezralým formám *F. hepatica*.

Účinnost byla ověřena také na pokusně invadovaných kryších a králících a bylo dosaženo až 100 % výsledků dávkou 40–50 mg na kg ž. v. (Kendall, Parfitt 1962; Lienert 1962, 1963, 1964; Lienert, Jahn 1962, 1963; Lienert et al. 1962; Roliński, Chmielecki 1964).

V ČSSR zkoušeli Konrád et al. (1966) spec. Bilevon v dávce 15 mg na kg ž. v. v nálevu u ovcí a skotu a zjistili vysokou účinnost při fasciolóze. Po léčbě se vyskytly gastrointestinální poruchy. Zvláště přesnou původní metodou zhodnotil účinnost Bilevonu Vodrážka (1966).

Pouplard et al. (1965) zkoušeli hexachlorofen v kombinaci s Bitinem S (Bitin S = 2,2' sulfynyl-bis /4,6-dichlorophenyl/) v dávkách 10 mg hexachlorofenu + 25 mg Bitinu S *per os* v kapslích nebo 5 mg hexachlorofenu + 10 mg Bitinu S u ovcí. Pro skot doporučují dávky 5–10 mg hexachlorofenu + 25–30 mg Bitinu S *per os*, celková dávka hexachlorofenu nemá překročit 2,5 g na kus. Preparát se může aplikovat buď individuálně v mléce nebo hormadně v krmivu. Při tomto způsobu léčby je snížena toxicita hexachlorofenu a zvýšena jeho účinnost.

MATERIÁL A METODIKA

Pokusné invaze plžů jsme prováděli podobně jako Boray (1963) pomocí umělého chovu australského kmene bahnatky *Limnaea tomentosa**) chované v kameninových miskách naplněných sterilizovaným bahnem s neustále proudící odstátou destilovanou vodou.

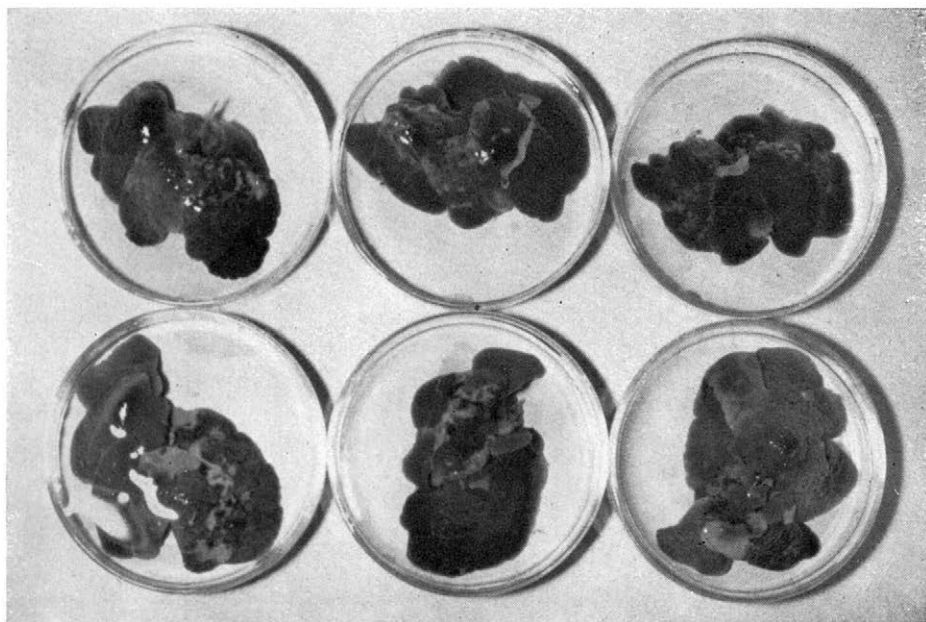
1. POSTUP PŘI EMBRYOGONII

Vajíčka motolic získaná sedimentací a promýváním obsahů zlučových měchýřů přirozeně invadovaných zvířat (skotu a ovcí) se po důkladném promytí vodou inkubují v deionisované vodě v termostatu při 26 °C. Při této teplotě probíhá embryologie zpravidla 12 dní. Důležitým předpokladem je, aby byla vajíčka po dobu inkubace v naprosté tmě, čehož se dosáhne natřením Petriho misek černou barvou. Během inkubace je nutno za účelem zvýšení obsahu kyslí-

*)Uvedený kmen jsme získali z parazitologického ústavu Vysoké školy zeměvědné lékařské v Hannoveru.



Fot. 1. Patologicko-anatomické změny jater u morčat za 3 týdny po invazi (léčené)



Fot. 2. Patologicko-anatomické změny jater u morčat za 3 týdny po invazi
(kontrola)



Fot. 3. Chemoprophylaktická účinnost hexachlorofenu při opakovaných invazích ovčí léčených (vlevo) a kontrolních (vpravo)

ku ve vodě obsah misky promíchávat krouživými pohyby. Po ukončené inkubaci se použije vyzrálých vajíček ihned k invazím plžů a uvolňování miracidíí se provokuje ozářením jakýmkoliv světelným zdrojem.

2. STANOVENÍ POČTU MIRACIDIÍ K INVAZÍM PLŽŮ

Při počítání miracidíí v kulturách jsme použili následující metody: z kultury se odebere určité množství např. 5 ml. Toto množství se vleje do kádinky o obsahu 25 ml, zředí se 2–3násobným množstvím deionizované vody. Z tohoto množství se odebere pipetou po důkladném promíchání vzorek a obsahu 0,5 ml a přenese se na podložní skříčka.

Vlastní počítání se provádí pod mikroskopem při zvětšení asi 60krát a počítají se všechna vajíčka embryonovaná s pohybujícími se miracidii a vajíčka prázdná, z nichž se v průběhu manipulace s kulturou miracidia uvolnila (pohybující se miracidia nelze počítat). Ostatní vajíčka se nepočítají. Výsledný počet miracidíí se přepočte na obsah původní kultury.

3. PARTHENOGENIE

Plži, které chceme invadovat se rozdělí po 10 kusech do Petriho misek, přidá se k nim kultura se stanoveným počtem miracidíí, zaleje deionizovanou vodou až po horní okraj Petriho misky, víka se přiklopí tak, aby se vytvořila vzduchová bublina a Petriho miska se rychle obrátí dnem vzhůru. Ponechá se na osvětleném místě po dobu 4–8 hodin. Vhodné je zahřát deionizovanou vodu na teplotu asi 25 °C. Vzduchová bublina chrání plže před udušením a přitom z uzavřené misky nemohou plži uniknout z dosahu penetrujících miracidíí.

Po invazi se voda z Petriho misek sleje, plži se přenesou do připravených kameninových misek s bahnem, kde jsou dále běžně ošetřováni. V laboratorních podmínkách probíhá parthenogenie 43–55 dní.

4. CYSTOGENIE

Po uplynutí doby nutné k vývoji cercárií dochází k jejich uvolňování, které může být vyprovokováno různými náhlými fyzikálními změnami jako promýváním nebo změnou teploty, čehož je nutno se během posledních dní parthenogenie u invadovaných plžů vstříhat, aby nedocházelo k samovolnému ovolňování cercárií.

V naší laboratoři provádíme umělé uvolňování cercárií mechanickým způsobem, tj. pomocí pinsety a preparační jehly v deionizované vodě na Petriho misce. Uvolněné cercárie se přichytávají na stěnu Petriho misky, ponechávají se při pokojové teplotě ve vlhku po dobu 4–5 dní, pak se pomocí štětečku shromažďují z jednotlivých Petriho misek na mřížkovanou Petriho misku, ve které se spočítají a uloží v uzavřených skelných nádobách na zvlhčeném filtračním papíře v chladničce při teplotě 5–10 °C.

5. INVAZE HOSTITELŮ

K invazím jsme použili celkem 84 morčat a 10 jednorokých ovcí. Invaze jsme prováděli pomocí injekční stříkačky opatřené ohnutou jehlou se zakulaceným hrotem do dutiny ústní. Každému zvířeti jsme individuálně podali odpočítané množství cyst. Morčata jsme invadovali buď jednorázově 25 cystami na 1 zvíře nebo jsme cysty podali dvakrát v intervalu 6 týdnů vždy po 25

cystách. Při jednorázovém podání jsme prováděli léčbu hexachlorofenem jednak za 3 týdny a jednak za 4 týdny po invazi, při opakované invazi jsme léčbu prováděli za 4 týdny po 1. invazi a za 2 týdny po reinvazi. Pitvu jsme prováděli vždy za 2 týdny po poslední léčbě.

Abychom zjistili použitelnost léčiva k chemoprofylaktické dehelmintizaci u ovcí, použili jsme opakované invaze, které sloužily, jako modelové pokusy. Před zahájením pokusu byla zvířata třikrát během týdne vyšetřena koproovoskopicky metodou podle Brezy (1963) s negativním výsledkem. Kromě opakovaných invazí byla vyloučena možnost přirozené invaze. Zvířatům byly podávány v pravidelných intervalech cysty *Fasciola hepatica* (vždy po 50 cystách na 1 zvíře), a to dvakrát v týdenním intervalu a za 3 týdny se invaze opakovala, tj. o 0., 1., 4., 5., 8., 9., 12., 13. týdnů pokusu. Mezi jednotlivými invazemi byla zvířata léčena, a to vždy za 14 dní po druhé invazi (v 3., 7., 11., 15. týdnů pokusu). Po poslední léčbě za 14 dní na konci opakovaných invazí byla zvířata opět léčena (v 17. týdnů). Za týden po poslední léčbě (v 18. týdnů) byla zvířata poražena a játra vyšetřena.

6. HODNOCENÍ ÚČINNOSTI LÉČIV

a) na základě patologicko-anatomických změn. Polovina invadovaných zvířat byla léčena, druhá polovina sloužila jako kontroly. Patologicko-anatomické změny (PA) byly zřetelné u pokusných morčat za 35–62 dní po invazi jako *hepatitis traumatica* (distomatóza), u ovcí za 128 dní jako *cholangitis, pericholangitis, hepatitis et perihepatitis indurativa chronica*.

PA změny jsme hodnotili:

- = bez PA změn
- + = ojedinělé změny v jaterní tkáni
- ++ = změny zřetelné
- +++ = rozsáhlé změny v játrech
- ++++ = rozsáhlé změny až cirhosa jater

b) na základě nálezu vývojových stadií motolic. Vyšetření jater jsme prováděli následujícím způsobem: Jaterní tkáň jsme pomocí pinzet tupě roztrhali na malé kousky a vložili u morčat na Petriho misky, u ovcí na větší podnosy a zalili vlažnou vodou nebo fyziologickým roztokem. Játra jsme ponechali macerovat asi po dobu 1 hodiny. Játra u morčat jsme prohlíželi jednak kompresí mezi dvěma skly proti světelnému zdroji a sediment jsme postupně promývali a počítali vývojová stadia motolic. U ovcí jsme použili jen metody postupného promývání jaterní tkáně a v sedimentu jsme rovněž počítali všechna vývojová stadia motolic.

7. KLINICKÁ VYŠETŘENÍ A LABORATORNÍ ZKOUŠKY

V průběhu celého pokusu byly ovce pravidelně klinicky vyšetřovány a sledován celkový zdravotní stav, zatížení jater pomocí bromsulfaleinového testu (BSR) a stanovení enzymatické aktivity GOT a GPT.

Bromsulfaleinový test byl prováděn v odstupu 24 hodin po podání hexachlorofenu. Posuzování bylo prováděno v 45 minutových intervalech. Byl použit Bronthalein-Merck AG-Darmstadt, dávkování, aplikace a vyhodnocení podle návodu výrobce.

Stanovení enzymatické aktivity kyseliny glutamové oxaloctové — GOT a kyseliny glutamové pyrohroznové — GPT bylo prováděno metodou popsanou

I. Hexachlorofen v dávce 30 mg na kg ž. v. *per os* u morčat pokusně invadovaných 25 cystami *Fasciola hepatica*

Počet zvířat		Počet invazí	Applikace léčiva po invazi za dní	Ø váhové přírůstky resp. úbytky v g		PA změny u počtu zvířat		Počet červů		Účinnost v %	Poznámka
léč.	kontr.			léč.	kontr.	léč.	kontr.	léč.	kontr.		
18	18	1	21	+ 10	+ 110	3— 12+ 3++	1+ 6++ 11+++	4	35	88,6	1 motolice nalezena v plicích
17	17	1	28	+ 120	+ 43	15+ 2++	1++ 16+++	2	27	92,6	v plicích nezjištěny motolice
7	7	2	I. 28 II. 56	— 75	+ 10	3++ 4+++	7+++	0	61	100,0	mezi I. a II. léčbou provedena reinvaze
Hexachlorofen v dávce 30 mg na kg ž. v. <i>per os</i> u ovci při opakovaných invazích (8 × 50 cyst na 1 zvíře)											
5	5	8	5 × v intervalu 4 týd.	+5500	+2100	1+ 3++ 1+++	5++++	48	1359	96,5	

II. Rozlišení vývojových stadií *F. hepatica* při chemoprophylaxi hexachlorofenem v dávce 30 mg na kg ž. v. per os 5krát v odstupu 4 týdnů u ovcí při průběžných invazích

Číslo ovce	PA změny	Nález motolic ve žlučníku	Nález červů v jednotlivých skupinách								Počet červů celkem
			I. 128 dní	II. 121 dní	III. 100 dní	IV. 93 dní	V. 72 dní	VI. 65 dní	VII. 44 dní	VIII. 37 dní	
1 (634)	++	—	—	—	—	—	—	1	2	3	6
2 (635)	+	—	—	1	—	1	—	1	2	3	8
3 (627)	++	—	—	—	—	—	—	—	8	9	17
4 (667)	++	—	—	—	—	1	1	—	1	2	5
5	+++	—	—	1	1	—	2	3	1	4	12
Léčené — součet			—	2	1	2	3	5	14	21	48
6	++++	+	27	17	22	35	52	73	47	13	286
7	++++	+	52	39	18	66	49	53	21	7	305
8	++++	+	69	66	26	71	38	41	30	5	346
9	++++	+	49	34	30	57	37	32	30	4	273
10	++++	+	22	31	14	6	7	21	24	24	149
Kontrolní — součet			219	187	110	235	183	220	152	53	1359

Reitmanem a Frankelem (1957, cit. Konrád 1960). K vyhodnocování bylo použito Pulfrichova fotometru. Výsledky aktivity enzymů jsou uváděny v jednotkách Karmen-Wroblewski jak běžně cituje domácí i zahraniční literatura.

VÝSLEDKY POKUSŮ

V první etapě výzkumu jsme ověřili účinnost hexachlorofenu u morčat na vývojová stadia *Fasciola hepatica* ve stáří 3 a 4 týdny a dále jsme ověřovali jeho chemoprophylaktickou účinnost při dvojí invazi a dvojí léčbě. Hexachlorofen jsme aplikovali v dávce 30 mg na kg ž. v. *per os* jednorázově resp. jsme tuto dávku opakovali.

Použili jsme celkem 84 kusů morčat (42 léčených a 42 kontrol). Do pokusu na 3 a 4 týdenní vývojová stadia bylo zařazeno 70 morčat (35 léčených a 35 kontrolních). Chemoprophylaktickou účinnost léčiva jsme zkoušeli na 14 morčatech, (7 léčených a 7 kontrolních) která byla dvakrát invadována a dvakrát léčena. Zvířata byla zabíjena nejdříve za 14 dní po poslední léčbě. Jak vyplývá z tab. I. byl ve všech případech nalezen u kontrol daleko vyšší počet vývojových stadií motolic než u léčených, chemoterapeutická účinnost byla vysoká tj. 88,6 resp. 92,6 %. Rovněž i patologicko-anatomické změny neléčených zvířat byly daleko výraznější než u léčených (viz fot. čís. 1 a 2; za účelem zkrácení rozsahu práce jsou použity fotografie jater pouze některých léčených a kontrolních zvířat). Chemoprophylaktická účinnost hexachlorofenu může být velmi dobrá, tj. až 100 %, provede-li se mezi invazemi opakovaně léčba v odstupu asi 1 měsíce.

Z těchto laboratorních orientačních pokusů jsme vycházeli a provedli jsme pokus na 10 ovcích (5 léčených a 5 kontrolních) při opakovaných invazích. Invaze byla provedena celkem osmkrát (vždy po 50 cystách na 1 zvíře). léčba pětkrát, z toho čtyřikrát ve 28 denních intervalech a 5. léčba za 14 dní po poslední 4. léčbě, aby byla zasažena vývojová stadia z posledních reinvazí. Zvířata byla poražena za 7 dní po poslední léčbě. Z tab. I. je zřejmá vysoká účinnost léčiva: 96,5 %. U léčené skupiny byly zachyceny léčivem všechny dospělé motolice ve stáří 128 dní, většina vývojových stadií starších 65 dní a částečně vývojová stadia ve stáří 44 a 37 dní (viz tab. II.). Stáří motolic jsme posuzovali podle velikosti a to tím způsobem, že jsme nalezené motolice rozdělili podle velikosti (v mm) na 8 skupin, které odpovídaly jednotlivým opakovaným invazím (celkem 8 invazí).

1. invaze (128 dní) 17—20 : 10—11 mm (délka : šířka)
2. invaze (121 dní) 13—16 : 7—9 mm
3. invaze (100 dní) 12—15 : 5—6 mm

III. Bromsulftaleinový test (BSR) u ovce při léčbě hexachlorofenem

Číslo ovce	Retence BSR po 45 min. v %	Výsledek
1	6	negat.
2	4	negat.
3	0	negat.
4	0	negat.
5	0	negat.
6	0	negat.
7	4	negat.
8	0	negat.
9	0	negat.
10	0	negat.

IV. Aktivita sérové transaminázy kyseliny glutamové oxaloctové (GOT) a glutamové pyrohroznové (GPT) v průběhu léčby fasciolózy hexachlorofenem u ovcí

Číslo ovce	hodnoty GOT				hodnoty GPT			
	před aplik.	24 hod. po aplikaci	48 hod. po aplikaci	72 hod. po aplikaci	před aplik.	24 hod. po aplikaci	48 hod. po aplikaci	72 hod. po aplikaci
1	110	100	90	110	12	9	8	12
2	112	110	110	98	18	6	12	8
3	114	112	82	96	6	10	6	10
4	80	82	110	146	8	4	6	12
5	94	100	98	90	8	5	8	6
Léčené — průměr	102	101	98	110	10	8	8	10
6	118	110	138	112	10	8	10	10
7	148	150	183	183	12	10	12	8
8	228	183	110	226	12	8	8	14
9	170	150	150	140	14	10	8	14
10	160	124	183	183	8	8	8	10
Kontrolní — průměr	164	143	153	169	11	9	9	11

4. invaze (93 dní) 11–12 : 4–5 mm
5. invaze (72 dní) 10–11 : 3–4 mm
6. invaze (65 dní) 7–8 : 3–4 mm
7. invaze (44 dní) 6–7 : 2–3 mm
8. invaze (37 dní) 3–4 : 1–2 mm

Jsmě si vědomi, že velikost vývojových stadií motolic není v přímém resp. pravidelnému vztahu ke stáří cizopasnika, avšak domníváme se, že je např. značný rozdíl mezi skupinou 1. (stáří 128 dní) a skupinou 8. (stáří 37 dní).

Účinnost na vývojová stadia ve stáří 37 dní na základě hodnocení léčené a kontrolní skupiny ovcí je 60,4 %, účinnost na dospělé motolice ve stáří 128 dní prakticky 100 %. Intenzita zamoření léčené a kontrolní skupiny je zřejmá z fot. 3. Aplikace sledovaného léčiva v dávce 30 mg na kg ž. v. nebyla prováděna zjevnými poruchami zdravotního stavu. Pokusná zvířata spontánně přijímala potravu v obvyklém množství bez klinických odchylek fyziologických norem projevů základních funkcí.

Výsledky laboratorních analýz jsou uvedeny v tabulkách III a IV. Hodnoty bromsulftaleinové zkoušky u ovcí léčených (1–5) jsou nepatrně vyšší ve srovnání s ovcemi neléčenými (6–10), ale jsou v hranicích fyziologické tolerance použité metody při posuzování retence bromsulftaleinu za 45 minut.

Aktivita sérové transaminázy kyseliny glutamové oxalacetové byla signifikantně vyšší u ovcí neléčených, zatímco aktivita transaminázy kyseliny glutamové pyruvátové se v tomto směru odlišuje méně výrazně. Zvýšená aktivita GOT je zřejmě v přímé závislosti na stupni patologicko-anatomických změn skupiny ovcí neléčených, u kterých byl v důsledku opakovaných invazí vyjádřen klasický průběh distomatózních afekcí – *cholangitis*, *pericholangitis*, *hepatitis et perihepatitis indurativa chronica*.

