

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

2

ROČNÍK 14 (XLII)
PRAHA,
ÚNOR 1969
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král (předseda), prof. MVDr. Kolo-
man Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof.
MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák,
CSc., prof. MVDr. Tomáš Gdovin, MVDr. Miloš Halaša, CSc.,
prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., doc. MVDr. Jozef Hru-
šovský, CSc., MVDr. Martin Lis, CSc., MVDr. Andrej Ma-
čička, MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Jiří Srna, prof.
MVDr. Oldřich Svoboda, doc. MVDr. ing. Jan Vlček, prof.
MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc., doc. MVDr. Alojz Žuffa, CSc.

Vedoucí redaktor ing. Jovanka Václavičková

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1969

■
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje
studie, rozbor 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 обзо-
ры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по науч-
ному исследованию в области ветеринарной медицины. Издает
Институт научно-технической информации. Выход в свет ежемес-
ячно. 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. Pu-
blished by the Institute of Scientific and Technical Informa-
tion. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7.

■
Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA
veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Ab-
handlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem
Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben vom Institut
für wissenschaftlich-technische Informationen. Erscheint mo-
natlich. 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 scienti-
fiques et techniques. Paraît une fois par mois. Rédaction
Prague 2, Slezská 7.

PATOMORFOLOGICKÝ NÁLEZ NA ZAŽÍVADLECH U VIROVÉ GASTROENTERITIDY PŘIROZENÉ A EXPERIMENTÁLNĚ INFIKOVANÝCH SELAT

Z. Pospíšil, E. Mesároš, J. Štěpánek

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

POSPÍŠIL Z., MESÁROŠ E., ŠTĚPÁNEK J. *Patomorfologický nálezn na zažívadlech u virové gastroenteritidy přirozené a experimentálně infikovaných selat.* Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 81-88, 1969.

Patomorfologickým vyšetřením dvou až pětidených selat přirozeně onemocnělých virovou gastroenteritidou byly zjištěny změny převážně na sliznici jejunu a ilea. Pozorovali jsme hlavně zduření enterocytů, jejich vakuolární degeneraci a deskvamaci. Klky byly edematózní s nevýraznou polynukleárovou infiltrací. U starších — 8 a 9 denních selat byly změny daleko slabší intenzity. Změny u selat experimentálně infikovaných jak typovým virem Purdue, tak i virem ze střevní suspenze přirozeně onemocnělých selat byly navzájem shodné. Kromě změn, pozorovaných u přirozeně infikovaných selat, došlo u nich místy i k nekrobiotickým procesům, zachvacujícím sliznici tenkých střev i žaludku. Selata, která se infikovala stykem s experimentálně infikovanými, vykazovala změny stejného charakteru jako zvířata přirozeně onemocnělá.

virová gastroenteritida; selata; přirozená infekce; experimentální infekce; střev; enterocyty; degenerace

Diagnóza virové gastroenteritidy prasat (VGP) se opírá o zhodnocení klinických příznaků, epizootologické situace a o výsledky biologického pokusu. Histologické vyšetření není pro diagnózu rozhodující, protože patomorfologické změny nejsou zcela specifické — Bay a kol. (1951), Seffner (1964), Žuravlev (1964).

Od roku 1946, kdy Doyle a kol. poprvé popsali tzv. „Transmissible gastroenteritis in Pigs“, byla věnována i patomorfologickým změnám značná pozornost.

Bay a kol. (1951) nacházeli u dvou až čtyřdenních experimentálně infikovaných selat jen kongesci žaludku a střev. U starších selat byla kromě kongescie těchto orgánů i nekróza epitelu krypt, která byla doprovázena leukocytární infiltrací a ve střevě též výraznou infiltrací monocytů. Rovněž Goodwin a kol. (1958) pozorovali, že v prvních dnech života není morfologický obraz příliš nápadný. U starších selat nacházeli výraznější gastritidu a u dvou až čtyřtýdenních selat až gastrické eroze, na střevech někdy i hemoragický zánět.

Tyto nálezy, závislé na věku selat, však neodpovídají nejnovějším poznatkům Haeltermana a kol. (1967), kteří za čtyři až pět dnů po infekci zjišťovali regeneraci epitelu a prodlužování zkrácených klků a za 10 dnů normální obraz.

Trapp a kol. (1966) nacházeli makroskopicky v žaludku experimentálně infikovaných bezmikrobiálních selat sražené mléko, střeva obsahovala žlutozeleňá ingesta. Histologicky stejně jako Žuravlev (1964) zjistili změny nejčastěji v tenkých střevech. Nacházeli převážně edém sliznice a submukózy, degenerace

epitelu a jeho deskvamaci. Nekrózy nepozorovali. Na střevní sliznici pozoroval Gilka (1968) zplošťování cylindrických enterocytů, jejich zduření, zakulacení a deskvamaci poškozených buněk. Enterocyty vykazovaly často dystrofickou steatózu.

Kromě změn na sliznici pozorovali Trapp a kol. (1966) zkracování střevních klků. Hooper a kol. (1966), kteří zkracování klků rovněž zaznamenali, udávají, že se jedná o atrofii. Tito autoři, stejně jako Haelterman (1965), dále usuzují, že se virus infekční gastroenteritidy množí nejvíce ve sliznici duodena a jejuna, méně již ilea, a že sliznice žaludku a kolonu je k tomuto viru jen velmi málo vnímavá.

Zatímco Seffner (1964) je přesvědčen, že na základě morfologického nálezu nemůže být VGP diagnostikována, považuje Beseda (1968) vakuolární degeneraci s pyknózou a později lýzou jader epiteliálních buněk střeva za charakteristický nález. V jádrech buněk nepostižených vakuolární degenerací nacházel HE se barvící útvary, které je prý možno považovat za jaderné inkluze. Trapp a kol. (1966) popisují v jádře rovněž útvary podobné inkluzím, považují je však za jádérka.

Značné rozdíly v názorech na patohistologický obraz onemocnění mohou být vysvětlovány také tím, že někteří autoři infikovali bezmikrobiální, jiní přirozeně odchovávaná selata, nebo vyšetřovali selata přirozeně infikovaná.

Cílem této práce bylo srovnat morfologické změny u selat přirozeně a experimentálně infikovaných virem VGP. Dále srovnat změny po experimentální infekci typovým virem infekční gastroenteritidy a virem podaným ve střevní suspenzi nemocných selat.

MATERIÁL A METODIKA

Virus. K experimentální infekci jsme použili jednak typového kmene viru infekční gastroenteritidy — (kmen Purdue, který jsme obdrželi od A. V. McClurkin, USDA, Nat. Anim. Dis. Lab. Ames, Iowa — USA), jednak viru ze střevní suspenze selat přirozeně infikovaných, u nichž byla VGP prokázána biologickým pokusem.

Selata. K experimentální infekci jsme použili selat z chovu prostého VGP ve stáří dvou dnů. Selata přirozeně infikovaná pocházela z chovu M., kde bylo onemocnění prokázáno biologickým pokusem.

Vyšetřovaná selata byla rozdělena do následujících skupin: Do skupiny 1. byla zařazena dvou až pětidenní selata přirozeně infikovaná, chovaná v přirozených podmínkách u prasnice. Ve 2. skupině byla přirozeně onemocnělá selata ponechána jeden až tři dny u prasnice a potom převedena na umělou semisyntetickou dietu podle Holuba (1963). Usmrcována byla ve stáří dvou až devíti dnů. Ve 3. skupině byla selata, která jsme jako dvoudenní infikovali *per os* typovým virem Purdue, a to dávkou 5 ml o inf. titru 10^4 TC ID₅₀/ml. Dvě selata byla ponechána jako kontrola na kontaktní infekci. Ve 4. skupině byla dvě selata, která jsme jako dvoudenní infikovali *per os* 5 ml abakteriální střevní suspenze připravené z tenkých střev a mezentriálních mizních uzlin klinicky nemocných selat. Tyto orgány byly homogenizovány v pufrovaném fyz. roztoku pH 7.1 v poměru 1:10 a potom odstředěny při 3000 ot./min. Supernatant byl filtrován přes Seitzův filtr EKV. Bakteriologická sterilita byla prokázána kultivací na krevním a Czapek-Doxově agaru. Další dvě selata této

skupiny byla ponechána ke kontaktní infekci. Selata 3. a 4. skupiny byla utracena druhý den po infekci.

U všech selat byly ihned po usmrcení odebrány vzorky tkání ze žaludku, duodena, jejunu, ilea, kolonu a mezenterálních lymfatických uzlin, které byly fixovány v 10% formolu a Bouinově tekutině. Řezy zpracované parafinovou technikou byly barveny hematoxylin-eosinem, trichromem — mod. podle Crossmona, azanem, metodou PAS a některé řezy dále kresylovou violetí a metylzelení-pyroninem.

Přehled vyšetřených selat

Skupina	Způsob infekce	Počet zvířat
1	přirozená infekce v přirozených podmínkách	8
2	přirozená infekce, selata na semisyntetické dietě	15
3	umělá infekce typovým kmenem viru inf. gastroenteritidy	2
	kontrola ke kontaktní infekci	2
4	umělá infekce střevní suspenzí nemocných selat	2
	kontrola ke kontaktní infekci	2

VÝSLEDKY

Makroskopický obraz byl u většiny selat velmi podobný. Jednalo se hlavně o výrazný stupeň dehydratace organismu, která byla pozorována i u selat živých umělou výživou. Žaludek byl z části naplněn sraženým mlékem, z části byl jeho obsah plynatý. Jen výjimečně byl v žaludku nalezen hustý zelenavý hlen bez sraženého mléka. Sliznice žaludku byla u přirozeně nakažených selat makroskopicky beze změn, avšak u experimentálně infikovaných selat byly nalezeny slizniční eroze.

Střeva byla plynatá a obsahovala velmi řídká, žlutozelená ingesta. Jejich stěna byla bledá a na sliznici nebyly pozorovány žádné nápadné změny. Pouze u tří selat usmrcených v agonálním stadiu byl obraz částečně odlišný — došlo k pasivní kongesci splachnické oblasti.

HISTOPATOLOGICKÝ NÁLEZ

Mikroskopické změny na zažívadlech byly u všech skupin do značné míry podobné. Uvedeme proto podrobné nálezy jen u 1. skupiny, tj. u přirozeně infikovaných selat a u dalších bude pak poukázáno jen na odchylky.

a) Skupina 1 — přirozená infekce

Žaludek

Žaludeční sliznice byla u selat této skupiny buď beze změn, nebo zde docházelo jen k degeneraci ojedinělých epiteliálních buněk, které pak byly sraštělé s hyperchromatickým jádrem. Lokálně se v epitelu vyskytovaly ojedinělé

polynukleáry, popřípadě i lymfocyty. V žádném případě však nebyly nacházeny těžké změny, jako je nekróza, tvorba erozí nebo vředů a hemoragie. Ve dvou případech byla zjištěna nevýrazná eystická dilatace fundálních žlázek.

Duodenum

U všech sledovaných selat jsme pozorovali většinou nepříliš výrazný zánět sliznice, který byl často ohraničen jen na horní partie klků. Pouze na některých klcích, a ne u všech selat, docházelo ke zduření enterocytů. Takové buňky měly více či méně vakuolizovanou světlou cytoplasmu a pyknotické jádro. K deskvamaci enterocytů docházelo jen ojediněle a slizniční eroze nevznikaly. Stroma klků bylo většinou mírně edematózní, místy i hyperemické, s ojedinělými infiltracemi polynukleárů, které se spolu s lymfocyty nacházely velmi zřídka i přímo v krycím epitelu.

Jejunum a ileum

Nejvýraznější alterace jsme pozorovali na sliznici jejunoileální části tenkého střeva. Na většině klků docházelo k více či méně výraznému zduření enterocytů, jejich zploštění a zároveň k vydutí jejich horních okrajů do lumina střeva. Cytoplasma těchto buněk byla výrazně vakuolárně degenerovaná, jádra svraštělá a hyperchromatická. Obrisy horní části klků s takto postiženými enterocyty nabývaly nerovného vzhledu a v některých úsecích docházelo i k výraznější deskvamaci poškozených enterocytů. Nekrotické změny, které by způsobovaly rozpad částí nebo celých klků, nebyly pozorovány. Stroma klků bylo v mnoha případech značně edematózní, pozorovali jsme i výraznou peristázu a často se zde vyskytovaly i polynukleáry, někdy i lymfocyty. Tyto elementy byly někdy zjištěny i ve střevním epitelu.

V korové části mezenterálních mizních uzlin jsme v některých případech nacházeli řídkou infiltraci polynukleárů a eosinofilů. Lymforetikulární tkáň mizních uzlin i Peyerových plaků vykazovala různý stupeň aktivace.

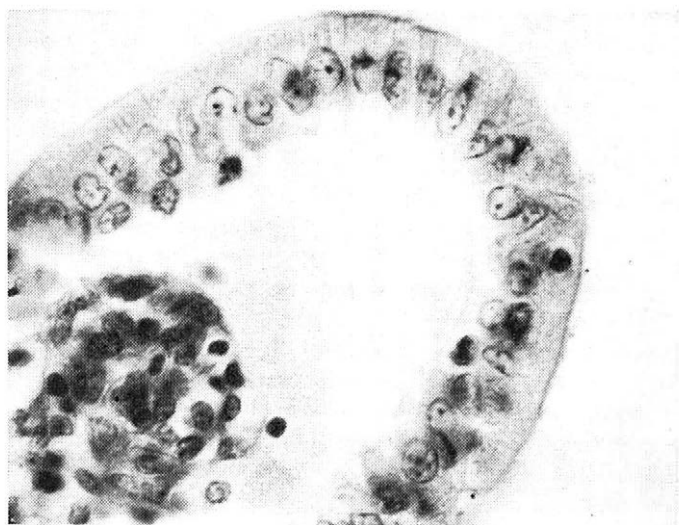
Tlusté střevo

Na sliznici tlustého střeva nebyly v žádném případě zjištěny podstatné změny. Pokud se vůbec změny vyskytovaly, šlo jen o degeneraci jednotlivých epitelálních buněk, ojedinělou deskvamaci a slabý zánětlivý edém.

b) Skupina 2

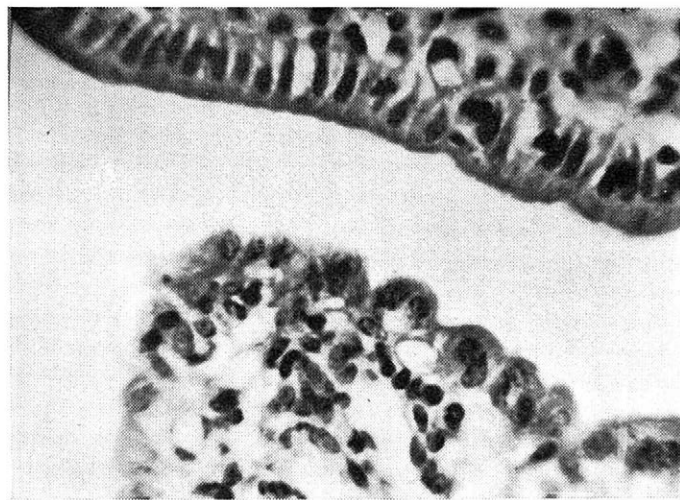
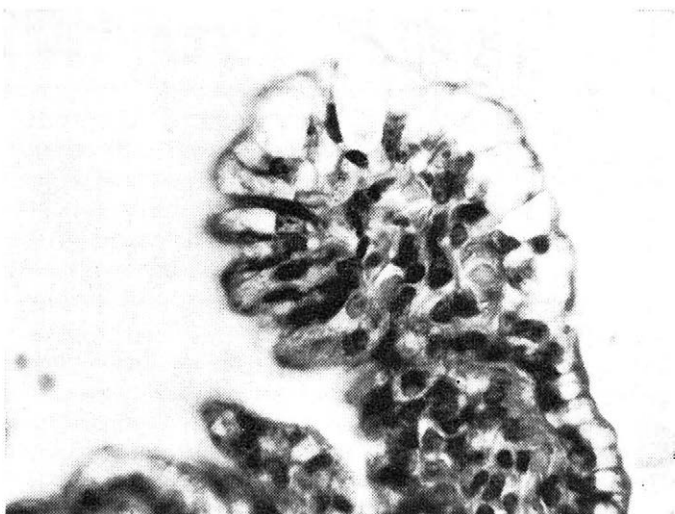
Charakter histopatologického nálezu u selat této skupiny byl téměř shodný s výše popsanými změnami, nanejvýš výrazná však byla jejich intenzita.

U selat poražených do 6. dne po narození byla intenzita změn stejná jako u 1. skupiny, u starších selat (8 a 9denních) bylo poškození střevní sliznice slabší. Vakuolární degenerace enterocytů byla u nich pozorována v daleko menší míře než u mladších selat a pokud byla vůbec zjišťována, vyskytovala se téměř výhradně v jejunu a ileu. I zde, však jen výjimečně, jsme pozorovali vydouvání enterocytů do lumina střeva. Rovněž edém stromatu a polynukleárová infiltrace byla podstatně slabší. V žaludku a v tlustém střevě nebyly pozorovány



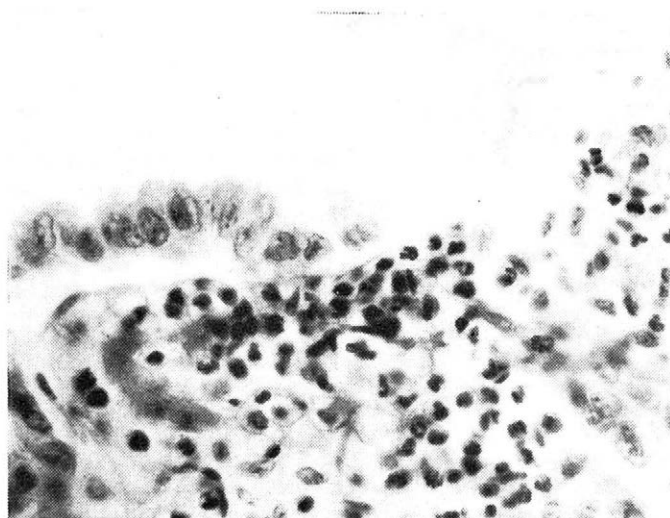
1. Silný subepiteliální edém v klku duodena. Enterocyty bez poškození. Přirozená infekce, sele č. 29. Barv. HE, zv. $60\times 3,2$.

2. Vakuolární degenerace enterocytů v jejunu. Přirozená infekce, sele č. 13. Barv. HE, zv. $60\times 3,2$.



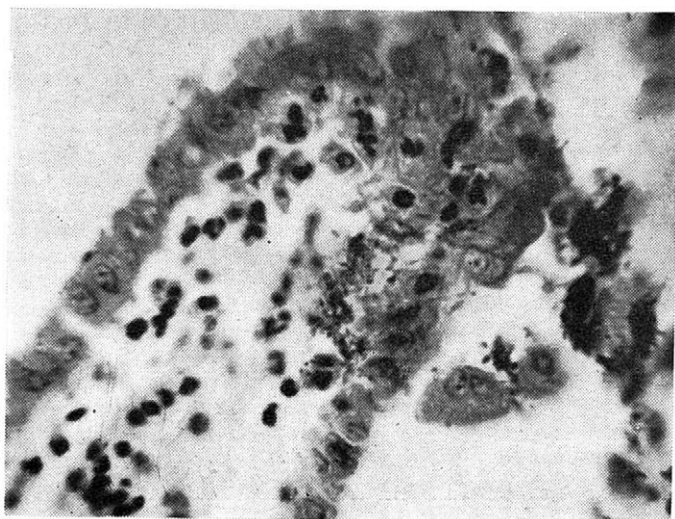
3. Vakuolární degenerace enterocytů na zkráceném klku duodena. Sousední nezkrácený klk s nezměněnými epite-liemi. Kontaktní infekce, sele č. 36. Barv. HE, zv. $60\times 2,5$.

4. Zkrácené klky v jejunu s rozšířeným stromatem a poškozenými enterocyty. Experimentální infekce stř. suspenzí. Sele č. 10, barv. HE, zv. 16×3,2.



5. Eroze na sliznici žaludku. Polynukleárová infiltrace v submukóze. Exp. inf. virem Purdue, sele č. 37. Barv. HE, zv. 60×3,2.

6. Nekrotický rozpad horní části klku. Shluky bakterií vně i uvnitř klku. Exp. inf. virem Purdue, sele č. 37. Barv. HE, zv. 60×2,5.



žádné změny, v duodenu jen ojedinělé degenerované enterocyty. U tří dvou až třídenních selat usmrcených v agonálním stadiu byla kromě těžších změn na střevní sliznici pozorována i výrazná stáza.

c) Skupina 3 a 4 — experimentální infekce

Mikroskopický nálezn se u selat těchto skupin lišil od výše popsaných změn hlavně intenzitou, částečně i kvalitou alternace. Nejvýraznější změny jsme pozorovali u obou selat infikovaných typovým virem, u nichž těžká alterace postihla jak sliznici žaludku, tak i tenkých střev. Na žaludku byla patrna typická akutní gastritis, představovaná nekrobiotickým rozpadem povrchových epitelii, jejich deskvamací a vznikem erozí. V místech defektů byla výrazná leukodiapedéza a stáza. Polynukleáry byly ve velkém množství pozorovány i ve hlenu na povrchu epitelu.

Na sliznici duodena byly výrazné nekrobiotické změny. Enterocyty s poškozeným jádrem a cytoplazmou deskvamovaly do lumina, edematózní stroma bylo silně infiltrováno polynukleáry a místy docházelo až k úplnému rozpadu horních částí klků. V luminu střeva bylo množství buněčného detritu, ve kterém se nacházely shluky bakterií. Tyto změny byly výraznější u selete, u něhož infekce probíhala o jeden den déle. Epitel jejuna a ilea byl rovněž alterován, stroma infiltrováno polynukleáry, avšak nedocházelo k tak výraznému rozpadu klků. I přes značnou deskvamaci epitelu bylo možno v méně poškozených částech duodena a hlavně jejunoilea pozorovat typické snížení enterocytů, jejich zduření, vakuolární degeneraci a nerovný obrys horní části klků. Na tlustém střevě nebyly zjištěny úchyly od nálezů v 1. a 2. skupině.

Podobný nálezn na zažívacích orgánech měla selata, jimž byla podána střevní suspenze nemocných selat. Na žaludku však alterace sliznice nebyla tak rozsáhlá a také v duodenu nebyly zjištěny tak těžké nekrotické změny. Nálezn v jejunoileální části byl shodný s výše popsaným obrazem.

Kontrolní selata, chovaná v obou skupinách s infikovanými zvířaty, onemocněla a klinické příznaky odpovídaly typické virové gastroenteritidě. Patomorfologický nálezn na zažívacích orgánech odpovídal nálezům zjištěným u selat přirozeně onemocnělých.

DISKUSE

Srovnáním histopatologických změn u selat jednotlivých skupin byly zjištěny značné rozdíly mezi přirozeně onemocnělými a experimentálně infikovanými selaty. U kusů přirozeně infikovaných byly změny nacházeny hlavně na sliznici jejuna a ilea, méně často také duodena. Enterocyty zde byly sploštělé, zduřelé, horní částí se vydouvaly do lumina. Jejich cytoplazma byla často vakuolárně degenerovaná, na jádře se nacházely hypobiotické procesy. Místy docházelo i k deskvamaci epiteliální výstelky. Stroma klků bylo edematózní, mírně infiltrováno polynukleáry. Tento nálezn odpovídá změnám, které popsali Žuravlev (1964), Trapp a kol. (1966), Gilka (1968). Nekrotické změny, jak je popisují Bay a kol. (1951), Goodwin a kol. (1958), jsme u těchto selat nenalezli.

U obou skupin experimentálně infikovaných selat byly naopak pozorovány těžké nekrotické změny jak na sliznici žaludku, tak i na sliznici tenkých střev. Na žaludku došlo ke vzniku výrazné akutní gastritidy s vytvářením erozí. V ten-

kých střevěch byl mnohdy pozorován až nekrotický rozpad klků infiltrovaných velkým množstvím polynukleárů. V luminu střev i na rozpadlých klcích jsme pozorovali shluky bakterií. Na zachovalých epiteliích jsme však i zde zjistili vakuolární degeneraci enterocytů a jejich typické zduření.

Při srovnání změn vyvolaných typovým virem (Purdue) a virem ze suspenze střev nemocných selat jsme zjistili poškození stejného charakteru a téměř stejné intenzity. Jen nekrobiotické procesy na sliznici žaludku a duodena nebyly po infekci virem Purdue tak rozsáhlé.

Při hodnocení změn u experimentálně infikovaných selat bude nutno vzít v úvahu, že infekční dávka viru podaného v abakteriální střevní suspenzi nebo viru pomnoženého na tkáňové kultuře byla pravděpodobně daleko vyšší, než je dávka pro vyvolání tohoto onemocnění. Bay (1949) vyvolal toto onemocnění podáním 2 ml střevní suspenze ředěné dokonce 1:10⁻⁶. Námi podaná vysoká koncentrace viru zřejmě poškodila sliznici střeva daleko intenzivněji, než jsme pozorovali u přirozených infekcí a dá se předpokládat, že se zde mohla sekundárně uplatnit bakteriální infekce, za jejíž následky možno nekrotické změny v žaludku a střevěch považovat. Pro tento názor hovoří i nálezy u selat onemocnělých kontaktem, kde byly pozorovány stejné změny jako u selat přirozeně onemocnělých.