DISKUSE

V našich pokusech jsme potvrdili chemoprophylaktickou účinnost hexachlorofenu v dávce 30 mg na kg ž. v. *per os* u zvířat při opakovaných pokusných invazích. Jsme si vědomi, že k uvedené profylaxi je záhodno použít vyšších dávek, než jsou běžné dávky terapeutické tj. 20–30 mg na kg ž. v. Účinnost těchto dávek na 3–5týdenní stadia fasciol prokázal Żarnowski (1964), Kobulej (1966) a Furmaga (1966). Použitím dávky 30 mg na kg ž. v. se nám podařilo ovlivnit částečně 3–4týdenní vývojová stadia u morčat, u ovcí 5týdenní, čímž můžeme potvrdit údaje výše citovaných autorů. Domníváme se, že hexachlorofen použitý v uvedené dávce při aplikaci *per os* v průběhu pastevního odchovu v jednoměsíčních intervalech by byl účinným chemoprophylaktikem u ovcí.

Pokusné ovce snášely dávku 30 mg bez klinických příznaků onemocnění na rozdíl od údajů některých autorů (Hiepe, Ribbeck 1966, Konrád et al. 1966, Pugh, Crowley 1966), že dávka nad 20 mg na kg ž. v. je již na hranici toxicity.

U morčat jsme zaznamenali variabilní váhové přírůstky resp. úbytky u léčených ve srovnání s kontrolami. Domníváme se, že tato okolnost byla způsobena roční dobou (leden – květen) resp. celkovým zdravotním stavem použitých pokusných zvířat. Nedá se uzavřít, zda je hexachlorofen v uvedené dávce toxický pro morčata. U ovcí naproti tomu byly váhové přírůstky u léčených vyšší (v průměru o 3400 g) než u kontrol.

Chemoprophylaktickou dehelmintizací se zabrání podstatně vylučování vajíček motolic do biotopů a tím se sníží možnost reinvaze.

Výsledky, které jsme dosáhli s hexachlorofenem, považujeme za před-

běžné, neboť tohoto času ověřujeme jeho chemoprophylaktickou účinnost na větších počtech ovcí za přirozených podmínek invaze v terénu a souběžně ověřujeme účinnost tetrachlormethanu.

Došlo dne 7. 7. 1967

Literatura

1. BORAY J. C.: Standardization of techniques for pathological and anthelmintic studies with *Fasciola* spp. = „*The evaluation of anthelmintics*“. Hannover 1963, 34-45
2. BORAY J. C., HAPPICH F. A.: Anthelmintic efficiency of low daily doses of Hexachlorophene against *Fasciola hepatica* in sheep. = „*Vet. Rec.*“ 79, 1966, 12, 324-326
3. BOSMAN C. J., THOROLD P. W., PURCHASE H. S.: Investigation into and the development of hexachlorophene as an anthelmintic. = „*J. S. Afric. Vet. Med. ass.*“ 32, 1961, 2, 227-233
4. BREZA M.: Gelmintooovoskopická diagnostika fasciolezy i dikroceliozy žvačkových při pomoci nového flotacionno-sedimentacionního metodu. = „*Fol. vet.*“ 7, 1963, 115-127
5. DELAK M., MIJATOVIĆ I., MIKAČIĆ D.: Prilog suzbijanju fascioleze ovaca hexachlorofenom. = „*Vet. Arh.*“ 33, 1963, 3-4, 68-74
6. DELAK M., MIJATOVIĆ I., MIKAČIĆ D.: Simultana primjena thiabendazola i hexachlorofena u suzbijanju dikrocelioze i fascioleze u ovaca. = „*Vet. Arh.*“ 35, 1965, 7-8, 197-203
7. DELAK M., SRBLJIĆ S.: Usporedno istraživanje upliva heksaklorofena u terapijskim dozama na kvantitet mlieka u krava. = „*Vet. Arh.*“ 33, 1963, 11-12, 312-320
8. DEMIDOV N. V., BABJANSKAS M. A., VIŠŇJAVSKAS A. J.: Ispytanije geksa-chlorofena pri fascioleze ovec. = „*Veterinarija*“ 42, 1965, 10, 45-47
9. DORSMAN W.: Hexachlorophen (G-11) against liver flukes (*Fasciola hepatica*) in cattle. = „*Tijdschr. Diergeneesk.*“ 84, 1959, 100-108
10. DORSMAN W.: A new treatment of cattle against liver flukes (*Fasciola hepatica*). = „*Proc. XVIth Int. vet. Congr. Madrid*“ 2, 1959, 609-610
11. DORSMAN W.: De Toepassing van hexachloropeen bij distomatose. = „*Tijdschr. Diergeneesk.*“ 85, 1960, 11, 682
12. DORSMAN W.: Bijdrage tot de bestrijding van Distomatose. = „*Tijdschr. Diergeneesk.*“ 88, 1963, 12, 763-769
13. DYK V., CHROUST K., ZAVADIL R.: Veterinární helmintologie. Praha 1966
14. ENIGK K.: Zur Bekämpfung der Fasciolose der Haustiere. = „*Wien. tierärztl. Mschr.*“ 47, 1960, 6, 405
15. FEDERMANN N.: Die Behandlung des Leberegelbefalles bei Schafen und Rindern mit Bilevon. = „*Dtsch. tierärztl. Wschr.*“ 6, 1959, 526-529
16. FURMAGA S.: Ústní sdělení, 1966
17. HIEPE T., RIBBECK R.: Einsatz von Medikamenten gegen bedeutsame Parasiten bei Haustieren. 2. Mitt. Fasciolose und Dictyocaulose. = „*Mh. vet. Med.*“ 21, 1966, 5, 172-180
18. HIRSCHLER K.: Prüfung von Wurmmitteln und pharmakodynamisch wirkenden Substanzen auf Leberegelwirksamkeit bei kleinen Wiederkäuern. = „*Wien. tierärztl. Mschr.*“ 44, 1957, 692
19. KENDALL S. B., PARFITT J. W.: The chemotherapy of fascioliasis. = „*Brit. vet. J.*“ 118, 1962, 1-10
20. KOBULEJ T.: Ústní sdělení, 1966
21. KONRÁD J.: Aktivita sérové transaminázy kyseliny glutamové oxalacetové, glutamové pyrohroznové a aldolázy při některých hepatopatiích u koní. = „*Vet. med.*“ 5, (XXXIII), 1960, 9, 669-673
22. KONRÁD J., KURSA J., VRBA Č.: Porovnávání terap. účinnosti pěti druhů antifasciolózních preparátů u skotu a ovcí, stížených motoliciatostí. Veterinária Spofa 9, 1967, 1, 35-40
23. KOOPMEN J. J., KRUYT W., VAN LEUWEN C. J. et al.: Proefnemingen met Ph 1503, een nieuw middel voor de bestrijding van distomatose. = „*Tijd. Diergeneesk.*“ 89, 1964, 6, 364-375

24. LAX T., MADĚROVÁ V., ŠINDELÁŘOVÁ K., NEUMANN V.: Studium hepatotoxického účinku terapeutických dávek chloridu uhličitého a hexachlorethanové suspense používaných při fasciolóze skotu. = „Sborník VŠZ Brno“ B, 9 (XXX), 1961, 3-4, 327-339
25. LIENERT E.: Prüfung von Bromchlorophen im „Leberegeltest“. = „Wien. tierärztl. Mschr.“ 49, 1962, 10, 829-832
26. LIENERT E.: Diaphene^R ist im „Leberegeltest“ Fasciola hepatica wirksam. = „Arch. exp. Vet. Med.“ 17, 1963, 1, 101-104
27. LIENERT E.: A positive result can be transferred from the „liver fluke — implantation test“ to cattle infested with Fasciola hepatica L. = „Wien. tierärztl. Wschr.“ 50, 1963, 2, 217-221
28. LIENERT E.: Die durch Hexachlorophen (G-11) erzielte tödliche Wirkung auf den großen Leberegel Fasciola hepatica L. wird durch das Blut des Wirtes vermittelt. = „Med. vet.“ 20, 1964, 3, 186
29. LIENERT E., JAHN F.: Prüfung von Halothan (Fluorhane) im „Leberegeltest“. = „Wien. tierärztl. Mschr.“ 49, 1962, 12, 928-932
30. LIENERT E., JAHN F.: Relative activity of fasciolicidal agents in the „liver fluke — implantation test“. = „Wien. tierärztl. Wschr.“ 50, 1963, 2, 213-217
31. LIENERT E., JAHN F., THORSELL W.: Fortschritte auf dem Gebiet der Chemotherapie des Leberegelbefalles. = „Internat. Tagung Rinderkrankh.“ Wien 1962, 77-78
32. NEUMAN V., MADĚROVÁ V., HUSÁK S.: Dynamika změn aktivity sérové GOT a GPT u koní po aplikaci CCl₄ s přihlédnutím k celkovému bilirubinu a cholesterolu a ve vztahu ke klinickému průběhu onemocnění a k morfologickým změnám jaterní tkáně. = „Sborník ČSAZV, Veterinární medicína“ 6, (XXXIV), 1961, 9, 691-704
33. OSINGA A.: Application of hexachlorophene (G-11) in distomatosis in cattle and sheep. = „Tijds. Diergeneesk.“ 85, 1960, 9, 529-533
34. POUPLARD L., PECHEUR M., GREGOIRE C.: La distomatose bovine en Belgique. = „Ann. Méd. vét.“ 109, 1965, 4, 237-285
35. PUGH D. M., CROWLEY J.: Some observations on the toxicity of Hexachlorophane for sheep. = „Vet. Rec.“ 78, 1966, 3, 86-89
36. QUEISSER J. et al.: Bilevon zur Bekämpfung des Leberegelbefalles beim Rind. = „Vet. Med. Nachr.“ 3, 1960, 201-203
37. ROLIŃSKI Z.: Ocena skuteczności hexachlorofenu przeciw motylicy u owiec a bydła. = „Med. wet.“ 21, 1965, 11, 673-675
38. ROLIŃSKI Z., CHMIELECKI L.: Ocena skuteczności p/motoliczej hexachlorofenu „Polfa“ przy pomocy testu czczurzego Lienerta. = „Med. wet.“ 20, 1964, 2, 95-96
39. SANTEN VAN R.: G-11 a HCH. = „Tijdsch. Diergeneesk.“ 85, 1960, 5, 298-299
40. TEUSCHER E.: Probleme der Leberegelbekämpfung (Fasciolose). = „Schw. Arch. Tierheilk.“ 104, 1962, 7, 423-436
41. UENO H., WATANABE S., FUJITA J.: Anthelmintic activity of chlorinated diphenyl sulfides and related compounds on the liver fluke, Fasciola gigantica, in experimentally infected rabbits. = „Nat. Inst. Anim. Xlth. Quart.“ 4, 1964, 2, 77-85
42. ULLRICH K.: Die parenterale Behandlung der Distomatose des Rindes. = „Berl. Münch. tierärztl. Wschr.“ 74, 1961, 20, 406
43. ULLRICH K.: Die parenterale Behandlung der Distomatose des Rindes. = „Dtsch. tierärztl. Wschr.“ 68, 1961, 17, 509-510
44. ULLRICH K.: Die parenterale Behandlung der Distomatose des Rindes. = „Dtsch. tierärztl. Wschr.“ 69, 1962, 6, 167-169
45. VODRÁŽKA J.: Zavedení dvou originálních metod na exaktní zkoušení anthelmintik proti plicním a jaterním helmintům a sledování efektivity látek při některých důležitých helmintózách užitkových zvířat. = „Doktorská dis. práce“ Košice 1966
46. ŻARNOWSKI E.: Badania nad przeciwmotylicza terapia preimaginalna. = „Wiad. parazyt.“ 10, 1964, 4-5, 476-477
47. ŻARNOWSKI E., CHOWANIEC W., MALCZEWSKI A. et al.: Badania nad terapią choroby motylicznej u bydła. III. Heksachlorofen (Bilevon-Bayer) i 2,2-dichlor-4,4-dinitro-1,1 dioksy-difenyl (Bilevon M - Bayer; Bilevon 9015 - Bayer). = „Wiad. parazyt.“ 10, 1964, 4-5, 483-485

БИЛЛОМИТЦЕР Й., КУРСА Й., ХРОУСТОВА Э. (НИИ ветеринарии в Брно, Центральный государственный ветеринарный институт — станция клинической диагностики и терапии в Чешских Будейовицах, Чехословакия). Химиопрофилактическое действие гексахлорофина при фасциозе овец. Вет. мед. (Прага) 13 (3) 159-170, 1968.

Было доказано высокое химиопрофилактическое действие гексахлорофина в дозе 30 мг на кг ж. в. через рот у овец при повторных экспериментальных инвазиях *Fasciola hepatica* путем 4-кратного введения медикамента интервалами в один месяц. Животные переносили лечение хорошо. При таком способе лечения медикамент не повреждает печени, как это показали тесты печени B.R.S. и определения энзиматической активности GOT и GPT. Подтверждено также высокое действие гексахлорофина (88,6 и 92,6 %) на 3- и 4- недельные стадии *Fasciola hepatica* в указанной дозе у экспериментально зараженных морских свинок. Начались проверочные испытания химиопрофилактического действия гексахлорофина у овец на местах.

Fasciola hepatica тест BRS; GOT; GPT; стадии развития трематод; повреждения печени; *Limnaea tomentosa*; метод искусственной инвазии слизняков и хозяев

WILLOMITZER, J. - KURSA, J. - CHROUSTOVÁ, E. (Research institute of veterinary medicine in Brno, The central State veterinary institute — Station of veterinary diagnostics and therapy in České Budějovice, Czechoslovakia). A chemoprophylactic effect of Hexachlorophene on Liver-Fluke-Disease (*Fasciolosis*). Vet. Med. 13 (3) (Praha) 159—170, 1968.

A high chemoprophylactic effect of hexachlorophene (96.5 per cent) given at the rate of 30 mg per 1 kg of body weight to sheep *per os* was demonstrated in repeated experimental infections with *Fasciola hepatica*. The drug was administered four times at intervals of one month and was well tolerated by animals. After this kind of treatment no lesion of liver was noted as the liver tests BRS and the enzymatic activity GOT and GPT have shown. A high effect of hexachlorophene (88.6 and 92.6 per cent) at the mentioned rate on the 3-and 4-week-stages of *Fasciola hepatica* was also found in experimentally invaded guinea pigs. The control field trials on the chemoprophylactic effect of hexachlorophene are just being carried out.

Fasciola hepatica; test BRS; GOT; GPT; development stages of *Fasciola*; lesion of liver; *Limnaea tomentosa*; method of artificial invasion of gastropods and hosts.

WILLOMITZER J. - KURSA J. - CHROUSTOVÁ E. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin in Brno, Zentrales staatliches Veterinärinstitut — Station der klinischen Diagnostik und Therapie in České Budějovice, Tschechoslowakei). Chemoprophylaktische Wirksamkeit des Hexachlorophens bei der Leberegelkrankheiten der Schafe. Vet. Med. (Praha) 13 (3) 159—170, 1968.

Es wurde eine hohe chemoprophylaktische Wirksamkeit des Hexachlorophens (96,5 %) in einer Gabe von 30 mg auf 1 kg Lebendgewicht *per os* bei Schafen bei wiederholten Versuchsinvasionen *Fasciola hepatica* mit der Anwendung von 4 Applikationen von Heilmitteln in einmonatlichen Intervallen nachgewiesen. Die Tiere haben die Behandlung gut vertragen. Bei dieser Behandlungsart kommt es nicht zur Leberbeschädigung durch den Einfluß des Arzneimittels, wie dies die Leberteste BRS und die Feststellung der enzymatischen Aktivität GOT und GPT zeigten. Ebenfalls wurde eine hohe Wirksamkeit des Hexachlorophens bestätigt (88,6 und 92,6 %) auf 3 und 4 wöchentliche Stadien *Fasciola hepatica* in der angeführten Gabe bei den versuchsgemäß invadierten Meerschweinchen. Es sind Beglaubigungsprüfungen der chemoprophylaktischen Wirksamkeit des Hexachlorophens bei Schafen im Terrain im Laufe.

Fasciola hepatica; Test BRS; GOT; GPT; Entwicklungsstadien der Drehkrankheiten; Leberbeschädigung; *Limnaea tomentosa*; Methode der künstlichen Invasion von Schnecken und Wirten.

Adresy autorů:

Doc. MVDr. Jindřich Willomitzer, CSc., MVDr. Eva Chroustová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno-Medlánky

ředitel: prof. MVDr. A. Holub, DrSc.

MVDr. Jaroslav Kursa, Ústř. státní veterinární ústav — stanice klinické diagnostiky a terapie, České Budějovice

ředitel: MVDr. J. Janák

VLIV OPAKOVANÉHO MRAZENÍ A ROZMRAZENÍ V RŮZNÉM PROSTŘEDÍ NA PŘEŽÍVÁNÍ KMENE HERTFORDSHIRE VIRU NEWCASTLESKÉ NEMOCI

K. Černík, E. Černíková

Bioveta, Nitra

ČERNÍK, K. - ČERNÍKOVÁ, E. (Biovet, Nitra). *Vliv opakovaného mrazení a rozmrazení v různém prostředí na přežívání kmene Hertfordshire viru Newcastleeské nemoci*. Vet. Med. (Praha) 13 (3) 171-179, 1968.

Odolnost kmene Hertfordshire vůči opakovanému mrazení byla zjišťována v infekčních alantoamniotických tekutinách neředěných, ředěných 10^{-1} a 10^{-2} pufovaným fyziologickým roztokem a 10^{-1} lyofilním médiem, obsahujícím 95 % koňského séra a 5 % glukózy, hemaglutinačním testem a titrací na zkumavkových tkáňových kulturách. Virus snášel lépe mrazení při -40°C než při -15°C a v obou případech byla infekčnost viru chráněna lyofilním médiem. Nejméně odolný byl virus v alantoamniotických tekutinách neředěných a ředěných 10^{-2} fyziologickým roztokem. Infekčnost klesala hlavně během prvních čtyř cyklů mrazení a rozmrazení. Teplota $+37^{\circ}\text{C}$ během 4 dní ovlivnila významně jen virus ředěný 10^{-2} , ale nebylo podstatných rozdílů v účinku teploty $+37^{\circ}\text{C}$ před pětíměsíčním skladováním při $+4^{\circ}\text{C}$ a po něm. Infekční alantoamniotické tekutiny opakovaně zmrazované při -40°C byly rychleji inaktivovány teplotou $+37^{\circ}\text{C}$ než vzorky mrazené při -15°C .

lyofilizace — ochranné medium; zkumavkové tkáňové kultury; kuřecí embryonální buňky; cytopatogenní účinek; skladování při $+4^{\circ}\text{C}$; inaktivace viru při $+37^{\circ}\text{C}$.

Kryobiologie jako věda, zkoumající biologické účinky nízkých teplot, má své počátky už v 17. a 18. století (Boyle, Hunter, Spallanzani). Významný rozvoj však zahájila práce Luyeta a Gehenia v r. 1940. Bylo zjištěno, že příčinou poškození buněk při mrazení je tvorba krystalů ledu, již je možno předejít rychlým zmrazením při velmi nízkých teplotách. V r. 1949 zjistili Polge, Smith a Parkes, že přidavek glycerinu k mediu chrání velmi dobře spermata před účinkem mrazení. Při řešení problémů uchovávání biologických materiálů ve zmrazeném nebo lyofilizovaném stavu byla zaměřena pozornost jednak na zmrazovací teploty a jednak na vhodná ochranná media a změny, které v nich probíhají během procesu mrazení.

Při mrazení vodních roztoků odděluje se nejprve čistý led a zbývající tekutá složka se koncentruje až do dosažení eutektické teploty, při níž krystaluje zahuštěný roztok. U NaCl je eutektická teplota $-21,1^{\circ}\text{C}$ a eutektická směs obsahuje 31 % NaCl (5,2 M). V prostředí buněk jsou rozpuštěny látky s různým eutektickým bodem, při mrazení se jednotlivé systémy oddělují a mění se poměrná koncentrace rozpuštěných látek stejně jako celková koncentrace roztoku. Tyto změny mají význam pro buněčné systémy, vyžadující specifickou rovnováhu iontů, pH se snižuje nebo zvyšuje. Dosud je jen málo známo o změnách pH při mrazení biologických systémů, ačkoliv je jasné, že k těmto změnám dochází a že jsou významné (Pegg 1966).

Vlivu mrazení na bakterie a viry bylo věnováno mnoho výzkumných a pokusných prací v souvislosti se skladováním infekčního materiálu ve stavu zmrazeném nebo lyofilizovaném. Poměrně málo však bylo dosud zjištěno o opakovaném mrazení.