U selat 2. skupiny, která byla po přirozeném přijímání kolostra (1–3 dny) převedena na umělou výživu a která byla ve stáří 2 až 9 dnů usmrcována, jsme zjišťovali změny různé intenzity. U selat do 6. dne po narození byly změny stejně intenzivní jako v 1. skupině. U 8 až 9denních selat bylo poškození střevní sliznice daleko slabší, i když jejich klinický zdravotní stav nebyl příliš příznivý. Nález na střevní sliznici odpovídá poznatkům Haeltermana a kol. (1967), kteří zjišťovali, že za čtyři až pět dnů po infekci dochází k regeneraci slizničního epitelu (diferenciace krycích epiteliálních buněk v normální cylindrické enterocyty) a za 10 dnů nacházeli v podstatě normální obraz.

Všechna selata 2. skupiny byla do pokusu převedena z chovu, ve kterém onemocnění probíhalo asi 26 dnů a ve kterém část vrhů ponechaná jako kontrola u prasnic z velké většiny již neonemocněla, nebo onemocněla jen slabě a onemocnění přežila. Je to přičítáno vzniklé imunitě u prasat a ochraně mláďat kolostrem. V této souvislosti je nutno připomenout, že právě nejstarší selata zařazená do této skupiny přijímala nejdéle imunní kolostrum a že i tato okolnost mohla ovlivnit intenzitu pozorovaných změn.

Při histologickém vyšetření jsme se také zaměřili na sledování eosinofilně se barvících útvarů v jádře, které je možno podle Besedy (1968) považovat za inkluze. Nepodařilo se nám podobné útvary kromě nukleolů v jádře zjistit.

Proto se domníváme, že změny, které jsme u nemocných selat zjistili — hlavně vakuolární degenerace, zduření enterocytů a jejich deskvamace — jsou příliš všeobecné, než aby je bylo možno považovat za specifický nález, podle kterého by bylo možno stanovit diagnózu. Patomorfologické vyšetření tohoto onemocnění bude mít patrně i nadále jen podpůrný a doplňující význam.

Za technickou spolupráci děkujeme M. Pokorné.

Literatura

- BAY W. W., 1949, Transmissible Gastroenteritis in Baby Pigs. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 115 : 245-248.
- BAY W. W., DOYLE L. P., HUTCHINGS L. M., 1951, The Pathology and Symptomatology of Transmissible Gastroenteritis. *Am. J. Vet. Res.* 12 : 215-218.
- BESEDA M., 1968, Histologický obraz při virusové gastroenteritidě ošipáných. *Veterinářství* 18 : 196-198.
- DOYLE L. P., HUTCHINGS L. M., 1946, Transmissible Gastroenteritis in Pigs. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 108 : 257-259.
- GILKA F., 1968, A Comparative Study on the Pathological Picture of Transmissible

- Gastroenteritis and E. coli Gastroenteritis in Newborn Piglets with Special Reference to the Gastrointestinal Tract. *Acta Vet. Ac. Sci. Hung.* 18 : 39-50.
- GOODWIN R. F. W., JENNINGS A. R., 1959, Infectious gastroenteritis of pigs. I. The disease in the field. *J. Comp. Path.* 69 : 87-97.
- GOODWIN R. F. W., JENNINGS A. R., 1958, Highly Infectious Gastroenteritis of Pigs. *Vet. Rec.* 70 : 271-272.
- HAELTERMAN E. O., 1965, Growth of TGE Virus. *Purdue Vet. Notes* 33.
- HAELTERMAN E. O., HOOPER B. E., 1967, Transmissible Gastroenteritis of Swine as a Model for the Study of Enteric Disease. *Gastroenterology* 53 : 109-113.
- HOOPER B. E., Haelterman E. O., 1966, Concepts of pathogenesis and passive immunity in transmissible gastroenteritis of Swine. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 1949 : 1580-1586.
- SEFFNER W., 1964, Erfahrungen zur infektiösen Gastroenteritis der Schweine unter besonderer Berücksichtigung der Bekämpfung. *Mh. Vet. Med.* 19 : 861-865.
- THORPE E., THOMLINSON J. R., 1967, Autolysis and post-mortem bacteriological changes in the alimentary tract of the pig. *J. Path. Bact.* 93 : 601-611.
- TRAPP A. L., SANGER V. L., STALNAKER E., 1966, Lesions on the Small Intestinal Mucosa in Transmissible Gastroenteritis-Infected Germfree Pigs. *Am. J. Vet. Res.* 27 : 1695-1702.
- ŽURAVLEV V. M., 1964, Infekcionnyj gastroenterit svinej. Kliničeskije priznaki i patomorfologičeskije izmenenija. *Veterinarija* 41 : 43-46.

Došlo dne 15. 7. 1968

ПОСПИШИЛ З., МЕСАРОШ Е., ШТЕПАНЕК Я. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия). Патоморфологический диагноз в пищеварительном аппарате при вирусном воспалении желудка и кишок у естественно и экспериментально зараженных поросят. *Вет. мед. (Прага)* 14 (2) : 81-88, 1969.

Путем патоморфологического исследования поросят в возрасте 2—5 дней, естественно заболевших вирусным воспалением желудка и кишок, установили изменения преимущественно на слизистой оболочке тощей и подвздошной кишок. Установили, прежде всего, набухание энтероцитов, их вакуольную дегенерацию и шелушение. Ворсинки оказались отечными, со слабой полинуклеальной инфильтрацией. У поросят в возрасте 8—9 дней интенсивность изменений проявилась гораздо слабее. Изменения, обнаруженные у экспериментально инфицированных поросят как типом вируса Purdue, так и вирусом из кишечной суспензии естественно заболевших животных, оказались взаимно сходными. Кроме изменений, установленных у естественно инфицированных поросят, местами обнаружили также некробиотические процессы, охватывающие слизистую оболочку тонкого отдела кишечника и желудка. У поросят, заразившихся соприкосновением с экспериментально инфицированными животными, наблюдались изменения такого характера, как у естественно заболевших животных.

вирусное воспаление желудка и кишок; естественная инфекция; экспериментальная инфекция; кишка; энтероциты; дегенерация

POSPÍŠIL Z., MESÁROŠ E., ŠTĚPÁNEK J. (Veterinary Research Institute, Brno, Czechoslovakia). *Pathomorphological Findings in the Alimentary Tract of Piglets Naturally and Experimentally Infected with Transmissible Gastroenteritis*. *Vet. Med. (Praha)* 14 (2) : 81-88, 1969.

Pathomorphological examination of 2-to 5-day-old piglets infected naturally with transmissible gastroenteritis revealed changes mostly on the mucosa of the jejunum and ileum. The enterocytes showed swelling, vacuolar degeneration and desquamation. The villi were edematous with slight polynuclear infiltration. In older piglets (8 and 9 days of age) the changes were markedly less intense. In experimentally infected piglets no difference was revealed between the animals infected with type virus Purdue and those infected with the virus from an intestinal suspension obtained from naturally diseased piglets. In addition to the changes found in naturally infected piglets there could be seen occasional necrobiotic processes affecting the

mucosa of the small intestine and stomach. Piglets which had become infected by contact with experimentally infected animals showed changes similar to those found in the naturally infected animals.

transmissible gastroenteritis; piglets; natural infection; experimental infection; intestine; enterocytes; degeneration

POSPÍŠIL Z., MESÁROŠ E., ŠTĚPÁNEK J. (Veterinärmedizinisches Forschungsinstitut, Brno, Czechoslovakia). *Pathomorphologischer Befund in den Verdauungsorganen bei Virusgastroenteritis von natürlich und experimentell infizierten Ferkeln*. Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 81-88, 1969.

Bei der pathomorphologischen Untersuchung von 2—5tägigen, auf natürliche Weise an Virusgastroenteritis erkrankten Ferkeln wurden Veränderungen vorwiegend an der Jejunum- und Ileumschleimhaut festgestellt. Wir beobachteten vor allem Schwellungen der Enterozyten, ihre vakuoläre Degeneration und Desquamation. Die Zotten waren ödematös mit unausgeprägter polynuklearer Infiltration. Bei älteren, 8—9tägigen Ferkeln wiesen die Veränderungen eine bedeutend schwächere Intensität auf. Die Veränderungen bei Ferkeln, welche experimentell sowohl mit dem Typvirus Purdue, als auch mit dem Virus aus der Darmsuspension natürlich erkrankter Ferkel infiziert wurden, waren gegenseitig identisch. Außer den bei natürlich erkrankten Ferkeln beobachteten Veränderungen wurden bei ihnen stellenweise auch nekrotische Prozesse festgestellt, welche die Dünndarm- und Magenschleimhaut befielen. Die durch Kontakt mit experimentell angesteckten Ferkeln infizierten Ferkel wiesen die gleichen Veränderungen, wie die auf natürliche Art erkrankten Tiere auf.

Virusgastroenteritis; Ferkel; natürliche Infektion; experimentelle Infektion; Darm; Enterozyten; Degeneration

Adresa autorů:

MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., MVDr. Ernest Mesároš, CSc., MVDr. Jan Štěpánek, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno - Medlánky
Reditel: Prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc.

ENDEMIKÉ LOŽISKO NONCHROMOGENNÍCH MYKOBAKTERIÍ U PRASAT

J. Černovský, M. Kubín

Státní veterinární ústav, Brno, Výzkumný ústav tuberkulózy, Praha

ČERNOVSKÝ J., KUBÍN M. *Endemické ložisko nonchromogenních mykobakterií u prasat*. Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 89—94, 1969.

Do vakua vzniklého úspěšným tlumením klasických bovinních infekcí nastupují nové typy mykobakteriálních nákaz, které mají specifickou epizootologickou charakteristiku a také svým klinickým průběhem a patologicko-anatomickým obrazem tvoří nové nosologické jednotky. Účelem tohoto sdělení je poukázat na endemické ložisko ohraničených tuberkulózních lymfadenitid u prasat, v němž se podařilo prokázat rozbořem biologických vlastností izolovaných mykobakterií, že původcem jsou nonchromogenní, aviárně podobná mykobakteria, která se však zřetelně liší od *M. avium* a tvoří dobře vyhraněný sérotyp. Ten nebyl u nás pozorován a mohl by se v budoucnosti stát jednou z příčin mykobakteriálních infekcí u domácích zvířat. Mimo tato mykobakteria bylo ve změněných uzlinách prokázáno i *M. avium*.

nonchromogenní mykobakterie u prasat; diferenceace; vyhraněný sérotyp; epizootologický význam

Konečná fáze eradikace tuberkulózy skotu je provázána některými jevy, které se v období epizootického rozšíření bovinních mykobakterií buď vůbec nevyskytovaly, nebo měly podružný význam. Do vakua vzniklého úspěšným potlačením klasických bovinních infekcí nastupují nové typy mykobakteriálních nákaz, které mají specifickou epizootologickou charakteristiku a také svým klinickým průběhem a patologicko-anatomickým obrazem tvoří nové nosologické jednotky.

V našich podmínkách se v tomto směru uplatňují jako původci těchto onemocnění především mykobakteria, která se řadí ze širšího rámce mykobakterií aviárních. Ještě v nedávném období, kdy v našem státě dominovaly u skotu infekce vyvolávané bovinními mykobakteriemi, byl jejich výskyt z hlediska epizootologické ostražitosti považován za bezvýznamný.

Na rozdíl od klasických bovinních mykobakterií je skupina původců nových mykobakteriálních nákaz výrazně nehomogenní a vedle typických aviárních kmenů zde nacházíme také mykobakteria se sníženou virulencí pro pokusná zvířata, kmeny rychle rostoucí, pigmentované aj. Tato rozmanitost biologických vlastností původců má svou výhodu v tom, že umožňuje postupné odlišování jejich jednotlivých podskupin, které je vodítkem k jejich geografickému rozšíření, epizootologickému významu a způsobuje jejich šíření.

MATERIÁL A METODIKA

Ve spojitosti s komplexním tlumením tuberkulózy skotu začali zjišťovat veterinární pracovníci v některých chovech prasat pozitivní reakce na plačí tuberkulin. Při kontrolních porážkách vybraných kusů z těchto chovů nebyly na

jatkách zjišťovány žádné tuberkulózní změny na vnitřních orgánech. Pouze v mizních uzlinách mezenterálních, popřípadě krčních, byla nalézána kaseózní nebo kalcifikovaná ložiska různé velikosti.

Na výskyt těchto ohraničených lymfadenitid u prasat poukázali také někteří zahraniční autoři. Baumann, Krenn, Liebisch, spolu s Kubínem a Rittershansem (1955, 1957), Kovacs (1962), Meyn a Schlieser (1962), Nassal a Englert (1963), Scammon, Pickett, Froman a Will (1963). Z našich autorů pak Černovský (1966), Hejliček (1966) a Kubín (1963, 1967).

Laboratorním vyšetřením, zaměřeným speciálně na průkaz mykobakterií, jsme zpracovali přes 600 vzorků těchto mizních uzlin. Velká část materiálu pocházela z prasat různých JZD, avšak jedné ucelené oblasti střední Moravy. Mizní uzliny byly podrobeny v první řadě patologicko-anatomickému a histologickému vyšetření. Pak byly ze změněné tkáně zhotoveny preparáty barvené ZN. Materiálu jsme dále použili ke kultivaci a biologickému pokusu se zaměřením na průkaz mykobakteriálních zárodků. K tomuto účelu byl po předběžném vyšetření vzhledem k sekundární mikroflóře a po dokonalém rozetření v třetí misce vyšetřovaný materiál zbaven nežádoucí bakteriální flóry pomocí 6–10% kys. sírové nebo 1/n kys. solné. Po odstranění posledních zbytků těchto kyselin a po případné neutralizaci se materiál použil ke kultivaci a k biologickému pokusu. Při negativním bakterioskopickém nálezu nebo při nepatrné přídavné mikroflóře jsme materiálu použili k biologickému pokusu i přímo bez preparace. Kultivace byla prováděna na sérii živných půd podle Stonebrinka, Petraganiho a na tekutých půdách Šulových. Některé vzorky byly očekávány ještě na půdy podle Ogawy a Tarshise, víceméně proto, aby se tyto půdy vyzkoušely pro veterinární účely. První subkultury jsme očkovali na půdu podle Wagener-Mitscherliche. Každou primokultivaci jsme dělali průměrně na 6 až 8 půd žloutkových tuhých a na dvě půdy tekuté. Základní inkubace při 37 až 38 °C trvá 8 až 10 týdnů.

Z uvedeného materiálu se nám podařilo tímto způsobem izolovat 175 mykobakteriálních kmenů. Tyto kmeny byly postupně podrobeny diferenciacním kritériím, abychom je mohli blíže taxonomicky zařadit. Především byly zhodnoceny růstové a morfologické znaky. Pak byla postupně prováděna u jednotlivých sérií kmenů biochemická diferenciacce (kataláza, peroxidáza, nitrátový test, redukce kyseliny pikrové a teluričitanu draselného, změna barevné reakce na půdě podle Wagener-Mitscherliche a zjišťování jejich amidového spektra). Biologická diferenciacce byla prováděna na morčatech (0,1–0,5 mg kultury *subc.*), králících (1–5 mg *subc.*) a kuřících (1–5 mg *i. m.*). Dva vybrané kmeny ozn. č. 413 a 425 jsme použili k infekčnímu pokusu na dvou mladých běhounech o váze cca 50 kg. 10 až 15 mg kultury bylo suspendováno do 0,5 l mléka a podáno vypít na lačno dotyčným zvířatům, která byla před pokusem tuberkulinována čistěným ptačím tuberkulinem v dávce 0,2 ml (8000 t. j.) do boltce ušního s negativním výsledkem.

Jako poslední diferenciacní metodu k bližšímu zařazení našich kmenů jsme použili sérotypizaci. Tato nová metoda se nám jevila jako velmi důležitá vzhledem ke zprávám a publikacím Schaeferovým z poslední doby (1965, 1967), kde jmenovaný autor uvádí její vhodnost zejména u kmenů II. a III. skupiny. Proto jsme se touto metodou podrobněji zabývali a uvádíme bližší metodiku.

Sérotypizace: izolované zkoušené kmeny byly ze subkultur na Petraganiho půdách přeočkovány do tekuté půdy STO s komplexem kys. olejová - albumin a inkubovány 7 až 10 dní. Z této půdy byly poté připraveny ředění ve fyziologickém roztoku s 0,2 % bovinního albuminu suspenze od 10^{-4} až 10^{-6} . Z každého ředění bylo inokulováno 0,1 ml suspenze na dvě agarové půdy 7-H-10 s komplexem kys. olejová - albumin. Inokulace byla prováděna pomocí skleněné tyčinky zahnuté do tvaru L na otočném stolku, aby bylo dosaženo stejnoměrného rozprostření inokula. Kultury byly pak uzavřeny do plastických sáčků a inkubovány tři týdny.

Po ukončení inkubace byly zaznamenány růstové znaky získaných subkultur a vyrostlá bakteriální hmota byla homogenizována ve fosfátovém ústoji s 0,5 % fenolu tak, že nejprve byla kultura v malém množství tekutiny lehkými pohyby pipety rozetřena a pak opakovaným nanášením a odsáváním ústoje smyta. Hustota bakteriální suspenze byla standardizována na spektrofotometru Coleman Jun. na optickou densitu 0,3 při 525 mμ.

Antiséra jsme získali laskavostí Dr. W. B. Schaefera z Národní židovské nemocnice v Denveru. Byla připravena intravenózní aplikací 1 ml výše uvedené suspenze králíkům, podávanou 2× týdně po dobu tří až čtyř týdnů. Titr proti homologním kmenům dosahoval hodnot 1:320 až 1:640 a v tomto ředění byla antiséra používána k vlastní reakci. Tyto byly provedeny v souboru 60 antisér, v němž byly jednotlivé sérotypy zastoupeny alespoň dvakrát. K 0,5 ml antiséra v sérologických zkumavkách o rozměrech 12.7 cm bylo přidáno 0,5 ml bakteriální suspenze a inkubováno při 37 °C. Reakce byly odpočítány po čtyřech až šesti hodinách a po 20 až 24 hodinách. Stupeň aglutinace byl hodnocen obvyklým způsobem čtyř stupňů (+ až ++++). Jako náležitost k jednotlivým sérotypům byla hodnocena přítomnost časně aglutinace (po 4–6 hod.) zkoušené bakteriální suspenze alespoň dvěma antiséry patřícího sérotypu a nepřítomnost nespecifické aglutinace proti jiným antisérům, příp. spontánní aglutinace nestabilní bakteriální suspenzí.

VÝSLEDKY

Růstové a morfologické znaky: izolované kultury se dělí na dvě skupiny. První roste v podobě větších, opákných, hladkých kolonií zprvu šedavých, později výrazně žlutooranžově pigmentovaných. Pigmentace se projevuje až po delší době jejich stání při pokojové teplotě, nebo v pozdější subkulturě. Tato skupina pigmentovaných kmenů při teplotě 45 °C buď vůbec neroste, nebo jen velmi slabě. Druhá skupina kmenů rostla zpočátku v podobě drobnějších, transparentních, hladkých kolonií šedobílých, delším stáním při pokojové teplotě dorůstajících obvyklých velikostí kolonií *M. avium*, rovněž se sklonem k tvorbě prstenců. Tyto kmeny nejevily výraznější pigmentaci ani po delším stání při pokojové teplotě ve tmě nebo na světle, ani v dalších subkulturách. Vyšší teplota 45 °C nebránila jejich růstu. Jednotlivé kolonie jak kmenů pigmentovaných, tak i nepigmentovaných jevíly mazlavou konzistenci a dobře se rozptýřovaly ve fyziologickém roztoku.

Biochemická diferenciaci: nenalezli jsme významné rozdíly v jejich biochemické aktivitě, takže po této stránce se celá skupina izolovaných kmenů jeví jako celek. Kataláza byla shledána u všech zkoušených kmenů pozitivní, peroxidáza negativní, redukce NO₃ slabě pozitivní, teluričitanu draselného a kyseliny pikrové pozitivní, růst na půdě Wagener-Mitscherlichově nepůsobí změnu barevné reakce. Amidové spektrum zkoumaných kmenů jeví rovněž jednotnost v průkazech pyrazinamidázy a nikotinamidázy.

Výsledky biochemických testů, včetně růstových a morfologických znaků, řadí zkoušené kmeny jasně do skupiny aviárních mykobakterií.

Biologickou diferenciací se nám kmeny opět rozdělily do dvou skupin. Kmeny barevné projevily ve své většině malou patogenitu k pokusným králíkům a kuřicím. U morčat nezpůsobily léze vůbec žádné. Pouze u pokusných běhounů se dva zkoušené pigmentované kmeny č. 413 a 425 ukázaly aktivní. Nová tuberkulínová uskutečnění za měsíc a půl po exp. infekci dala již výsledek výrazně pozitivní. Za další měsíc byla pak obě prasata odporazena. Prohlídkou jsme zjistili zduření mízních uzlin střečních, přičemž řez těmito uzlinami vykazoval silné prosáknutí tkáně s nekroticko-kaseózními proužky žlutavé barvy. Změněná tkáň vykazovala bakterioskopicky četné acidostabilní tyčinky. Avšak na vnitřních orgánech nebo jiných mízních uzlinách těchto kusů nebyly prokázány patologicko-anatomicky ani histologicky žádné změny. Kultivací ze

změněných mizních uzlin obou pokusných prasat byly izolovány bez nesnází oba výchozí kmeny. Kmeny nepigmentované se projevíly ke všem laboratorním zvířatům jako typické *M. avium*.

Serotypizace: aglutinace byla provedena u 17 kmenů, náhodně vybraných ze skupiny kmenů izolovaných z ohraničených lymfadenitid prasat. Jednalo se vesměs o kmeny pigmentované. Dále u čtyř kmenů *M. avium*, kontrolních, izolovaných z drůbeže. V první skupině 17 kmenů byla zjištěna u 7 kmenů specifická aglutinace hyperimunními antiséry „Davis“ č. 129 a 435, použitými v titru 1 : 80 a 1 : 160. Další kmen typu „Davis“ byl izolován ze smíšené kultury kmene č. 433, ve kterém byl mimo tento sérotyp prokázán též aviární kmen II. Všechny zbývající kmeny této skupiny dávaly vesměs jednoznačnou specifickou aglutinaci s antiséry typu II, takže jsme je zařadili do skupiny typických aviárních mykobakterií. A rovněž tak i další čtyři kmeny kontrolní, izolované z drůbeže.

Shrnutím dosažených výsledků diferenčních prací s těmito mykobakteriálními kmeny můžeme konstatovat, že u prasat se ložiskové kaseózní a kalcifikované lymfadenitidy ukázaly být zdrojem aviárně podobných mykobakterií, převážně sérotypu „Davis“. Vedle těchto mykobakterií se ve změněných mizních uzlinách střevních nalézají i typické *M. avium*.

DISKUSE

Epizootologický význam nehomogenní skupiny aviárních mykobakterií a jim podobných kmenů nebyl až dosud plně osvětlen. Vedle širokého rozšíření typických aviárních mykobakterií, které lze řadit do sérotypu I a II, se zatím v našich podmínkách začínají sporadicky objevovat další typy nonchromogenních mykobakterií, jejichž původ a šíření ve zvířecí populaci jsou zatím zcela nejasné. Objevení endemického ložiska antigenně dobře definovaného sérotypu „Davis“ je zatím u nás prvním příspěvkem k názoru, že v ozdravených chovech se při vyloučení přenosu typických aviárních kmenů mohou uplatňovat i další sekundární zdroje mykobakteriálních nákaz. Jejich prvotní rezervoár zatím nebyl bezpečně prokázán, zdá se však, že s ohledem na charakter daných epizootologických podmínek je nutno jej předpokládat především v zevním prostředí, a to zvláště ve vodě, hlíně, krmivu apod.

Serotypizačními studiemi bylo prokázáno na omezeném materiálu, že v českých krajích daleko převažují jak u skotu, prasat, drůbeže, tak i u člověka typické aviární kmeny I. a II. skupiny podobně jako v některých jiných evropských státech. Toto zjištění ukazuje na to, že po ozdravení nastupují jako původci nových typů mykobakteriálních onemocnění v prvním sledu typické aviární kmeny a poté další původci ze sekundárních zdrojů. Epizootologickou situaci u skotu a vepřů zatím tedy ovládá skupina aviárních mykobakterií, jejíž agresivita vůči hostiteli je zřetelně vyšší než u ostatních potenciálně patogenních mykobakterií. Nemůžeme ještě bezpečně rozhodnout, zda pozorovaný sérotyp „Davis“ je u nás jediným reprezentantem nonchromogenních mykobakterií, poněvadž rozsah našich studií a počet vyšetřovaných kmenů byl zatím nedostatečný. Je však nápadné, že paleta jednotlivých sérotypů nonchromogenních mykobakterií je podstatně pestřejší ve státech, kde eradikace tuberkulózy boviní a aviární bylo dosaženo již dříve (např. USA, Austrálie, Holandsko).

Sérotyp „Davis“ byl u nás prokázán také při tuberkulózních nálezech u tří osob. V jednom případě šlo o oboustranný zánět krčních lymfatických

uzlin u 10letého chlapce ze západních Čech, další dva případy měly plicní lokalizace tuberkulózy a byly pozorovány u 40letého muže z okresu Frýdek a u 72leté ženy z Gottwaldovska. Předběžná vyšetření také ukazují, že některé z kmenů izolovaných K a z d o u (1967) z drůbeže a vody používané k napájení patří rovněž k sérotypu „Davis“.

Tyto první zprávy o izolacích mykobakterií sérotypu „Davis“ u lidí (Schaefer 1968, Matušková, Kubín, Kuncová 1968) ukazují na okolnost, která by mohla v budoucnosti dále komplikovat situaci epidemiologie lidských mykobakterií. Potvrzují také nutnost důsledné jatečné prohlídky zvláště mizných uzlin zažívacího traktu prasat, a to zejména v případech pozitivních alergických reakcí u dotyčných poražených zvířat.

Literatura

- BAUMANN R., KRENN E., LIEBISCH H., 1955, Die käsige Lymphknotenentzündung der Schweine. 3. Mitt. Übertragungsversuche. *Wien. tierärztl. Mschr.* 42 : 209-215.
- BAUMANN R., KRENN E., LIEBISCH H., 1955, Die käsige Lymphknotenentzündung der Schweine. 4. Mitt., Bakt. Untersuchung. *Wien. tierärztl. Mschr.* 42 : 546-549.
- BAUMANN R., KUBIN G., RITTERHANS E., 1957, Infektionsversuche mit *Mycob. suis*. *Wien. tierärztl. Mschr.* 44 : 650-665.
- BÖNICKE R., 1962, Derzeitiger Stand der Verfahren zur routinemäßigen Differenzierung der verschiedenen Mykobakterium-Arten. *Annls. Soc. belges Méd. trop. Parasit. Mycol.* 4 : 403-440.
- ČERNOVSKÝ J., 1966, Izolace a diference tuberkulózních kmenů ve vztahu k výskytu tuberkulózy u domácích zvířat. *Vet. Med. (Praha)*, 11 : 345-351.
- FROMAN S., 1959, A comparative study of *M. avium* and the Battey type of anonymous acid-fast bacilli. *Am. Rev. Tuberc.* 79 : 831-838.
- HEJLIČEK K., 1966, K problematice tuberkulózy prasat. *Vet. Med. (Praha)*, 11 : 479-484.
- KAZDA J., 1967, Mykobakterien im Trinkwasser als Ursache der Paraallergie gegenüber Tuberkulinen bei Tieren. *Zentbl. Bakt. Parasit. Inf. Hyg. I.*, 203 : 199-211.
- KUBÍN M., 1967, Atypická mykobakteria. Praha. St. zdrav. nakladatelství, 62-64.
- KUBÍN M., MATEJKA M., 1967, Atypická mykobakteria u havranů. *Vet. Med. (Praha)*, 12 : 499-504.
- KOVACS N., 1960, The problem of Battey disease in Western Australia and a possible Reservoir. VI. Int. Kongres für Erkrankungen der Thoraxorgane. Wien.
- MATUŠKOVÁ E., KUBÍN M., KUNCOVÁ V., 1968, Sérologická diference mykobakterií metodou aglutinace podle Schaefera. *Rozhl. Tuberk.* 23, 6 : 363-368.
- MEISSNER G., 1960, Atypische Mykobakterien. III. Mitt. Aviäre und avium-ähnliche Stämme. *Zentbl. Bakt. Parasit. Inf. Hyg. I.*, 180 : 510-521.
- MEYN A., SCHLIESSER Th., 1962, Untersuchungen über das Vorkommen von Mykobakterien in den Darmknoten von Schlachtschweinen. *Mhf. Vet. Med.* 17 : 49-53.
- NASSAL J., ENGLERT K., 1963, Tbc-ähnliche Veränderungen in den Lymphknoten des Schweines. *Mhf. Thk., Beilage Rindertbc. Bruc. Leuk.* 12 : 149-162.
- SCAMMON L. A., PICKETT M. J., FROMAN S., WILL D. W., 1963, Nonchromogenic acid-fast bacilli isolated from tuberculous swine. *Am. Rev. resp. Dis.* 87 : 97-102.
- SCHAEFER W. B., 1965, Serologic identification and classification of the atypical mycobacteria by their agglutination. *Am. Rev. resp. Dis.* 92 : 85-93.
- SCHAEFER W. B., 1968, Incidence of the serotypes of *Mycobacterium avium* and atypical mycobacteria in human and animal diseases. *Am. Rev. resp. Dis.* 97 : 18-23.
- SCHLIESSER Th., 1962, Differenzierungsergebnisse bei der Darmlymphknoten von Schweinen isolierten Mykobakterien. *Annls. Soc. belges Méd. trop. Parasit. Mycol.* 4 : 441-450.

Došlo dne 7. 5. 1968

ЧЕРНОВСКИ Я., КУБИН М. (Государственный институт ветеринарии, Брно, Научно-исследовательский институт туберкулеза, Прага, Чехословакия). Эндемический очаг нехромогенных микобактерий у свиней. Вет. мед. (Прага) 14 (2) : 89-94, 1969.

В вакуум, возникший в результате успешной ликвидации классических инфекций крупного рогатого скота, поступают новые типы микобактериальных инфекций, имеющие специфическую эпизоотологическую характеристику, и которые также своим клиническим течением и патолого-анатомической картиной образуют новые нозологические единицы. Цель настоящего сообщения — указать на эндемические очаги ограниченных туберкулезных воспалений лимфатических узлов у свиней, где путем анализа биологических свойств изолированных микобактерий удалось доказать, что возбудителем являются нехромогенные микобактерии, подобные птичьим микобактериям; нехромогенные микобактерии, однако, заметно отличаются от *M. avium* и образуют хорошо определившийся серотип. Последний у нас не был установлен и он мог бы в будущем стать одной из причин микобактериальных инфекций у домашних животных. Кроме этих микобактерий в измененных лимфатических узлах были доказаны также *M. avium*.

нехромогенные микобактерии у свиней; дифференциация; определившийся серотип; эпизоотологическое значение

ČERNOVSKÝ J., KUBÍN M. (State Veterinary Institute, Brno, Tuberculosis Research Institute, Prague, Czechoslovakia). *An Endemic Deposit of Nonchromogenic Mycobacteria in Pigs*. Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 89-94, 1969.

The vacuum resulting from the successful suppression of classical bovine infections is being entered by new types of mycobacterial infections, which have a specific epizootiological characteristic and which, with their clinical course and pathologico-anatomical picture, form new nosological units. It is the purpose of this report to draw attention to the endemic deposit of defined tuberculous lymphadenitis in pigs, where, by means of analysis of the biological properties of isolated mycobacteria, it was possible to prove that their origin are nonchromogenic mycobacteria differing distinctly from *M. avium* and forming a well-defined serotype. In Czechoslovakia this type has not been observed yet and, in the future, it may become one of the causes of mycobacterial infection of domestic animals. Besides these mycobacteria also *M. avium* was proved in the changed nodes.

nonchromogenic mycobacteria in pigs; differentiation; a distinct serotype; epizootiological significance

ČERNOVSKÝ J., KUBÍN M. (Staatliches Veterinärinstitut, Brno, Tuberkuloseforschungsanstalt, Praha, Czechoslovakia). *Endemische Herde der nonchromogenen Mykobakterien bei Schweinen*. Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 89-94, 1969.

Das durch erfolgreiche Bekämpfung klassischer boviner Infektionen entstandene Vakuum wird durch neue Typen von Mykobakteriuminfektionen ausgefüllt, welche eine spezifische epizootologische Charakteristik aufweisen und auch in Hinsicht auf den klinischen Verlauf und das pathologische und anatomische Bild neue nosologische Einheiten bilden. Zweck der vorliegenden Mitteilung ist es, auf einen endemischen Herd begrenzter tuberkulöser Lymphadenitiden bei Schweinen hinzuweisen, wo es durch eine Analyse der biologischen Eigenschaften der isolierten Mykobakterien gelang, nachzuweisen, daß als Urheber der Erkrankungen nonchromogene, den aviären ähnliche Mykobakterien zu bezeichnen sind, welche sich aber deutlich von *M. avium* unterscheiden und einen gut ausgeprägten Serumtyp bilden. Dieser Typ wurde in der ČSSR bisher nicht festgestellt und könnte in der Zukunft als eine der Ursachen von Mykobakterium-Infektionen bei Haustieren in Frage kommen. Außer diesen Mykobakterien wurde in den veränderten Lymphknoten auch *M. avium* nachgewiesen.

nonchromogene Mykobakterien bei Schweinen; Differenzierung; ausgeprägter Serumtyp; epizootologische Bedeutung

Adresy autorů:

MVDr. Jan Černovský, Státní veterinární ústav, Brno, Kamanova 48

MUDr. Milan Kubín, CSc., Výzkumný ústav tuberkulózy, Praha 10, Šrobárova 48

PŘÍPRAVA A PROVĚŘENÍ SPECIFICKÉHO POLYVALENTNÍHO AGLUTINAČNÍHO SÉRA K RYCHLÉ IDENTIFIKACI KULTUR LISTERIÍ

M. Baštář, J. Král

Ústřední státní veterinární ústav, Praha

BAŠTÁŘ M., KRÁL J. Příprava a prověření specifického polyvalentního aglutinačního séra k rychlé identifikaci kultur listerií. Vet. Med. (Praha) 14 (2): 95-102, 1969.

K rychlé laboratorní identifikaci kultur *Listeria monocytogenes* všech sérotypů se osvědčilo aglutinační diagnostické hyperimunní sérum, vyrobené imunizací králíka více sérotypy *Listeria monocytogenes* (1, 3, 4a, 4b) současně. Tento způsob výroby polyvalentního aglutinačního séra je z ekonomického hlediska výhodnější nežli příprava takového séra z jednotlivých monovalentních typových sér.

polyvalentní sérum pro diagnostiku listerií

Antropozoonózám se v současné době věnuje ve světě zvýšená pozornost, a to jak v humánní, tak i veterinární medicíně. Jednou z nich je listerióza. Listerie byly zjištěny téměř u všech druhů hospodářských zvířat, u zvířat užitkových, exotických a volně v přírodě žijících (Lucas a kol. 1962, Weiss 1965, Kita, Tropilo 1961, Weidenmüller 1959), a to ve všech světadílech (Seeliger 1955, Train 1960). Listerie jsou prokazovány i v hlíně, prachu, půdě (Lehnert 1960), v siláži (Gray 1960, Krüger 1963, Geršun 1966), krmivu a stelivu (Jasińska, Lewandowski, Sobiech 1966), dále v mase a orgánech odporazených zvířat (Jentzsch 1960). Lze uvažovat i o možnosti výskytu v mléce a vejcích (Hartwig 1955, 1958). Pro diagnostiku listerií lze použít běžné techniky bakteriologického vyšetření, jsou k dispozici i některé selektivní půdy s určitými bakteriostatiky (Simon 1956), osvědčuje se i tzv. chladová technika kultivace podle Graye (March 1956) a také šikmé osvětlení kultur podle Henryho k odlišení podezřelých kolonií (Gray 1957). Identifikace *Listeria monocytogenes* nečiní dnes potíže a metody pro tento postup jsou celkem velmi dobře popsány (Train 1959, 1960). Kultury se posuzují (Jentzsch 1960) podle charakteristického růstu na krevním agaru, barvitelnosti podle Gramma, biochemických vlastností, popřípadě podle zvláštního pohybu mikrobů v tekuté kultuře a celkem velmi spolehlivě pomocí Morris-Jullianelle-Antonova keratokonjunktiválního testu. Všechny tyto metody identifikace jsou však časově náročné. Jednou z možností rychlé identifikace zárodků je použití specifického hyperimunního séra (nejlépe polyvalentního) k rychlé aglutinační zkoušce na podložním skle.

Hyperimunního séra lze použít ke kontrolní zkoušce při pomalé aglutinaci a konečně i k přímé či nepřímé imunofluorescenční technice (Smith, Marshall, Eveland 1960, aj.).

I. Zjednodušené diagnostické schéma antigenní struktury *Listeria monocytogenes* (Schéma podle Seeliger a Linzenmeiera)

Sérotyp	Diagnosticky důležité faktory					
	O-faktory			H-faktory		
1	I,	II,		A	B	
2	I,	II,			B	D
3		II,	IV,	A	B	C
4 a			V,		VII,	IX
b			V,	VI,		
c			V,		VII,	
d				VI,	VIII,	
e			V,	VI,	VIII,	IX

Použití hyperimunního séra při imunofluorescenční technice je předmětem další naší práce. V této práci jsme se zaměřili na výrobu a použití hyperimunního séra pro rychlou a pomalou aglutinační zkoušku. K osvětlení problematiky je nutno uvést, že u listerií rozeznáváme dnes v podstatě čtyři hlavní skupinové antigenní typy 1–4. (Zjednodušené schéma je uvedeno v tab. I, kde jsou vyznačeny podtypy jen ve skupině 4). Antigenní strukturou u listerií se zabýval zejména Paterson, který v roce 1939–40 jako jeden z prvních upřesnil typové rozlišení kmenů, prokázal dva druhy antigenů — somatický (O) a flagelární (H) a vytvořil základní schéma antigenní struktury se čtyřmi hlavními sérotypy. Později přispěli k dalšímu pokroku ve výzkumu sérotypů zejména Seeliger, Donker — Voefová (1957, 1958, 1959), Ivanov (1957, 1958, 1962) a jiní, kteří zjišťovali zejména u sérotypu 4, ale i sérotypu 1 a 3 další antigenní faktory (somatické). Úplná antigenní struktura v těchto čtyřech hlavních skupinách se všemi podtypy je podle nových poznatků již značně komplikovaná, nedosahuje však takové mozaiky jako například u salmonel. Podstatné rozdíly jsou v O — antigenní struktuře mezi 1., 3. a 4. sérotypem, v H antigenní struktuře jsou rozdíly jen mezi sérotypy 1 a 2.

Výskyt určitého sérotypu nelze sdružovat ani s druhem, ani se způsobem infekce anebo projevem onemocnění u určitého zvířete nebo člověka. Rozlišování sérotypů listerií má svůj význam z hlediska epidemiologie a epizootologie, protože podle biochemických vlastností nelze jednotlivé typy listerií rozlišit.

Ve většině zemí převládá buď sérotyp 1 nebo 4 (4b). U nás popsali záchyt a identifikaci sérotypů Stricker a kol. (1956), přičemž 28 kmenů z ovce, skotu, prasat a z lidských zdrojů zařadili k typu 1 a 6 kmenů k typu 4b (ze slepic, ovce a telete). Harnach, Mráz a Jiran (1957) uvádějí u různých zvířat výskyt sérotypů 1 a 4. Seeman u hlodavců nalézá (1957) sérotyp 1. Pokud jsme určovali sérotypy na našem pracovišti, jednalo se u našich a námi prověřovaných kmenů (kmeny pocházely z VÚVL) převážně o sérotyp 1, ojediněle jsme určili i kmeny ze 4. skupiny (4b), po jednom kmenu z 2. a 3. skupiny.

Vlastní sérotypizace až na typ je dnes vyhrazena pouze specializované laboratoři, poněvadž — jak jsme se dosud sami mohli přesvědčit — technika přípravy, vysycení i použití sér, která u nás nejsou dosud komerčně dostupná, naráží na značné potíže. Pro rychlou aglutinaci neznámé, podezřelé kultury vystačíme s dobře vyrobeným polyvalentním, popřípadě monovalentními séry. Při sérologickém vyšetření se dnes většinou používá pro průkaz protilátek zvířat v chovu zjištěného (autochtonního) kmene, aniž se kdo blíže zabývá jeho antigenní strukturou. V některých zemích jsou již k dispozici i komerční faktorová séra a antigeny. Kupříkladu Forschungsinstitut für Impfstoffe v Dessau vyrábí diagnostic-

ká séra, a to polyvalentní sérum s faktory I, II a V a dále tzv. faktorové sérum I, II a sérum s faktorem V k odlišení skupiny 4 od ostatních skupin (1, 2, 3). Podle návodu se mají použít ke sklíčkové aglutinaci se 24hodinovou kulturou na krevním agaru. S podstatou metodiky výroby těchto komerčních sér se můžeme setkat v práci Traína (1959, 1960), s použitím antigenu Dessau v práci Hüdemanna, Krügera a Schabinského (1966).

V poslední době se při sérologické depistáži znovu začíná doporučovat používání H-aglutinace, poněvadž rozdíly v H-antigenní struktuře kmenů různých skupin nejsou výrazné (Habsť 1966, Sandoz 1966), mimo skupinu 2. Zdá se proto, že pro běžnou diagnostickou praxi má význam především polyvalentní sérum a vhodná metodika jeho přípravy (Seeliger 1967).

METODIKA

V naší práci jsme se zaměřili na přípravu polyvalentního séra proti kmenům listerií, a to dvojím způsobem:

a) Imunizací jednoho králíka současně sérotypy *L. monocytogenes* č. 1, 3, 4a, 4b.

b) Smícháním stejných dílů koncentrovaných monovalentních králíčích sér, z nichž každé bylo vyrobeno imunizací jednoho králíka jedním sérotypem.

K použití byla obě koncentrovaná polyvalentní séra ředěna fenolizovaným (0,5%) fyziologickým roztokem nebo čistým fyziologickým roztokem.

Kmeny použité k imunizaci králíků byly předem morfologicky a mikroskopicky ověřeny (S-fáze), oživeny pasáží přes myš (*i. p.* injekcí) s následným usmrcením zvířat a vyočkováním kmene. Antigen k očkování byl získáván kultivací ověřeného a přepasážívaného kmene v pufovaném glukózovém (1%) bujónu 48 hodin při 37 °C. Po kultivaci byla kultura v tekutém prostředí fixována varem trvajícím jednu hodinu a konečně zastavení antigenu bylo provedeno po promytí, odstředění a resuspendaci ve fyziologickém roztoku na hustotu 0,043–0,045 % objemu buněk pomocí Mac Farlandova bariumsulfátového standardu. Králíci o střední váze byli imunizováni intravenózně opakovanými, stále zvětšovanými dávkami antigenu (Seeliger 1961, Nelson, Shelton 1965) každý den po celý týden a pak opakovaně po týdenní pauze s opakováním série očkování (1–2 X). Při imunizaci králíků — po jedné opakované sérii očkování a po skončení očkování — byla kontrolně odebírána krev, aby se zjistila výše titru protilátek. K vlastním zkouškám s vyrobenými séry byly používány čerstvé porosty z krevního agarů a z masopeptonového agarů, z glukózového agarů a konečně i výchozí antigeny používané k imunizaci králíků běžnou technikou sklíčkové aglutinace (sérum a antigen aa) s posuzováním výsledku aglutinace do 1,5 až 2 min. a do 5 minut (s kontrolou na spontánní aglutinace smíšením kultury s fyziol. roztokem).

Kontrolní pomalé aglutinace jsme dělali rovněž běžnou technikou s titrací séra vždy dvojnásobně ředěného s konečným výchozím ředěním 1 : 20–1 : 40 v 1. zkumavce po 18 až 24hodinové inkubaci při 37 °C a po půlhodinovém závěrečném ponechání při pokojové teplotě nebo v chladu. K ověření výsledků byla použita diagnostická séra vyrobená v NDR v Dessau (dodaná z Prüfungs-institut v Berlíně), a to jak polyvalentní sérum, tak i séra faktorová (I, II a V).

VÝSLEDKY PRÁCE

Dosažené výsledky je možno rozdělit na dvě části, které spolu dosti souvisí:

1. Výsledky týkající se techniky výroby a přípravy séra.

2. Výsledky o použitelnosti polyvalentního séra v laboratorní diagnostice listerií.

ad 1. Jako hyperimunní séra lze prakticky použít sér s 0 aglutinačním titrem alespoň 1 : 640⁺⁺. Individuální výběr králíků je nutný, stejně jako kon-

II. Použití různých polyvalentních (smíšených) sér k rychlé aglutinaci s různými kmeny

Kmeny na MPA nebo KA	Polyvalentní (smíšená) séra				
	1. T1+T3+ + T4b	2. T1+T4b	3. T1+T3+ + T4a+T4b	4. T3+T4b	5. králík T4b, T1, T3, T4a, T4b
<i>Listeria m. 1</i>	++	+(++)	+	+(-)	++
<i>Listeria m. 2</i>	++	+(++)	+	+	++
<i>Listeria m. 3</i>	++	-	+	++	++
<i>Listeria m. 4a</i>	++	-	+	++	++
<i>Listeria m. 4b</i>	++	+(++)	+	+(±)	++
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	-(±) *	±(+) *	±(+)	-	+
<i>Erysipelothrix</i>	-(±)	± *	±(+) *	+	+ *
Enterokoky	-(±)	± *	± *	±	± *
Staphylokoky	-(+) *	-	-	±	±
Streptokoky sk. C	-(+)	+(-) *	+ *	+	± *
<i>S. typhi murium</i>	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-

* spontánní nebo nesp. aglutinace

Séra 1, 2, 3, 4 byla vyrobena smíšením stejných dílů sér s fyziol. roztokem v poměru 1 : 9

Sérum 5 bylo vyrobeno očkováním králíka více antigeny současně, rovněž v konečném ředění fyziol. roztokem 1 : 9

Titry použitých sér v pomalé aglutinaci:

T 1 1 : 640

polyvalentní sérum

T 1 1 : 640

T 3 1 : 160

z 1 králíka souč.:

T 2 1 : 2560

T 4a 1 : 160

T 3 1 : 640

T 4b 1 : 640

T 4a 1 : 160

MPA = masopeptonový agar

T 4b 1 : 640

KA = krevní agar

T = sérotyp

trola, zda u nich nejsou přirozené protilátky ve vyšším titru. Jedna série očkování i při zvyšovaných dávkách inokula nestačí k výrobě použitelného séra, nejlepších výsledků bylo dosaženo až po druhé sérii očkování. Králíky už lze inokulovat i velkými dávkami antigenů. Neosvědčilo se však použití depotního inokula a očkování do spojivky (čínská metoda).

ad 2. Podle výsledků pokusu o vlastní použitelnosti námi vyrobených sér se nejlépe osvědčilo polyvalentní sérum vyrobené očkováním králíků současně směsí více reprezentativních kmenů z různých typových skupin. Polyvalentní sérum získané smícháním jednotlivých monovalentních sér proti sérotypům 1, 3 a 4b dávalo též uspokojivé výsledky, zato při použití polyvalentních sér získaných smíšením jen dvou složek, kupř. sér proti typu 1 a 4b anebo smíšením sér proti typu 3 a proti typu 4b, nebyly výsledky uspokojivé. Přehled výsledků zkoušky použitelnosti vyrobených sér je uveden v tab. II.

III. Použití polyvalentního séra „Forschungsinstitut Dessau“ k rychlé aglutinaci s kmeny hlavních sérotypů

Sérum Dessau proti antigenům	Použité kmeny k rychlé aglutinaci	Antigeny uvedených kmenů z porostů (kultur)		
		krev. agar	gluk. agar	fix. antig. bujonový
0, I, II, V	T 1	+	++	++
	T 3	+	++	++
	T 4a	+	—	±
	T 4b	+	++	++

Podobné výsledky jsme získali i s polyvalentním sérem z Forschungsinstitut v Dessau (viz tab. III), kde se rovněž při použití listerií různých sérotypů ukázalo, že smíšené sérum, vyrobené jen ze dvou sérotypů, nemusí dávat zcela dobré výsledky, když nejsou u zkoušeného kmene všechny složky antigenní mozaiky plně a ve stejné výši vyvinuty. Také podle předběžných výsledků pokusů s nepřímou imunofluorescencí (bude uvedeno v další práci) se ukázalo pro detekci listerií jako nejlepší sérum vyrobené imunizací králíka několika typovými kmeny současně a jako již daleko méně výhodné sérum vyrobené smíšením jen dvou monovalentních listeriových sér. Pokud se týče částečné aglutinace i s jinými grampozitivními zárodky, jedná se většinou o známou již antigenní shodu (Seeliger 1955, Poljakova 1962 aj.), pokud je u těchto zárodků vyloučena spontánní aglutinace.

DISKUSE

Výsledky námi dosažené se poněkud rozcházejí s údaji výrobců polyvalentního séra v Dessau, kteří pro výrobu považují za dostačující pouze dva sérotypy *Listeria monocytogenes* (1 a 4a). Když uvážíme, že podle dosavadních průzkumů se tyto sérotypy vyskytují v přírodě nejčastěji, pak by bylo možno s tímto postupem souhlasit za předpokladu, že pro sklíčkovou aglutinaci budou používány kultury vyrostlé na kvalitních živných půdách, aby reprezentativní anti-

genní složky byly vždy v plné míře vytvořeny. Podle našich experimentálních výsledků je však zřejmé, že vyšší spolehlivost vykazuje diagnostická aglutinační zkouška s polyvalentním sérem vyrobeným z více sérotypů *L. monocytogenes*, které zachycuje více dílčích antigenů. V tomto směru jsou naše poznatky souhlasné s Evelandem (1963), který pracoval se smíšeným sérem připraveným ze sérotypů 1, 2, 3a, 3b, 4a, 4b. Naše výsledky uvedené v tab. II (výsledky se smíšenými séry složenými z více komponentů) mohly být ovlivněny i nižšími titry složkových monovalentních sér proti sérotypům 3 a 4a. Pokud se týče některých poznatků získaných při výrobě sér, měli jsme sami již dříve možnost si ověřit, že tzv. nízké — přirozené — titry protilátek, důležité při výběru králíků k imunizaci, nemusí být specifické (Bašťař 1962).