MATERIÁL A METODIKA

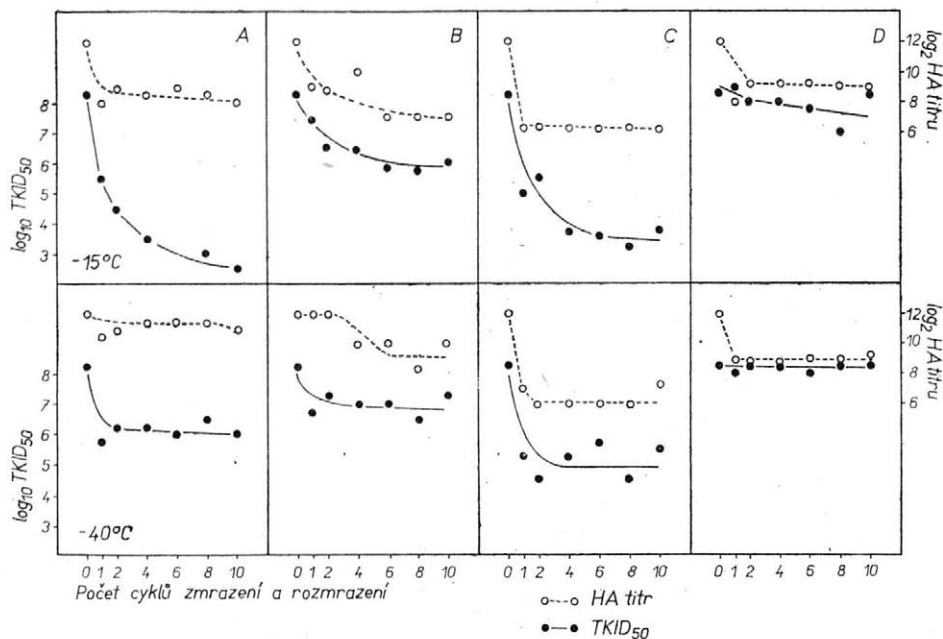
K pokusu byl použit mezogenní kmen Hertfordshire, uchovávaný v lyofilizovaném stavu ve sbírce virových kmenů Biovety, n. p., v Nitře. Byl pomnožen na 10denních kuřecích embryích inokulací dávkou ca 2×10^5 EID₅₀ do alantoické dutiny. Směs alantoamniotických tekutin (AAT), odebraných z 10–12 kuřecích zárodků po 48 hod. inkubace při $+37^\circ\text{C}$, byla vyšetřována jednak neředěná – vzorek A – a jednak ředěná fyziologickým roztokem s veronalovým nárazníkem o pH 7,0–7,1 v poměru 1:10 a 1:100 – vzorek B a C – a ochranným médiem používaným při lyofilizaci virových kmenů v poměru 1:10 – vzorek D. Ochranné lyofilní medium obsahovalo 95 % inaktivovaného koňského séra a 5 % glukózy. Vzorky byly rozplněny po 3 ml do zkumavek, uzavřených korkovými zátkami, zmrazovány opakovaně v mrazicích pultech při -15 a -40°C a rozmrazovány pod proudem tekoucí vody a až do vyšetření uchovávány ve zmrazeném stavu. Kontrolní vzorky byly uskladněny 5 měsíců při $+4^\circ\text{C}$. Hemaglutinační (HA) aktivita a infekčnost byla stanovena hned po rozmrazení a po 24, 48 a 96 hodinách uchovávání při $+37^\circ\text{C}$.

Při stanovení hemaglutinability bylo přidáno k 0,5 ml vzorků, ředěných 1:10–1:5120 (resp. 1:100–1:6000 u vzorku C) 0,5 ml 0,5 % suspenze kohoutích erytrocytů. Reakce byla posuzována za 1 hod. při laboratorní teplotě. Jako HA titr bylo odečteno nejvyšší ředění, v němž došlo alespoň k 50 % aglutinaci erytrocytů. Infekční titr byl stanoven infekcí zkumavkových kultur kuřecích embryonálních buněk (KER). Desetinásobnými ředěními viru bylo inokulováno po 4 zkumavkových kulturách KEB dávkou 0,1 ml. Pomnožení viru bylo posuzováno po 5–6 dnech inkubace při $+37^\circ\text{C}$ zjišťováním cytopatogenního účinku (CPE) mikroskopicky a HA testem s 0,5 % suspenzí kohoutích erytrocytů. Titr viru byl vyčíslen akumulacním výpočtem podle Reeda a Muenche (1938) a významnost rozdílů vyhodnocena Studentovým t-testem podle tabulek Davydova et al. (1966). Zjištěné hodnoty byly vynášeny do grafů, na nichž byl sledován pokles životnosti vyšetřovaného viru.

VÝSLEDKY POKUSŮ

Při porovnávání výsledků, shrnutých na gr. 1, je patrné, že mrazicí teplota -15°C je pro skladování viru Newcastleké nemoci mnohem méně výhodná než teplota -40°C . Ve všech případech je pokles infekčnosti i HA aktivity při -15°C výrazně hlubší než při -40°C . Ve vzorku B je pokles po 10 zmrazeních při -40°C statisticky bezvýznamný ($t = 1,96 < t_{0,05}$), zatímco při -15°C je vysoce významný ($t = 4,05 > t_{0,01}$). Podobně byl u vzorku D při -15°C zaznamenán mírný pokles během osminásobného opakovaného zmrazování, který byl vyhodnocen jako statisticky významný ($t = 2,31 > t_{0,05}$ ale $< t_{0,01}$), avšak při -40°C k tomuto poklesu nedošlo. Lyofilní medium chránilo tedy nejlépe infekčnost vyšetřovaného viru při opakovaném zmrazení. Nejnižší odolnost vůči zmrazení vykázal neředěný vzorek AAT a vzorek ředěný 1:100 pufovaným fyziologickým roztokem (A a C), u nichž došlo k poklesu o více než 5 resp. o více než 4 logaritmické jednotky při -15°C a o 2 resp. 3 log. jednotky při -40°C .

K poklesu infekčnosti docházelo hlavně během prvních čtyř cyklů zmrazení a rozmrazení, zatímco od 4. zmrazení je pokles jen nepatrný.



Obr. 1. Vliv opakovaného mrazení při -15°C (horní řada) a -40°C (dolní řada) na infekčnost a hemaglutinační aktivitu viru Newcastleské nemoci, kmene Hertfordshire, v neředěné infekční alantoamniotické tekutině (A), v alantoamniotické tekutině ředěné veronalem pufrovaným fyziologickým roztokem 1:10 (B), 1:100 (C) a lyofilním médiem 1:10 (D).

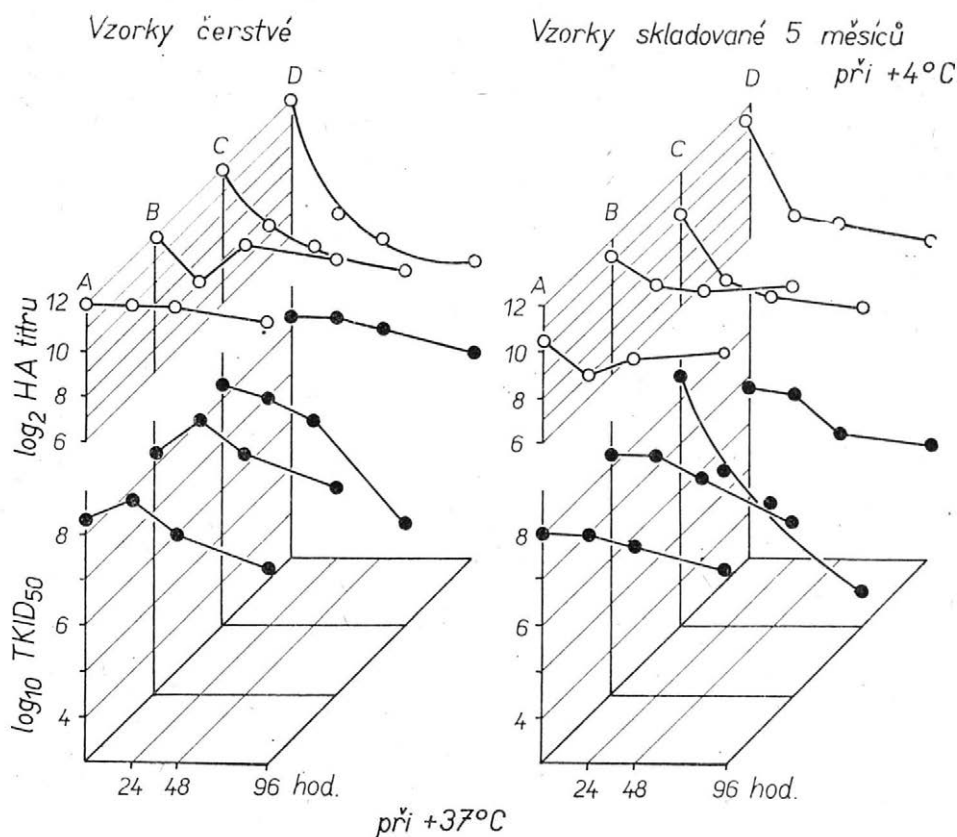
Inaktivace HA aktivity neprobíhala zcela shodně s inaktivací infekčnosti. HA titer byl nejlépe zachován ve vzorku A, zmrazovaném při -40°C . Nejhlubší pokles byl zaznamenán ve vzorku C, kde se zastavil na hranici měřitelnosti, na výchozím ředění 1:100.

Skládování při $+4^{\circ}\text{C}$ nemělo vliv na infekčnost vzorků A, B a C, ale u vzorku D došlo během 5 měsíců k poklesu o 1,6 log. jednotek. Tento pokles je statisticky významný ($t = 2,78 > t_{0,05}$ ale $< t_{0,01}$). HA titer poklesl o 1 stupeň ředění ve vzorku B a D, o 2 stupně ve vzorku A a o 3 stupně ve vzorku C.

Uchovávání 4 dny při $+37^{\circ}\text{C}$ mělo výrazný vliv na infekčnost vzorku C, u něhož došlo k poklesu o 3 log. jednotky. Snížení infekčního titru u vzorků A, B a D je mírné a není signifikantní. Naproti tomu HA aktivita vzorků C a D, klesla mnohem výrazněji, o více než 4 resp. o 7 stupňů ředění, u vzorku A a B však jen o 1 stupeň ředění (gr. 2 a).

Po skladování 5 měsíců při $+4^{\circ}\text{C}$ byl vliv teploty $+37^{\circ}\text{C}$ na infekčnost vzorků jen o málo výraznější než před skladováním. Infekční titer vzorku C poklesl o méně než 5 log. jednotek během 4 dní. Statisticky významný je také pokles infekčnosti vzorků B a D ($t = 2,6 > t_{0,05}$ ale $< t_{0,01}$). Infekčnost neředěného vzorku A však poklesla jen nepatrně. Křivky inaktivace HA aktivity mají průběh zhruba shodný s vyšetřením před skladováním. (gr. 2 b)

Vyšetřením vzorků opakovaně zmrazovaných a uchovávaných při teplotě $+37^{\circ}\text{C}$ bylo zjištěno, že vzorky zmrazované při -40°C se rychleji inakti-

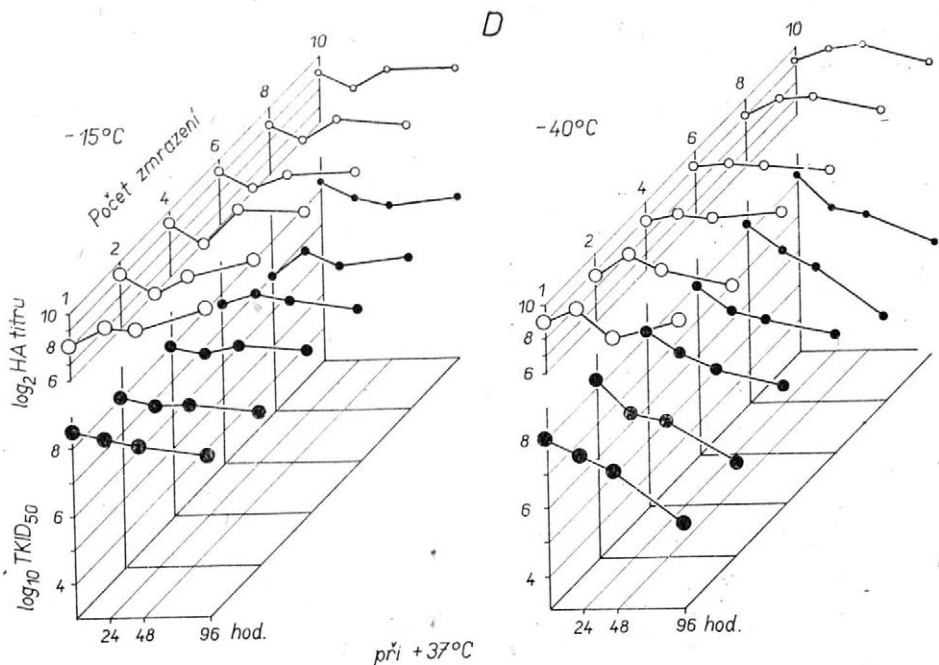


Obr. 2. Vliv teploty +37 °C na infekčnost a hemaglutinační aktivitu kmene Hertfordshire v alantoamniotických tekutinách čerstvých a po skladování 5 měsíců při +4 °C. Označení vzorků jako na obr. 1.

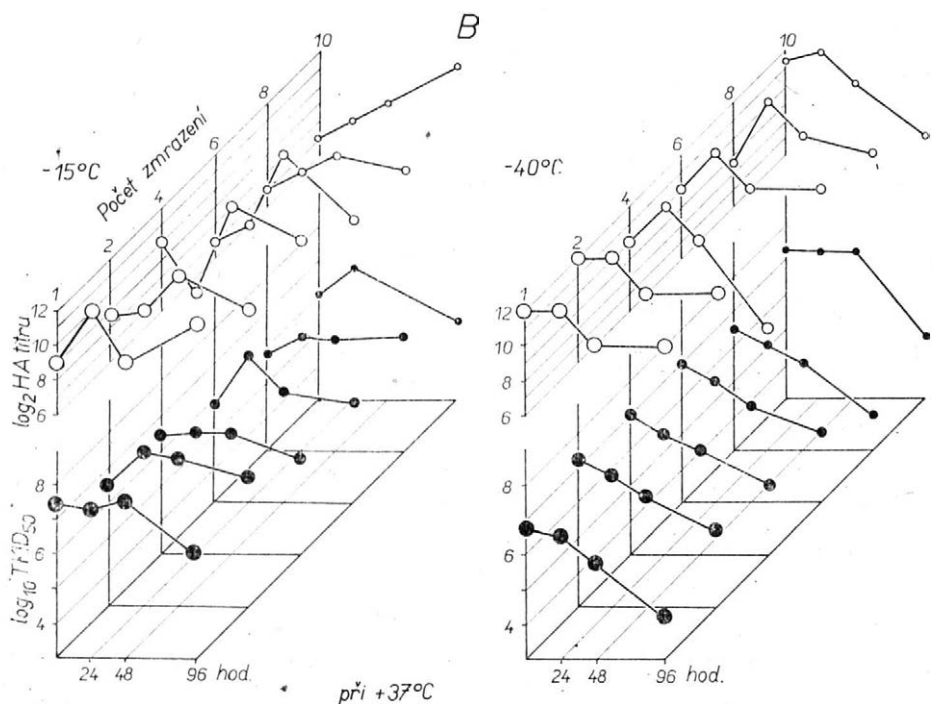
vují při + 37 °C než vzorky zmrazované při - 15 °C. Nejlepší protekční vlastnosti projevilo lyofilní medium ve vzorku D (gr. 3), jehož infekčnost po zmrazování při - 15 °C klesla po 4 dnech při teplotě + 37 °C o méně než 0,5 log., po zmrazení při - 40 °C však téměř o 3 log. jednotky. HA aktivita nebyla teplotou + 37 °C během 4 dní narušena. Velmi mírně poklesla infekčnost i u vzorku B, zmrazeného při - 15 °C (gr. 4). Jen u vzorku jednou zmrazeného poklesla infekčnost významně ($t > t_{0,05} < t_{0,01}$) o více než 1 log. stupeň ředění. Ve všech ostatních případech byl pokles velmi pozvolný a statisticky bezvýznamný ($t < t_{0,05}$). Po mrazení při - 40 °C došlo během 4 dní při + 37 °C z poklesu zhruba o 2,5 log. ve všech případech. Snížení HA titru bylo pozorováno jen u vzorků mrazených při - 40 °C a to až o 5 stupňů ředění.

Pokles infekčnosti při působení teploty + 37 °C je nejvíce patrný u vzorků C (gr. 5), kde dosahuje 2,0 log. ve vzorcích mrazených při - 15 °C a 3–4,0 log. jednotek ve vzorcích mrazených při - 40 °C. HA titry poklesly ve všech případech pod základní ředění 1 : 100.

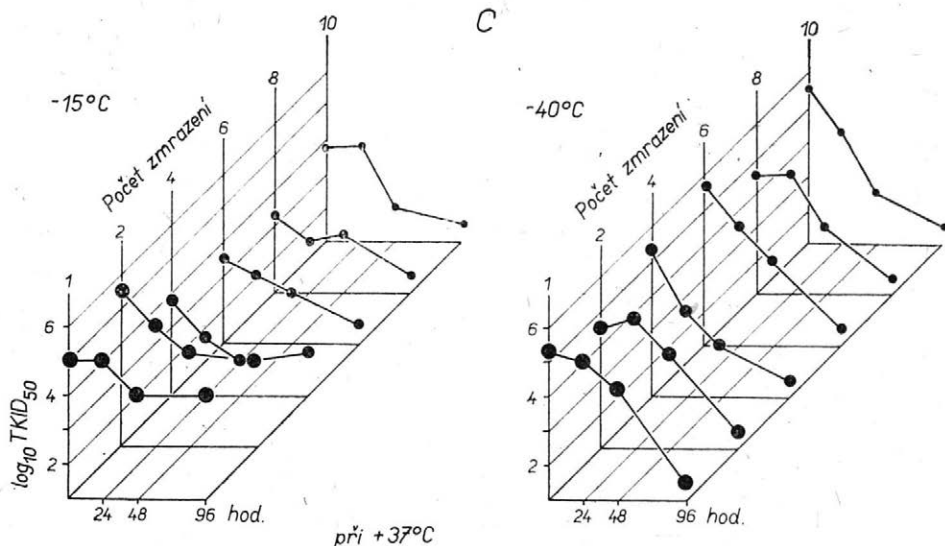
Ačkoliv opakované zmrazování má vliv na výchozí hodnoty infekčního titru před uchováváním při teplotě + 37 °C, nepodařilo se z výsledků vyšetření



Obr. 3. Vliv teploty $+37^{\circ}\text{C}$ na infekčnost a hemaglutinační aktivitu kmene Hertfordshire v alantoamniotických tekutinách, ředěných lyofilním médiem 1:10, po opakovaném mrazení (1–10 $\times$) při -15 a -40°C .



Obr. 4. Vliv teploty $+37^{\circ}\text{C}$ na infekčnost a hemaglutinační aktivitu kmene Hertfordshire v alantoamniotických tekutinách, ředěných pufovaným fyziologickým roztokem 1:10, po opakovaném mrazení (1–10 $\times$) při -15 a -40°C .



Obr. 5. Vliv teploty $+37^{\circ}\text{C}$ na infekčnost kmene Hertfordshire v alantoamniotických tekutinách, ředěných pufovaným fyziologickým roztokem 1:100, po opakovaném mrazení (1—10×) při -15 a -40°C .

zjistit vliv počtu cyklů opakovaného mrazení a rozmrazování na průběh inaktivních křivek při teplotě $+37^{\circ}\text{C}$. Jen u vzorku C, mrazeného při -15°C , se uchovávají po 4 dnech při $+37^{\circ}\text{C}$ poměrně vyšší titry ve vzorcích mrazených jen jednou a dvakrát. U ostatních vzorků jsou rozdíly v konečných infekčních titrech po 4 dnech při $+37^{\circ}\text{C}$ jednak nepravidelné a jednak statisticky bezvýznamné ($t < t_{0,05}$).

DISKUSE

Rozhodující vliv procesu mrazení na životnost různých kmenů viru Newcastle nemoci během skladování ve zmrazeném stavu byl konstatován v předcházejícím sdělení (Černík, Černíková 1967). Jak bylo nyní ověřeno na kmeni Hertfordshire, nejvýraznější pokles hemaglutinační aktivity se ve všech případech projevil právě po prvním zmrazení a rozmrazení. Hemaglutinační titr se snížil s výjimkou jednoho případu (B při -40°C) na polovinu až osminu původní hodnoty, ale dále už většinou neklesal nebo jen nepatrně. Také infekčnost vykazovala nejstrmější pokles po prvním cyklu zmrazení a rozmrazení, kdy bylo inaktivováno ca 90 až 99,9 % viru, ve všech případech kromě vzorku D, v němž byl virus chráněn lyofilním prostředím. Infekční titr klesal dále jen ve třech případech (A, B a C při -15°C) a v ostatních bylo už pozorováno jen kolísání hodnot v rozsahu do 1,5 log. jednotky. Křivka těchto hodnot se konečně ustálila na proměnlivé úrovni od $10^{2,5}$ do $10^{8,0}$ TKID₅₀, což svědčí jednoznačně o tom, že nebyl inaktivován veškerý virus.

Hemaglutinační aktivita, vázaná na proteinový obal virionu (Rott et al. 1961, 1963), se inaktivovala prakticky během prvního mrazení na definitivní úroveň, infekčnost však, zvláště v případech, kdy konečný titr byl nejnižší, klesala ještě během dalších 3—4 cyklů, než se ustálila na určité úrovni. Tento zjev lze vysvětlit tím, že struktura virového jádra se narušovala pomaleji ve srovnání s pláštěm

(kapsidou) virionu. Skutečnost, že inaktivace hemaglutinační schopnosti a infekčnosti po 4. až 6. cyklu zmrazení a rozmrazení už nepokračovala, ačkoli se dosud zachovalo v některých případech dost velké množství aktivního viru, naznačuje, že jednotlivé virové částice vykazují rozdílnou citlivost vůči nízkým teplotám. Po inaktivaci vnímavé populace přežívá rezistentní další opakované mrazení a rozmrazování.

V dosažitelné literatuře nebyla nalezena obdoba tohoto zjevu. Greenham (1966) naopak při opakovaném zmrazování viru vakcinie při -15°C zjistil, že aktivita viru klesala po přímce dané rovnicí $y=0,103 t-4,78 \log_{10} \text{PFU/1 ml}$. Pokud lze srovnávat inaktivaci viru se zárodky bakteriálními, lineární pokles počtu živých zárodků při opakovaném zmrazování zjistili také Toyokawa et al. (1956) i Parker et al. (1965) u kultury *E. coli* a to až v 16 cyklech. Naproti tomu Fabián (1963) pozoroval u téhož zárodku, že třetí opakovaný cyklus lyofilizace měl relativně nižší letální účinek na zárodky než oba předcházející.

Protektivní schopnost lyofilního media se osvědčila velmi výrazně, odhlédneme-li od skutečnosti, že podíl viru v ochranném mediu byl mnohem menší ($1/10$) než je obvyklé při lyofilizaci ($1/2$, $2/5$, $1/3$). Samotná alantoamniotická tekutina chrání virus ve srovnání s pufrovaným fyziologickým roztokem při zmrazování jen velmi nepatrně. Podle Majera a Thomssena (1965) se dá počítat s ochranným působením NaCl na virus jen při vyšších teplotách. Roztok NaCl v 2 molární koncentraci stabilizoval infekčnost polioviru při $+50^{\circ}\text{C}$, ale naopak při $+37^{\circ}\text{C}$ inaktivaci urychloval. Při mrazení může vyvolat poměrně vysoká koncentrace NaCl (5,2 M) v roztoku spíše urychlení než zpomalení inaktivace. Jistý ochranný vliv pufrovaného fyziologického roztoku je tedy možno přičíst spíše na vrub určitého stabilizačního účinku veronalového nárazníku na koncentraci vodíkových iontů.

Lyofilní ochranné medium mělo na druhé straně nepříznivý vliv na infekčnost viru během jeho uchování při $+4^{\circ}\text{C}$. Podobně zjistil Fellowes (1965), že žádné ze široké škály vyzkoušených ochranných medií nepřispělo podstatně ke stabilitě viru SLAK během skladování při $+4^{\circ}\text{C}$. Velmi mírný vliv skladování při $+4^{\circ}\text{C}$ na infekčnost a hemaglutinační aktivitu vzorků, ředěných pufrovaným fyziologickým roztokem 1:10, byl zjištěn i u jiných kmenů (Černík, Černíková 1967).

Při uchování viru při teplotě $+37^{\circ}\text{C}$ se projevil stupeň ředění bez ohledu na prostředí, a to výrazněji u viru, skladovaného 5 měsíců při $+4^{\circ}\text{C}$. Toto pozorování je v souhlasu se zjištěním, že virus Kloboukovy choroby se při $+36^{\circ}\text{C}$ inaktivoval rychleji po ředění 10^{-3} ve fyziologickém roztoku (případně s přídavkem 10 % hovězí amniotické tekutiny) nebo v Earlově mediu než virus neředěný (Žuffa 1962).

Infekčnost viru Newcastleké nemoci při $+37^{\circ}\text{C}$ klesala zhruba lineárně, podobně jako infekčnost středeoevropské encefalitidy v suspenzi ve fyziologickém roztoku s 10 % koňského séra (Bloedhorn a Ackermann 1961). Naše pozorování, že skladování 5 měsíců při $+4^{\circ}\text{C}$ nemělo výrazný vliv na průběh inaktivačních křivek při 37°C , souhlasí s údaji Žuffy (1962) o viru Kloboukovy choroby.

Při vyšších inaktivačních teplotách pozorovali Hahon a Kozikowski (1961) u viru varioly a Woodroffeová (1960) u viru vakcinie, skladovaných předběžně při $+4^{\circ}\text{C}$, vznik dvojfázové (zalomené) inaktivační křivky. Dvojfázovost se v tomto případě neprojevila po skladování viru vakcinie při -60°C , při naředění viru 10^{-2} před skladováním a u viru neskladovaného.

I když se nepodařilo zjistit vliv počtu cyklů opakovaného zmrazení na průběh inaktivace při $+37^{\circ}\text{C}$, přece však sklon inaktivačních křivek je u zmrazovaného viru zřetelně strmější. Infekční titry viru ve vzorcích, zmrazovaných při -40°C , mají nižší konečné hodnoty po 4 dnech inaktivace při $+37^{\circ}\text{C}$ než titry viru ve vzorcích, zmrazovaných při -15°C . Virus zmrazovaný při nižší teplotě je tedy citlivější vůči teplotě $+37^{\circ}\text{C}$.

Došlo dne 9. 3. 1967

Poděkování: Za obětavou technickou spolupráci děkujeme M. Pecháčové.

Literatura

1. BLOEDHORN, H. - ACKERMANN, R.: Untersuchungen zur Wärmestabilität des Virus der zentraleuropäischen Encephalitis. — „Arch. ges. Virusforsch.“, 10, 1961 : 523-528
2. ČERNÍK, K. - ČERNÍKOVÁ, E.: Vliv teploty na hemaglutinační aktivitu a infekci zítu některých kmenů viru Newcastleké nemoci. II. Změny hemaglutinability a infekci zítu viru během skladování při různých teplotách. — „Vet. med.“, 12, 1967 : 83-92
3. DAVYDOV, O. V. - DAVYDOVA, G. S.: Tablicy dlja nachožđenija ED₅₀ i drugih statističeskich pokazatel'ej. — „Vopr. virusol.“, 11, 1966 : 363-368
4. FABIÁN, J.: Study of some fundamental factors affecting the survival of microorganisms during and after freeze-drying. — „Proc. Xith Internat. Congr. Refrigeration“, Munich, 1963, VI C — 14 : 1585-1595
5. FELLOWES, O. N.: Freeze-drying of foot-and-mouth disease virus and storage stability of the infectivity of dried virus at 4 °C. — „Appl. Microbiol.“, 13, 1965 : 496-499
6. GREENHAM, L. W.: The wet preservation of vaccinia virus. — „Arch. ges. Virusforsch.“, 18, 1966 : 172-185
7. HANON, N. - KOZIKOWSKI, E.: Thermal inactivation studies with variola virus. — „J. Bact.“, 81, 1961 : 609-613
8. LUYET, B. J. - GEHENIO, P. M.: Life and death at low temperatures. — „Biodynamica“, 1940 (cit. podle PEGG, 1966)
9. MAJER, M. - THOMSEN, R.: Thermal inactivation of ³²P-poliovirus at 37 °C and 50 °C in the presence of NaCl with high mortality. — „Arch. ges. Virusforsch.“, 17, 1965 : 585-593
10. PACKER, E. L. - INGRAHAM, J. L. - SCHER, S.: Factors affecting the rate of killing of Escherichia coli by repeated freezing and thawing. — „J. Bact.“, 89, 1965 : 718-724
11. PEGG, D. E.: Cryobiology, Review article. — „Phys. med. Biol.“, 11, 1966 : 209-224
12. POLGE, C. - SMITH, A. U. - PARKES, A. S.: „Nature“, 164, 1949 (cit. podle PEGG, 1966)
13. REED, L. - MUENCH, H.: A simple method of estimation fifty percent endpoints. — „Am. J. Hyg.“, 27, 1938 : 493
14. ROTT, R. - FRANK, H. - SCHÄFER, W.: Isolierung und Eigenschaften der hämagglutinierenden Komponente des Virus der Newcastle disease. — „Z. Naturforsch.“, 16 b, 1961 : 625-626
15. ROTT, R. - REDA, I. M. - SCHÄFER, W.: Charakterisierung der verschiedenen, nach Infektion mit NDV auftretenden, nichtinfektiösen-hämagglutinierenden Teilchen. — „Z. Naturforsch.“, 18 b, 1963 : 188-194
16. TOYOKAWA, K. - HOLLANDER, D. H.: Variation in sensitivity of Escherichia coli to freezing damage during the growth cycle. — „Proc. Soc. exp. Biol. Med.“, 92, 1956 : 499-500
17. WOODROOFE, G. M.: The heat inactivation of vaccinia virus. — „Virology“, 10, 1960 : 379-382
18. ŽUFFA, A.: Inaktivácia vírusu Kloboukovej choroby teplom. — „Vet. čas.“, 11, 1962 : 165-173

ČERNÍK K., ČERNÍKOVÁ E. (Биовета, Нитра, Чехословакия). Влияние повторного замораживания в разной среде на жизнеспособность штамма Н вируса Ньюкастльской болезни. Vet. med. (Прага) 13 (4) 171-179, 1968.

Устойчивость штамма Hertfordshire к повторному замораживанию устанавливалась в инфекционных аллантоамниотических жидкостях, как неразбавленных, так и разбавленных 10⁻¹ и 10⁻² буферным физиологическим раствором и 10⁻¹ лиофильной средой, содержащей 95 % лошадиной сыворотки и 5 % глюкозы, геммагглютинационным тестом и титрацией на пробирочных тканевых культурах. Вирус лучше переносил замораживание при -40 °C, чем при -15 °C, в обоих случаях его инфекционность сохранялась лучше всего в лиофильной среде. Вирус был самым неустойчивым в аллантоамниотических жидкостях, неразбавленных и разбавленных 10⁻² физиологическим раствором. Инфекционность понижалась, главным образом, в течение первых 4 циклов замораживания и размораживания. Температура +37 °C в течение 4 дней существенно повлияла лишь на вирус, разбавленный 10⁻², но не было существенной разницы действия температуры +37 °C до пятимесячного хранения.

ния при $+4^{\circ}\text{C}$ и после него. Инфекционные аллантамоиотические жидкости, повторно замороженные при -40°C , быстрее инактивировались температурой $+37^{\circ}$, чем жидкости, замораживаемые при -15°C .

Лиофилизация — защитная среда; пробирочные тканевые культуры; куриные эмбриональные клетки; цитопатогенное действие; хранение при $+4^{\circ}\text{C}$; инаktivация вируса при $+37^{\circ}\text{C}$.

CERNÍK, K. - ČERNÍKOVÁ, E. Bioveta, Nitra. Czechoslovakia. *The influence of Repeated Freezing and Thawing in Various Media on the Survival of the Hertfordshire Strain of Newcastle Disease Virus* Vet. Med. (Prague) 13(3) 171—179, 1968.

The resistance of the Hertfordshire strain to repeated freezing was investigated in non-diluted infectious allantoamniotic fluids, diluted 10^{-1} and 10^{-2} with buffered physiological solution, and 10^{-1} with lyophilic medium containing 95 per cent of horse serum and 5 per cent of glucose, by means of the hemagglutination test and by means of titration on tube tissue cultures. The virus stood up better to freezing at -40°C than at -15°C , and in both cases the infectiosity of the virus was protected best by the lyophilic medium. Least resistant was the virus in non-diluted allantoamniotic fluids and in fluids diluted 10^{-2} with a physiological solution. Infectiosity decreased chiefly during the first four cycles of the freezing and thawing. A temperature of $+37^{\circ}\text{C}$ for 4 days significantly influenced only the virus in a 10^{-2} dilution, but there were no substantial differences in the effect of a temperature of $+37^{\circ}\text{C}$ before a five months' storing at $+4^{\circ}\text{C}$ and afterwards. Infectious allantoamniotic fluids frozen repeatedly at -40°C were inactivated more rapidly by a temperature of $+37^{\circ}\text{C}$ than were samples frozen at -15°C .

Freeze-drying-protective medium; tube tissue cultures; chick embryo cells; cytopathogenic effect; storage at $+4^{\circ}\text{C}$; virus inactivation at $+37^{\circ}\text{C}$.

ČERNÍK, K. - ČERNÍKOVÁ E. Bioveta, Nitra, Tschechoslowakei. *Der Einfluß der wiederholten Tiefkühlung und Enteisung in verschiedenem Milieu auf das Überleben des Hertfordshire-Virusstammes der Newcastle-Krankheit*. Vet. Med. (Prahá). 13(3) 171—179, 1968.

Die Widerstandsfähigkeit des Hertfordshire-Stammes gegenüber wiederholter Tiefkühlung ermittelte man in unverdünnten infektiösen alantoamniotischen Flüssigkeiten in verdünnten 10^{-1} und 10^{-2} mit einer physiologischen Pufferlösung und 10^{-1} mit lyophilem Medium, welches 95 % Pferdeserum und 5 % Glukose enthielt, mittels Hämagglutinationstest und Titration auf Probierglas-Gewebekulturen. Das Virus vertrug eine Tiefkühlung bei -40°C besser als bei -15°C und in beiden Fällen wurde die Infektiosität des Virus am besten durch ein lyophiles Medium geschützt. Am wenigsten widerstandsfähig war das Virus in unverdünnten alantoamniotischen Flüssigkeiten und in verdünnten 10^{-2} mit einer physiologischen Lösung. Die Infektiosität senkte sich hauptsächlich während der ersten vier Tiefkühlungs- und Enteisungszyklen. Die Temperatur von $+37^{\circ}\text{C}$ während 4 Tagen beeinflusste signifikant nur das auf 10^{-2} verdünnte Virus; es gab jedoch keine wesentlichen Unterschiede bezüglich der Wirkung der Temperatur von $+37^{\circ}\text{C}$ vor einer fünfmonatigen Lagerung bei $+4^{\circ}\text{C}$ und nach derselben. Die infektiösen alantoamniotischen Flüssigkeiten, die wiederholt bei -40°C tiefgekühlt wurden, wurden durch eine Temperatur von $+37^{\circ}\text{C}$ schneller inaktiviert als Proben, die bei -15°C tiefgekühlt wurden.

Lyophilisation — Schutzmedium; Probierglas — Gewebekulturen; embryonale Hühnerzellen; zytopathogene Wirkung; Lagerung bei $+4^{\circ}\text{C}$; Inaktivierung des Virus bei $+37^{\circ}\text{C}$.

Adresa autorů:

MVDr. Karel Černík, MVDr. Edita Černíková, odd. vývoje a výzkumu, Bioveta, n. p., Nitra. Vedoucí odd.: doc. MVDr. Alojz Žuffa, CSc.

MALÉ INFORMACE

Zkušenosti získané při zavádění záznamového systému klinických dat

F R. Bell (Department of Medicine, Royal Veterinary College, Londýn, Anglie)

Uvedená vysoká škola vykonává obšírnou veterinární praxi. Je to především služba na klinice pro drobné zvířectvo, poradenská služba pro praktikuující veterinární lékaře a takzvaná návštěvní služba na farmách na zavolání, kterou zajišťují místní veterináři. Kliniky a nemocnice, které ošetřují jak velká, tak i drobná zvířata, jsou od sebe vzdáleny asi 15 mil (tj. asi 23 až 24 km) a jsou obsluhovány personálem z více než jednoho oddělení (department).

Tyto systémy měly různou hodnotu — od velmi kvalitních, které podrobně zachycovaly daný problém, až po stručný záznam, který měl sloužit jednotlivým pracovištím jen jako klinická pomůcka paměti. Nejlepší systémy, obvykle rozsahem omezené, byly používány klinickými specialisty a byly motivovány zcela pochopitelným osobním zájmem. Bývaly však dosti skoupé na širší údaje, protože jejich majitelé je zaznamenávali telegraficky a zkratkovitě jen pro sebe.

Hlavní překážkou při pokusech se zaváděním tohoto nového systému, který by zahrnoval všechny lékařské a chirurgické případy, jež přicházely na školu, bylo překonávání konzervatismu a odporu ke změnám, a zvláště nechuť shromažďovat užitečné statistiky a cenné údaje pro někoho jiného. Nové pojetí třídění zaznamenaných údajů pomocí programového počítačového stroje se těžko prosazovalo, protože tato metoda byla často zaměňována klinickou diagnózou prováděnou počítačem.

Hlavní argument proti novému systému bylo to, že neposkytoval vždy tomu či onomu odborníku žádanou zcela speciální, zúženou informaci. Velmi často však mohlo být i takové specializované potřebě vyhověno.

Nové pojetí záznamového systému údajů, z něhož by se dal materiál snadno a rychle vytržít a vynést jaksí na světlo, aby jej všichni mohli vidět, posoudit a prodiskutovat, bylo ochotně přijato těmi pracovníky, kteří si přáli použít materiálu, procházejícího klinikou a srovnávat jej ve větší míře a podrobněji. Nová pojetí evidence byla dále usnadněna reorganizací laboratorní diagnostické služby, poskytované klinikům a přizpůsobováním učebních zařízení a dispozic této nové úpravy.

Nový systém většinou vyžadoval více záznamů než dosud, což vyžaduje více času, ale to bylo prosazeno, protože nový systém lépe zaznamenával závažnější informace. Nejvíce podpořilo zavedení nové evidence to, že klinik zjistil, že po počátečním sestavení a zapsání údajů se už od něho nežadá, aby byl svým vlastním archivářem, pořadatelem a dokumentátorem, takže mu zbylo mnohem více času, aby se věnoval skutečné odborné práci, pro kterou byl vyškolen.

Objevila se však jiná potíž. Ačkoliv byly totiž k dispozici finanční prostředky k zavádění a uplatňování nového systému záznamů, nábor potřebných pracovníků sil velmi vázl. V Anglii totiž není rozšířeno nějaké zvláštní školení pro pracovníky tohoto druhu. Povolání, které se tomuto druhu činnosti nejvíce přibližovalo, byla knihovnická práce v nějaké lékařské knihovně. Protože však se ani taková lidé na uveřejňované inseráty nehlásili, bylo pak považováno za nejuspokojivější řešení hledat lidi se sekretářskou průpravou, přičemž podmínkou byla aspoň částečná znalost vědecké terminologie. Nakonec se ukázaly nejvhodnějšími osobami pro tento úkol mladé ženy, které mají zkušenosti jako přijímající asistentky (receptionists) ve veterinárních nemocnicích.

(Dokončení na straně 188).

VLIV SIŘIČITANU A PYROSIŘIČITANU SODNEHO V SILÁŽI NA HLADINU SODÍKU, DRASLÍKU, VÁPNIKU A FOSFORU V CHLUPECH KŠTICE A V KREVNÍM SÉRU U JALOVIC

L. Šlesinger, J. Tušl

Výzkumný ústav krmivářský, Pohořelice u Brna

ŠLESINGER, L., TUŠL, J. (Výzkumný ústav krminářský, Pohořelice u Brna). *Vliv siřičitanu a pyrosiřičitanu sodného v siláži na hladinu sodíku, draslíku, vápníku a fosforu v chlupech kštice a v krevním séru u jalovic*. Vet. Med. (Praha) 13(3) 181—188, 1968.

V práci byly sledovány hladiny minerálů v krevním séru a v chlupech kštice jednoletých, červenostrakatých jalovic, které byly krmeny po 4 měsíce jetelotravní směsí, konzervovanou u jedné skupiny 22 jalovic siřičitanem sodným a u další skupiny 22 jalovic pyrosiřičitanem sodným. U skupiny jalovic krmených jetelotravní směsí konzervovanou pyrosiřičitanem sodným byly stanoveny průkazné rozdíly vápníku a fosforu v chlupech kštice. Rozdíly sodíku a draslíku u obou skupin jalovic byly neprůkazné. Jak z práce vyplývá podávají výsledky hladin minerálů v chlupech při dlouhodobé výživě názornější obraz o jejich hospodaření v organismu, nežli hladiny minerálů v krevním séru. Současně sledovaný krevní obraz potvrdil vysoce průkazný pokles hemoglobinu a hematokritu u obou skupin jalovic, živěných jetelotravní směsí konzervovanou použitými chemikáliemi. Avšak po zhodnocení výsledků hladin minerálů v chlupech kštice, výsledků hematologických a vlivu na zdravotní stav se jeví siřičitan sodný vhodnějším konzervačním prostředkem pro siláže, nežli pyrosiřičitan sodný.

siláže; siřičitan sodný; pyrosiřičitan sodný; konzervační látky; minerály krevní; hematologicko-biochemické výsledky ve výživě.