Předpokladem úspěchu výroby kvalitních hyperimunních antilisteriových sér je použití kultur v S fázi, virulentních pro myšku (0,3 ml bujónové kultury *intrapertit.* podle Traina), které jsou pohyblivé a vykazují v růstu na plotnách i v mikroskopickém preparátu typickou morfologii (Šlygina 1959).

Při výrobě polyvalentních antilisteriových sér je z ekonomického hlediska výhodnější výroba séra imunizací jednoho králíka více sérotypy současně. Je to výhodné zejména proto, že výrobě musí předcházet pečlivý výběr králíků, kteří pro imunizaci nemají vykazovat tzv. přirozené titry. Králíků je také potřeba méně.

Literatura

- BAŠTÁŘ M., 1962, Studie některých vlastností listerií, jejich epizootologie. Kand. dizert. práce, Brno, vet. fakulta, 88 s.
- DONKER - VOET J., 1957, Serological studies on some strains of *Listeria monocytogenes*. *Tijdschrift v. Diergeneeskunde*, 82 : 341-350.
- DONKER - VOET J., 1958, Serological studies on some strains of *Listeria monocytogenes* especially type IV strains: ex: Roots E., Strauch D. Příl. 1, *Zblt. Vet. Med. Listeria-Symposium*, 37-44.
- DONKER - VOET J., 1959, A serological study on some strains of *Listeria monocytogenes* isolated in Michigan. *Amer. J. Vet. Res.* 20 : 176-179.
- EVELAND W. C., 1963, Demonstration of *Listeria monocytogenes* in direct examination of spinal fluid by fluorescent-antibody technique. *J. Bacter.* 85, 6 : 1448-1450.
- GERŠUN V. J., 1966, Metodika vydělení listerií z silosa. *Vetěrinarija* 43, 7 : 103-104.
- GRAY M. L., 1957, A rapid method for the detection of colonies of *Listeria monocytogenes*. *Zblt. Bakt. Parasit. Inf. Krhten u. Hygiene*, 169, 5—6 : 373-377.
- GRAY M. L., 1960, Isolation of *Listeria monocytogenes* from oat silage. *Science* 132, 3441 : 1767-1768.
- GRAY M. L., 1960, A possible link in the relationship between silage feeding and listeriosis. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 136 : 205-208.
- GRAY M. L., 1957, STAFSETH H. J., THORP F. jr., 1957, Colonial dissociation of *Listeria monocytogenes*. *Zblt. Bakt. Paras. Inf. Krhten u. Hygiene*, I. Orig., 169, 5—6 : 378-392.
- HABST H., 1966, Zur Technik der H-Agglutination in der Listeriose-Diagnostik. *Zblt. Bakt. Paras. Inf. Krhten u. Hygiene*, I. Orig., 201 : 357-362.
- HARNACH R., MRÁZ O., JIRAN E., 1957, Naše nálezy kmenů *Listeria monocytogenes* u ovcí, selat a ptáků. *Vet. med.* 2, 30, 6 : 395-400.
- HARTWIGK H., 1953, Die Listerella-Infektion. *Berl. Münch. tierärztl. Wchschr.* 9, 66 : 133-135.
- HARTWIGK H., 1958, Zum Nachweis von Listerien in der Kuhmilch. *Berl. Münch. tierärztl. Wchschr.* 71, 5 : 82-85.
- HUDEMANN H., KRÜGER W., SCHABINSKI G., 1966, Empfehlungen zur Sero-diagnostik der Brucellose u. Listeriose. *Zeitschr. ges. Hygiene u. ihre Grenzgebiete*, 12, 7 : 513-518.
- IVANOV I., 1958, La listeriose chez les ovins et les caprins. *Off. Int. Epizootie.* 48 : 571-583.

- IVANOV I., 1957, Izsledovanija vyrchu listeriozata po ovcete pi kozite u nas. Naučni trud. ser. Život i. veter. 2, 2: 35-40.
- IVANOV I., 1962, Untersuchungen über die Listerien der Schafe in Bulgarien. *Mhfte f. Vet. Med.* 17, 18: 729-736.
- JASINSKA S., LEWANDOWSKI L., SOBIECH T., 1966, Environmental studies in the incidence of *Listeria monocytogenes* in silage, plants and soil. *Weterynaria*, 19: 89-107 ex. *Vet. Bull.*
- JENTZSCH K. D., 1960, Listeriendiagnostik bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung. *Mh. Vet. Med.* 15, 15: 515-518.
- KITA J., TROIPOLO J., 1961, Zajace jako ewentualny rezerwuwar zarazka *Listeria monocytogenes*. *Med. veter.* 17, 1: 13-15.
- KRÜGER W., 1963, Das Vorkommen von *Listeria monocytogenes* in den verschiedenen Silagen und dessen ätiologische Bedeutung. *Arch. exp. Vet. Med.* 17, 1: 181-203.
- LEHNERT Ch., 1960, Die Tenazität von *Listeria monocytogenes* in der Außenwelt. *Zblt. Bakt. Paras. Inf. Krh. u. Hygienes* 180: 350-356.
- *Listeria* — Trockenantigen „Dessau“ — Diagnostisches *Listeria*-Serum-Dessau, leták, Rot. Dessau, Forschungsinstitut f. Impfstoffe, Dessau, Ministerium f. Landwirtschaft Erfassung u. Forstwirtschaft der DDR.
- LUCAS A., LAROCHE M., HAMEL J., CHAURAT J., 1962, L'infection naturelle à *Listeria monocytogenes* chez le canard, la perdrix, le faisan, le pigeon. *Rec. méd. vét.* 31.
- MARCH R. W., 1956, A rapid method for the isolation of *L. monocytogenes* from bovine brain. *Cornell vet.* 46: 274-276.
- MARTINEVSKIJ I. L., 1961, O listerioze boľšich i poludennych peščanok. *ŽMEI* 32, 5: 85-91.
- MARTINEVSKIJ I. L., 1961, O dissociaciji i dissociirovavšich kulturach listerioznogo i erisipeloidnogo mikrobov. *ŽMEI* 32, 11: 137.
- NELSON J. D., SHELTON S., 1965, Immunofluorescent studies of *Listeria monocytogenes* and *Erysipelothrix insidiosa*. Application to clinical diagnosis. *J. Lab. Clin. med.* 62, 6: 935-942.
- PATERSON J. S., 1940, The antigenic structure of organisms of the genus *Listerella*. *J. Path. Bact.* 51: 427-436.
- POLJAKOVA O. A., 1962, Primenenie fluorescirujuščich syvorotok dlja identifikacii vozbuditelja listelleza s.-ch.-životnych. *Trudy VIEV* 29.
- POMANSKAJA L. A., 1964, O dissociaciji listerij. *ŽMEI*, 41: 1179-1185.
- POMANSKAJA L. A., 1961, K voprosu o polimorfizme listerij. *ŽMEI*, 32, 3: 124-129.
- SANDOW D., 1966, Zur Serodiagnostik der Listeriose. *Z. med. Mikrob. u. Immun.* 152, 4: 342-352.
- SEELIGER H. P. R., 1953, Zur Serodiagnostik der Listeriose. *Zschr. Immunitätsforschung u. exp. Therapie* 110, 4, 3.
- SEELIGER H. P. R., 1955, Die Listeriose. Beitrag zur Hygiene u. Epidemiologie 8. *J. Barth. Verl.* 152 s.
- SEELIGER H. P. R., 1958, Die Serodiagnostik der Listeriose, ex.: Roots E., Strauch D., Listeriosen-Symposium, *Zblt. Vet. Med. Beil.* 1: 20-34.
- SEELIGER H. P. R., 1961, Production of subacute and chronic listeriosis in experimental infected mice. *Antimor. agents annual*, 240.
- SEELIGER H. P. R., 1962, Die ätiologische Diagnose der Listeriose. *Zblt. Bakt. Paras. Inf. Krh. u. Hyg.* 1. Orig. 187, 2: 267-277.
- SEELIGER H. P. R., Tax. konference čsl. spol. mikrob. Brno, 28.—29. září 1967.
- SEEMAN J., 1957, Nálezy *Listeria monocytogenes* u hlodavců. *ČSEMI* 6, 3: 140-145.
- SIMON C., 1956, Möglichkeiten zur Anreicherung von *Listeria monocytogenes* in flüssigen Vorkulturen. *Z. Hyg. Inf. Krh.* 143: 159-172.
- SMITH Ch. W., MARSCHALL J. D., EVELAND W. C., 1960, Identification of *Listeria monocytogenes* by the fluorescent antibody-technique. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 103: 842-845.
- STRICKER R., GRUNERT Z., KARELOVÁ J., KOPPEL Z., 1956, Príspevok k výskytu listerioz u zvierat na Slovensku. *Vet. čas.* 5, 5: 352-355.
- SLYGINA K. N., 1959, K voprosu ob izmenčivosti vozbuditelja listerelleza. *ŽMEI* 30, 2: 56-61.
- TRAIN G., 1959, Ein Beitrag zur planmäßigen Bekämpfung der Listeriose. *Mhfte Vet. Med.* 14, 22: 695-702.
- TRAIN G., 1960, Jahresbericht der Listeriose — Zentralstelle am Staatl. Vet. Med. Prüfungsinstitut. *Mhfte Vet. Med.* 17, 18: 745-756.

WEIDENMÜLLER H., 1958, Listerienfunde beim Wild. *Mhft. f. Tierheilkunde* 10, 3: 66-71.
WEISS J., 1965, Listeriose u. Silagefütterung beim Schaf. *Tierärztl. Umschau* 20, 2: 72-74.

Došlo dne 8. 7. 1968

БАШТАРЖ М., КРАЛ Я. (Центральный государственный ветеринарный институт, Прага, Чехословакия). Изготовление и проверка специфической многовалентной агглютинативной сыворотки для быстрой идентификации культур листерий. *Вет. мед. (Прага)* 14 (2): 95-102, 1969.

Для быстрой лабораторной идентификации культур *Listeria monocytogenes* всех серотипов хорошо себя оправдала агглютинативная диагностическая гипериммунизированная сыворотка, изготовленная путем иммунизации кролика при помощи нескольких серотипов *L. monocytogenes* (1, 3, 4a, 4b) одновременно. Этот способ продукции многовалентной агглютинативной сыворотки с экономической точки зрения более выгоден, чем изготовление такой сыворотки из отдельных моновалентных стандартных сывороток.

многовалентная сыворотка для диагностики листерий

BAŠTÁŘ. M., KRÁL. J. (Central State Veterinary Institute, Prague, Czechoslovakia). *Preparation and Checking of a Specific Polyvalent Agglutination Serum for a Rapid Identification of Listeria Cultures.* *Vet. Med. (Praha)* 14 (2): 95-102, 1969.

For a rapid laboratory identification of cultures of *Listeria monocytogenes* of all serotypes satisfactory proved to be an agglutinative diagnostic hyperimmune serum, produced by means of an immunization of a rabbit with several serotypes of *Listeria monocytogenes* (1, 3, 4a, and 4b) simultaneously. From the economic point of view this method of production of the polyvalent agglutination serum is more advantageous than is the preparation of such a serum from the several monovalent type sera.

polyvalent serum for the diagnostic of *Listeria*

BAŠTÁŘ M., KRÁL J. (Staatliches Zentralveterinärinstitut, Praha, Tschechoslowakei). *Herstellung und Überprüfung des spezifischen, polyvalenten Agglutinationsserums zur schnellen Identifikation von Listerellenkulturen.* *Vet. Med. (Praha)* 14 (2): 95-102, 1969.

Zur schnellen laboratorischen Identifikation von *Listeria-monocytogenes*-Kulturen aller Serumtypen bewährte sich ein diagnostisches hyperimmunes Agglutinationsserum, welches durch gleichzeitige Immunisierung von Kaninchen mit mehreren *Listeria-monocytogenes*-Serumtypen (1, 3, 4a und 4b) hergestellt wurde. Diese Methode der Erzeugung des polyvalenten Agglutinationsserum ist vom ökonomischen Gesichtspunkte vorteilhafter als die Erzeugung dieses Serums aus einzelnen monovalenten Typenseren.

Polyvalentes Serum zur Listeriendiagnostik

Adresa autorů:

MVDr. M. Baštář, CSc., doc. MVDr. Jaroslav Král, Ústřední státní veterinární ústav, Praha 6, Suchbát-Lysolaje, Kamýcká ul.
Reditel: MVDr. Š. Haladej, CSc.

PENICILINOVÝ PERLOVÝ TEST V DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTICE *Bacillus anthracis* A *Bacillus cereus*

K. Prokůpek

Státní veterinární ústav — Národní referenční laboratoř pro antrax, Gottwaldov-Lazy

PROKŮPEK K. *Penicilinový perlový test v diferenciální diagnostice Bacillus anthracis a Bacillus cereus*. Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 103-112, 1969.

Podstatou penicilinového perlového testu je specifický účinek malých dávek penicilinu (0,05—0,5 j PNC/ml media) na citlivé antraxové buňky. Mladá (3—4 hod.) antraxová populace na všech stupních virulence dává stabilně pozitivní reakci. Reakce dosahuje vrcholu za 3 až 4 hod. od zahájení, přičemž pozitivní výsledek je vyjádřen tvorbou kulatých sférických útvarů (sféroplastů). Průběh penicilinového perlového testu je reversibilní a antraxové buňky dosahují návratu k normální tvarové formě asi za 10 až 14 hod. Cereové kmeny a ostatní aerobně sporující mikroby se vyznačují negativním penicilinovým perlovým testem. Výsledek penicilinového perlového testu může být ovlivněn zvýšenou produkcí penicilinázy. Rušivý účinek penicilinázy lze však eliminovat použitím semisyntetických penicilinů, z nichž nejlépe se osvědčil oxacylin. Na podkladě výsledků početného ověřovacího a srovnávacího materiálu lze hodnotit penicilinový perlový test jako specifickou, vysoce citlivou a spolehlivou metodu, kterou v souboru diferenciálně-diagnostických testů mezi *Bac. anthracis* a antraxu podobnými mikroby můžeme považovat za nejvýznamnější. Tím se potvrzují hlavní dosavadní poznatky o diferenciaci pomocí tohoto testu. Byl vypracován standardní postup penicilinového perlového testu.

penicilinový perlový test; sféroplasty; *Bac. anthracis*; *Bac. cereus*; penicilináza; semisyntetický penicilin; oxacylin; diferenciálně-diagnostická metoda; standardní postup

Diferenciální diagnostika mezi antraxovými a antraxu podobnými mikroby zůstala dlouho nedořešeným problémem. Bylo to zejména proto, že v přírodě se setkáváme vedle virulentních také s oslabenými a avirulentními antraxovými kmeny. Na druhé straně existují v celé škále cereových populací také kmeny projevující se určitou patogenitou.

Jak rostlo naše poznání nejen o *Bacillus anthracis*, ale také o antrakoidních mikrobech, nemohly nadále různé testy, považované dříve za spolehlivé, úplně obstát. Proto bylo třeba vyhledatí taková kritéria, o která by bylo možno diagnostiku spolehlivě opřít.

U virulentních antraxových kmenů je celkem spolehlivá, rychlá a v každé laboratoři snadno proveditelná zkouška průkazu pouzder *in vivo* (na bílých myškách) podle Š l j a c h o v a a G r u z e (1961). Avšak tuto metodu nelze použít u kmenů silně mitigovalých a avirulentních. Ani test se specifickým fágem nelze podle experimentálních zkušeností považovat za dostatečně spolehlivý.

Je ještě řada dalších diferenciačních zkoušek. Jsou hodnoceny v pracích četných autorů a je jim přikládána různá hodnota. O hlavních je souborně pojednáváno v pracích domácích autorů P l e v y, H a r n a c h a a M e s á r o š e (1960) a P r o k ů p k a (1964).

Za objekt našeho studia jsme si vybrali penicilinový perlový test z toho důvodu, že ve srovnání s jinými testy dával nejspolehlivější výsledky. Protože některé okolnosti při provádění penicilinového perlového testu nebyly dostatečně jasné a nechyběly ani hlasy o jeho negativní hodnotě, rozhodli jsme se jej důkladně prostudovat a prověřit.

V této části práce věnujeme pozornost některým speciálním otázkám, zejména působení penicilinázy na průběh testu a možnosti použití semisyntetických penicilinů.

Pro pochopení podstaty penicilinového perlového testu je třeba poznat mechanismus působení penicilinu.

Podstatnou součástí bakteriální buněčné stěny jsou mukopeptidy. Jejich funkci je zpevňovat buněčnou stěnu a udržovat tvar buňky. Zah n (1963) sděluje, že působením penicilinu dochází k podvázání biosyntézy mukopeptidů, což má za následek ztrátu pevnosti stěny a změnu tvaru buňky. Morfologické změny, vyvolané působením penicilinu, se uplatňují zejména u grampozitivních mikrobů, protože jejich buněčná stěna pozůstává převážně z mukopeptidů.

Studiem morfologických změn, vyvolaných penicilinem u bacilaceí se zabýval Jensen (1949, 1950). Později Jensen a Kleemeyerová (1953) jako první využili těchto změn v diferenciální diagnostice. Autoři vyzkoušeli a vzájemně porovnali citlivost a specifitu vyšetřovací metody na 50 antraxových a 43 antraxu podobných kmenech. Podle typických kulatých silně světlolomných útvarů, seřazených vedle sebe jako šňůra perel, nazvali autoři test „Perlschnurtest“. Test byl u všech antraxových kmenů pozitivní, u antraxu podobných negativní. Pokud se vyskytly tvarové změny, nebyly to změny typické pro antrax. Za zmínku stojí chování pohyblivé varianty *Bac. anthracis*. Ta nevytvářela pro antrax typické tvarové změny, ačkoliv výchozí kmen dával pozitivní reakci. Na základě dosažených výsledků označili autoři „Perlschnurtest“ za specifický a pro diagnostickou praxi vhodný.

Gustafson a Svehag (1956) došli k závěru, že antraxové zárodky vykazují charakteristické změny, zatímco antraxu podobné bacily za obdobných podmínek tvarové změny nevykazují. U jednoho antraxového kmene málo citlivého na penicilin k vytvoření typických změn nedošlo. Seidel, Strassmann (1956) a Kielwein (1957) zaujímají k testu negativní stanovisko, protože prý nedává diagnosticky zhodnotitelné výsledky. Ivanovics a Földes (1958) uvádějí reakci perlového testu mezi vybranými diferenciálně diagnostickými metodami. Tomcsik a Baumann-Grace (1959) využili perlového testu pro kontrolu identity kmenů, kterých použili ve svých pokusech. Všechny antraxové kmeny daly pozitivní reakci. Z 35 cereových kmenů dala převážná většina negativní perlový test. Jen u 5 kmenů se objevily ojediněle kulovité formy. Tyto velké kulaté sférické útvary, objevující se občas u cereových kmenů, nelze odlišit od antraxových.

Seidel (1959) zařazuje sice perlový test mezi diferenční metody, avšak poznamenává, že je to metoda s pracovním rizikem a že u penicilinorezistentních antraxových kmenů ji nelze použít. Leise a kol. (1959) hodnotí kladně perlový test. Reakce se posuzuje podle typických kulatých buněčných forem. Změny se musí posuzovat mikroskopicky. Všechny antraxové kmeny, virulentní i avirulentní, daly pozitivní perlový test. Cereové *mycoides* a *subtilis* kmeny daly perlový test negativní, kromě čtyř kmenů cereových. Autoři hodnotí z hlediska diferenciální diagnostiky nejvíce perlový test a gamafágový test. Hill (1960) řadí mezi osvědčené diferenční metody perlový test.

Příznivě hodnotí reakci perlového testu také sovětská autoři. Koljakov a Melichov (1960), stejně jako Busigny (1962) a Ponomarevová (1963) potvrdili možnost využití fenomenu vytváření „perlám“ podobných forem k identifikaci *Bac. anthracis*. Vysokou hodnotu a specifčnost testu potvrdili dále Akimovič a Samoljova (1964), Markjavič (1967), Šljachov a Gruz (1967). Japonští autoři Keneda a kol. (1964) vyzkoušeli 36 antraxových a 57 antrakoidních kmenů metodou perlového testu. Všechny antraxové kmeny daly pozitivní, antrakoidní negativní reakci. Autoři doporučují použití perlového testu v laboratorní praxi. Čínští pracovníci Li Liang-shu a Kuo Shiang-bao (1965) srovnávali účinnost perlového testu v tekuté a na pevné půdě. Při provádění testu v bujónu bylo prověřeno 269 antraxových kmenů, ze kterých 95,2 % dalo typickou reakci. Ze 302 kmenů ostatních aerobně sporulujících mikrobů dalo jen 7,6 % atypickou reakci.

Z našich autorů studovali hodnotu perlového testu Pleva, Harnach a Mešároš (1960). Bylo testováno 67 antraxových a 40 antraxu podobných převážně cereových kmenů. Perlový test byl u všech antraxových kmenů pozitivní. Všechny 40 antrakoidních kmenů daly negativní reakci.

Koppel, Sokol, Hrušovský, Tomka a Beňo (1965) zabývali se možnostmi rychlé diferenciace antraxových zárodků od antraxu podobných mikroby. V řadě testů, které autoři ve své práci vyzkoušeli, zaujímá perlový test příslušné místo jako citlivá a spolehlivá metoda. Podle autorů daly antrakoidní zárodky jednoznačně negativní výsledek perlovým testem.

Stanovisko recenzenta k literárním řešením: Většina pracovníků, zejména v novější době, se shoduje v tom, že metoda perlového testu je citlivá a po stránce specifity velmi přesná diferenciálně diagnostická zkouška. Je proto perlový test zařazován mezi hodnotné metody, sloužící k rozlišování zejména antraxových a antraxu podobných zárodků. Proto překvapuje, že v obsáhlé monografii amerických autorů Lincoln a kol. (1964) o antraxu není v kapitole o diferenciální diagnostice tento test uveden.

Většinu prací bych vytkl, že není přesně uvedena metodika provádění perlového testu. Kromě toho řada pracovníků používá různé uzpůsobené metodiky, takže autoři mohou dojít k odlišným výsledkům.

MATERIÁL A METODIKA

Pracovali jsme s modifikovanou metodou barveného preparátu. Standardní metodiku jsme vypracovali na podkladě bohatých zkušeností s prováděním penicilinového perlového testu touto metodou.

Media: Za kultivační půdu jsme použili masopeptonový bujon standardního složení (pH 7,4), 20% krevní agar (beraní krev). Testovací půdou byl 20% krevní agar s přísadkou 0,5 j PNC/ml media. Za antibiotikum jsme zvolili draselnou sůl G — penicilinu. Preparáty na podložním sklíčku byly barveny standardní technikou podle Grama.

Metodika: 18hodinová kultura zkoušeného kmene na krevním agaru se přeočkuje do masopeptonového bujonu tak, aby bujon byl difuzně zkalen (klička kultury se rozetře na stěně zkumavky) a ponechá růst 3 hod. při 37 °C. Z bujonové kultury se přenese bakteriální suspenze na testovací půdu (krevní agar, obsahující 0,5 j PNC/ml media). Způsob provedení inokulace je důležitým a citlivým místem postupu. Použije se čerstvě připravených a na povrchu ještě lehce zvlhčelých agarových misek. Množství inokula se řídí hustotou bujonové kultury a vlhkostí povrchu agarové vrstvy a pohybuje se v rozsahu 0,7—1,0 ml bujonové kultury. Inokulaci provedeme tak, aby za dodržení všech kautel sterilní práce vytvořilo inokulum ve střední části agarové plotny vrstvu bujonu, která po dobu inkubace nevyschne. Na testovací půdě roste kultura tři hodiny při 37 °C. To je rozhodující doba pro posouzení testu. Souběžně se dělá kontrola na krevním agaru bez penicilinu.

Zhotovení preparátu: Z povrchu agaru sejmemme opatrně tři kličky slabě narostlé kultury tak, abychom nenarušili povrch agaru a materiál přeneseme na dobře očištěné sklíčko, necháme dobře zaschnout a šetrně fixujeme plamenem. Preparát pak obarvíme podle Grama a prohlédneme imerzí. Koncentrace penicilinu v živné půdě musí být stanovena precizně, jinak může dojít k tvarovým odchylkám. Proto je třeba každou šarži půdy kontrolovat standardním antraxovým kmenem, který dává typickou reakci penicilinovým perlovým testem.

Základní tvarové změny vznikající působením malých dávek penicilinu jsou: zduření tyčinek, přechodné formy (růžencovité, elipsoidní, ovoidní), kulaté sférické útvary (sféropasty).

Pro pozitivní posouzení reakce je rozhodující vytváření kulovitých sférických útvarů (sféroplastů). Tato reakce, typická a specifická pro antraxové kmeny, dosahuje vrcholu za tři hodiny.