Kolísání hladin minerálů v krvi v důsledku hormonální a neurohumorální regulace, poznatek jejich nepřímé závislosti na dotaci potravou a konečně jejich nepatrné množství v krevním séru vedly k myšlence sledovat hladiny minerálů v takovém substrátu, který by byl spolehlivějším ukazatelem jejich hospodaření v organismu. Poněvadž opakované sledování v orgánech živého zvířete není možné, bylo přistoupeno ke sledování minerálů v chlupech. K analýze minerálů se nejlépe osvědčila u skotu srst kštice. Krycí chlupy jiných krajin tělních jsou nevhodným materiálem, poněvadž podléhají výměně. Chlupy ocasu podléhají vlivu moče a fekálií, které poškozují jejich povrch, čímž jsou ovlivňovány výsledky hladin minerálů.

Keating (1960), Werner, Anke (1960), Lamprecht (1963), Nessen, Otto (1966) obdobně jako my zkoumali otázku, zdali lze chlupy u skotu použít jako spolehlivého ukazatele minerálů v organismu. Podle Brocharta (1957) je obsah vápníku v chlupech kštice závislý na barvě, přičemž tmavá srst obsahuje vyšší procento vápníku, mědi (Sarata 1935), manganu, molybdenu a kobaltu (Werner, Anke 1960). Naopak v bílých chlupech je větší množství železa nežli v tmavých chlupech. Pokud jde o uložení minerálů v chlupech, je např. nejvíce vápníku při bázi chlupů a nejméně na jeho konci. Vyšší procento vápníku v chlupech mívají telata po narození.

Do 15 měsíců stárí se hladina vápníku snižuje a po 15 měsících je množství vápníku v chlupech kštice konstantní, přičemž u býčků je nižší hladina vápníku nežli u jalovic. Adamelis, Schneek a Cheropoulos (cit. Zacherl 1963) prokázali nižší hladinu vápníku u vysoko březích krav. Vysoká dojivost rovněž snižuje procento vápníku v chlupech (Zacherl, Weiser 1963). Normální hodnoty vápníku v chlupech kštice stanovili Zacherl a Weiser u chlupů žlutobílých 0,0711 %, šedohnědých 0,1016 % a temně hnědých 0,1151 %. Obsah fosforu obnáší v chlupech kštice telat podle Neseniho a Otta (1966) 0,521 %, u jiné skupiny udávají autoři hodnoty fosforu od 0,206–0,448 %. Obsah fosforu bývá zvýšen v chlupech u telat do 5 měsíců stárí. Později se jeho obsah v chlupech stabilizuje. Jeho procento není ovlivňováno barvou srsti. Jak uvádí Brochard (1957) podléhá obsah vápníku a fosforu v chlupech vlivu výživy.

Vliv krmiva a jeho omezených dávek u skotu se ze zřetelem k obsahu vápníku a fosforu v chlupech sledoval dále Neseni a Koriath (1957). Zjistili, že nižší množství vápníku a fosforu ve výživě podmiňuje také nižší procento vápníku v chlupech, kdežto naopak tomu bylo u obsahu fosforu. Na základě šetření Wernea a Ankeho (1960) rozličné množství stopových prvků v rostlinné výživě ze dvou oblastí se věrně odrazilo v obsahu stopových prvků v chlupech.

Údaje o obsahu sodíku a draslíku v chlupech cituje Anke 1965, 1966. Také Zacherl a Weiser (1963) mimo vápník sledovali rovněž zinek a hořčík v chlupech skotu.

Na základě prostudované literatury, nebyla dosud sledována otázka vlivu některých chemikálií dnes používaných ke konzervaci píce a siláží na obsah sodíku, draslíku, vápníku a fosforu v chlupech a krevním séru. Tuto otázku jsme sledovali v předložené práci, při čemž bylo použito jako konzervační látky v siláži siřičitanu a pyrosiřičitanu sodného.

MATERIÁL A METODIKA

Po opakovaném ověření metodiky analýzy minerálií v srsti zvolili jsme v práci sledování sodíku, draslíku, vápníku a fosforu v chlupech kštice u 22 1 rok starých jalovic, červenostrakatého plemene, které byly po 4 měsíce krmeny jetelotravní směsí, jež byla konzervována 0,5 % siřičitanem sodným. Druhá skupina stejně starých 22 jalovic byla krmena rovněž po 4 měsíce jetelotravní směsí, konzervovanou 0,5 % pyrosiřičitanem sodným. Oběma skupinám byly předkládány mimo tuto směs stejné dávky sena a šrotu. Pokus probíhal v zimním období. Minerálie byly sledovány před pokusem a při jeho ukončení, pouze v bílých chlupech kštice a krevním séru. Kontrolních 22 jalovic bylo krmeno stejným způsobem bez konzervačních látek v jetelotravní směsi. Všechna zvířata byla společně ustájena ve třech skupinách v jedné stáji a po dobu pokusu ošetřována stejnými ošetřovateli. v přípravném období byly všechny jalovice krmeny stejným krmivem jako v pokuse bez konzervačních látek. Složení krmné dávky bylo následovné: 3 kg lučního sena, 20 kg siláže z travního porostu, 80 dkg jadrných krmiv a 2 kg slámy.

Mimo sledování hladin minerálií v krevním séru a v chlupech kštice byl současně sledován krevní obraz u kontrolní skupiny a obou pokusných skupin.

Před stříháním byly chlupy kštice řádně vykartáčovány. Po ostříhání byly jednotlivé vzorky sušeny při 105 °C po 12 hod. Pro níže uvedenou analýzu není nutné chlupy stříhat na délku 0,5 cm.

METODIKA STANOVENÍ SODÍKU, DRASLÍKU, VÁPŇÍKU A FOSFORU V CHLUPECH

Po řádném mechanickém vyčištění a vysušení vzorku chlupů byla stanovena sušina. Podotýkáme, že vzorky chlupů nebyly extrahovány éterem, poněvadž není zatím zcela prokázáno, zdali se éterem nevyextrahuje současně také část minerálií. Vzorky se naváží v množství 900 mg do Kjehdalovy baňky a povaří se s 5 ml kyseliny dusičné téměř do odpaření. Po vychladnutí se ke zbytku přidá 5 ml 50 % roztoku dusičnanu amonného ve zředěné kyselině dusičné a roztok se zahřívá do odpaření a do rozložení dusičnanu. Odpařování z roztoku dusičnanu amonného se opakuje několikrát a to tak dlouho, až se získá bílý zbytek. Potom se přebytky dusičnanu amonného ze stěn baničky odpaří nad kahanem. Po vychladnutí se do baňky naleje 0,5 ml konc. kyseliny chlorovodíkové a asi 10 ml redest. vody. Roztok se krátce povaří a pak se zfiltruje středně hustým filtrem do odměrné baňky na 100 ml. Filtr se dvakrát

I. Výsledky analýz minerálií v krevním séru jalovic 1 rok starých v mekv./l.

N	Na	K	Ca	P	Konservans
K 22	125,1 ± 6,9	6,7 ± 0,5	4,1 ± 0,09	4,71 ± 1,1	Kontrolní skupina
P ₁ 22	$\bar{x}$ 126,3	6,53	4,0	4,68	Na-siřičitan
	s 18,2	0,86	0,3	2,22	
	V 14,3	13,1	7,5	48,3	
P ₂ 22	$\bar{x}$ 118,5	6,6	3,7	4,71	Pyrosiřičitan sodný
	s 16,9	1,13	1,07	1,12	
	V 14,2	17,1	28,9	23,8	
P ₁ P ₂ : K	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	

Výsledky analýz chlupů jalovic 1 rok starých (‰ v sušině)

N	Na	K	Ca	P	Konservans
K 22	0,21 ± 0,9	0,546 ± 0,12	0,166 ± 0,1	0,0182 ± 0,01	Kontrolní skupina
P ₁ 22	$\bar{x}$ 0,203	0,537	0,159	0,0189	Na-siřičitan
	s 0,12	0,21	0,02	0,0076	
	V 58,9	39,6	12,5	42,2	
P ₂ 22	$\bar{x}$ 0,188	0,466	0,140	0,0154	Pyrosiřičitan sodný
	s 0,014	0,028	0,024	0,0059	
	V 7,4	6,0	17,14	38,3	
P ₂ : K	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,001	P < 0,001	

II. Hematologické výsledky pokusných jalovic

Počet	E	Le	Hb g%	Hk
22 Kontrola	$\bar{x}$ 6 150 909 s 1 356 904 V 22,06	9236 1909 4,3	15 0,65 25,3	36 9,5
22 Siřičitan sodný	$\bar{x}$ 6 566 363 s 1 293 657 V 19,7	8254 1,602 19,3	12,7 4,17 27,09	29 13 44,8
22 Kontrola	$\bar{x}$ 6 272 727 s 1 457 580 V 23,22	7927 2113 27,8	15,5 2,8 16,6	35 7,5 21,4
22 Pyrosiřičitan sodný	$\bar{x}$ 6 430 909 s 183 750 V 28,5	8445 2509 30,0	11,1 2,2 19,6	31 10 32,3

promyje vodou a obsah baňky se doplní redestilovanou vodou na 100 ml a promíchá se.

Pro stanovení sodíku, draslíku a vápníku se používá neředěný obsah vzorku, který se přímo fotometruje při zařazení příslušných filtrů. Kalibrační křivky se sestrojují pro Na pomocí roztoku NaCl v rozsahu 0–0,8 mg Na/25 ml a pro K pomocí roztoku KCl v rozsahu 0–2 mg K/25 ml a pro Ca pomocí roztoku CaCO_3 ve zředěné HCl v rozsahu 0–3 mg Ca/25 ml. V případě stanovení Ca se ke standartu přidává navíc 0,65 mg Na ke kompenzaci vlivu sodíku.

Při stanovení fosforu v chlupech se roztok vzorku zpracovává obdobně jako roztok sera v kyselině trychloroctové. Rovněž alikvotní podíl je 5 ml.

Činidla: Roztok dusičnanu amonného se připravuje následovně:

200 ml konc. kys. dusičné se zředí 800 ml. redest. vody a v roztoku se rozpustí 1000 g NH_4NO_3 . Ostatní činidla jsou stejná jako při analýze sér.

Poněvadž pracovní postupy sloužící ke stanovení Na, K, Ca a P v krevním séru jsou všeobecně známy, uvádíme pouze literární odkazy k jednotlivým úkonům. Na, K, Ca bylo stanoveno podle Dvořáka J. a spol. (1967). P byl stanoven podle Maláta M. (1956). Mineralizace byla provedena podle Miliona R. F. a Waterse (1955).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Po ukončení pokusu byly výsledky rozdílu kontrolní skupiny a skupiny pokusné, která dostávala jetelotravní směs konzervovanou siřičitanem sodným, v chlupech u všech sledovaných prvků neprůkazné. Krevní sérum vykazovalo rovněž neprůkazné rozdíly.

Kolmá sedimentace						Leukogram						
1/2	1	2	3	4	24	Lym	Lyv	S	T	Eo	B	M
0	0,7	1	1,5	1,9	7,2	71	3	25	0,5	0,3	0,2	0,7
0	0,3	0,7	2,0	3	13	73	6	16	0,4	0,6	1,0	1,0
0	0,2	0,2	0,6	1,1	5,5	62	12	22	1,5	0	0,8	0,7
0	0,3	1,2	2,0	2,9	11	65	13	18	0,7	0,1	1,3	0,3

U skupiny jalovic, kterým byla podávána po 4 měsíce jetelotravní směs, konzervovaná pyrosiřičitanem sodným, byly ve srovnání s kontrolní skupinou jalovic rozdíly u všech sledovaných prvků v krevním séru neprůkazné. Také v chlupech kštice byly rozdíly hladin sodíku a draslíku neprůkazné. Rozdíly vápníku a fosforu byly oproti kontrolní skupině v chlupech vysoce průkazné ($P < 0,001$).

Sledované minerálie v chlupech kštice měly u skupiny jalovic, která dostávala jetelotravní směs, konzervovanou pyrosiřičitanem sodným, klesající tendenci. Tento pokles není v krevním séru u souhlasné skupiny mimo hladinu vápníku patrný.

Před pokusem, kdy v přípravném období byly jalovice krmeny stejným krmivem bez konzervačních přísad, byly naměřeny následující průměrné hodnoty minerálií v krevním séru jalovic: Na $126 \pm 11,2$, K $6,65 \pm 0,9$, Ca $4,15 \pm \pm 0,8$, P $4,69 \pm 0,6$ mekv. V sušině chlupů kštice byly naměřeny: Na $0,199 \pm \pm 0,04$, K $0,561 \pm 0,02$, Ca $0,168 \pm 0,013$, P $0,0179 \pm 0,007$ %.

Porovnáme-li naše výsledky v chlupech s výsledky v literatuře, jsou hladiny vápníku udané v průměrných hodnotách v tab. I. shodné s hladinami, které naměřil Nessen i a Otto (1966). Zacherl a Weisser (1963) naměřili u bílých chlupů poněkud nižší hladinu vápníku. K tomu je třeba dodat, že hladiny minerálií byly sledovány ve stáří jalovic, kdy vápník má v chlupech ještě klesající tendenci. Pokud jde o hladiny fosforu v chlupech, jsou naše hodnoty nižší, než udává Nessen i a Otto (1966) u telat 2–4 týdny starých, což vzhledem ke stáří jalovic není s námi v rozporu. Naše hladiny jsou téměř shodné s údaji Schnecka (1962), Cheropoulou (1962), Münchberga a Kisslinga (1962), Lamprechta (1963), jak je cituje Nessen i (1966). Hladiny minerálií sledované v chlupech skotu Ankem (1965) jsou přirozeně vlivem extrakce éterem úměrně nižší.

Otázku, zdali pokles minerálií nebyl způsoben jetelotravní směsí, vyvracejí získané hladiny minerálií u kontrolních jalovic a dále rozdílné výsledky hladin minerálií v chlupech obou pokusných skupin při ukončení pokusu. Současně sledovaný krevní obraz potvrdil nižší hodnoty hemoglobinu a hematokritu u obou pokusných skupin jalovic. Kladnějších výsledků v obsahu hemoglobinu a také v počtu erytrocytů bylo dosaženo u skupiny pokusných jalovic, které byly krmeny jetelotravní směsí, konzervovanou siřičitanem sodným. (Tab. II.)

Z uvedeného sledování vyplývají praktické závěry. Účin pyrosiřičitanu sodného, který je na základě biologických pokusů více toxický, nežli siřičitan sodný, se projevil po 4 měs. jeho zkrmování jalovicím v jetelotravní směsi poklesem hladiny vápníku v krevním séru. Při sledování hladiny Na, K, Ca a P v chlupech kůže byly zaznamenány nižší hodnoty sledovaných minerálií. Zdravotní stav jalovic během pokusu nejevil změn u obou pokusných skupin a také chuť k přijímání potravy se nelišila od kontrolní skupiny. Přihlížíme-li k výsledkům analýz minerálií v krevním séru a v chlupech, má příznivější výsledky pro organismus použitý siřičitan sodný v jetelotravní směsi. Obdobné vyplývá rovněž z hematologického rozboru.

Došlo dne 6. 6. 1967

Literatura

1. ANKE, M.: Der Mengen- und Spurenelementgehalt des Rinderhaares als Indikator des Calcium-, Magnesium-, Phosphor-, Kalium-, Natrium-, Eisen-, Zink-, Mangan-, Kupfer-, Molybden- und Kobaltversorgung. = „Arch. Tierernährung“ 15, 1965 : 461-468, 469-485 a 16, 1966 : 57-75.
2. BROCHART, M., COLEOU, M., LARVOR, P.: Einige Faktoren, welche den P u. Ca — Gehalt des Haares in einer Herde von Norrmanner Kühen in Verlauf des Jahres beeinflussen. = „C. R. Acad. Agric.“ 45, 1959 : 424.
3. BROCHART, M., HIDIROGLOU, M., PREVOST, R., SUSKY, E.: Beobachtungen über die Ernährung mit Ca u. P beim Rind in Guyana. = „Rec. med. vet.“ 135, 1957 : 122.
4. DVOŘÁK, J., RUBEŠKA, J., ŘEZÁČ, Z.: Laboratorní práce plamenové fotometrie. SNTL, Praha, 1967. str. 241.
5. HANSY, H.: Über den Natrium- und Kaliumgehalt von Rinderhaaren. = „Diss.“, Wien, 1964.
6. KEATING, J.: Hair analysis in cattle as an index of mineral status. = „Irish Vet. J.“ 14, 1960 : 74.
7. LAMPRECHT, G.: Über den Ca u. P- Gehalt von Rinderhaaren. = „Vet. Diss.“, Wien, 1963.
8. MALÁT, M.: Kolorimetrie, NČSAV, Praha, 1956, p. str. 293, str. 116.
9. MILTON, R. F., WATERS, W. A.: Methods of Quantitative Micro-Analysis. J. Wiley, New York, 1955, p. str. 515, str. 216-217.
10. NESSENI, R., OTTO, E.: Der Mineralstoffgehalt in Rinderhaaren. Die Verhältnisse bei Jungbullen u. Saugkälbern. = „Wien. tierärztl. Mschr.“ 53, 1966 : 441.
11. NESSENI, R., KORIATH, G.: Mineralbestand in Rinderhaaren. II. Mittl.: Untersuchungen an Kühen. = „Wien. tierärztl. Mschr.“ 54, 1967 : 16.
12. ONDERSCHEKA, K., LABER, B., SZEKELY, H., BINDER, K.: Chronischer Mg-Mangel bei Kühen. = „Wiener tierärztl. Mschr.“ 54, 1967 : 219-236.
13. SARATA, U.: Studies in the biochemistry of copper. XI Copper and pigmentation of skin and hair. = „Jap. J. Med. Sci. Trans. II, Biochem.“ 3, 1935 : 79.
14. WERNER, A., ANKE, M.: Der Spurenelementgehalt der Rinderhaare als Hilfsmittel zur Erkennung von Mangelerscheinungen. = „Arch. Tierernährung“, 10, 1960 : 142.
15. ZACHERL, M. K., WEISER, M.: Über den Mineralstoffgehalt von Rinderhaaren. = „Wien. tierärztl. Mschr.“ 50, 1963 : 62.

ПЛЕЗИНГР Л., ТУШИЛ Й. (НИИ кормов и кормления, Погоржелице у Брно, Чехословакия). Влияние сульфида и пиросульфида натрия в силосе на уровень натрия, калия, кальция и фосфора в шерстинках ворса и в сыворотке крови у телок. Вет. мед. Прага 13 (3) 181-188, 1968.

В ходе работы изучались уровни минеральных веществ в сыворотке крови и в шерстинках ворса однолетних красно-пестрых телок, которым в течение 4 месяцев скармливали бобовозлаковую смесь, консервированную у одной группы в 22 телки сульфидом натрия, а у другой группы в 22 телки — пиросульфидом натрия. У группы с бобовозлаковой смесью, консервированной пиросульфидом натрия, установлены достоверные различия между кальцием и фосфором в шерстинках. Различия же между натрием и калием в этой группе недостоверны. Недостоверными были и различия между уровнем натрия, калия, кальция и фосфора в сыворотке крови у телок, которым скармливали бобовозлаковую смесь, консервированную пиросульфидом натрия. Согласно выводам работы, результаты уровней минеральных веществ в шерстинках при продолжительном скармливании дают более наглядное представление об их расходовании организмом, чем уровни минеральных веществ в сыворотке крови. Одновременно изучаемая картина крови подтвердила высокодостоверное понижение гемоглобина и гематокрита у обеих групп телок, которым скармливали бобовозлаковую смесь, консервированную примененными химикалиями. В результате оценки результатов уровней минеральных веществ в шерстинках, гематологических данных и влияний, оказываемых на состояние здоровья, сульфид натрия представляется более пригодным консервирующим средством при силосовании, чем пиросульфид натрия.

силос; сульфид натрия; пиросульфид натрия; консервирующие вещества; минеральные вещества крови; гематологическо-биохимические результаты питания.

ŠLESINGER, L. - TUŠL, J. (Research institute of feeds, Pohořelice at Brno, Czechoslovakia). Influence of Sodium Sulphite and Sodium Pyrosulphite in Silage on the Level of Sodium, Potassium, Calcium and Phosphorus in Hairs of *Cirrus capitis* and in Blood Serum of Heifers. Vet. Med. (Praha) 13(3) 181—188, 1968.

In the submitted work the levels of minerals in the blood serum and in the hairs of *cirrus capitis* of one-year-old Red-spotted heifers were investigated. For 4 months the one group of 22 heifers was given a mixture of grass and clover preserved by sodium sulphite and the other group of 22 heifers the same mixture preserved by sodium pyrosulphite. The significant differences of calcium and phosphorus in the hairs of *cirrus capitis* were found in the group of heifers given the mixture of grass and clover preserved by sodium pyrosulphite. The differences of sodium and potassium in this group of heifers were not significant. The differences in levels of sodium, potassium, calcium and phosphorus in the blood serum of heifers given the mixture of grass and clover preserved by sodium pyrosulphite were not significant. As it may be concluded from the results of this work, the levels of minerals in hairs — after giving this feed for a long time — are more instructive regarding their operation in the organism than the levels of minerals in the blood serum. The contemporarily observed blood test has confirmed the highly significant decline of haemoglobin and haematocrit in both the groups of heifers given the mixture of grass and clover preserved by the mentioned chemicals. However, the results of levels of minerals in hairs of *cirrus capitis*, the haematological results and the influence on the state of health having been evaluated, the sodium sulphite seems to be more convenient as a preservative for ensiling than the sodium pyrosulphite.

silage; sodium sulphite; sodium pyrosulphite; preservatives; blood minerals; haematological and biochemical results in nutrition

ŠLESINGER L., TUŠL J. (Forschungsinstitut für Futterbau und -verwertung, Pohořelice bei Brno, Tschechoslowakei) Einfluß des Sulfits und des Natriumpyrosulfits im Gärfutter auf das Natrium-, Kalium-, Kalzium- und Phosphorniveau im Haarschopf und im Blutserum bei Färsen. Vet. Med. (Praha) 13(3) 181—188, 1968.

In der Arbeit wurde das Niveau der Mineralien im Blutserum und im Haarschopf der einjährigen Färsen des Rotfleckviehs verfolgt, die während 4 Monaten mit einer Klee-grasgemenge, welche bei einer Gruppe von 22 Färsen mit Natriumsulfit und bei einer weiteren Gruppe von 22 Färsen mit Natriumpyrosulfit konserviert wurde, gefüttert wurden. Bei der Gruppe der Färsen, die mit einer Klee-grasgemenge gefüttert werden, welche mit Natriumpyrosulfit konserviert wurde,

wurden signifikante Unterschiede des Kalziums und Phosphors im Haarschopf festgestellt. Die Unterschiede des Natriums und Kaliums bei dieser Färsengruppe waren nicht signifikant. Die Unterschiede des Natrium-, Kalium-, Kalzium- und Phosphorniveaus im Blutserum der Färsen, die mit einer Klee-grasgemenge gefüttert werden, welche mit Natriumpyrosulfit konserviert wurden, waren nicht signifikant. Wie aus der Arbeit hervorgeht, geben die Ergebnisse des Mineralienniveaus in den bei einer langfristigen Ernährung ein anschauliches Bild von ihrer Wirtschaftung im Organismus, als die Mineralienniveaus im Blutserum. Das gleichzeitig verfolgte Blutbild bestätigte eine hoch signifikante Herabsetzung des Hämoglobins und Hämatokrits bei beiden Färsengruppen, die mit einer durch angewandte Chemikalien konservierte Klee-grasmenge gefüttert wurden. Jedoch nach der Bewertung der Mineralienniveaus im Haarschopf, der hämatologischen Ergebnisse und des Einflusses auf den Gesundheitszustand, äußert sich das Natriumsulfit als ein geeigneteres Konservierungsmittel für Gärfutter, als Natriumpyrosulfit.

Gärfutter; Natriumsulfit; Natriumpyrosulfit; Konservierungsstoffe; Blutmineralien; hämatologisch-biochemische Ergebnisse in der Ernährung.

Zkušenosti získané při zavádění záznamového systému klinických dat

(Dokončení ze str. 180).

Po zralé úvaze bylo rozhodnuto, aby byl nový způsob záznamů jako systém zaveden na všech stupních a typech příslušných odborných škol najednou, což bude rozhodně výhodnější, než jej postupně zavádět jen v jediném oddělení nebo škole. Hlavní nesnáze, na kterou se zprvu naráželo, bylo to, že některým klinikům se nepodařilo ukončit případ v rozumně krátké době a tak dospět ke konečné diagnóze. Ti, kteří jsou odpovědní za systém evidence klinických údajů jako za celek si musí uvědomit, že i takové zařízení jako je zachycování údajů může být srovnáno s nějakou živou bytostí, která musí být také živena. Je tudíž velmi nutné vysvětlit těm, kteří z toho či onoho důvodu nedodávají potřebné údaje, že jenom zvyšováním kvality potřebných údajů může být zlepšena a zvýšena efektivnost systému.

Jakmile bylo jednou překonáno lpění na starých systémech, bylo již poměrně snadné zavést systém nový. Metoda plynulého a aktuálního zaznamenávání informací pro následné zkrácené dokumentování (abstracting) má být usměrněna tak, aby se neopomenuly závažné údaje, což ovšem většinou znamená obsáhlý systém formulářů. Je také nutno neustále na systém dozírat, aby jakmile se vyskytne nějaká odchylka, mohlo být co nejdříve zasáhnuto na osobní úrovni, adresně u jedince, jehož se to týká.

(Ze Zpráv a sdělení na XVIII. Světovém veterinárním kongresu v Paříži v červenci 1967.)

Zpracoval dr. Stan. Mudra

Adresa autorů:

MVDr. Lubomír Šlesinger, RNDr. J. Tušl, Výzkumný ústav krmivářský,
Pohořelice u Brna

VLIV BERLÍNSKÉ MODŘI NA ROZDĚLENÍ ^{134}Cs U PSŮ KRMENÝCH KONTAMINOVANÝM MASEM

F. Havlíček, I. Kleisner

Vojenský veterinární výzkumný ústav, Praha 5 — Motol

HAVLÍČEK, F., KLEISNER, I. (Vojenský veterinární výzkumný ústav, Praha 5-Motol). Vliv berlínské modři na rozdělení ^{134}Cs u psů krmených kontaminovaným masem. *Vet. Med.* (Praha) 13(3) 189-192, 1968.

Při chronickém podávání kontaminovaného masa u psů bylo při současném podávání berlínské modři nalezeno 15-ti až 20-ti násobné snížení koncentrace ^{134}Cs v organismu. Uvedený ferrokyanid byl podáván jako součást zkrmované potraviny v dávkách 50 mg/kg živé váhy denně.

vnitřní kontaminace, ferrokyanid, podávání psům, ^{134}Cs

Chronické vnikání radioaktivních štěpných produktů do organismů představuje nejobvyklejší způsob vnitřní kontaminace nejen v případě použití jaderných či termojaderných zbraní, ale zejména v případě kontaminace radioaktivním spadem. Vedle inhalace vstupují radioaktivní látky nejčastěji do organismu zažívacím traktem, převážně pak vodou a potravinami. Při kontaminaci zažívacími cestami hrají významnou roli biologické potravní řetězce, zahrnující možnosti vstupu radioaktivních látek uvedenou cestou do organismu. Vedle jiných jsou pro člověka maso a mléko nejpravděpodobnějšími a hlavními zdroji kontaminace radiocesiumem.

Příslušnost cesia k alkalickým kovům a zejména pak k draslíku a využití této skutečnosti ke zvýšení eliminace deponovaného radiocesia z organismu renální cestou, je předmětem četných prací, uvedených přehledně v článkách Ekman (1961) a Catsch (1965). Úspěch, pohybující se na hranicích statistické významnosti, byl kvantitativně překonán použitím prostředků schopných v zažívacím traktu vázat radiocesium ve formě nevstřebatelných substancí. Tyto látky, ke kterým patří především ferrokyanidy (alkalické resp. směsné) a sorbenty přírodního původu (tufy, bentonity, vermikulity apod.), podány *per os* bezprostředně po vniknutí radiocesia do zažívacího traktu zabraňují jeho vstřebání; v pozdním stadiu při vylučování radiocesia zpět do zažívacího traktu, jeho zpětné resorpci.

Ferrokyanidu železito-draselného jsme použili v chronickém experimentu na psech s cílem zjistit účinnost této sloučeniny při podání současně s kontaminovanou potravou — vepřovým masem s obsahem ^{134}Cs .

METODIKA

Pokus byl proveden na 12 psech — křížencích různého stáří, váhy 8,5 až 17 kg. V průběhu 10 dnů bylo zvířatům před vlastním krmením podáno individuálně a kvantitativně syrové maso z vepře vnitřně kontaminovaného radiocesiumem (^{134}Cs bez nosiče). Individuální dávky masa (předem zvážené a stanoven obsah ^{134}Cs) se pohybovaly kolem 80 g denně. Šest psů současně

I. Koncentrace ^{134}Cs v tkáních psů kontrolní a pokusné skupiny, které byla podávána berlínská modř. 6 zvířat ve skupině. Standardní odchylky.

Orgán, tkáň	% na g. 10^2		% kontrol
	kontrola	BM	
Plice	55,5 ± 3,6	4,9 ± 1,5	8,9
Játra	88,7 ± 5,8	5,1 ± 1,4	5,7
Slezina	85,1 ± 3,9	5,2 ± 1,1	6,1
Ledvina	90,5 ± 6,3	4,6 ± 1,3	5,1
Varle	71,6 ± 4,5	3,9 ± 1,0	5,4
Nadledvinka	62,0 ± 7,1	4,4 ± 0,9	7,1
Pankreas	64,6 ± 4,9	4,6 ± 1,2	7,2
Št. žláza	66,0 ± 5,0	6,1 ± 2,1	9,3
Mízní uzliny	61,0 ± 7,1	4,5 ± 0,9	7,4
Srdce	84,8 ± 7,1	5,3 ± 1,6	6,3
Sval	92,8 ± 5,1	4,6 ± 0,4	4,9
Zaž. trakt	85,5 ± 13,7	5,3 ± 0,9	6,3
Mozek	18,8 ± 1,7	0,9 ± 0,1	4,6
Chrupavka	18,0 ± 1,1	0,4 ± 0,1	2,0
Kůže	18,2 ± 1,4	1,6 ± 0,6	9,0
Stehenní kost	40,5 ± 3,1	0	0

s masem dostávalo denně berlínskou modř (dále BM) v dávkách 50 mg na kg ž. v.

Berlínská modř byla připravena srážením ekvimolárních množství roztoků FeCl_3 a $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, potom byla sraženina centrifugována a po trojnásobném promývání vodou byla při 60 °C sušena, práškována a podávána. Po 10 dnech byla zvířata vykrvena a odebrány vzorky jednotlivých orgánů a tkání, jak je uvedeno v tab. I. Pod údajem „sval“ jsou zahrnuty výsledky měření *m. brachialis*, *mm. lingue*, *m. sartorius* a *m. long. dorsi*, protože rozdíl v depozici ^{134}Cs u těchto svalů není statisticky významný ($p = 0,1-0,2$). Ze stejného důvodu údaj „zaživací trakt“ zahrnuje depozici ve stěně žaludku a tenkého střeva. Získané vzorky byly bez další úpravy měřeny scintilačně. Výsledky byly korigovány na tělesnou váhu 15 kg a hodnoceny t-testem.

VÝSLEDKY

Srovnání depozice ^{134}Cs v jednotlivých tkáních u psů krmených masem z vepře kontaminovaného ^{134}Cs u skupiny kontrolní a pokusné, již bylo současně podáváno 50 mg BM na kg ž. v. denně, je v tab. I.

Uvedené hodnoty jsou vyjádřením koncentrace ^{134}Cs v % na g čerstvé tkáně, přičemž za 100 % bylo individuálně vzato zkrmené množství ^{134}Cs v průběhu 10 dnů, (uvedeny standardní odchylky). Srovnání depozice u pokusné a kontrolní skupiny ukazuje sloupec hodnot vyjádřený v % kontrol.

Charakter distribuce ^{134}Cs v tkáních kontrolní skupiny nevykazuje zřejmých rozdílů proti jednorázovému podání (Havlíček 1967). V sestupné řadě je ^{134}Cs deponováno ve svalech, ledvinách, zažívacím traktu a varlatech, přičemž přes většinu tkání s prakticky stejným obsahem ^{134}Cs bylo nejméně zjištěno v chrupavce (*cartilago xyphoidea*), mozkou a kůži. Přes vysokou detekční účinnost užitého zařízení (přes 50 %) a relativně vysokou dávku podaného ^{134}Cs (přibl. 40 μC), nebyla nalezena měřitelná aktivita ^{134}Cs v krvi, lopatce a žebrech. Použití BM nevykazuje proti kontrolám výrazný vliv na charakter distribuce ^{134}Cs . Pro tkáň s nejvyšší depozicí vykazuje snížení na 1/20, přičemž tato účinnost platí pro většinu sledovaných tkání. V kostech (stehenní kost, lopatka, žebra) nebylo nalezeno měřitelné množství ^{134}Cs .

DISKUSE

Retence radiocesia u psů při jednorázovém vzniku do organismu nezávisle od cesty vstupu, je charakterizována složenou exponenciální funkcí. V časovém úseku 10 dnů, ve kterém byl náš experiment proveden, dominují dva biologické poločasy (T_b). S T_b asi 1 den je vylučována frakce asi 10% a další frakce 56% s $T_b = 28$ dní (Richmond 1958), resp. $T_b = 7$ dní pro frakci 15% (Boecker 1965).

Při pravidelném chronickém vnikání radiocesia do organismu je výsledná retence v jednotlivých tkáních vyjádřena rovnicí se dvěma členy, které charakterizuje vedle hromadění (úměrné frakci ukládající se v dané tkáni při jednorázovém vniknutí a množství vstupujícího radiocesia), zároveň eliminaci odpovídající složené exponenciální závislosti (Moskalev 1961). Moskalevem nalezené T_b pro většinu tkání odpovídají zhruba 16 až 17 dnům, vyjma svaly s $T_b = 29,5$ dní. Podmínkou platnosti uvedené rovnice je prakticky úplné vstřebání podaného radiocesia.

Užití BM současně při zkrmování kontaminovaného masa vytváří již v počátečním stadiu předpoklad zábrany vstřebání radiocesia, jinými slovy předpoklad snížení množství, které se může v organismu deponovat. Kapacita i množství BM, které bylo námi použito je však dostatečné i pro vazbu radiocesia zpětně vylučovaného do zažívacího traktu. Výsledné snížení koncentrace ^{134}Cs v tkáních na 1/15 až 1/20 kontrolní skupiny je teoreticky výsledkem obou možností.

Účinnost BM a ostatních ferrokyanidů byla ověřena v četných experimentech podobných v tom, že radiocesium bylo podáváno jako vodný, beznosičový roztok (Nigrovic 1965; Richmond 1966; Havlíček 1967). Rozhodující v našem experimentu nebylo ověření BM všeobecně, ale zjištění možnosti běžného použití, to znamená prakticky způsob podání při konzumaci kontaminované součásti přirozené potravy.

Je-li radiační dávka úměrná množství deponovaného radiocesia, je rozhodující snížení jeho koncentrace v radiosensitivních tkáních (varlata, kosti) důležitým poznatkem v terapii vnitřní kontaminace.

Došlo dne 15. 9. 1967

Technická spolupráce Z. Volánek.

Literatura

1. BOECKER, B. B.: The whole-body retention of inhaled ^{137}Cs in beagle dogs. = „US Report“ LF-28, 1958 : 111-127.
2. CATCH, A.: Handbuch der medizinischen Radiobiologie. Springer Verlag (Berlin, Heidelberg, N. Y.). 1966, Band II, Teil 2.

3. EKMAN, L.: Distribution and excretion of radiocesium in goats, pigs and hens. = „Acta vet. Scand.“ 2, 1961 : Suppl. 4.
4. HAVLÍČEK, F., KLEISNER, I., DVORÁK, P., POSPÍŠIL, J.: Die Wirkung von Zyanoferraten auf die Ausscheidung von Radiozäsium bei Ratten und Ziegen. = „Strahlentherapie“ 134, 1967 : 123-129.
5. MOSKALEV, J. I.: Raspredelenije, biologičeskoje dėjstvije i migracija izotopov. = „Medgiz Moskva“. 1961, 19 s.
6. NIGROVIC, V.: Retention of radiocaesium by the rat as influenced by Prussian blue and other compounds. = „Phys. Med. Biol.“ 10, 1965 : 81-91.
7. RICHMOND, C. R., BUNDE, D. E.: Enhancement of cesium-137 excretion by rats maintained chronically on ferric ferrocyanide. = „Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.“ 121, 1966 : 664-670.
8. RICHMOND, C. R.: Retention and excretion of radionuclides of the alkali metals by five mammalian species. = „US Report“ La-2207, 1958.

ГАВЛИЧЕК Ф., КЛАЙШЕР И. (Военный научно-исследовательский институт ветеринарии, Прага, Чехословакия). Влияние берлинской лазури на распределение ^{134}Cs у собак, кормленных загрязненным мясом. Вет. мед. (Прага) 13 (3) 189-192, 1968.

При хронической дачи загрязненного мяса одновременно с берлинской лазурью у собак наблюдалось 15-ти—20-кратное понижение концентрации ^{134}Cs в организме. Упомянутый ферроцианид применялся в качестве составной части скармливаемой пищи в дозах 50 мг/кг живого веса ежедневно.

внутренняя контаминация, ферроцианид, подача собакам, ^{134}Cs .

HAVLÍČEK, F. - KLEISNER, I. (Military veterinary research institute, Prague, Czechoslovakia.) *The Influence of Ferric Ferrocyanide on the Concentration of ^{134}Cs in Dogs Fed on the Contaminated Meat.* Vet. Med. 13 (3) (Praha) 189—192, 1968.

It was found that in dogs given continuously the contaminated meat and contemporarily the ferric ferrocyanide, the concentration of ^{134}Cs in organism decreased 15 to 20 times. The mentioned ferrocyanide was administered as a part of feeds at the rate of 50 mg per 1 kg of live weight daily.

internal contamination, ferrocyanide, dispensation to dogs, ^{134}Cs

HAVLÍČEK, F. - KLEISNER, I. (Militärisches Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Praha, Tschechoslowakei.) *Einfluß des Berlinerblaus zur Verteilung von ^{134}Cs bei Hunden, die mit kontaminiertem Fleisch gefüttert wurden.* Vet. Med. (Praha) 13 (3) 189—192, 1968.

Bei einer chronischen Verabreichung von kontaminiertem Fleisch bei Hunden wurde bei der gegenwärtigen Verabreichung von Berlinerblau eine 15- bis 20-fache Herabsetzung der Konzentration ^{134}Cs im Organismus gefunden. Das angeführte Zyanoferrat (II) wurde als ein Bestandteil der verfütterten Nahrung in Gaben von 50 mg/kg Körpergewicht täglich verabreicht.

Innenkontaminierung, Zyanoferrat (II), Verabreichen an Hunde. ^{134}Cs .

Adresa autorů:

Ing. František Havlíček, ing. Ivan Kleisner, Vojenský veterinární výzkumný ústav, Praha 5 - Motol, pú 56

Vedoucí: Doc. MVDr. J. Hrušovský, CSc.

PRÍSPEVOK K IMUNOLOGICKÉMU ŠTÚDIU SÉROVÉHO GONADOTROPÍNU (PMSG) A OVČIEHO LUTEINIZAČNÉHO HORMÓNU (LH)

J. Arendarčík, Z. Koppel, L. Itze

Veterinárská fakulta VSP, Košice

ARENDAČÍK J., KOPPEL Z., ITZE L. (Veterinárská fakulta VSP, Košice) *Príspevok k imunologickému štúdiu sérového gonadotropínu (PMSG) a ovčieho luteinizačného hormónu (LH)*. Vet. Med. [Praha] 13 (3) : 193-199, 1968. — Charakterizuje sa homogenita a aktivita preparátov: sérových gonadotropínov PMSG (Leo), Equinex (Ayerst), Gestyl (Organon), luteinizačného hormónu NIH-LH-S 11-ovine (Bethesda) a komerčného preparátu PMSG našej výroby. Precipitačné reakcie sa previedli imunoelektroforeticky a Ouchterlonyho agar-gel precipitáciou. Krížové reakcie medzi antigénom PMSG a antisérom LH-ovine a medzi antisérom PMSG a antigénom LH-ovine boli negatívne. V biologickom teste na krysách antisérum LH-ovine nereagovalo s PMSG a s extraktom z bravčovej hypofýzy. Usudzuje sa, že ovčí LH je druhovo špecifický hormón. Komečný preparát PMSG našej výroby vykazuje nehomogénnosť a kontamináciu aspoň piatimi komponentami. Pre imunologické účely je nevhodný. imunoelektroforéza; agar-gel precipitácia; sérový gonadotropín (PMSG); luteinizačný hormón (LH); ovca; druhová špecifita hormónu.

K dôkazu aktivity hypofyzárnych a extrahypofyzárnych gonadotropínov sa v posledných rokoch začínajú používať imunologické metódy vedľa biologických testov. Pre imunologické testy sa používajú vysoko čistené a druhovo-špecifické hormóny ako antigény.