VÝSLEDKY

PROVĚŘENÍ CITLIVOSTI A SPOLEHLIVOSTI TESTU

Metodou penicilinového perlového testu (PPT) bylo prověřeno 340 antraxových kmenů vlastní sbírky. U všech virulentních kmenů byla zjištěna jednoznačně pozitivní reakce, přičemž podíl sféroplastů na vrcholu reakce (za 3 hod.) činil 70 až 100 % z populace. Také antraxové kmeny o snížené virulenci i kmeny avirulentní, včetně vakcinačního kmene Sterne (32 kmenů), daly vesměs pozitivní reakci. Podíl sféroplastů byl zde nižší a pohyboval se v rozsahu mezi 10 a 60 %. Z výsledků je možno vyvodit všeobecný závěr, že účinkem malých dávek penicilinu dochází u antraxových kmenů k vývinu sféroplastů, přičemž virulentní kmeny mají větší schopnost vytvářet sférické útvary nežli kmeny mitigované nebo avirulentní (obr. 1).

Na podkladě četných a několikrát opakovaných experimentálních výsledků a bohatých zkušeností s použitím testu na různém materiálu je možno prohlásit, že specifita a citlivost penicilinového perlového testu je vynikající.

Za účelem srovnání bylo prověřeno penicilinovým perlovým testem 110 cerebrových kmenů. Reakce byla u všech kmenů negativní a probíhala většinou jen ve formě přechodného zduření tyčinek. Pouze u 12 kmenů jsme pozorovali tvoření přechodných forem, které v průběhu reakce (do dvou hodin) vymizely, takže také u těchto kmenů byl výsledek testu negativní (obr. 2).

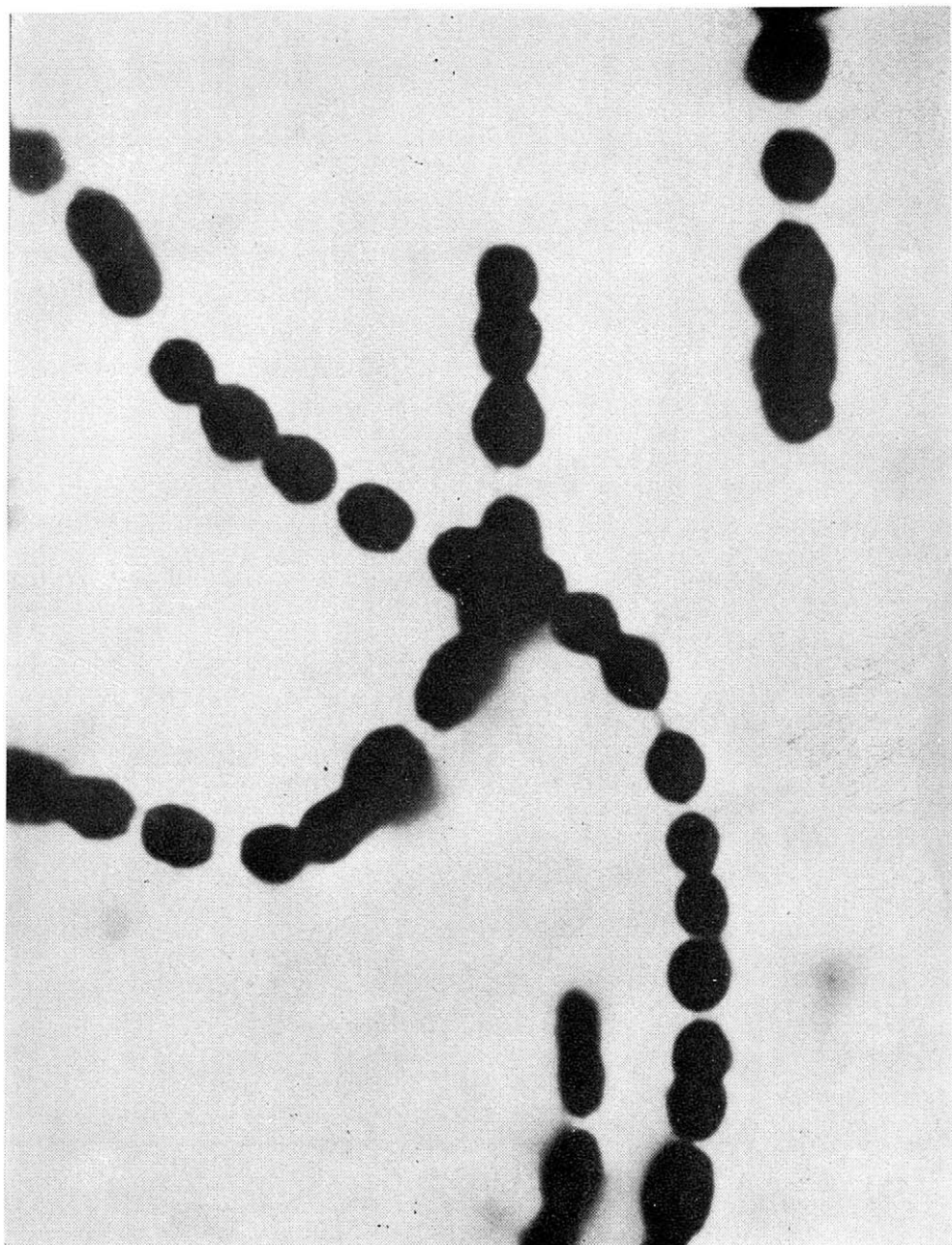
Negativní reakci s penicilinovým perlovým testem jsme zaznamenali se 7 kmeny *Bac. cereus* v. *cylindrosporus*. Z ostatních příslušníků rodu *Bacillus* byli penicilinovým perlovým testem prověřeni orientačně *Bac. mycoides*, *Bac. megaterium* a *Bac. subtilis* s negativním výsledkem.

VZTAH PENICILINÁZOVÉ AKTIVITY K PENICILINOVÉMU PERLOVÉMU TESTU

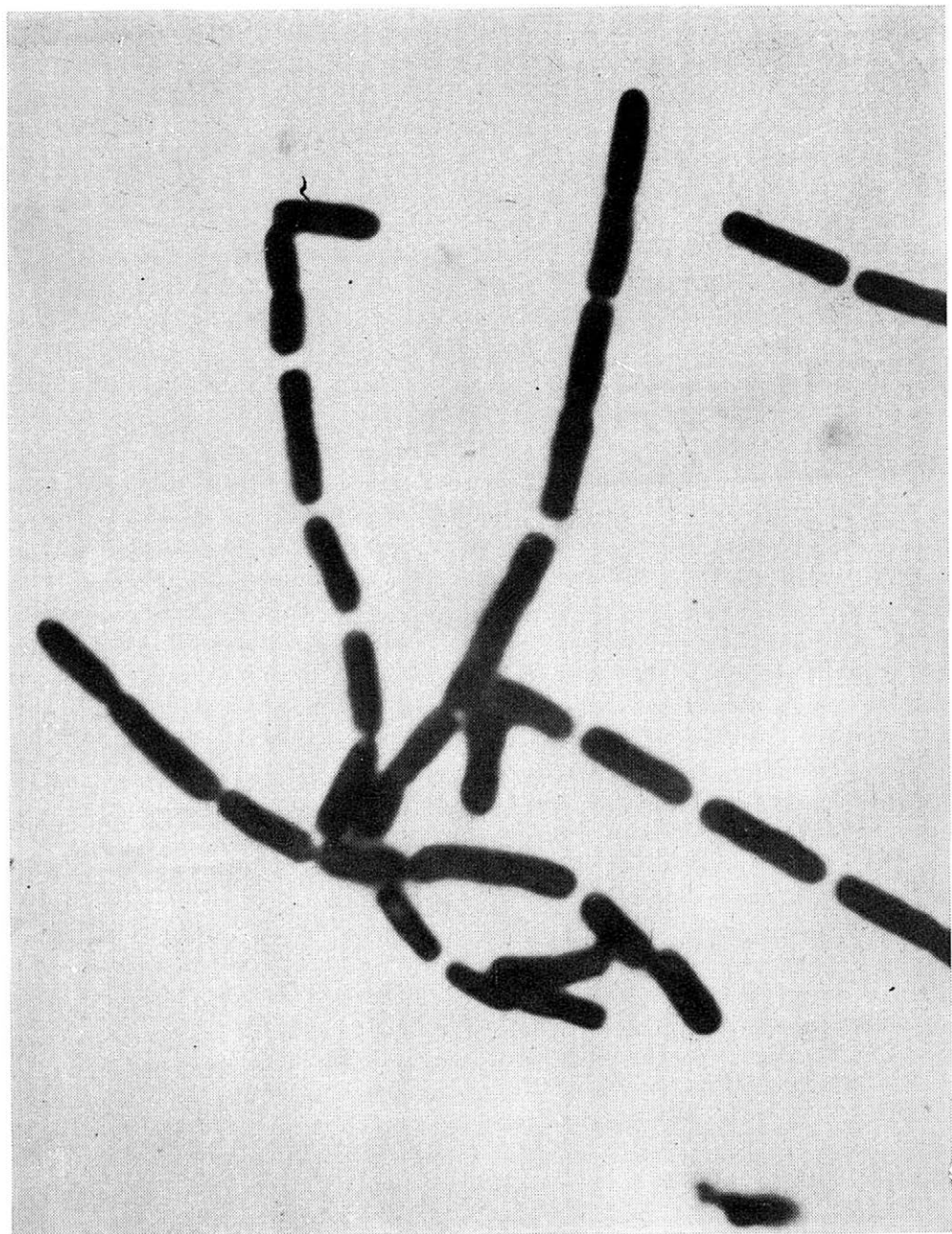
Jelikož podstatou PPT je působení malého množství penicilinu na mladé kultury, musel nás zajímat vztah mezi působením penicilinázy a průběhem PPT. Z těchto důvodů jsme u několika pokusů použili standardního preparátu penicilinázy (neutrapen). V pokusech jsme pracovali s 20 antraxovými kmeny, které v kontrole dávaly typické pozitivní výsledky PPT.

Při přidavku penicilinázy do bujonové kultury bylo postupováno takto: K 0,4 ml tříhodinové, dobře roztřepané kultuře jsme přidali 5, 10, 20, 30, 40, 50, 70, 90, 120, 150 a 200 jednotek neutrapenu v 0,1 ml fosfátového pufru. S touto směsí bakteriální kultury a penicilinázy byl proveden PPT na standardní testovací půdě a reakce posouzena obvyklým způsobem. Současně byla sledována penicilinázová aktivita zkoušeného antraxového kmene standardním prokainpenicilinovým testem.

Z výsledků je možno vyčíst, že přídavek penicilinázy (neutrapen) v bujonové kultuře těsně před její inokulací na testovací půdu se projevil záporným ovlivněním reakce PPT až při koncentraci nad 50 jednotek.



1. *Bacillus anthracis*. Pozitivní reakce penicilinovým perlovým testem (Zvětšeno 1 : 580. Foto Pleva)



2. *Bacillus cereus*. Negativní reakce penicilinovým perlovým testem (Zvětšeno 1 : 580.
Foto Pleva)

V další sérii pokusů jsme postupovali obdobně, pouze s tím rozdílem, že penicilináza byla přidána přímo do standardní testovací půdy v dávce 0,1 až 1 jednotka neutrapenu. Při přidání penicilinázy přímo do testovací půdy byl průběh PPT rušen už zcela malými dávkami penicilinázy (0,2 j).

Z výsledků pokusů vyplývá, že penicilinázová aktivita může narušit průběh penicilinového perlového testu, jestliže produkce penicilinázy v bakteriální kultuře přesáhne přibližně 50 jednotek.

Jelikož antraxové kmeny, jak jsme se mohli přesvědčit prošetřením četných kmenů, se vyznačují všeobecně malou penicilinázovou aktivitou, projevuje se u nich penicilinový perlový test pozitivní reakcí.

PENICILINOVÝ PERLOVÝ TEST PŘI POUŽITÍ SEMISYNTETICKÝCH PENICILINŮ

Měli jsme možnost sledovat účinek malých dávek semisyntetických penicilinů na morfologické změny buněčných elementů v populaci *Bac. anthracis*. Laskavostí Výzkumného ústavu pro farmaci a biochemii v Praze podařilo se nám získat pět preparátů: penspek, oxacillin, cloxacillin, styrylcillin a ancillin. Podle sdělení ústavu měli jsme vedle strukturního vzorce k dispozici tyto údaje:

Název preparátu	Molekul. váha	Účinnost ve srovnání s přirozeným penicilinem
Penspek	464,56	96 %
Cloxacillin	475,87	88 %
Oxacillin	441,43	97 %
Styrylcillin	460,58	82 %
Ancillin	435,50	70 %

Léčebný účinek těchto preparátů je podobný účinku přirozeného penicilinu s tím rozdílem, že jich lze použít v případech penicilinové rezistence.

V popředí našeho zájmu byly dvě otázky: 1. Zda je možno nahradit přirozený penicilin syntetickým, aniž by utrpěla citlivost a spolehlivost penicilinového perlového testu. 2. Stanovit účinnou dávku, která je třeba k reprodukci sféroplastů.

Vyzkoušeli jsme uvedené syntetické preparáty na penicilinovém perlovém testu. Protože účinnost těchto preparátů je vypádřována procentem účinnosti přirozeného penicilinu, mohli jsme předpokládat, že účinná dávka bude asi v roz-

I. Účinnost semisyntetických penicilinů při PPT

Označení	Syntetický penicilin — dávka v jednotkách					
	0,3	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0
Penspek	—	—	—	+	+	+
Cloxacillin	—	—	—	—	—	+
Styrylcillin	—	—	—	—	—	—
Ancillin	—	+	+	+	+	+
Oxacillin	+	+	+	+	+	+

sahu od 0,3 do 4 jednotek na 1 ml testovací půdy. Penicilinový perlový test byl prováděn standardní metodikou za použití prověřeného antraxového kmene. Současně prováděný kontrolní PPT s přirozeným penicilinem byl pozitivní. Výsledky tohoto šetření uvádíme v tab. I.

Z uvedeného přehledu je možno vyvodit, že z prověřovaných semisyntetických penicilinů se pro naše účely nejlépe hodí oxacillin a ancillin v dávce od 0,5 do 1 jednotky. Produkce sféroplastů se pohybovala v rozsahu od 60 do 100 % s maximem za tři až čtyři hodiny od počátku reakce, podobně jako tomu je u přirozeného penicilinu.

Při zkoušce citlivosti a spolehlivosti jsme se přesvědčili, že není podstatného rozdílu při provádění PPT za použití přirozeného nebo prověřeného semisyntetického penicilinu. Dávka semisyntetického penicilinu odpovídá v našem případě vcelku dávce penicilinu přirozeného. Použití semisyntetického penicilinu přichází v úvahu jen pro zvláštní případy (rezistence). Jinak dáme přednost penicilinu přirozenému.

SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ DOSAŽENÝCH PENICILINOVÝM PERLOVÝM TESTEM A GAMAFÁGOVÝM TESTEM

Gamafágový test je pokládán ve světové literatuře za nejcitlivější a nejspolehlivější diferenciační zkoušku, sloužící k rozlišení antraxových a antraxu podobných zárodků. Z toho důvodu vzájemné porovnání výsledků, dosažených oběma testy na stejném referenčním materiálu, má nepochybně svou hodnotu. Koncentrovaným gamafágem bylo testováno 55 dobře definovaných antraxových kmenů. Z nich dalo 49 kmenů reakci pozitivní, 2 dubiozní a 4 negativní. Současně provedený penicilinový perlový test dal u všech 55 antraxových kmenů pozitivní výsledek.

DISKUSE

Metodou penicilinového perlového testu (PPT) bylo prověřeno 340 virulentních a 32 atenuovaných a avirulentních antraxových kmenů naší sbírky za použití modifikované standardní metodiky. U všech testovaných kmenů, takřka celosvětové provenience, byla zjištěna pozitivní reakce, přičemž obecně vzato mají virulentní kmeny větší schopnost vytvářet kulaté sférické útvary než avirulentní. Tomu odpovídá i výsledek našich pokusů, podle něhož podíl sféroplastů na vrcholu reakce (za 3 hod.) se pohyboval v rozsahu od 70 do 100 %. Za účelem srovnání bylo prověřeno penicilinovým perlovým testem 110 cereových kmenů. Toliko u 12 z těchto kmenů jsme pozorovali tvoření přechodných útvarů, které v průběhu reakce do 2 až 3 hod. vymizely, takže i u nich byl výsledek testu jednoznačně negativní. Z ostatních aerobně sporulujících mikrobů bylo testováno 7 kmenů *Bac. cereus* v. *cyindrosporus* a po 10 kmelech *Bac. mycoides*, *Bac. megaterium* a *Bac. subtilis*, vesměs s negativním výsledkem.

Markantní je sled morfologických změn. U antraxových kmenů všech stupňů virulence objevuje se v první fázi zduření tyčinek, pak následují tzv. přechodné formy kyjovité, ovoidní, elipsoidní útvary. Reakce vrcholí vytvářením typických kulatých sféroplastů. Virulentní a avirulentní antraxové kmeny se od sebe liší jen stupněm sféroplastové aktivity. U cereových kmenů se setkáváme se dvěma typy průběhu reakce. U převážné většiny kmenů je výrazem reakce pouhé zduření tyčinek, které záhy přecházejí do normálního tvaru. Jen u relativně malého počtu

kmenů jsme se setkali s druhým typem, projevujícím se vytvářením přechodných forem, jak je tomu u kmenů antraxových. Avšak v průběhu reakce tyto morfologické změny záhy vymizí a při vrcholu reakce objevují se opět tvarově normální tyčinky. Průběh reakce byl sledován časovými studiemi. U antraxových kmenů dosahuje reakce vrcholu za 3 až 4 hodiny. Jde o jev reversibilní, protože později nastupuje opačný sled změn, kdy sféropasty přecházejí opět ve tvarově normální buňky. Přeměna končí přibližně za 10 až 12 hodin od počátku reakce. U cereových kmenů je průběh reakce podstatně kratší a trvá asi 6 hodin, s vrcholem za 2 až 3 hod. od počátku reakce.

U penicilinového perlového testu jsme použili jako antibiotika přirozeného penicilinu ve formě draselné soli G-penicilinu v dávce 0,5 j PNC/ml media. Vyšší koncentrace antibiotika mohou vést k potlačení růstu antraxové kultury. Metoda penicilinového testu je založena na specifickém účinku malých dávek penicilinu na citlivou mladou bakteriální buňku, projevujícím se typickými morfologickými změnami. Pokusíme se podstatu penicilinového perlového testu blíže formulovat a upřesnit některé vztahy, které s tím souvisejí. Je obecně známo, že hlavním stavebním kamenem buněčné stěny grampozitivních mikrobů jsou mukopeptidy. Funkci mukopeptidů je zpevňovat buněčnou stěnu a udržovat tvar buňky. Na základě mechanismu účinku penicilinu působí toto antibiotikum tak, že inhibuje biosyntézu mukopeptidů, jejich polymerizaci a zabudování do buněčné stěny. Tím dochází k porušení výstavby buněčné stěny a k vytváření morfologických změn buňky. Malé dávky penicilinu se projevují částečnou ztrátou substance buněčné stěny a vytvářením kulatých sféropastů.

Účinek malých dávek penicilinu se projevuje mezi aerobně sporulujícími mikroby specifickým účinkem toliko u citlivých buněk antraxových, zatímco u ostatních příslušníků aerobně sporulujících mikrobů, včetně mikrobů antraxu podobných, k vytváření sféropastů nedochází. V tom je podstata a hodnota penicilinového perlového testu. Vývin sféropastů se nejlépe daří u 3 až 4 hod. kultur. Starší populace sice také vytvářejí kulaté sférické útvary, ale nepravidelně. Důležitá je otázka vztahu mezi penicilinázovou aktivitou a penicilinovým perlovým testem. Je nesporné, a výsledky našich pokusů také prokázané, že vyšší produkce penicilinázy může ovlivnit průběh a výsledek penicilinového perlového testu.

Podle našich pokusů rušila penicilináza reakci PPT v bakteriální kultuře při dávce nad 50 j a v testovací půdě už při koncentraci od 0,2 j na 1 ml media.

Z naší předchozí práce (Prokůpek 1968) vyplývá, že penicilinázová aktivita antraxových kmenů je, až na nepatrné výjimky, velmi nízká, zatímco produkce penicilinázy u cereových kultur je u většiny kmenů podstatně vyšší. Při povrchním pohledu by se zdálo, že na tomto principu je založena diferenciální diagnostická hodnota penicilinového perlového testu. Zjištěné skutečnosti však nemluví zcela jen pro tento názor.

Několik testovaných antraxových kmenů se vyznačovalo vyšší penicilinázovou aktivitou a přece výsledek penicilinového perlového testu u nich byl překvapivě pozitivní. Ještě výrazněji se tento úkaz projev u cereových kmenů, kde řada kmenů vykazovala nízkou penicilinázovou aktivitu. U 30 cereových a 6 cylindrosporových kmenů byla zjištěna penicilinázová produkce v rozsahu do 5 jednotek. U žádného z těchto kmenů vyznačujících se relativně nízkou penicilinázovou aktivitou (na úrovni antraxových kmenů) nebyly zaznamenány penicilinovým perlovým testem typické morfologické změny, vyznačující pozitivní reakci PPT. Toliko u jednoho cereového kmene (Pukl 5) byly pozorovány za 1½ hod. četné přechodné formy v podobě kyjovitě až ovoidně a kulovitě zduřelých tyčinek. Při posuzování za 3 hod. nebyly už tyto tvary nalezeny, takže výsledek testu vyzněl negativně.

Uvedené skutečnosti poukazují na to, že podstatou penicilinového perlového testu je specifický účinek malých dávek penicilinu na citlivou antraxovou buňku. Citlivost antraxové populace je možná dána poněkud odlišnou strukturou a chemickou skladbou mukopeptidů buněčné stěny, anebo odlišným působením penicilinu na enzymový systém, prostředkující transport a zabudování mukopeptidů do buněčné stěny, na rozdíl od ostatních příslušníků aerobně sporulujících mikrobů. Penicilináza má zde pravděpodobně význam jen po té stránce, že její přítomnost ve větší koncentraci může narušit průběh reakce po technické stránce tím, že inaktivuje penicilin v mediu. Jelikož zde aktivně působí malé dávky antibiotika (0,05–0,5 j PNC/ml), stačí ovlivnit průběh reakce i nepříliš vysoká koncentrace penicilinázy, produkované do media. Zdá se však, že technické uspořádání při realizaci penicilinového perlového testu nepříznivě působení nižších hodnot penicilinázy eliminuje

Shrneme-li poznatky, je třeba zdůraznit, že v průběhu PPT reakce vystupují do popředí dva hlavní faktory:

1. Fenomén vytváření kulatých sférických útvarů.
2. Časový faktor, podle něhož se maximum těchto útvarů objevuje za 3 až 4 hodiny od započetí reakce.

Standardní metoda v našich pokusech se liší od běžně užívané metodiky tím, že používá techniky barveného preparátu (Gram), která také dovoluje šetrnou fixaci plamenem. Umožňuje podrobnější a kvalitnější posuzování morfologických změn při bezpečnější práci.

Zjištěné skutečnosti zdají se nasvědčovat tomu, že podstata penicilinového perlového testu, založená na účinku malých dávek penicilinu na citlivou antraxovou buňku, je geneticky zakotvená a druhově specifická. Morfologická podobnost při vytváření sférických útvarů v počáteční fázi penicilinového perlového testu (přechodné formy) u některých cereových kmenů by mohla poukazovat na jistý stupeň příbuznosti genetické determinanty.

Je pochopitelné, že reakce PPT nemůže mít absolutní hodnotu. Lze očekávat, že se vyskytnou kmeny (minus varianty), ať už v řadě antraxové nebo cereové, vzniklé na podkladě genetickém (mutační, rekombinační a jiné) nebo různé modifikace, u nichž PPT podle očekávání nevyjde. I když jsme se dosud s tímto jevem nesetkali, je třeba s ním počítat.

Ovšem zcela jiné poměry nastanou u penicilinorezistentních antraxových kmenů. Tato komplikovaná otázka je předmětem studia v další práci.

Literatura

- AKIMOVIC V. V., SAMOLJOVA L. V., 1964, Effektivnost metoda identifikaciji sibirskozhennych bacill razrabotannogo Jensenom i Kleemejerovoj (fenomen žemčuzhovo ožerelja). *Ž. mikrob. epidem. (Saratov)*, 257-259.
- BUSIGYN K. F., 1962, Ocenka reakcii ožerelja dlja identifikaciji vzbuditelja sibirskoj jazvy. *Uč. zap. Kazansk. vet. inst.* 84 : 69-73.
- GUSTAFSON B. A., SVEHAG S. E., 1956, The resistance condition in Bac. anthracis and some antraxlike organisms. *Nordisk Veterinärmedicin* 8 : 902.
- HILL K. W., 1960, Miltvuur en zijn diagnose. *Tijdschr. Diergeneesk.* 85 : 841-858.
- IVANOVICS G., FÖLDES J., 1958, Problems concerning the phylogenesis of Bacillus anthracis. *Acta microb. Hung.* 5 : 89-109.
- JENSEN J., 1949, Formveränderung von Milzbrandsporen als Grundlage einer morphologischen Penicillinwertbestimmung. *Klin. Wschft.* 27 : 743-747.
- JENSEN J., 1950, Erfahrungen mit der Penicillin- und Streptomycinbestimmungsmethode mittels Sporen. *Zbl. Bakt., Abt. I.* 155 : 112-116.
- JENSEN J., KLEEMEYER H., 1953, Die bakterielle Differentialdiagnose des Anthrax mittels eines neuen spezifischen Testes „Perlschnurtest“. *Zbl. Bakter., Abt. I. Orig.* 159 : 494-498.
- KANEDA Y., YOSHIDA I., ANDO K., 1964, cit. Li Liang-shu, 1965.
- KIELWEIN G., 1957, cit. Seidel 1959.
- KOLJAKOV Ja. Je., MELICHOV A. D., 1960, Ekspresdiagnostika sibirskozhennogo mikroba v vodě. *Veterinarija* 3 : 81-84.
- KOPPEL Z., SOKOL A., HRUŠOVSKÝ F., TOMKA J., BEŇO V., 1965, Porovnanie rôznych metod identifikácii zástupcov rodu Bacillus *Folia veterinaria* (Košice) 9 : 235-242.
- KÖRNLEIN M., KOCH G., 1954, Penicillinasenachweis mit Procain-Penicillin. *Arzneimittelforschung* 4 : 130-132.
- LEISE J. M., CARTER CH. H., FRIEDLANDER H., FREED S. W., 1959, Criteria for the identification of Bacillus anthracis. *J. Bact.* 77 : 655-660.
- LI LIANG-SHU, KUO SHIANG-BAO, 1965, A study of the „string of pearls test“ for Bacillus anthracis. *Acta mikrob. sin.* 11 : 80-87.
- LINCOLN R. E., WALKER J. S., KLEIN F., HAINES B. W., 1964, Anthrax. *Advances. Vet. Sci.* 9 : 327-368.

- MARKJAVIČUS A. S., 1967, Laboratorná diagnostika sibirskej jazvy. *Veterinária* 6 : 39-41.
- PLEVA V., HARNACH R., MESÁROŠ E., 1960, Použití perlového testu v diagnostice *Bacillus anthracis*. *Vet. Med.* 5 : 675-684.
- PONOMAREVA T. N., 1963, K voprosu o bakteriologické diagnostice sibirskej jazvy. *Ž. mikrob. epidem.* (Moskva) 40, 5 : 107-112.
- PROKÚPEK K., 1964, Metody diferenciální diagnostiky *Bac. anthracis* a *Bac. cereus*. *Vet. Med.* (Praha) 9, 6 : 431-440.
- PROKÚPEK K., 1968, Penicilinázová aktivita antraxových a cereových kmenů. *Vet. Med.* (Praha) 13 : 149-158.
- PROKÚPEK K., 1968, Mechanismus vzniku rezistence na penicilin u *Bacillus anthracis* metodou řízené adaptace. *Vet. Med.* (Praha) 13, 7 : 437-446.
- SEIDEL G., 1959, Ein Versuch zur Differenzierung von *B. cereus* oder *B. anthracis* innerhalb eines Labortages. *Zbl. Bakt. Abt. I. Orig.* 175 : 433-436.
- SEIDEL G., STRASSMANN A. E., 1956, Zur bakteriologischen und serologischen Diagnose des Milzbrandes. *Arch. exp. Veterinärmed.* 10 : 335-357.
- ŠLJACHOV E. N., GRUZ Je. V., 1961, cit. Cokolenko. *Veterinária* 1962, 8 : 77-78.
- ŠLJACHOV E. N., GRUZ Je. V., 1967, Materialy ispytaniya metodov laboratornoj diagnostiki sibirskej jazvy i identifikacii vzbuditelja. *Ž. mikrobiolog.* (Moskva) 10 : 52-55.
- TOMSCIK J., BAUBANN-GRACE J. B., 1959, Serologische Typen von *Bacillus cereus* und ihre Verwandtschaft mit *Bacillus anthracis*. *Schweiz. Z. allg. Path. Bakt.* 22 : 144-157.
- ZAHN G., 1963, Zum Wirkungsmechanismus des Penicillins. *Biol. Rundschau* 1 : 124-128.

Došlo dne 23. 1. 1968

ПРОКУПЕК К. (Государственный институт ветеринарии — Национальная сигнализационная лаборатория сибирской язвы, Готвальдов-Лазы, Чехословакия). Пенициллиновый жемчужный тест в дифференциальной диагностике *Bacillus anthracis* и *Bacillus cereus*. *Вет. мед.* (Прага) 14 (2) : 103-112, 1969.

Сущностью пенициллинового жемчужного теста является специфическое влияние небольших доз пенициллина (0,50—0,5 единиц пенициллина/мл питательной среды) на чувствительные сибиреязвенные клетки. Молодая (3—4 часовая) микробная популяция сибирской язвы показывает на всех степенях вирулентности постоянно положительную реакцию. Последняя достигает вершины через 3—4 часа от начала, причем положительный результат выражен образованием шаровидных сферических образований (сферопластов). Пенициллиновый жемчужный тест имеет обратимое течение и форма сибиреязвенных клеток приходит к норме приблизительно через 10—14 часов. Штаммы бацилл *Cereus* и остальные аэробные спорообразующие микробы отличаются отрицательной реакцией при применении пенициллинового жемчужного теста. Результат последнего может находиться под влиянием повышенной продукции пенициллиназы. Нарушающее действие пенициллиназы можно, однако, исключить путем применения полусинтетических пенициллинов, из которых лучше всех себя оправдал оксациллин. На основании результатов оценки многочисленного подопытного и сравнительного материала можно оценить пенициллиновый жемчужный тест как специфический, высокочувствительный и надежный метод, который можно в совокупности дифференциально-диагностических тестов между *Bac. anthracis* и микробами, похожими на сибирскую язву, считать самым важным. Разработан стандартный метод пенициллинового жемчужного теста.

пенициллиновый жемчужный тест; сферопласты; *Bac. anthracis*; *Bac. cereus*; пенициллиназа; полусинтетический пенициллин; оксациллин; дифференциально-диагностический метод; стандартный метод

PROKÚPEK K. (State Veterinary Institute — National Anthrax Reference Laboratory, Gottwaldov — Lazy, Czechoslovakia). The Penicillin Pearl Test in the Differential Diagnosis of *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus*. *Vet. Med.* (Praha) 14 (2) : 103—112, 1969.

The principle of the penicillin pearl test is the specific effect of small doses of penicillin (0.05—0.5 u. of PNC per 1 ml of the medium on sensitive anthrax cells. Young (3—4 hours) anthrax populations in all degrees of virulence produce a stable positive reaction. This reaction reaches its peak in 3—4 hours after the beginning, in which case the positive result is shown by the forming of globular, spherical formations (spheroplasts). The course of the penicillin pearl test is reversible and the anthrax cells return to their normal shape in approximately 10—14 hours. *Cereus* strains and the other aerobically sporulating microbes show a negative reaction to the penicillin pearl test. The result of the penicillin pearl test may be influenced by an increased penicillinase production. However, the disturbing effect of penicillinase may be eliminated by means of the application of semisynthetic penicillins, of which most effective proved oxacyllin. On the basis of the results obtained with ample checking and comparative material, the penicillin pearl test may be evaluated as a specific, highly sensitive, and reliable method, which may be considered as most important in the group of differentially diagnostic tests differentiating between *Bac. anthracis* and microbes resembling anthrax. A standard procedure applied in the penicillin pearl test has been worked out.

penicillin pearl test; spheroplasts; *Bac. anthracis*; *Bac. cereus*; penicillinase; semisynthetic penicillin; oxacyllin; the differentially diagnostic method; standard procedure

PROKÚPEK, K. (Staatliches Veterinärinstitut, Staatliches Anthrax-Referenzlaboratorium, Gottwaldov-Lazy, Czechoslovakia). *Penizillin-Perltest in der Differentialdiagnostik von Bacillus anthracis und Bacillus cereus*. Vet. Med. (Praha) 14 (2): 103-112, 1969.

Der Penizillin-Perltest fußt auf der spezifischen Wirkung kleiner Penizillindosen (0,05—0,5 PNC-Einheiten je 1 ml Medium) auf die sensitiven Anthraxzellen. Eine junge (3—4 h) Anthraxpopulation bietet auf allen Stufen der Virulenz eine stabile positive Reaktion. Die Reaktion erreicht ihren Gipfelpunkt in 3—4 Stunden nach Beginn, wobei das positive Resultat durch Bildung rundlicher sphärischer Gebilde (Sphäroplasten) zum Ausdruck kommt. Der Verlauf des Penizillin-Perltestes ist reversibel und die Anthraxzellen kehren in zirka 10—14 Stunden zu ihrer normalen Form zurück. Die *Cereus*-Stämme und die übrigen aerob sporogenen Mikroben weisen beim Penizillin-Perltest eine negative Reaktion auf. Das Ergebnis des Penizillin-Perltestes kann durch eine erhöhte Produktion der Penizillinase beeinflusst werden. Der störende Einfluß derselben kann aber durch Benützung semisynthetischer Penizilline, von welchen sich Oxacyllin am besten bewährte, ausgeschaltet werden. Auf Grund der Ergebnisse eines zahlreichen Kontroll- und Vergleichsmaterials kann der Penizillin-Perltest als eine spezifische, hoch sensitive und verlässliche Methode bezeichnet werden, welche in der Gesamtheit der diagnostischen Differentialteste von *Bac. anthracis* und dem Anthrax ähnlichen Mikroben als die bedeutsamste angesehen werden kann. Es wurde eine Standardmethode des Penizillin-Perltestes ausgearbeitet.

Penizillin-Perltest; Sphäroplasten; *Bac. anthracis*; *Bac. cereus*; Penizillinase; semisynthetisches Penizillin; Oxacyllin; diagnostische Differentialmethode; Standardmethode

Adresa autora:

MVDr. Kamil Prokúpek, CSc., Státní veterinární ústav — Národní referenční laboratoř pro antrax, Gottwaldov - Lazy

PREVALENCE BRUCELÓZY SKOTU V ČESKOSLOVENSKU

V. Kouba

Ústřední veterinární správa, Praha

KOUBA V. *Prevalence brucelózy skotu v Československu*. Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 113-122, 1969.

Nejvyšší hodnoty prevalence skotu nemocného brucelózou byly zaznamenány k 1. 1. 1961 - 106 233 kusů, tj. 2,42 % ze stavu skotu. Nulových hodnot bylo dosaženo k 1. 1. 1965. V letech 1960 až 1964 byly nejvyšší hodnoty prevalence zaznamenány v kraji Západoslovenském (až 9,68 %) a ze sektorů na státních statcích (až 10,29 %). Prevalence u krav byla podstatně vyšší. Nejvyšší hodnoty prevalence skotu v ohniscích (nemocný a podezřelý skot) byly evidovány počátkem r. 1961 — 214 825 kusů, tj. 4,89 %. V době eliminace nemocného skotu činila hodnota tohoto ukazatele ještě 95 240 ks, tj. 2,14 %. Koncem r. 1965 klesla na 48 628 ks, tj. 1,11 %. Průměrná hodnota podílu krav z počtu skotu nemocného činila 61,55 %. Průměrná hodnota podílu skotu nemocného z počtu skotu v ohniscích činila 43,15 %.

brucelóza skotu; Československo; prevalence

Prevalence patří spolu s incidencí k základním ukazatelům nemoci. Vyjadřuje průřez nemocností v chovech zvířat k určitému hodnocenému datu. Nepostihuje však frekvenci nových případů. Hodnoty evidované prevalence jsou do značné míry přímo úměrné rozsahu specifického vyšetření a jeho spolehlivosti. Vzhledem k vysokému stupni prověřenosti chovů skotu na brucelózu v ČSSR lze považovat údaje o prevalenci od konce let padesátých za poměrně spolehlivé na rozdíl od předchozích období, kdy stupeň prověřenosti byl podstatně nižší. Plánovitý postup proti brucelóze skotu v ČSSR byl hodnocen především v prevalenci nemocných. Rovněž tak eliminace této nákazy, která byla ústředním cílem ozdravovací akce, byla vyjadřovaná nulovou hodnotou prevalence.

Údaje o rozšíření brucelózy skotu před první a druhou světovou válkou byly velmi kusé a nelze z nich dedukovat spolehlivější závěry o skutečné prevalenci. Např. Černovský (1935, 1936) odhadoval, že v té době bylo u nás asi 20 % skotu postiženo brucelózou. Tento odhad byl zřejmě nadsazený, svědčí však o závažném stupni rozšíření nákazy. V r. 1947 při průzkumu na Slovensku bylo z 15 324 vyšetřených vzorků krve celkem pozitivních 9 %, přitom na státních velkostatech 24,8 %, na církevních a jiných velkostatech 13,9 % a v drobných chovech 1,8 % (Nižňanský 1952, Žlnay 1949).

Teprve po označení brucelózy jako nebezpečné nákazy povinné hlášením jsou postupně k dispozici celostátní údaje, z nichž většina je zpracována v této studii. Dosavadní dílčí analýzy celostátních hodnot prevalence publikovali zejména Kouba (1962, 1963, 1964, 1965) a Polák (1964). Analýzami prevalence v oblasti a krajích se zabývali např. Čiernik (1962), Frič, Kárník (1962), Hajdu (1962), Kladný (1955), Kliment (1962), Klimša (1962), Krušpán (1962), Kubín (1962), Pavlík (1957), Pouska (1962) a jiní. Desítky dalších našich autorů analyzovalo prevalence v měřítku menším, než je kraj.

METODIKA

Způsob získávání a zpracování podkladů je popsán již v první části této studie, která pojednává o depistáži. Podobně definice „skotu nemocného brucelózou“ a „skotu podezřelého“ jsou popsány v druhé části, která pojednává o incidenci. V souvislosti s analýzou prevalence doplňují ještě některé definice pojmů používaných v této části studie.

Prevalenci se všeobecně rozumí poměr počtu nemocných k počtu zvířat celkem k určitému datu. Je vyjadřována v procentech. Zahrnuje zde všechny nemocný skot bez ohledu na dobu, kdy byla nemoc zjištěna. Hodnotilo se v pololetních intervalech v souladu s termíny výkaznictví o brucelóze skotu a s termíny sčítání skotu.

Pod pojmem „zemědělský závod“ se do r. 1962 vykazoval souhrn provozoven pro živočišnou výrobu téhož majitele v téže obci. Od té doby v souvislosti se změnami ve struktuře zemědělských závodů a správním rozdělením obcí byla tato definice upravena takto: „zemědělským závodem“ se rozumí souhrn provozoven pro živočišnou výrobu téhož majitele, tvořící výrobní celek (jednotné zemědělské družstvo, státní statek, školní statek, apod.). To mělo mnohde za následek relativní snížení vykazovaného počtu závodů současně se zvýšením evidované průměrné velikosti závodu včetně počtu skotu v nich.

Pod pojmem „ostatní státní sektor“ se rozumí ústředně řízené zemědělské závody (kromě státních statků), spravované ministerstvem zemědělství (šlechtitelské a semenářské podniky, Sdružení velkovýkrmů, státní plemenářské stanice a ústavy pro chov koní, školní statky, zemědělské statky lesních závodů), spravované ministerstvy potravinářského průmyslu, paliv, školství, dále statky ČSAV, statek Lány a veřejné zemědělské závody, které nebyly ústředně řízené. Do tohoto sektoru se začleňovaly dříve i veřejné krajsky plánované závody.

Pod pojmem „brucelózní závod“ nebo „ohnisko“ se zde rozumí závod, ve kterém byl ustájen brucelózní skot anebo skot podezřelý v pozorovací době po odstranění posledního nemocného zvířete. Pozorovací doba činila u radikální metody nejméně jeden rok a u ostatních až tři roky.

VÝSLEDKY

1. Prevalence skotu nemocného brucelózou v absolutních hodnotách. V letech 1953 až 1964 (do eliminace) nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly evidovány k 1. 1. 1961 — 106 233 ks skotu a nejnižší k 1. 7. 1964 — 13 464 ks skotu. Od konce r. 1964 je udržována nulová hodnota. Bližší viz v tab. I.

2. Prevalence skotu nemocného brucelózou v relativních hodnotách (v procentech ze stavu skotu). V letech 1953 až 1964 (do eliminace) nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly evidovány k 1. 1. 1961 — 2,42 % a nejnižší k 1. 7. 1964 — 0,30 %. Od konce r. 1964 je udržována nulová hodnota. Bližší viz v tab. I.

3. Prevalence skotu nemocného brucelózou v absolutních hodnotách v krajích. V letech 1960 až 1964 nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly zaznamenávány v krajích Západoslovenském (7910 — 52 378 ks), Východoslovenském (3027 — 23 198 ks) a Středočeském (2112 — 20 279 ks). Nejnižší — nulové hodnoty byly v kraji Východočeském. Bližší viz tab. II.

4. Prevalence skotu nemocného brucelózou v relativních hodnotách (v procentech ze stavu skotu v krajích). V letech 1960 až 1964 nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly zaznamenávány v krajích Západoslovenském (1,48 —

I. Prevalence skotu nemocného brucelózou v ČSSR v období let 1953 až 1966

Datum	ČSSR		České kraje		Slovensko	
	počet nemocných	% ze stavu skotu	počet nemocných	% ze stavu skotu	počet nemocných	% ze stavu skotu
1. 1. 1953	25 513	0,57	.	.	.	.
1. 1. 1954	31 468	0,77	19 523	0,62	11 945	0,96
1. 6. 1955	46 592	1,12	.	.	.	.
1. 4. 1956	97 697	2,37	26 186	0,92	71 511	5,72
1. 7. 1959	92 892	2,22	.	.	.	.
1. 1. 1960	98 596	2,29	20 481	0,68	78 115	5,93
1. 7. 1960	92 538	2,11	26 199	0,87	66 339	4,83
1. 1. 1961	106 233	2,42	33 211	1,09	73 022	5,37
1. 7. 1961	105 150	2,34	37 763	1,22	67 387	4,77
1. 1. 1962	88 421	1,96	36 656	1,07	54 765	3,95
1. 7. 1962	81 266	1,75	30 270	0,95	51 026	3,48
1. 1. 1963	68 960	1,53	25 288	0,79	43 672	3,15
1. 7. 1963	48 512	1,07	15 404	0,49	33 108	2,30
1. 1. 1964	28 287	0,63	7 998	0,26	20 289	1,48
1. 7. 1964	13 464	0,30	2 527	0,08	10 937	0,77
1. 1. 1965	0	0	0	0	0	0
1. 7. 1965	0	0	0	0	0	0
1. 1. 1966	0	0	0	0	0	0
1. 7. 1966	0	0	0	0	0	0

9,68 %), Východoslovenském (0,67 — 5,37 %) a Středočeském (0,41 — 4,07 %). Nejnižší — nulové hodnoty byly v kraji Východočeském. Bližší viz v tab. III.

5. Prevalence skotu nemocného brucelózou v absolutních hodnotách podle sektorů. V letech 1960 až 1964 nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly zaznamenány na státních statcích (3806 — 59 605 ks) a nejnižší v soukromém sektoru (4 — 1129 ks). Bližší viz v tab. IV.

6. Prevalence skotu nemocného brucelózou v relativních hodnotách (v procentech ze stavu skotu) podle sektorů. V letech 1960 až 1964 nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly zaznamenány na státních statcích (0,55 — 10,29 %) a nejnižší v soukromém sektoru (0,001 — 0,12 %). Bližší viz v tab. IV.

7. Prevalence krav nemocných brucelózou v absolutních i relativních hodnotách. V letech 1962 až 1964 (do eliminace) nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly evidovány k 1. 1. 1962 — 54 601 ks (2,65 %) a nejnižší k 1. 7. 1964 — 9665 kusů (0,49 %). Od konce r. 1964 je udržována nulová hodnota. Bližší viz v tab. V.

8. Prevalence skotu v brucelózních ohniscích (nemocného a podezřelého) v absolutních i relativních hodnotách. V letech 1953 až 1965 nejvyšší hodnoty

II. Prevalence skotu nemocného brucelózou v jednotlivých krajích ČSSR v období od 1. 7. 1960 do 1. 1. 1965 (v absolutních hodnotách)

Kraj	1. 7. 1960	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1. 1965
		1961		1962		1963		1964		
Praha	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Středočeský	11 227	20 279	19 781	19 719	19 339	15 455	13 179	7 462	2112	0
Jihočeský	1 853	1 423	999	684	435	287	136	0	0	0
Západočeský	422	538	414	261	135	0	0	0	0	0
Severočeský	2 251	4 244	3 218	3 155	3 292	1 558	930	536	415	0
Východočeský	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jihomoravský	9 912	5 701	13 170	9 816	7 069	5 988	1 159	0	0	0
Severomoravský	1 194	1 026	181	21	0	0	0	0	0	0
Západoslovenský	42 628	52 378	49 177	41 128	39 825	35 332	26 662	15 920	7910	0
Středoslovenský	513	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Východoslovenský	23 198	20 644	18 220	13 637	11 171	8 340	6 446	4 369	3027	0

III. Prevalence skotu nemocného brucelózou v jednotlivých krajích ČSSR v období od 1. 7. 1960 do 1. 1. 1965 (v procentech ze stavu skotu)

Kraj	1. 7. 1960	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1. 1965
		1961		1962		1963		1964		
Praha	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Středočeský	2,28	4,07	3,93	3,83	3,73	3,00	2,56	1,45	0,41	0
Jihočeský	0,43	0,33	0,23	0,15	0,10	0,07	0,03	0	0	0
Západočeský	0,13	0,16	0,12	0,08	0,04	0	0	0	0	0
Severočeský	0,97	1,75	1,32	1,27	1,31	0,62	0,37	0,22	0,17	0
Východočeský	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jihomoravský	1,56	0,95	2,16	1,57	1,12	0,96	0,19	0	0	0
Severomoravský	0,31	0,26	0,04	0,01	0	0	0	0	0	0
Západoslovenský	8,00	9,68	8,90	7,49	7,03	6,55	4,94	3,05	1,48	0
Středoslovenský	0,13	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Východoslovenský	5,37	4,99	4,20	3,26	2,48	1,95	1,41	1,00	0,68	0

tohoto ukazatele byly evidovány k 1. 1. 1961 — 214 825 ks, tj. 4,89 % a nejnížší k 1. 1. 1966 — 48 628 ks, tj. 1,11 %. V době dovršení eliminace nemocného skotu činila tato hodnota 95 240 ks, tj. 2,14 %. Bližší viz v tab. VI.

9. Podíl krav z počtu skotu nemocného brucelózou. V letech 1962 až 1964 nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly evidovány k 1. 7. 1964 — 71,80 %. Průměrná hodnota činila v uvedeném období 61,55 %. Bližší viz v tab. VII.

IV. Prevalence skotu nemocného brucelózou v ČSSR podle hektarů v období let 1960 až 1964 (v absolutních i relativních hodnotách)

Datum	Socialistický sektor						Soukromý sektor	
	JZD		státní statky		ostatní st. sektor			
	počet nemocných	% ze stavu skotu	počet nemocných	% ze stavu skotu	počet nemocných	% ze stavu skotu	počet nemocných	% ze stavu skotu
1. 1. 1960	39 044	1,57	51 373	10,01	7 371	6,56	848	0,070
1. 7. 1960	39 086	1,45	46 090	8,76	6 233	5,64	1129	0,110
1. 1. 1961	39 845	1,27	59 605	10,29	6 148	5,13	635	0,120
1. 7. 1961	44 264	1,55	54 312	8,68	6 096	4,17	488	0,050
1. 1. 1962	36 277	1,28	43 299	6,41	8 597	6,00	228	0,040
1. 7. 1962	31 253	1,07	37 114	5,47	12 776	6,71	123	0,010
1. 1. 1963	25 095	0,90	20 994	3,36	20 791	6,92	80	0,010
1. 7. 1963	19 127	0,67	12 761	2,18	16 564	4,84	60	0,010
1. 1. 1964	9 947	0,36	7 530	1,19	10 782	3,12	28	0,004
1. 7. 1964	4 279	0,15	3 806	0,55	5 375	1,55	4	0,001
1. 1. 1965	0	0	0	0	0	0	0	0

V. Prevalence krav nemocných brucelózou v ČSSR v období od 1. 1. 1962 do 1. 1. 1965

Datum	ČSSR		České kraje		Slovensko	
	počet nemocných	% ze stavu krav	počet nemocných	% ze stavu krav	počet nemocných	% ze stavu krav
1. 1. 1962	54 601	2,65	23 770	1,65	30 855	9,46
1. 7. 1962	49 859	2,39	20 575	1,42	29 284	4,59
1. 1. 1963	39 888	1,95	15 090	1,05	24 798	4,10
1. 7. 1963	28 931	1,43	9 736	0,69	19 195	3,12
1. 1. 1964	18 269	0,92	5 523	0,39	12 746	2,18
1. 7. 1964	9 665	0,49	2 074	0,15	7 591	1,27
1. 1. 1965	0	0	0	0	0	0

10. Podíl skotu nemocného brucelózou z počtu skotu v ohniscích. V letech 1960 až 1964 nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly evidovány k 1. 7. 1961 — 50,67 % a nejnižší k 1. 7. 1964 — 21,30 %. Průměrná hodnota činila v uvedeném období 43,15 %. Bližší viz v tab. VII.