Antigenný charakter gonadotropných hormónov je známy od čias výskumov Long a Evansa z r. 1922 a Zondeka a Sulmana z r. 1937 (Junge a kol. 1965). Biologický význam antihormónov bol prvýkrát citovaný Collipom (1935). Zistil, že séra zvierat imunizovaných thyreotropným hormónom inhibujú biologický účinok tohoto hormónu u pokusných zvierat. Leatham a kol. (1947) dokázali, že protirahované podávanie heterologných hormónov vyvolá tvorbu odpovedajúcich antihormónov. Po protirahovanom podávaní hypofyzárnych gonadotropínov ako aj gonadotropínov zo séra žrebných kobýl, vytvárajú sa po určitom čase u pokusných zvierat tak isto protilátky. Tieto sa dajú dokázať biologickým testom, neutralizujúcim aktivitu súčasne podaného hormónu alebo serologicky, precipitačnou reakciou protilátky s antigénom (Wide a kol. 1963). Je celý rad literárnych údajov o tvorbe protilátok proti inzulínu, rastovému hormónu, thyreotropínu, chóriovému gonadotropínu, FSH a ICSH, prolaktínu a ACTH (Arquilla a kol. 1956; Maloney a kol. 1955; Moudgal a kol. 1961). Tieto protilátky sa použili k dôkazu a titrovaniu hormónu pôvodne použitého ako antigénu. Vzhľadom na hormóny predného laloku hypofýzy uvádza Mc Garry a kol. (1964), že protilátky proti ACTH a TSH sú špecifické ale nie druhovo špecifické, zatiaľ čo protilátky proti rastovému hormónu FSH a LH sú druhovo špecifické. Na tvorbu protilátok proti ovčímu FSH poukázal Segal a kol. (1960), že vytvorenú krížovú reakciu s ovčím LH antisérom možno eliminovať absorpciou s LH antigénom.

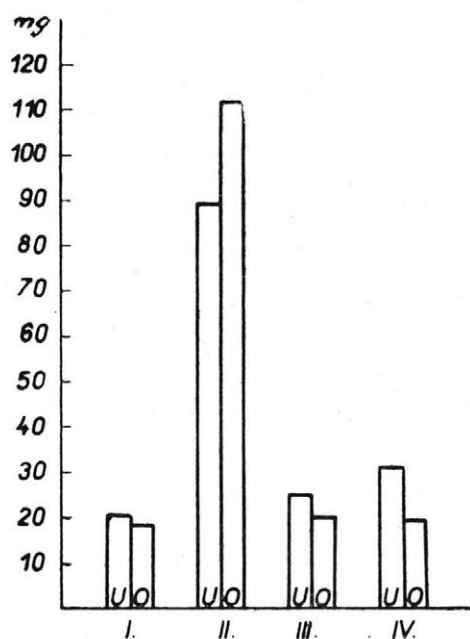
V práci sa previedla imunologická analýza rôznych PMSG preparátov zahraňnej a našej výroby ako aj čisteného ovčieho LH.

MATERIÁL A METODIKA

Imunizácia každým preparátom (PMSG, Leo Pharmaceutical Products, Ballerup, Denmark; Sérový gonadotropín PMSG-komerčný preparát domácej výroby; NIH-LH-S 11-ovine, Bethesda, USA) sa previedla vždy u jedného králika 2–3 kg ž. v. PMSG bol podávaný s.c. v dávke 10 000 I. U. v 10 dňových intervaloch simultánne 4–6 krát za sebou v Ramonovom adjuvansi. Posledná dávka PMSG 20 000 I. U. sa podávala i.v. vo fyziologickom roztoku a za 10–12 dní bola odobratá krv. Sérum s pridaním azidu sodného sa uchovávalo pri (-15°C) až do pokusu (Wide a kol. 1960). Imunizácia s NIH-LH-S 11-ovine sa previedla podľa zložitej schémy uvedenej podrobne Moudgalom a Choh Hao-Li (1961). Vyšetrenie antisér sa prevádzalo dvojitou precipitáciou na agar-gélu podľa Ouchterlonyho (1953) a imunoelektroforézou podľa Grabara a kol. (1963). Extrakcia hypofýzy bola prevedená Wilhelmiho metódou (1961).

VÝSLEDKY

Antiséra imunizovaných králikov vykázali vhodný titer ako ukazujú výsledky prevedeného biologického testu na krysách s čisteným PMSG „Leo“ (tab. I) a titer antiséra komerčného PMSG (graf 1). Tab. II. ukazuje titer antiséra proti ovčiemu LH. Antisérum LH neinhibovalo aktivitu PMSG. Imuno-elektroforetická reakcia PMSG „Leo“ s odpovedajúcim antisérom PMSG je na obr. 1. Čistený preparát PMSG „Leo“ dáva jednu precipitačnú líniu v oblasti alfa 1 globulínu, zaujímajúci miesto alfa 1 glycoproteínu. Identifikáciu precipitačných línií sme previedli podľa Ossermana. Obr. 2 uka-



Graf 1.

- I. Kontrola
- II. PMSG 50 m. j./krysa
- III. Antisérum PMSG 0,5 ml/krysa
- IV. Antisérum PMSG 0,5 ml/krysa + PMSG 50 m. j./krysa
- U = maternica
- O = vaječník
- I, II; $P < 0,02$
- II, III; $P < 0,02$
- III, IV; nesign.
- I, III; nesign.

I. Účinok kraličieho antiséra — PMSG na aktivitu PMSG u normálnych krysích samcov a samíc

Skupina	Pohlavie kryš	Počet kryš	Pokusný materiál m. j. + ml	Celková dávka na krysu za 4 dni	Ventrálna prostata v mg	Mechúrikovitité žľazy v mg	Vaječníky v mg	Maternice v mg	Štatist. porovnanie skupín
1	samci	5	0,9 % NaCl 0,5	2,0 ml	11,6 ± 1,75	5,0 ± 0,1	—	—	2,3 P < 0,01 P < 0,01
2	samci	5	PMSG 10 m. j.	10 m. j.	34,0 ± 4,27	14,0 ± 2,89	—	—	
3	samci	5	PMSG + AS-PMSG	10 m. j. 0,25 ml	17,5 ± 2,29	6,9 ± 0,25	—	—	
4	samice	5	0,9 % NaCl 0,5	2,0 ml	—	—	22,4 ± 4,96	42,2 ± 9,37	5,6 P < 0,01 P < 0,01
5	samice	5	PMSG	10 m. j.	—	—	141,0 ± 15,86	125,2 ± 8,89	
6	samice	5	PMSG + AS-PMSG	10 m. j. 0,75 ml	—	—	30,5 ± 3,19	55,5 ± 9,07	

* P podľa Studentovho kritéria t

** PMSG, Leo Pharmaceutical Products, Ballerup, Denmark, Batch 165 123

II. Účinok králičieho antiséra NIH—LH—S 11—ovine na endogennú aktivitu PMGS u kryš

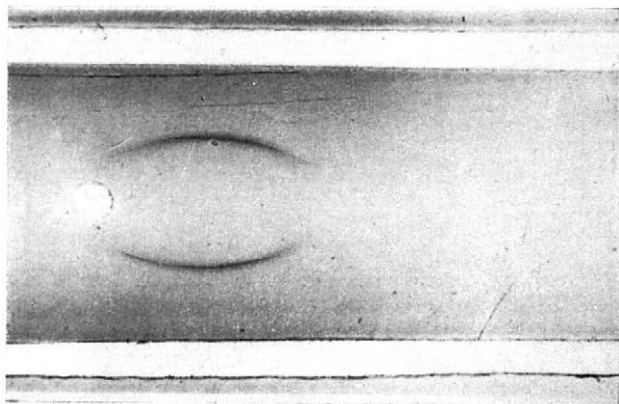
Skupina	Krysy samci a)	Počet kryš	Podaný pokusný materiál	Celková dávka podaná za 4 dni m. j. + ml	Ventrálna prostata mg	Mechúrikovitá žľazy	Štatist. porovnanie skupín e)
1	samci	10	0,9 % NaCl	0 + 2	8,0 ± 0,22	6,4 ± 0,14	2,3; P < 0,02
2	samci	4	LH — ovine b)	0,2 m. j. + 0	17,2 ± 1,03	10,2 ± 0,20	
3	samci	5	LH-ovine + AS-LH ovine	0,2 m. j. + 1,0	12,8 ± 1,02	8,4 ± 0,29	
4	samci	5	HOŠ — 10	25 mg + 0	12,0 ± 0,22	6,3 ± 0,23	
5	samci	5	HOŠ — 10 + AS-LH ovine	25 mg + 1,0	10,3 ± 0,11	5,6 ± 0,02	4,5; nesign.
6	samci	5	PMSG c)	6,7 m. j. + 0	15,6 ± 2,88	20,2 ± 1,30	6,7; nesign.
7	samci	5	PMSG + AS-LH ovine	6,7 m. j. + 1,0	12,1 ± 1,28	19,6 ± 0,11	

a 21 dňové na začiatku pokusu

b NIH-LH-S 11-ovine, Bethesda USA

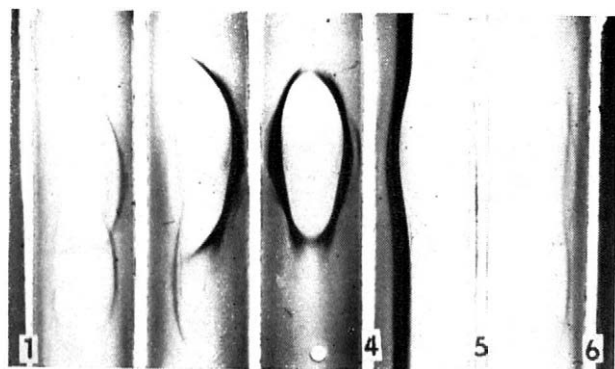
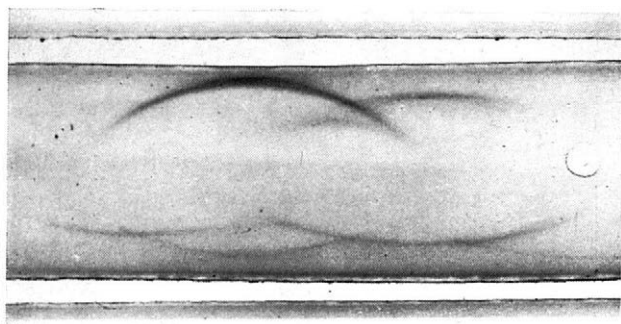
c PMSG Leo Pharmaceutical products, Denmark

e hodnoty vypočítané Studentovým „t“ testom



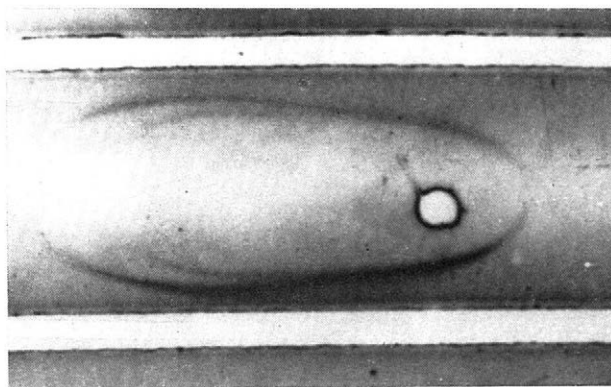
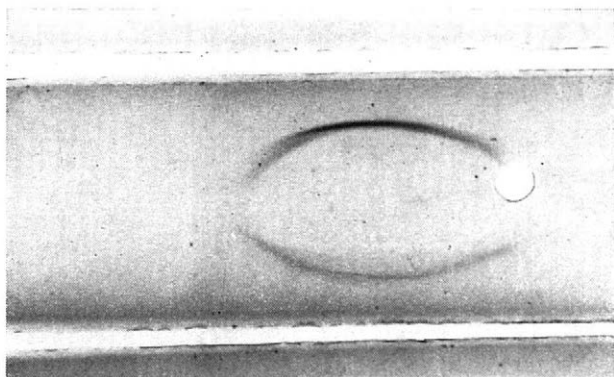
1. Imunoelektroforéza
V strede PMSG „Leo“
0,1 ml (27 I. U.); po stranách
antisérum PMSG
0,1 ml, 1 hod., 90 V, 7,5
mA

2. Imunoelektroforéza
V strede PMSG-komerč-
ný 3,3 I. U., po stranách
antisérum PMSG 0,2 ml,
1 hod., 90 V, 7,5 mA

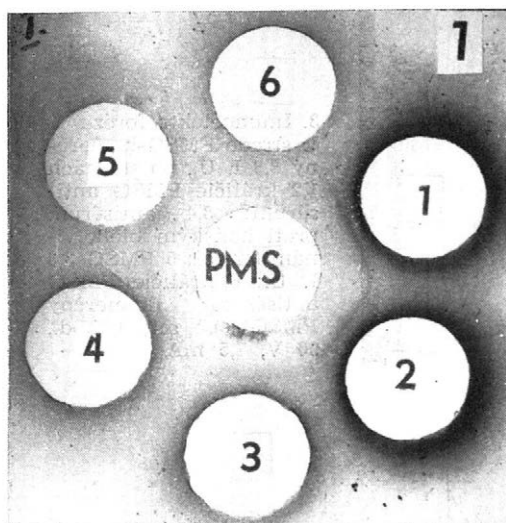


3. Imunoelektroforéza
V strede PMSG-komerč-
ný 3,3 I. U., po stranách
1,2 králičie PMSG anti-
sérum; 3,4 antisérum
proti koňským bielkovi-
nám 0,2 ml; 5 PMSG 3,3
I. U.; 6 králičie PMSG
antisérum (komerčný
PMSG) 0,2 ml; 1 hod.,
90 V, 7,5 mA

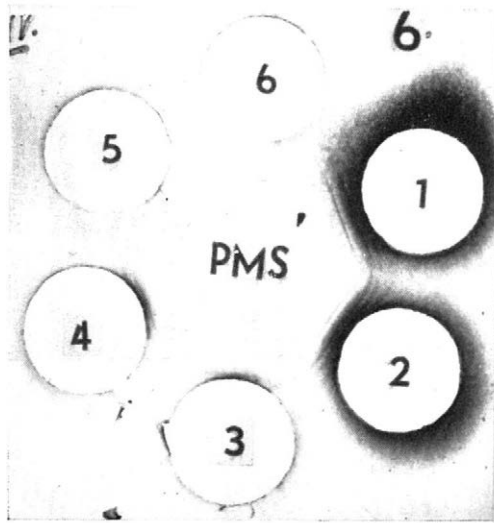
4. Imunoelektroforéza
V strede Equinex „Ay-
erst“ 11, 6 I. U.; po stra-
nách antisérum PMSG
„Leo“; 0,2 ml, 1 hod.
90 V, 7,5 mA



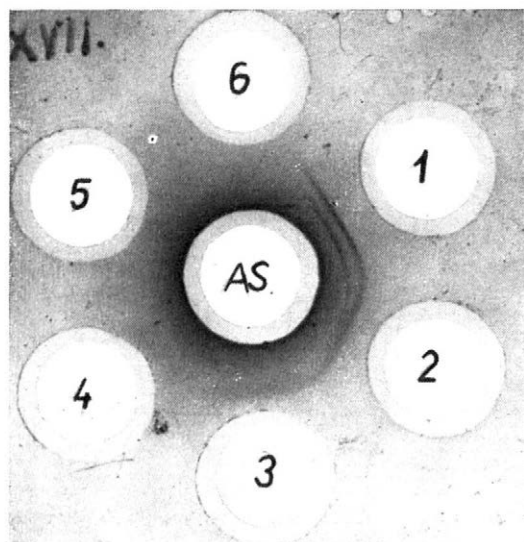
5. Imunoelektroforéza
V strede NIH-LH-S 11-
ovine 0,006 I. U., po
stranách antisérum proti
NIH-LH-S 11-ovine 0,1
ml, 1 hod., 90 V, 7,5 mA



6. Ouchterlonyho agar-gel precipitácia
V strede PMSG „Leo“ 18 I. U.; 1—6 0,1
ml antisérum proti PMSG „Leo“ postup-
ne riedené 1:1; 1:2; 1:4

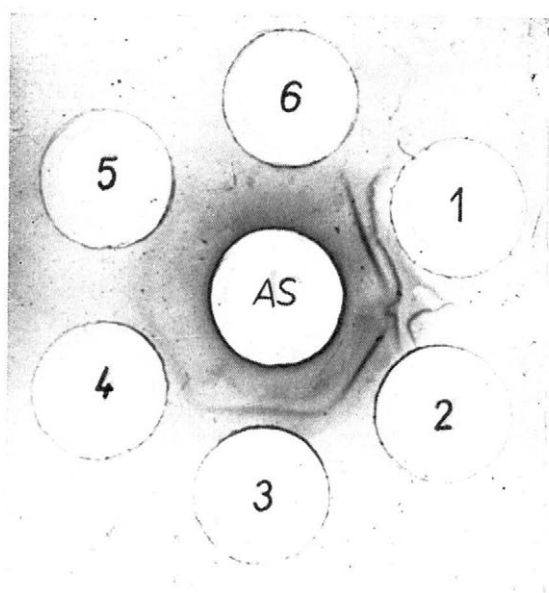


7. Ouchterlonyho agar-gel precipitácia
V strede antisérum proti PMSG komerč-
ný 0,1 ml, 1—6 PMSG komerčný, postup-
ne riedený 100 I. U. (1:1 — 1:16)

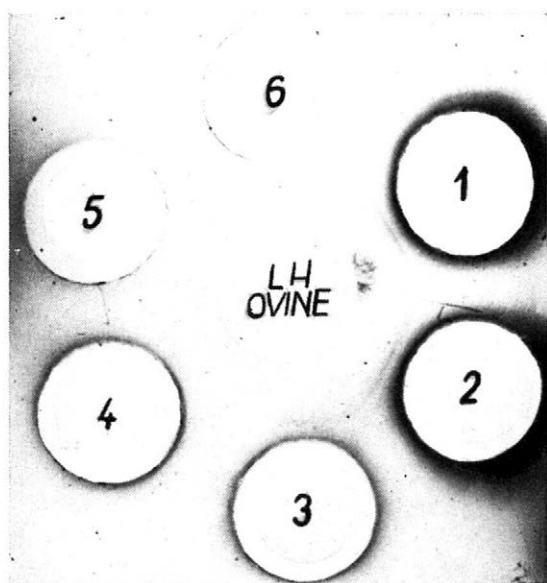
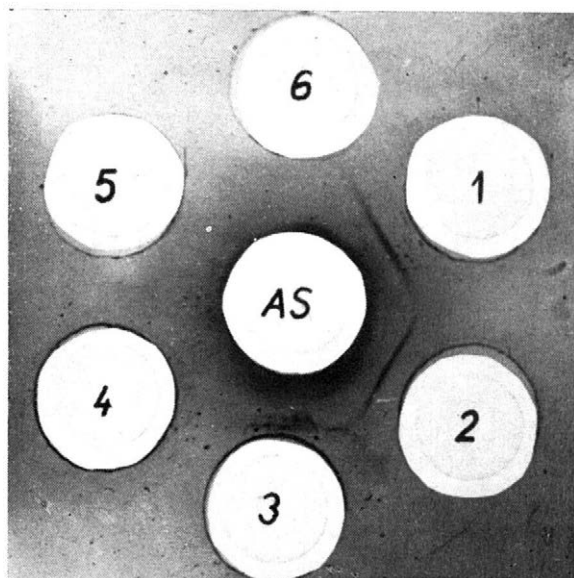


8. Ouchterlonyho agar-gel
precipitácia
V strede antisérum PMSG
„Leo“ 0,1 ml; 1—6 Equinex
400 I. U. postupne riedený 1 : 1
— 1 : 16

9. Ouchterlonyho agar-gel
precipitácia
V strede antisérum PMSG
„Leo“ 0,1 ml; 1—6 Gestyl 50
I. U. postupne riedený 1 : 1 —
1 : 16



10. Ouchterlonyho agar-gel precipitácia
 V strede antisérum PMSG -
 komerčný 0,1 ml, 1—6 Equinex
 400 I. U., postupne riedený
 1 : 1 — 1 : 16 (hore)



11. Ouchterlonyho agar-gel precipitácia
 V strede NIH-LH-S 11-ovine 0,1 I. U.; 1—6, 0,1 ml antisérum proti NIH-LH-S
 11-ovine postupne riedené 1 : 1 — 1 : 16

zuje precipitačnú reakciu komerčného PMSG čl. výroby s odpovedajúcim antisérom. Niekoľko precipitačných línií svedčí o jeho kontaminácii viacerými komponentami. Pri krížovej skúške komerčného preparátu PMSG ako antigénu s antisérom proti koňským bielkovinám (obr. 3) došlo k ohnutoj silnej precipitačnej línii v albumínovej oblasti. Tam, kde antigén difundoval proti králičiemu PMSG antiséru, precipitačná línia sa dvakrát ohla v oblasti alfa 1 globulínu a v oblasti albumínu. Krížová skúška antigénu PMSG „Leo“ oproti antiséru proti koňským bielkovinám prevedená imunoelektroforeticky ukázala pozitívnu precipitačnú reakciu len medzi PMSG antigénom a antisérom PMSG. Pri reakcii Equinex „Ayerst“ s antisérom PMSG „Leo“ sme dostali dve precipitačné línie (obr. 4). Reakcia Gestyl „Organon“ proti antiséru PMSG „Leo“ vykazuje slabú precipitačnú líniu v najsilnejšej koncentrácii antiséra PMSG.

Imunoelektroforetická analýza ovčieho LH a odpovedajúceho antiséra LH vykazuje tri precipitačné línie (obr. 5). Pozitívnu precipitačnú krížovú reakciu medzi antigénom PMSG „Leo“ a NIH-LH-S 11-ovine antisérom a obrátene sme nemohli dokázať.

Dvojitou agar-gel difúziou podľa Ouchterlonyho sa zistila jedna precipitačná línia u PMSG „Leo“ (obr. 6) a niekoľko precipitačných línií u komerčného preparátu PMSG našej výroby (obr. 7). Obrázok 8 ukazuje jednu precipitačnú líniu medzi antisérom PMSG „Leo“ a Equinexom. Podobnú reakciu sme obdržali s preparátom Gestyl „Organon“ (obr. 9). Komerčný PMSG preparát v reakcii s Equinexom (obr. 10) vykazuje dve výrazné precipitačné línie. Ovčí LH antigén v reakcii s antisérom LH vykazuje dve rôzne silné precipitačné línie (obr. 11). Pri krížovej reakcii PMSG antigénu oproti ovčiemu antiséru LH a obrátene nedostali sme žiadnu precipitačnú reakciu prevedenú Ouchterlonyho agar-gel difúziou.

DISKUSIA

Výsledky dosiahnuté pri analýze Ouchterlonyho dvojitou agargel precipitáciou, imunoelektroforézou ako aj biologickým testom na krysách ukazujú, že u preparátu PMSG „Leo“ sa jedná o čistý antigén a že protilátky v králičom sére majú vysoký titer a sú schopné neutralizovať aktivitu odpovedajúcich PMSG antigénov. Podobnú biologickú reakciu sme obdržali aj u komerčného PMSG našej výroby. Biologický test ukázal, že ovčí LH nereaguje s PMSG ani s extraktom z bravčovej hypofýzy podobne ako uvádza Moudgal a kol. (1961). Že sme nedostali precipitačnú reakciu v krížovej skúške medzi PMSG „Leo“ a odpovedajúcim antisérom a ovčím LH a antisérom LH a v biologickom pokuse medzi extraktom z bravčovej hypofýzy a ovčím antisérom LH, nazdávame sa, podobne ako uvádza Flux a Li (1965), že sa jedná o druhovú špecifitu ovčieho LH. Komerčný PMSG našej výroby je kontaminovaný viacerými komponentami a pre imunologické testy je nevhodný.

Došlo dňa 10. 7. 1967

Podakovanie: Ďakujeme Løvens Kemiske Fabrik, Ballerup, Denmark, za ochotné darovanie PMSG preparátu a prof. Dr. Chr. Hamburgerovi za sprostredkovanie. Ďakujeme prof. Dr. Wilhelmimu, Atlanta, Georgia USA a National Institutes of Health, Bethesda Maryland, USA za láskavé darovanie LH.

Literatúra

1. ARQUILLA, E. R. - STAVITSKY, A. B.: The production and identification of antibodies to insulin and their use in assaying insulin. = „J. Clin. Invest.“, 35, 1956 : 458-463.
2. COLLIP, J. B.: Recent studies on antihormone. = „Am. Int. Med.“ 9, 1935 : 150.
3. FLUX, D. S. - CHOH HAO LI: Immunological cross reactions among gonadotropins. = „Acta endocr. (Kbh.)“, 48, 1965 : 61-71.
4. GRABAR, P. - BURTEN, P.: = „Imunoelektroforetičeskij analiz.“ Moskva 1963, I. I. L. Moskva, str. 206.
5. JUNG, W. - WILKEN, H.: Immunologische Untersuchungen mit Schweine — FSH. = „Endokrinologie“, 48, 5-6, 1965 : 293-297.
6. LEATHEM, J. H. - KAKOFF, A. E.: Equine pituitary gonadotropin and antihormone formation. = „Endocrinology“, 40, 1947 : 454-457.
7. MALONEY, P. J. - COVAL, M.: Antigenity of insulin. Diabetes induced by specific antibodies. = „Biochem. J.“, 59, 1955 : 179-183.
8. MOUDGAL, N. R. - CHOH HAO LI: An immunochemical study of sheep pituitary interstitial cell-stimulating hormone. = „Arch. Biochem. Biophys.“, 95, 1, 1961 : 93-98.
9. MC GARRY, E. E. - AMBE, L. - MAYAK, R. - BIRCH, E. - BECK, J. C.: Studies with antisera to pituitary hormones. = „Metabolism.“, 13, 10, 1964 : 1154-1164.
10. OUCHTERLONY, O.: „Acta Path. microbiol. Scand.“ 32, 231, 1953. (cit. Michalec C. - Kořínek J. - Musil J. - Růžicka J.): Elektroforesa na papíře a v jiných nosičích, 157, 279, 1959.
11. SEGAL, S. J. - NIU, L. - HAKIM, S.: Immunologic analysis of sheep pituitary LH. = „Acta endocr.“, 35, Suppl. 51, 1960.
12. WIDE, L. - GEMZELL, C. A.: An immunological pregnancy test. = „Acta endocr.“, 35, 1960 : 261-267.
13. WIDE, M. - WIDE, L.: Diagnosis of pregnancy in mares by an immunological method. = „Nature“, 198, 4881, 1963 : 1017-1018.
14. WILHELM, A. E.: Fractionation of human pituitary glands. = „Can J. Biochem. Physiol.“, 39, 1961 : 1659-1668.

АРЕНДАРЧИК, Й. - КОППЕЛ, З. - ИЦЕ, Л. К иммунологическому исследованию сывороточного гонадотропина (PMSG) и овечьего лютеинизирующего гормона (LH). Вет. мед. (Прага) 13 (1) : 193-199, 1968.

Характеризуются гомогенность и активность следующих препаратов: сывороточных гонадотропинов PMSG (Leo), Equinex (Ayerst), Gestyl (Organon), NIH-LH-S 11-ovine (Bethesda) и коммерческого препарата PMSG туземной продукции. Реакции преципитации производили путем иммуноэлектрофореза и агар-гел-преципитации по Ouchterlony. Перекрестные реакции между антигеном PMSG и антисывороткой LH-ovine и между антисывороткой PMSG и антигеном LH-ovine были отрицательны. При биологической пробе с крысами антисыворотка LH-ovine не реагировала с PMSG и с экстрактом из гипофиза свиньи. Считается, что овечий LH — это гормон, отличающийся видовой специфичностью. Коммерческому препарату PMSG туземной продукции присущи негетерогенность и контаминация по меньшей мере пятью компонентами. Он не пригоден для иммунологических целей. Иммуноэлектрофорез; агар-гел-преципитация; сывороточный гонадотропин (PMSG); лютеинизирующий гормон (LH); овца; видовая специфичность гормона.

ARENDAŘČIK, J., KOPPEL, Z., ITZE, L. (Veterinary Faculty of the College of Agriculture, Košice, Czechoslovakia.) On the Immunological Study of Serum Gonadotropin (PMSG) and of the Sheep Luteinizing Hormone (LH). Vet. Med. (Prague) 13 (1) : 193—199, 1968.

There is a characterization of the homogeneity and activity of the following preparations: serum gonadotropins PMSG (Leo), Equinex (Ayerst), Gestyl (Organon), the luteinizing hormone NIH-LH-S 11-ovine (Bethesda), and the commercial PMSG preparation of Czechoslovak production. Precipitation reaction was performed immunoelectrophoretically and by means of Ouchterlony's agar-gel precipitation. Cross reactions between the PMSG antigen and the LH-ovine antiserum and between

the PMSG antiserum and the LH-ovine antigen were negative. In a biological test with rats the LH-ovine antiserum did not react to PMSG and to an extract from pig hypophysis. It is assumed that the ovine LH is a species-specific hormone. The commercial PMSG preparation of Czechoslovak production shows a non-homogeneity and contamination with at least five components. It is unsuitable for immunological purposes.

Immunoelectrophoresis; agar-gel precipitation; serum gonadotropin (PMSG); luteinizing hormone (LH); sheep; species-specificity of hormone.

ARENDARČIK, J., KOPPEL, Z., ITZE, L. (Veterinär-Fakultät der Landwirtschaftlichen Hochschule, Košice, ČSSR.) *Beitrag zum immunologischen Studium des Serumgonadotropins (PMSG) und des Luteinisierungshormons beim Schafe (LH)*. Vet. Med. (Praha) 13 (1): 193—199, 1968.

Es wird die Homogenität und Aktivität folgender Präparate charakterisiert: Serumgonadotropine PMSG (Leo), Equinex (Ayerst), Gestyl (Organon), Luteinisierungshormon NIH-LH-S 11-ovine (Bethesda) und das Handelspräparat PMSG tschechoslowakischer Erzeugung. Die Präzipitationsreaktionen wurden immunoelektrophoretisch und mittels der Ouchterlony-Agar-Gel-Präzipitationsmethode durchgeführt. Die Kreuzreaktionen zwischen dem Antigen PMSG und dem Antiserum LH-ovine und zwischen dem Antiserum PMSG und dem Antigen LH-ovine waren negativ. Im biologischen Test mit Ratten reagierte das Antiserum LH-ovine mit PMSG und mit dem Schweinehypophysenextrakte nicht. Man nimmt an, daß das Schaf-LH ein artspezifisches Hormon darstellt. Das tschechoslowakische PMSG-Handelspräparat ist unhomogen und mindestens mit 5 Komponenten kontaminiert. Es ist für immunologische Zwecke ungeeignet.

Immunoelektrophorese; Agar-Gel-Präzipitation; Serumgonadotropin (PMSG); Luteinisierungshormon (LH); Schaf; Hormonartspezifität.

Adresy autorov:

Doc. MVDr. Jozef Arendarčík, CSc., doc. MVDr. Zoltán Koppel, CSc., MVDr. Lubomír Itze, CSc., VŠP, veter. fakulta, Košice, Komenského 71

Podepsáno k tisku dne 24. 4. 1968

Výběr z nových přírůstků

Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI ÚZPV na úseku veterinářství

D 54.997/18 Progr.

18. congrès mondial vétérinaire. Paris, 17.—22. 7. 1967. Programme. Paris, Association mondiale vétérinaire 1967. 28 s. (Veterinární kongresy mezinárodní — 18. [1967] — Paříž — programy)

Sbornik ot zakonopoloženija po veterinarno delo.

D 55.236

Zakoni, ukazi, postanovlenija, razporeždanija na ministerskija savet i naredbi, pravilnici, instrukcii i drugi ministerstvoto na sel'skostopanskoto proizvodstvo. (Sofija). Zemizdat 1965. 904 s. (Veterinární zákony — Bulharsko)

Trudy Instituta zoologii Akademii nauk Kazachskoj SSR.

D 24.093/28

T.28. Prostejšije vzbuditeli boleznej životnyh Kazachstana. Alma-Ata, n.vl. 1967. 182 s. obr. tb. (Veterinární protozoologie — sborníky — SSSR — Kaz. SSR)

Czerkawski, J. W.

D 53.988/607

The effect on digestion in the rumen of a gradual increase in the content of fatty acids in the diet of sheep. Ayr, Hannah dairy research inst. 1966. 833—842 s. 2 obr. 5 tb. H.D.R.I. Reprint No. 607. (Bachor — trávení — kyseliny mastné — vliv — výzkum — ovce)

Chilling. Liverpool, R. Silcock and sons Ltd.

C 18.014/5

1965. 2 s. Bulletin — Silcock advisory service No. 5. (Kušata — nemoci — nachlazení — letáky)

Karavajev, V. M. — Koljakov, V. L. — Korževenko, G. N.

E 32.678

Veterinarno-sanitarnaja ekspertiza produktov životnovodstva pri radiacionnych poraženijach. Moskva, Kolos 1967. 157 s. 14 dbr. (Hospodářská zvířata — radioaktivní záření — vliv — příručky/Radioaktivní kontaminace — živočišné výrobky — veterinární prohlídky — příručky)

Meinecke, Christine — Boden, Wolfgang — Rumler, Hans — Joachim

E 32.775

Tierarzneimittel-Verzeichnis. Verzeichnis. der Arzneimittel zur Anwendung auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. 3. Ausgabe. Jena, VEB G. Fischer 1967. 472 s. (Veterinární léčiva — NDR — seznamy)

D 55.227

Veterinary specialities vaccines and feed additives. Bruxelles, Pfizer corporation b. r. (1968). 56 s. tb. (Veterinární léčiva — USA — přehledy/Krmné přísady — USA — přehledy)

Plastridge, W. N. — Hale, H. H.

C 13.235/14

Diagnosis and treatment of mastitis. Storrs (Connecticut), Agricultural experiment station 1956. 8 s. Progress report No. 14. (Mastitis; — diagnosa — metody — výzkum/Streptococcus agalactiae — dojnice — mléko — mastitis — vztahy — výzkum — USA)

Pašov, T. V.

E 32.738

Infekcionnyj atrofičeskij rinit svinej. 3. izd. pererab. i dopol. Moskva, Kolos 1967. 189 s. 46 obr. (Prase — nemoci nakažlivé — sípavka — příručky)

Fagg, R. H. — Hyslop, N. St. G.

D 54.410/46

Isolation of variant strain of foot-and-mouth disease virus (type O) during passage in partly immunized cattle. Pirbright, Animal virus research inst. 1966. 397—404 s. 3 tb. (Skot — nemoci virové — slintavka a kulhavka — virus — typ O — izolace — výzkum — Anglie)

Burrows, R.

D 54.410/45

The infectivity assay of foot-and-mouth disease virus in pigs. Pirbright, Animal virus research inst. 1966. 419—429 s. 8 tb. (Prase — nemoci virové — slintavka a kulhavka — nakažlivost — výzkum — Anglie)

Pospíšil Z.: Příspěvek k patogenezi kolimastitid vycházející z patomorfologického pozorování	137
Slanina L.: Experimentálne ovplyvnenie alkalické rezervy krvnej plazmy u prežúvavcov niektorými bachorovými metabolitmi	143
Prokůpek K.: Penicilinázová aktivita antraxových a cereových kmenů	149
Willomitzer J., Kursá J., Chroustová E.: Chemo-profylaktická účinnost hexachlorofenu při motolíčnatosti ovci	159
Černík K., Černíková E.: Vliv opakovaného mrazení a rozmrazení v různém prostředí na přežívání kmene Hertfordshire viru Newcastleleské nemoci	171
Šlesingr L., Tušl J.: Vliv siričitanu a pyrosiričitanu sodného v siláži na hladinu sodíku, draslíku, vápníku a fosforu v chlupech kůže a v krevním séru u jalovic	181
Havlíček F., Kleisner I.: Vliv berlínské modři na rozdělení ¹³⁴ Cs u psů krmených kontaminovaným masem	189
Arendarčík J., Koppel Z., Izte L.: Príspevok k imunologickému štúdiu sérového gonadotropínu (PMSG) a ovčieho luteinizačného hormónu (LH)	193

СОДЕРЖАНИЕ

Поспишил З.: К патогенезу колимаститов согласно патоморфологическому наблюдению (141). — Сланина Л.: Экспериментальное воздействие некоторых рубцовых метаболитов на щелочной запас кровяной плазмы у жвачных (147). — Прокупек К.: Пенициллиназная активность антраксовых и цереовых штаммов (157). — Билломитцер И., Курса И., Хроустова Э.: Химиопрофилактическое действие гексахлорофина при фасциолезе овец. (170). — Черник К., Черникова Э.: Влияние повторного замораживания и размораживания в разной среде на жизнеспособность штамма Н вируса Ньюкастльской болезни (178). — Шлезингр Л., Тушил И.: Влияние сульфида и пиросульфида натрия в силосе на уровень натрия, калия, кальция и фосфора в шерстинках ворка и в сыворотке крови у телок (187). — Гавличек Ф., Крайснер И.: Влияние берлинской лазури на распределение ¹³⁴Cs у собак, кормленных контаминированным мясом (192). — Арендарчик И., Коппел З., Ице Л.: К иммунологическому исследованию сывороточного гонадотропина (PMSG) и овечьего лютеинизирующего гормона (LH) (198).

CONTENT

Pospíšil Z.: A Contribution to Pathogenesis of Coliform Mastitis Based on Pathomorphological Observation (141). — Slanina L.: Experimental Influencing of the Alkalic Reserve of Blood Plasma in Ruminants by Some Rumen Metabolites (148). — Prokůpek K.: The Penicillinase Activity of Anthrax and Cereus Strains (158). — Willomitzer J., Kursá J., Chroustová E.: A Chemoprophylactic Effect of Hexachlorophene on Liver-Fluke-Disease (Fasciolosis) (170). — Černík K., Černíková E.: The Influence of Repeated Freezing and Thawing in Various Media on the Survival of the Hertfordshire Strain of Newcastle Disease Virus (179). — Šlesingr L., Tušl J.: Influence of Sodium Sulphite and Sodium Pyrosulphite in Silage on the Level of Sodium, Potassium, Calcium and Phosphorus in Hairs of *Cirrus capitis* and in Blood Serum of Heifers (187). — Havlíček F., Kleisner I.: The Influence of Ferric Ferrocyanide on the Concentration of ¹³⁴Cs in Dogs Fed on the Contaminated Meat (192). — Arendarčík J., Koppel Z., Itze L.: On the Immunological Study of Serum Gonadotropin (PMSG) and of the Sheep Luteinizing Hormone (LH) (198). —

INHALT

Pospíšil Z.: Beitrag zur Pathogenese der Kolimastitide, die aus der pathomorphologischen Beobachtung herausgeht (142). — Slanina L.: Experimentelle Beeinflussung der alkalischen Reserve von Blutplasma bei Wiederkäuern durch einige Pansenmetaboliten (148). — Prokůpek K.: Die Penicillinase-aktivität der Anthrax- und Cereusstämmen (158). — Willomitzer J.,

Kursa J., Chroustová E.: Chemoprophylaktische Wirksamkeit des Hexachlorophens bei der Leberegelkrankheiten der Schafe (170). — Černík K., Černíková E.: Der Einfluß der wiederholten Tiefkühlung und Enteisung in verschiedenem Milieu auf das Überleben des Hertfordshire-Virusstammes der Newcastle Krankheit (179). — Šlesinger L., Tušl J.: Einfluß des Sulfits und des Natriumpyrosulfits im Gärfutter auf das Natrium-, Kalium-, Kalzium und Phosphorniveau im Haarschopf und im Blutserum bei Färsen (187). — Havlíček F., Kleisner I.: Einfluß des Berlinerblaus zur Verteilung von ^{134}Cs bei Hunden, die mit kontaminiertem Fleisch gefüttert wurden (192). — Arendarčík J., Koppel Z., Itze L.: Beitrag zum immunologischen Studium des Serumgonadotropins (PMSG) und des Luteinisierungshormons beim Schafe (HL) (199). —

TABLE DES MATIÈRES

Pospíšil Z.: Contribution à la pathogénèse des collimastites issue de l'observation pathomorphologique (res. An/141, Al/142). — Slanina L.: Influence expérimentale de réserve alcaline du plasma sanguin chez les ruminants, exercée par quelques métabolites de panse (res. An, Al/148). — Prokúpek K.: Activité due à la pénicilline des souches *B. anthracis* et *B. cereus* (res. An, Al/158). — Willomitzer J., Kursa J., Chroustová E.: Efficacité chimio prophylactique d'hexachlorophène pendant la fasciose hépatique des ovins (res. An, Al/170). — Černík K., Černíková E.: Influence de la congélation répétées dans le milieu différent sur la survie de la souche Hertfordshire de la maladie de Newcastle. — Šlesinger L., Tušl J.: Influence du sulfite et du pyrosulfite sodique dans l'ensilage sur le niveau de sodium, potassium, calcium et phosphore dans les poils de la chevelure et dans le sérum sanguin des génisses (res. An, Al/187). — Havlíček F., Kleisner I.: Influence du bleu de Prusse sur la répartition de ^{134}Cs chez les chiens nourris de la viande contaminée (res. An, Al/192). — Arendarčík J., Koppel Z., Itze L.: Contribution à l'étude immunologique de la gonadotropine sérique (PMSG) et de l'hormone de mouton lutéinique (LH) (res. An/198, Al/199). —