11. Srovnávací indexy vývoje prevalence skotu nemocného brucelózou. Při výchozí hodnotě 100 k 1. 7. 1960 činila nejvyšší hodnota tohoto ukazatele

VI. Prevalence skotu v brucelózních ohniscích (skotu nemocného a podezřelého) v ČSSR v letech 1953 až 1965

Datum	ČSSR		České kraje		Slovensko	
	počet skotu v ohniscích	% ze stavu skotu	počet skotu v ohniscích	% ze stavu skotu	počet skotu v ohniscích	% ze stavu skotu
1. 1. 1953	135 155	3,04	.	.	.	.
1. 1. 1954	152 634	3,73	98 697	3,55	53 037	4,29
1. 1. 1955	107 156	1,65	.	.	.	.
1. 4. 1956	185 250	4,51	113 739	3,93	75 511	5,76
1. 1. 1958	.	.	.	.	84 474	6,80
1. 7. 1959	167 920	3,91	92 892	5,66	75 828	3,91
1. 1. 1960	198 647	4,61	99 787	3,34	98 860	7,51
1. 7. 1960	204 995	4,68	104 687	3,48	100 308	7,29
1. 1. 1961	214 825	4,89	110 984	3,66	103 841	7,65
1. 7. 1961	207 236	4,61	103 014	3,34	104 222	7,38
1. 1. 1962	197 268	4,37	93 396	2,98	103 872	7,49
1. 7. 1962	174 870	3,77	79 371	2,50	95 499	6,51
1. 1. 1963	157 232	3,49	69 277	2,22	87 955	6,34
1. 7. 1963	145 602	3,20	59 313	1,91	86 289	5,99
1. 1. 1964	132 464	2,95	56 424	1,82	76 040	5,53
1. 7. 1964	119 585	2,64	51 253	1,65	68 332	4,80
1. 1. 1965	95 240	2,14	40 504	1,31	54 736	3,99
1. 7. 1965	68 767	1,55	29 572	0,98	39 195	2,77
1. 1. 1966	48 628	1,11	25 068	0,83	23 560	1,71

115 k 1. 1. 1961 a nejnižší (do eliminace) 15 k 1. 7. 1964. V dalším období udržuje nulovou hodnotu. Bližší viz v tab. VIII.

12. Srovnávací indexy vývoje prevalence skotu v ohniscích. V letech 1960 až 1965 při výchozí hodnotě 100 k 1. 7. 1960 činila nejvyšší hodnota tohoto ukazatele 105 k 1. 1. 1961. a nejnižší 24 k 1. 1. 1966. V době eliminace činila 46. Bližší viz v tab. VIII.

13. Podíly krajů na celostátním počtu skotu nemocného brucelózou. V letech 1960 až 1964 nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly evidovány v krajích Západoslovenském (46,15 — 58,75 %), Východoslovenském (12,45 — 25,07 %) a Středočeském (12,13 — 27,15 %). Nejnižší — nulové byly v kraji Východočeském. Bližší viz v tab. IX.

14. Podíly sektorů na celostátním počtu skotu nemocného brucelózou. V letech 1960 až 1964 nejvyšší hodnoty tohoto ukazatele byly evidovány na státních statcích (26,31 — 56,17 %) a nejnižší v soukromém sektoru (0,03 — 1,22 %). Bližší viz v tab. X.

VII. Podíl krav z celkového počtu skotu nemocného brucelózou a podíl tohoto skotu z celkového počtu skotu ustájeného v brucelózních ohniscích (závodech) v ČSSR v období od 1. 7. 1960 do 1. 1. 1965

Datum	Procentuální podíl krav z počtu nemocného skotu			Procentuální podíl nemocného skotu z počtu skotu v ohniscích		
	ČSSR	české kraje	Slovensko	ČSSR	české kraje	Slovensko
1. 7. 1960	.	.	.	46,05	25,02	66,24
1. 1. 1961	.	.	.	49,39	29,90	69,70
1. 7. 1961	.	.	.	50,67	36,67	64,58
1. 1. 1962	69,37	61,11	77,44	44,87	36,03	52,87
1. 7. 1962	71,59	66,45	75,70	46,65	38,14	53,80
1. 1. 1963	59,53	64,80	56,78	42,63	33,11	49,74
1. 7. 1963	59,64	63,22	57,98	33,32	25,98	38,05
1. 1. 1964	64,60	69,13	62,82	21,40	14,14	26,82
1. 7. 1964	71,80	82,02	69,48	21,30	4,93	16,07
1. 1. 1965	0	0	0	0	0	0

VIII. Srovnávací indexy vývoje prevalence skotu nemocného brucelózou a skotu v brucelózních ohniscích v ČSSR v období od 1. 7. 1960 do 1. 1. 1966

Datum	Indexy vývoje prevalence skotu nemocného brucelózou			Indexy vývoje prevalence skotu v brucelózních ohniscích		
	ČSSR	české kraje	Slovensko	ČSSR	české kraje	Slovensko
1. 7. 1960	100	100	100	100	100	100
1. 1. 1961	115	127	110	105	106	104
1. 7. 1961	114	144	102	101	99	104
1. 1. 1962	96	129	83	96	89	104
1. 7. 1962	88	116	77	85	76	95
1. 1. 1963	72	89	66	77	66	88
1. 7. 1963	52	59	50	71	57	86
1. 1. 1964	31	31	31	65	54	76
1. 7. 1964	15	10	16	58	68	49
1. 1. 1965	0	0	0	46	39	55
1. 7. 1965	0	0	0	34	28	38
1. 1. 1966	0	0	0	24	24	23

DISKUSE

Prevalence skotu nemocného brucelózou podle evidovaných podkladů měla vzrůstající trend v období let 1953 až 1960, což mimo jiné souvisí i se zvyšující se intenzitou vyšetřování skotu na brucelózu. Po dosažení vrcholu v roce

IX. Procentuální podíly jednotlivých krajů na celkovém počtu skotu nemocného brucelózou v ČSSR v období od 1. 7. 1960 do 1. 1. 1965

Kraj	1. 7. 1960	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1. 1965
		1961		1962		1963		1964		
Praha	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I.	12,13	19,08	18,81	22,30	23,80	23,07	27,15	26,38	15,69	0
II.	2,00	1,34	0,95	0,77	0,54	0,43	0,28	0	0	0
III.	0,46	0,51	0,39	0,30	0,16	0	0	0	0	0
IV.	2,40	3,99	3,06	3,57	4,05	2,33	1,92	1,89	3,08	0
V.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VI.	9,95	5,37	12,56	11,10	8,70	8,94	2,39	0	0	0
VII.	1,29	0,97	0,17	0,02	0	0	0	0	0	0
VIII.	46,15	49,31	46,77	46,52	49,00	52,78	54,96	56,29	58,75	0
IX.	0,55	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X.	25,07	19,43	17,33	15,42	13,75	12,45	13,30	15,44	22,48	0
Čk	27,23	31,26	35,90	38,06	37,25	34,77	31,74	28,25	18,77	0
Slov.	72,77	68,64	64,10	61,94	62,75	65,23	68,26	71,75	81,23	0

I. Středočeský
II. Jihočeský
III. Západočeský
IV. Severočeský
V. Východočeský

VI. Jihomoravský
VII. Severomoravský
VIII. Západoslovenský
IX. Středoslovenský
X. Východoslovenský

X. Procentuální podíly jednotlivých sektorů na celkovém počtu skotu nemocného brucelózou v ČSSR v období od 1. 7. 1960 do 1. 1. 1965

Sektor	1. 7. 1960	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1.	1. 7.	1. 1. 1965
		1961		1962		1963		1964		
JZD	42,29	37,45	42,10	41,03	38,46	37,50	39,43	35,10	31,80	0
St. st.	49,86	56,17	51,64	48,99	45,67	31,35	26,31	26,65	28,28	0
OSS	6,63	5,79	5,80	9,72	15,72	31,03	34,14	38,15	39,92	0
Soukr.	1,22	0,59	0,46	0,26	0,15	0,12	0,12	0,10	0,03	0
Soc. sektor	98,78	99,41	99,54	99,74	99,85	99,88	99,88	99,90	99,97	0

1961 (2,42 %) dochází k trvalému poklesu, až koncem r. 1964 bylo dosaženo nulové hodnoty — eliminace. Takové tempo nemá obdoby v jiných státech. Je to výsledek rozsáhlé komplexní plánovitě ozdravovací akce, která se opírala o vhodné ozdravovací metody, hmotnou podporu státu, aktivní účast zemědělských závodů i jiných organizací politicko-hospodářských a jejich odborně-orga-

nizační břímě nesla veterinární služba. Důležité bylo, že přitom nepoklesla globální živočišná výroba ani příjmy zemědělců ozdravovaných závodů.

Hodnoty prevalence a jejich trend byly velmi rozdílné v jednotlivých závodech, okresech i krajích. Proto k jejich ozdravování docházelo postupně v závislosti zejména na nálezové situaci. Ve všech krajích dosažená nulová prevalence byla udržena. Podobně tomu bylo i v jednotlivých sektorech. K dočasnému zvýšení hodnot prevalence došlo v závodech ostatního státního sektoru především v důsledku reorganizací, při kterých byly převzaty některé bruce-
lózní závody z jiných sektorů.

Většina nemocného skotu byly krávy. Proto i při nižších absolutních hodnotách jsou relativní hodnoty prevalence u krav vyšší než u skotu celkem.

Prevalence skotu v bruce-
lózních ohniscích byla mimo jiné závislá na vymezení hranic ohnisek, což vzhledem k různorodosti místních podmínek nebylo právě snadné. Klesající trend se v porovnání s trendem prevalence nemocných opožďoval nejméně o tři roky, což souvisí zejména s pozorovací dobou ohnisek včetně případných nových ohnisek, jejichž pozorovací doba oddaluje dosažení nulové hodnoty i u tohoto ukazatele.

Trend podílu krav z celkového počtu skotu nemocného bruce-
lózou odráží mimo jiné přednostní vyřazování skotu nemocného z jiných kategorií. Nejvyšší hodnota tohoto ukazatele byla těsně před eliminací, tj. před vyřazením zbylého skotu, kterým byly převážně krávy.

Hodnoty podílu skotu nemocného z počtu skotu v ohniscích byly nepřímě
úměrně ovlivňovány vymežováním velikosti ohniska.

Srovnávací indexy názorněji potvrzují neobvyklé ozdravovací tempo.

Procentuální podíly krajů ukazují na jejich roli v celostátní ozdravovací akci a její teritoriální těžišť.

Podíly sektorů ukazují, že se skoro výhradně jednalo o skot ze závodů
socialistického sektoru. Převaha výskytu bruce-
lózy ve velkochovech vyplývá především z epizootologických vlastností této nákazy a podmínek pro její šíření a likvidaci. Tato skutečnost potvrzuje dosavadní zkušenosti u nás i v zahraničí.

Literatura

- ČERNOVSKÝ J., 1935, *Zvěrolékařský obzor* 28 : 213.
ČERNOVSKÝ J., 1936, *Věstník II. sjezdu čsl. veterinářů*, Brno: 118.
ČIERNIK J., 1962, *Veterinární medicína* 7 : 363.
FRÍČ M., KÁRNÍK B., 1962, *Veterinární medicína* 7 : 359.
HAJDU Š., 1962, *Veterinární medicína* 7 : 339.
KLADNÝ J., 1955, *Náš chov* 2 : 56.
KLIMENT A., 1962, *Veterinární medicína* 7 : 349.
KLIMŠA R., 1962, *Veterinární medicína* 7 : 381.
KOUBA V., 1962, *Veterinární medicína* 7 : 285.
KOUBA V., 1963, *Vetěrinarija* 40 : 73.
KOUBA V., 1964, *Medycyny weterynaryjna* 20 : 580.
KOUBA V., 1965, *Veterinářství* 15 : 8.
KOUBA V., 1965, *Čsl. epid. mikr. a imunol.* 14 : 233.
KRUŠPÁN J., 1962, *Veterinární medicína* 7 : 369.
KUBÍN I., 1962, *Veterinární medicína* 7 : 353.
NIŽNÁNSKY F., 1952, *Veterinářství* 2 : 164.
PAVLÍK K., 1957, *Praktický lékař* 37 : 145.
POLÁK L., 1964, *Veterinářství* 14 : 231.
POUSKA F., 1962, *Veterinární medicína* 7 : 373.
ŽLNAY J., 1949, *Čas. čsl. veterinářů* 4 : 490.

Došlo dne 28. 7. 1968

КОУБА В. (Центральное ветеринарное управление, Прага, Чехословакия.) Преобладание бруцеллеза крупного рогатого скота в Чехословакии. Вет. мед. (Прага). 14 (2): 113-122, 1969.

Наивысшие показатели преобладания больного бруцеллезом крупного рогатого скота были отмечены к 1. 1. 1961 г. — 106 233 гол. крупного рогатого скота, т. е., 2,42 % всего поголовья. Нулевые показатели были достигнуты к 1. 1. 1965 г. В 1960—1964 годах самый большой показатель был отмечен в Западнословацкой области (до 9,68 %), а из секторов в государственных хозяйствах (до 10,29 %). У коров процент был значительно выше. Самые высокие цифры в очагах заболевания (больной и подозрительный на заболевание крупный рогатый скот) были отмечены в начале 1961 года — 214 825 голов скота, то есть, 4,89 %. В периоде выбраковки больного крупного рогатого скота величина этого показателя составляла еще 95 240 гол., т. е. 2,14 %. В конце 1965 года эта цифра понизилась до 48 628 голов, т. е. до 1,11 %. Средний процент коров из поголовья бруцеллезного крупного рогатого скота составлял 61,55 %. Средний процент зараженного скота из общего поголовья крупного рогатого скота в очагах заболевания достигал 43,15 %.

бруцеллез крупного рогатого скота; Чехословакия; преобладание

KOUBA V. (Central Veterinary Administration, Prague, Czechoslovakia). *The Prevalence of Brucellosis of Cattle in Czechoslovakia*. Vet. med. (Prague). 14 (2): 113-122, 1969.

The highest values of the prevalence of cattle suffering from brucellosis were recorded on January 1, 1961 — 106.233 head of cattle, i. e. 2.42 per cent of the total number of cattle. Zero values were obtained by the 1st January 1965. In the years 1960—1964 the highest values of prevalence were recorded in western Slovakia (up to 9.68 per cent) and of the sectors at state farms (up to 10.29 per cent). In cows the prevalence was considerably higher. The highest values of prevalence in cattle at foci (sick or suspected cattle) were recorded at the beginning of 1961 — 214.825 head of cattle, i. e. 4.89 per cent. At the time of the elimination of sick cattle the value of this index still amounted to 95.240 animals, i. e. 2.14 per cent. Towards the end of 1965 it decreased to 48.628 animals, i. e. 1.11 per cent. The average value of the proportion of cows of the total number of sick cattle amounted to 61.55 per cent. The average value of the proportion of sick cattle in the number of cattle at foci amounted to 43.15 per cent.

cattle brucellosis; Czechoslovakia; prevalence

KOUBA. V. (Veterinäre Zentralverwaltung, Praha, Czechoslovakia) *Rinderbrucellose-Prävalenz in der Tschechoslowakei*. Vet. med. (Praha), 14 (2): 113-122, 1969.

Die Höchstwerte der Prävalenz brucelloser Rinder wurden zum 1. 1. 1961, und zwar 106 233 Rinder d. h. 2,42 % des Gesamtbestandes, verzeichnet. Nullwerte wurden zum 1. 1. 1965 erreicht. In den Jahren 1960—1964 wurden die höchsten Prävalenzwerte im westslowakischen Bezirk (bis 9,68 %) und von den Sektoren auf Staatsgütern (bis 10,29 %) festgesetzt. Die Prävalenz bei Kühen war wesentlich höher. Höchstwerte der Prävalenz bei Rindern in den Seuchenherden (kranke und krankheitsverdächtige Rinder) wurden Anfang 1961 — 214 825 Rinder, d. s. 4,89 % — evidiert. Während der Periode der Eliminierung der kranken Rinder betrug der Wert dieser Kennziffer noch 95 240 Stück, d. s. 2,14 % der Rinder. Ende 1965 fiel er auf 48 628 Stück, d. h. 1,11 % der Rinder, herab. Der durchschnittliche Anteil der Kühe an der Gesamtzahl der kranken Rinder betrug 61,55 %. Der durchschnittliche Anteil der kranken Rinder an der Gesamtzahl der Rinder in den Seucheherden betrug 43,15 %.

Rinderbrucellose; Tschechoslowakei; Prävalenz

Adresa autora:

Doc. MVDr. Václav Kouba, CSc., Ústřední veterinární správa, Praha 2, Opletalova 6

AKTIVITA AMINOTRANSFERÁZ ASPARAGÁTU (SGOT) (2.6.1.1.) A ALANINU (SGPT) (2.6.1.2) V KREVNÍM SÉRU KUŘAT V PRVNÍM MĚSÍCI ŽIVOTA

K. Koudela, Z. Sova, J. Hofman

VŠZ, katedra fyziologie hospodářských zvířat, Praha - Suchbát

KOUDELA K., SOVA Z., HOFMAN J. *Aktivita aminotransferáz asparagátu (SGOT) (2. 6. 1. 1) a alaninu (SGPT) (2. 6. 1. 2) v krevním séru kuřat v prvním měsíci života.* Vet. Med. (Praha) 14 (2): 123-128, 1969.

Aktivita sérových aminotransferáz asparagátu a alaninu (SGOT a SGPT) u kohoutků v 1. měsíci života kolísá. Fotometrickou metodou dle Reitmana - Frankela (1957) se zjistila maximální aktivita SGOT 8. den života: $10,3 \pm 1,60$ mM/1 ml/37 °C/1 hod.; maximum aktivity SGPT se zjistilo 11. den — $0,82 \pm 0,172$ mM. Minimální aktivita obou aminotransferáz se zjistila 1. den života: SGOT — $6,5 \pm 2,14$ mM; SGPT — $0,17 \pm 0,049$ mM. Rozdíly aktivity SGOT mezi 0. a 31. dnem života nejsou statisticky významné, u SGPT se ve stejném časovém období zjistil statisticky významný pokles aktivity ($p < 0.05$). Kvocient GOT/GPT se v průběhu 1. měsíce života rozšířil z 15,2 (0. den) na 34,4 (31. den).
kur domácí; časná postinkubační ontogeneza; SGOT; SGPT

Aktivita aminotransferáz asparagátu (SGOT) a alaninu (SGPT) v krevním séru nebo plazmě kuřat v časném postinkubačním období byla studována zatím nedostatečně.

S nejmladšími kuřaty experimentovali Mc Daniel a Chute (1961), kteří sledovali aktivitu GOT a GPT v plazmě kuřat ve stáří pěti až čtyřtřiceti týdnů. Tito autoři neprokázali signifikantní kolísání aktivity. Rovněž Tettenborn (1964) nezjistil kolísání aktivity GOT a GPT v plazmě kohoutků a kuřiček ve stáří třinácti až devětadvaceti týdnů. Naopak Gessler (1964) potvrdil opakovaně pokles aktivity GPT v séru a plazmě devíti až osmnáctitýdenních kohoutků a kuřiček a ve druhé sérii i u kura domácího ve stáří deseti týdnů až 1 a 1/2 roku. Aktivitu plazmatické GOT a GPT neovlivňuje ani pohlaví (Tettenborn 1964, Mc Daniel, Dempsey a Chute 1964), ani plemeno kuřat (Mc Daniel a Chute 1959).

Pokles aktivity aminotransferáz asparagátu a alaninu u kuřat ruského bílého plemene pozoroval v prvním měsíci života Archipov (1966).

MATERIÁL A METODIKA

Ke studiu SGOT jsme použili séra 169 kohoutků plemene LB, aktivita SGPT se sledovala u 166 kohoutků LB. Kuřata byla odchována v pokusném objektu katedry za běžných zoohygienických podmínek. Kompletní krmnou směs „K“ a vodu dostávala kuřata *ad libitum*. Sérum bylo získáno utracením kohoutků dekapitací, a to vždy v 07.00 hod. Aktivity obou enzymů byly sta-

novery fotometricky metodou podle Reitmana a Frankela (1957) v postupu podle Neumanna a Maděrové (1960). Aktivitu aminotransferáz uvádíme v mikromolech kyseliny pyrohroznové na 1 ml séra, inkubace při 37 °C po dobu 1 hodiny. Získané výsledky vyhodnocujeme běžnými metodami variační statistiky ($\bar{x}$, s , t test).

VÝSLEDKY

Aktivita obou sledovaných aminotransferáz v krevním séru kohoutků kolísá. V tabulce I sumarizujeme aktivitu SGOT.

V prvním měsíci života jsou výkyvy aktivity SGOT relativně malé, což potvrzují příznivé hodnoty variačního koeficientu (obr. 1).

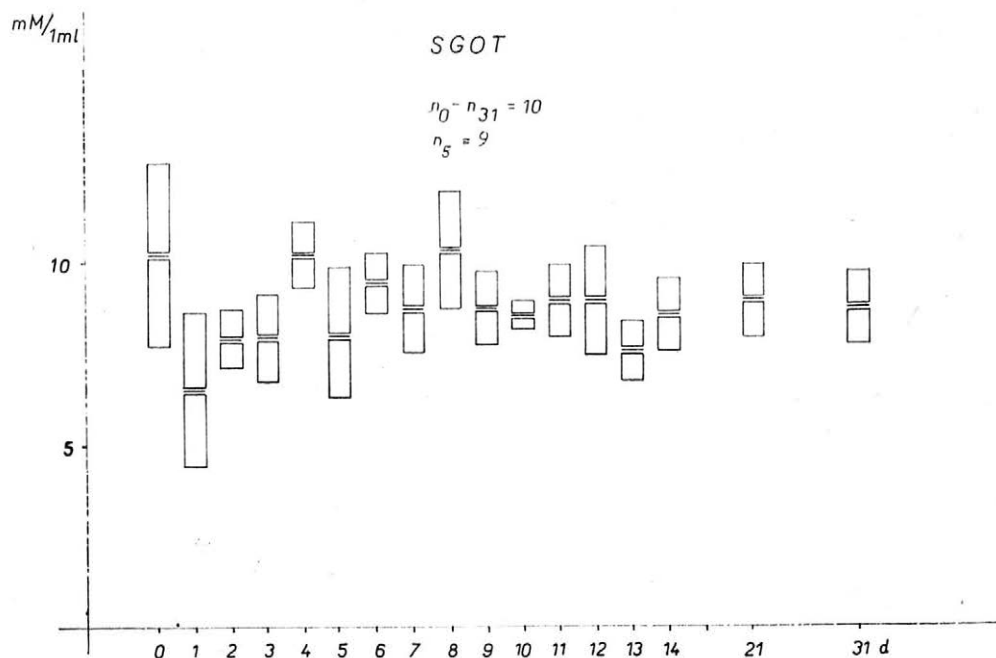
Nejvyšší zjištěné aktivity SGOT (4. a 8. den) jsme porovnávali s aktivitami zjištěnými 0. a 31. dne života t -testem podle Studenta. Statisticky významné jsou pouze rozdíly aktivity mezi 4., resp. 8. a 31. dnem života ($p < 0,05$).

Dynamiku aktivity SGPT shrnuje tabulka II.

Z tabulky II je zřejmé, že aktivita SGPT má v prvním měsíci života trojvrcholovou křivku, maximální aktivita se zjistila 11. den života $0,82 \pm 0,172$, o něco nižší ($0,62 \pm 0,148$ mM) 10. den života a 12. den ($0,75 \pm 0,127$ mM). Minimální aktivita SGPT se prokázala, podobně jako u SGOT, 1. den života, $0,17 \pm 0,049$ mM (obr. 2).

I. Aktivita SGOT u kohoutků LB v prvním měsíci života

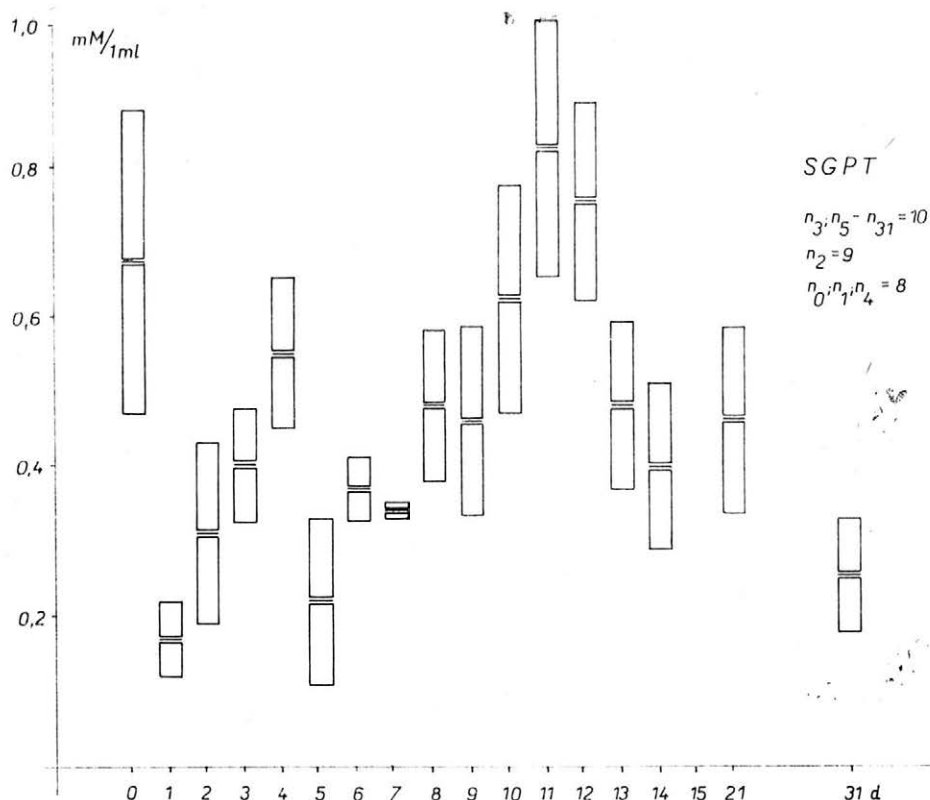
Stáří (dny)	n	$\bar{x}$ GOT mM	s	V (%)
0	10	10,2	2,45	24,0
1	10	6,5	2,14	32,9
2	10	7,9	0,78	9,9
3	10	7,9	1,24	15,7
4	10	10,2	0,88	8,6
5	9	8,0	1,87	23,4
6	10	9,4	0,75	7,9
7	10	8,7	1,20	13,8
8	10	10,3	1,60	15,5
9	10	8,7	0,97	11,1
10	10	8,5	0,38	4,5
11	10	8,9	0,98	11,0
12	10	8,9	1,44	16,2
13	10	7,5	0,79	10,7
14	10	8,5	1,04	12,2
21	10	8,7	0,97	11,1
31	10	8,6	0,94	10,9



I. Aktivita sérové aminotransferázy asparagátu (SGOT) (2.6.1.1) u kohoutků plemene LB v prvním měsíci postinkubačního života

II. Aktivita SGPT u kohoutků LB v prvním měsíci života

Stáří (dny)	n	$\bar{x}$ GPT mM	s	V (%)
0	8	0,67	0,199	29,7
1	8	0,17	0,049	28,8
2	9	0,31	0,120	38,7
3	10	0,40	0,074	18,5
4	8	0,55	0,193	35,1
5	10	0,22	0,111	50,5
6	10	0,37	0,040	11,6
7	10	0,34	0,011	3,2
8	10	0,48	0,196	40,8
9	10	0,46	0,124	26,9
10	10	0,62	0,148	23,9
11	10	0,82	0,172	21,0
12	10	0,75	0,127	16,9
13	10	0,48	0,111	23,1
14	10	0,39	0,114	29,2
21	10	0,46	0,124	26,9
31	10	0,25	0,075	30,0



2. Aktivita sérové aminotransferázy alaninu (SGPT) (2. 6. 1. 2) u kohoutků plemene LB v prvním měsíci postinkubačního života

III. Dynamika kvocientu SGOT/SGPT

Den	Kvocient
0	15,2
1	38,2
4	18,6
8	21,5
11	10,9
31	34,4

Testováním statistické významnosti extrémních hodnot aktivity SGPT t-testem podle Studenta se prokázalo statistický významné kolísání aktivity v průběhu prvního měsíce ($P < 0,05$).

V prvním měsíci života se měnil také kvocient GOT/GPT (tab. III).

DISKUSE

Z výsledků studia aktivity SGOT a SGPT u kuřat v prvním měsíci života je možno vyvodit, že stáří jedince do určité míry ovlivňuje aktivitu ami-

notransferáz. Protože se doposud aktivita obou aminotrasferáz v séru kuřat nejnižších věkových kategorií nesledovala, nemůžeme naše výsledky konfrontovat s výsledky jiných autorů. Lze předpokládat, že pokles aktivity sérových aminotransferáz, který u starších kuřat prokázal Gessler (1964, 1965), bude možná začínat již v časném postinkubačním období. U nejmladších kuřat sice

studioval aktivitu aminotransferáz v séru Archipov (1966), ten však nepopsal dostatečně ani metodiku stanovení aminotransferáz, a tím reprodukovatelnost metodiky, ani neuvedl jednotky enzymatické aktivity.

Na základě našich pokusů je možno vyslovit domněnku, že kolísání aktivity SGOT a SGPT v závislosti na stáří, zaznamenané u kuřat LB, je snad projevem obecné dynamiky klesající aktivity aminotransferáz u mladých zvířat, kterou např. u telat prokázali Maděrová, Neumann a Kozumplík (1963), u hřibů a koní Sova, Jícha (1963) a Gerber (1964).

Obecně lze dále připomenout, že aktivita GOT měla v naší práci podstatně vyrovnanější dynamiku než GPT, pro kterou bylo výrazné prudké kolísání aktivity a její značná individuální rozdílnost.

Literatura

- ARCHIPOV A. V., 1966. Aktivnost transaminaz v syrovotke krovi v ontogeneze. Mat. 10. nauč. Konf. po Farm. 1. Moskva.
- CORNELIUS C. E., BISHOP J., SWITZER J., RODE E. A., 1959, Serum and tissue transaminase activities in domestic animals. *Cornell Vet.* 49, 1: 116-126.
- DREL K. A., 1966, Evolucija azotistogo katabolizma v ontogeneze ptic. *Žur. evol. Biochim. Fiziol.* 2, 5: 445-451.
- GERBER H., 1966, Aktivitätsbestimmungen der Serumenzymen in der Veterinärmedizin. *Schw. Arch. Tierheil.* 108, 1: 33-36.
- GESSELER M., 1965, Ferment Spiegeländerungen im Blute des Huhnes infolge verschiedener Einflüsse. *Zbl. Vet. Med.* 12, 5: 471-478.
- GESSELER M., 1963, Die Bestimmung der Fermente Glutamat-Pyruvat Transaminase (GPT) und Sorbit-Dehydrogenase (SDH) im Blut der Haustiere und des Haushuhnes. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 70, 11: 304-307.
- MADĚROVÁ V., NEUMANN V., 1960, Transamináza kyseliny glutamové oxaloctové a kyseliny glutamové pyrohroznové v krevním séru klinicky zdravých koní. *Sb. ČSAV Vet. Med.* 5, 6: 423-439.
- MADĚROVÁ V., NEUMANN V., KOZUMPLÍK F., 1963, Vývoj transaminázové aktivity krevního séra telat v raném postnatálním období. *Sb. VŠZ Brno, řada B. Sp. Fak. vet.* 11, 2: 187-192.
- Mc DANIEL L., CHUTE H., 1959, Transaminases and dehydrogenases in chicken plasma. *Avian. Dis.* 3, 4: 408-411.
- Mc DANIEL L., CHUTE H., 1961, Enzyme activity levels in chicken plasma. *Am. J. Vet. Res.* 22, 86: 99-103.
- Mc DANIEL L., DEMPSEY H., 1962, The effects of fasting upon plasma enzyme levels in chickens. *Poultry Sci.* 41, 3: 994-998.
- Mc DANIEL L., DEMPSEY H., CHUTE H., 1964, Enzyme levels in birds. University of Maine. *The Main Agricultural Exp. Station Orono. Bull. T.* 8.
- OMAR E., FERGUSON T., GRIFGER C., COUCH J., 1965, Enzyme activities in the developing muscle and liver of normal and genetically dystrophic chick embryos. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 118, 2: 225-227.
- REITMAN S., FRANKEL S., 1957, A colorimetric method for the determination of serum glutamic-oxalacetic and glutamic-pyruvic transaminases. *Am. J. clin. Path.* 28, 6: 56-63.
- TANABE Y., WILCOX F. H., 1960, Effect of Age, Sex and line on serum alkaline phosphatases of the chicken. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 103, 1: 68-70.
- TETTENBORN D., 1964, Untersuchungen über die Aktivität einiger Enzyme im Blutplasma gesunder Hühner. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 77, 20: 399-401.

Došlo dne 1. 4. 1968

КОУДЕЛА К., СОВА З., ГОФМАН Я. (Сельскохозяйственный институт, кафедра физиологии сельскохозяйственных животных, Прага, Чехословакия). Активность аминотрансфераз аспарагата (SGOT) (2.6.1.1) и аланина (SGPT) (2.6.1.2) в кровяной сыворотке цыплят на первом месяце их жизни. *Вет. мед. (Прага)* 14 (2): 123-128, 1969.

Активность сывороточных аминотрансфераз аспарагата и аланина (SGOT и SGPT) у пестушков на первом месяце их жизни колеблется. Путем фотометрического метода по Райтману-Франкелю (1957) установили максимальную активность SGOT на 8 день жизни: $10,3 \pm 1,60$ мМ /1 мл/37°/час; максимальная активность SGPT была установлена на 11 день — $0,82 \pm 0,172$ мМ. Минимальную активность обеих аминотрансфераз установили на 1 день жизни: SGOT — $6,5 \pm 2,14$ мМ; SGPT $0,17 \pm 0,049$ мМ. Различия активности SGOT между 0—21 днем жизни не являются статистически значимыми, у SGPT установили в том же промежутке времени статистически значимое понижение активности ($p < 0,05$). Квотцент GOT/GPT увеличился в течение первого месяца жизни с 15,2 (0 день) до 34,4 (31 день).

домашняя птица, ранний послеинкубационный онтогенез; SGOT; SGPT

KOUDELA, K., SOVA, Z., HOFMAN J. (University of Agriculture, Chair of Physiology of Farm Animals, Prague, Czechoslovakia). *The Activity of the Aminotransferases of Asparagete (SGOT) (2.6.1.1) and Alanine (SGPT) (2.6.1.2) in the Blood Serum of Chickens in the First Month of Life.* Vet. Med. (Praha) 14 (2): 123-128, 1969.

The activity of serum aminotransferases of asparagete and alanine (SGOT and SGPT) in cocks in the 1st month of life fluctuates. By means of the photometric method according to Reitman et Frankel (1957) the maximum activity of SGOT was found on the 8th day of life: $10,3 \pm 1,60$ mM/1 ml/37°C/1 hour. The maximum activity of SGPT was found on the 11th day — $0,82 \pm 0,172$ mM. A minimum activity of both aminotransferases was found on the 1st day of life: SGOT — $6,5 \pm 2,14$ mM, SGPT — $0,17 \pm 0,049$ mM. The differences between the SGOT activity between the 0 and 21st day of life are statistically insignificant, in the case of SGPT a statistically significant lowering of the activity in the same time period was found ($p < 0,05$). In the course of the 1st month of life the GOT/GPT quotient extended from 15,2 (0 day) to 34,4 (31st day).

domestic fowl; early post-incubation ontogenesis; SGOT; SGPT

KOUDELA, K., SOVA, Z., HOFMAN J. (Lehrstuhl für Physiologie der landwirtschaftlichen Nutztiere der Landwirtschaftlichen Hochschule Prag, Czechoslovakia). *Aktivität der Aminotransferasen des Asparagats (SGOT) (2.6.1.1) und des Alanins (SGPT) (2.6.1.2) im Blutplasma von Kücken im ersten Lebensmonat.* Vet. Med. (Praha) 14 (2): 123-128, 1969.

Die Aktivität der Serumaminotransferasen des Asparagats und Alanins (SGOT und SGPT) bei Hähnchen im ersten Lebensmonat weist Schwankungen auf. Mit Hilfe der photometrischen Methode nach Reitman und Frankel (1957) wurde die maximale SGOT-Aktivität am 8. Lebenstag der Kücken ($10,3 \pm 1,60$ mM/1 ml/37°C/1 h) festgestellt. Die Aktivität der SGPT erreichte das Maximum ($0,82 \pm 0,172$ mM) am 11. Tage. Die minimale Aktivität beider Aminotransferasen wurde am 1. Lebenstag der Hähnchen festgestellt (SGOT = $6,5 \pm 2,14$ mM; SGPT = $0,7 \pm 0,049$ mM). Die Unterschiede der SGOT-Aktivität zwischen dem 0. und 21. Tag sind statistisch unsignifikant. Bei der SGPT wurde im gleichen Zeitintervalle eine statistisch signifikante Abnahme der Aktivität ($p < 0,05$) festgestellt. Der GOT/CPT-Quotient erweiterte sich im Verlaufe des 1. Lebensmonates von 15,2 (0. Tag) auf 34,4 (31. Tag).

Haushuhn; frühe Postinkubationsontogenese; SGOT; SGPT

Adresa autorů:

MVDr. Karel Koudela, CSc., prof. MVDr. Zdeněk Sova, DrSc., ing. J. Hofman, VŠZ, katedra fyziologie hospodářských zvířat, Praha - Suchbát

VÝSKYT BAKTERIEMIE U KURA DOMÁCIHO PO OZÁŘENÍ X-PAPRSKY LD₅₀

V. Horáková, J. Tománek

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

HORÁKOVÁ V., TOMÁNEK J. Výskyt bakteriémie u kura domácího po ozáření X-paprsky LD₅₀. Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 129-136, 1969.

Zjišťovali jsme výskyt bakteriémie u kura domácího, ozářeného paprsky X dávkou LD₅₀. K pokusu, který proběhl celkem ve třech etapách, bylo použito 188 kohoutů a slepic plemene New Hampshire. Z utracených ptáků byly izolovány bakteriální zárodky 2. až 8. den po ozáření, z uhynulých 2. až 8. den. Kultivace první den z utracených a první dva dny z uhynulých ptáků, s výjimkou jednoho případu z 28 vyšetřovaných, byly negativní. Z těchto výsledků je patrné, že zárodky, které pronikají do krevního oběhu ozářeného organismu již druhý den, těžce komplikovaly nemoc z ozáření až do 8. dne a mohly být případně příčinou uhynutí ozářeného organismu.

bakteriémie; *Pseudomonas aeruginosa*; *Achromobacter anitratum*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus sp.*

Tyto pokusy navazují na naši předcházející práci (Bódayová a kol. 1966), ve které byl zjišťován výskyt bakteriémie u uhynulých kohoutů a slepic po ozáření různými dávkami X-paprsků (600 — 2000 R).

Cílem současných studií bylo ověřit dřívější pokusy a doplnit údaje o průběhu bakteriémie u ptáků utrácených v určitých intervalech po ozáření LD₅₀.

Výskyt bakteriémie byl doposud převážně sledován u savců. Warren a Whipple (1923) zjistili u psů aerobní zárodky za 48 až 72 hod. po ozáření a za čtyři dny i zárodky sporulující. U myši zjistil Chrom (1935) bakteriemii 7. až 10. dne po ozáření. Lawrence a Tennant (1953) prokázali po ozáření myši 700 až 800 R bakteriemii 5. až 11. den, po ozáření 1000 R 4. až 7. den.

Troickij a Tumanjanová (1958) zjistili zárodky v krvi u králíků 2. až 4. den po ozáření.

Miller a kol. (1951) uvedli, že čas mezi počátkem bakteriémie a smrtí zvířete je závislý na zárodku, který bakteriemii vyvolává. Bakteriémie způsobená zárodky *Pseudomonas aeruginosa* trvala 24 hod., *E. coli* a *Proteus sp.* 48 až 72 hod., bakteriémie způsobená skupinou *Paracolon* 4 a 5 dnů. Podle těchto autorů jsou bakteriální komplikace nemoci z ozáření nejčastější druhý týden po ozáření.

MATERIÁL A METODY

V pokusech bylo použito dospělých kohoutů a slepic plemene New Hampshire ve stáří 8 až 12 měsíců. Ptáci byli ozařováni rtg přístrojem TUR 250 při 180 kV, 15 mA, filtraci 0,5 mm Cu + 0,5 mm Al, OK 56,5 cm. Za těchto

podmínek bylo dosaženo přílivu 40 R/min. na střed pole (20 × 20 cm) s úbytkem 15 % na okrajích. Dozimetrie na vzduchu i s parafinovým fantomem byla prováděna dozimetrem Victoreen. Celková dávka se rovnala 1230 R, což je LD₅₀ pro slepice a kohouty plemene New Hampshire (Procházk a Hampl 1966).

Pokusní ptáci byli rozděleni do skupin po 10 kusech při rovnoměrném zastoupení obou pohlaví. Jednotlivé skupiny byly postupně ozařovány a ve stanovený den utráceny dekapitací všechny kusy, které do daného dne přežily. Pokus proběhl ve třech etapách podle následujících schémat:

1. Přeživší kusy byly utráceny 2., 4., 6., 8., 10., 12., 14. a 16. den po ozáření. 10 kohoutů a slepic ozářeno nebylo a byli postupně bráni jako kontroly.

2. Částečné opakování prvního pokusu, přeživší kusy byly utráceny 2., 4., 7. a 8. den po ozáření. Tři kusy byly vzaty jako kontrolní.

3. Přeživší kusy byly utráceny 1., 2., 4., 5. a 6. den po ozáření LD₅₀. Pět slepic a kohoutů sloužilo jako kontrolní kusy.

Do pokusu bylo vzato celkem 188 kohoutů a slepic. Vyšetřovali jsme jak utracené, tak i uhynulé kusy, s výjimkou pokusu č. 2.

Bakteriologicky byly vyšetřovány sval, kruor ze srdce a játra. Odebrané vzorky ve váze asi 1 g byly rozetřeny ve třence se sterilním mořským pískem a ředěny sterilním pufrovaným fyziologickým roztokem. Bylo použito ředění 10⁻¹. Z takto připravených vzorků byla vykultivována 1 klička na pevné půdy a rozočkována. Byly použity následující živné půdy: krevní agar, tergitolový agar, manitolový agar, Edwardsova půda, modifikované medium podle Rogosy (Salažka a Bódavová 1963). Naočkované plotny s živnými půdami byly kultivovány při 37 °C 24 hod. aerobně; výjimku tvořila půda podle Rogosy, která byla kultivována 72 hod. anaerobně.

Čisté kultury izolovaných kmenů byly typizovány pomocí následujících biochemických a kultivačních testů: štěpení cukrů (glukóza, laktóza, manit, sacharóza, adonit, dulcitol, salicyl, inozitol, arabinóza, xylóza, ramnóza, maltóza, a trehalóza) bylo sledováno v peptonové vodě po dobu 14 dnů. Dále byly zjišťovány hydrolýza močoviny, produkce indolu, tvorba H₂S, redukce nitrátů, tvorba acetylmethylcarbinolu, MRT, využívání citrátů a glukózy podle Simmonse, ztekucování želatiny podle Fraziera, oxydáza, schopnost růstu při 42 °C a pohyblivost. Testy jsme dělali podle běžných metodik (Manual of Microbiol. Methods 1957, Ewing 1960, Sedláček-Rische 1962).

VÝSLEDKY

1. pokus — V prvním pokusu bylo ozářeno celkem 80 kohoutů a slepic; 10 neozařených kusů sloužilo jako kontroly. 30 ptáků uhynulo následkem ozáření, ostatní byli v pravidelných intervalech utráceni.

- a) Bakteriologické nálezy u utracených kohoutů a slepic

Počet utracených kohoutů a slepic, kteří přežili v jednotlivých skupinách z 10 ozářených kusů do stanoveného dne, je patrný z tab. I.

Pouze druhý a čtvrtý den po ozáření byla zjištěna přítomnost četných zárodků druhu *Pseudomonas aeruginosa* v játrech, srdci a svalu u všech vyšetřovaných kusů. Bakteriologické vyšetření zmíněných orgánů v ostatních dnech bylo negativní. Také u kontrolních kusů, utracených současně s ozářenými, nebyly zjištěny v orgánech žádné zárodky.

I. Výskyt bakteriémie u utracených kusů kura domácího po ozáření LD₅₀ — 1. pokus

Orgány	Dny po ozáření								Kontrol.
	2	4	6	8	10	12	14	16	
Játra	DDDD	DDDD	DDD	DDD	DDD	DDD	DD	DDD	DDDD
	DDDD	DDDD	DD	DDD	DD	DD	DD	DDD	DDDD
				DDD					DD
Kruor ze srdce	DDDD	DDDD	DDD	DDD	DDD	DDD	DD	DDD	DDDD
	DDDD	DDDD	DD	DDD	DD	DD	DD	DDD	DDDD
				DDD					DD
Sval	DDDD	DDDD	DDD	DDD	DDD	DDD	DD	DDD	DDDD
	DDDD	DDDD	DD	DDD	DD	DD	DD	DDD	DDD
				DDD					DD

II. Výskyt bakteriémie u uhynulých kusů kura domácího po ozáření LD₅₀ — 1. pokus

1. den po ozáření	2. den	3. den	4. den	5. den	6. den	7. den	8. den	9. den	10. den
OOOOOO OOOOOO OO		●●	●	OO●	●O	●●	●●●	OO	O

●, D — bakteriální nálezy pozitivní
O, D — bakteriální nálezy negativní

b) Bakteriologické nálezy u uhynulých kohoutů a slepic

1. den nebyly vykultivovány žádné zárodky z vyšetřovaných orgánů. Třetí až čtvrtý den po ozáření byly u uhynulých kusů zjištěny četné zárodky *Pseudomonas aeruginosa* a ojediněle *E. coli* v játrech a v kruoru ze srdce. Stejný nález byl učiněn u dvou ze tří kusů uhynulých 5. den a jednoho ze dvou kusů uhynulých 7. a 8. den po ozáření byly vykultivovány z uvedených orgánů *Escherichia coli* a *Staphylococcus sp.* U kusů uhynulých 9. den po ozáření byly v jednom případě vykultivovány ojediněle kolonie *Escherichia coli* a *Staphylococcus sp.* pouze z jater. Ve druhém případě byl nález negativní, stejně jako u kusu uhynulého 10. den po ozáření. Přehled nálezů je patrný z tab. II.

2. pokus — Ve druhém pokusu, který měl ověřit výsledky získané v prvních dnech popsaného prvního pokusu, bylo ozářeno celkem 40 kohoutů a slepic, z nichž 6 uhynulo. Tři kusy neozářené sloužily jako kontrolní.

a) Bakteriologické nálezy u utracených kohoutů a slepic

Ze všech 8 kusů utracených druhý den o ozáření byly vykultivovány zárodky *Pseudomonas aeruginosa* a *Achromobacter anitratum* z jater, kruoru ze srdce i svalu. U 10 kohoutů a slepic utracených čtvrtý den po ozáření nebyly v žádném případě zjištěny bakterie ve vzorcích svalu. V kruoru ze srdce byl

III. Výskyt bakteriémie u utracených kusů kura domácího po ozáření LD₅₀ — 2. pokus

Orgány	Dny po ozáření				Kontrol.
	2	4	6	8	
Játra	DDDD DDDD	DDDD DDDD DD	DDD DDD	DDDD DDD	DDD
Kruor ze srdce	DDDD DDDD	DDDD DDDD DD	DDD DDD	DDDD DDD	DDD
Sval	DDDD DDDD	DDDD DDDD DD	DDD DDD	DDDD DDD	DDD

IV. Výskyt bakteriémie u utracených kusů kura domácího po ozáření LD₅₀ — 3. pokus

Orgány	Dny po ozáření					Kontrol.
	1	2	4	5	6	
Játra	DDD DDD	DDD DDD DDD	DDD DDD DDD	DDD DD	DDD DD	DDD DD
Kruor ze srdce	DDD DDD	DDD DDD DDD	DDD DDD DDD	DDD DD	DDD DD	DDD DD
Sval	DDD DDD	DDD DDD DDD	DDD DDD DDD	DDD DD	DDD DD	DDD DD

●, D — bakteriální nálezy pozitivní
 O, D — bakteriální nálezy negativní

v jednom případě zachycen *Achromobacter anitratum*, v játrech dvou kusů byl vykultivován rovněž *Achromobacter anitratum*. U 4 ze 6 kusů utracených 6. den byly z krve a svalu izolovány *Achromobacter anitratum* a z jater vedle tohoto druhu ještě *Escherichia coli*. U zbývajících dvou kusů byly kultivace negativní. U všech 7 kusů utracených 8. dne po ozáření nebyla zjištěna bakteriémie. Bakteriologické vyšetření orgánů kontrolní skupiny bylo negativní. Přehled nálezů je patrný z tab. III.

b) Bakteriologicky se uhynulé kusy nevyšetřovaly.

3. pokus — Ve třetím pokusu byli kohouti a slepice utráceni záměrně v jiných intervalech než v předchozích dvou pokusech. Celkem bylo ozářeno 50 ptáků, 16 uhynulo následkem ozáření a 34 kusů bylo utráceno. Dalších pět kohoutů a slepic sloužilo jako kontroly.

a) Bakteriologické nálezy u utracených kohoutů a slepic.

První a druhý den po ozáření nebyly ani v jednom případě vykultivovány zárodky ze svalů, srdce nebo jater. Čtvrtý den po ozáření bylo vyšetřeno 9 kusů; v pěti případech byly vykultivovány zárodky *Achromobacter anitratum*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* ze svalů, v 6 případech z kruoru ze srdce a u 8 kusů byly nalezeny v játrech. Do 5. až 6. dne po ozáření přežilo a bylo utráceno vždy pět ptáků, ani v jednom případě nebyly vykultivovány bakterie z orgánů. Podobně také bakteriologické vyšetření pěti kontrolních kusů bylo negativní (tab. IV).

V. Výskyt bakteriémie u uhynulých kusů kura domácího po ozáření LD₅₀ — 3. pokus

1. den po ozáření	2. den	3. den	4. den
OOOO OOOO O	OOO O●	●	O

●, D — bakteriální nálezy pozitivní

O, D — bakteriální nálezy negativní

VI. Vztah počtu přeživších kohoutů a slepic ozářených LD₅₀ k výskytu bakteriémie (souhrn všech tří pokusů)

Dny po ozáření	1	2	4	5	6	8	10	12	14	16
	počet přeživších kohoutů a slepic / počet nálezů bakteriémie									
Játra	6/0	25/16	27/18	5/0	16/4	16/0	5/0	5/0	4/0	6/0
Kruor ze srdce	6/0	25/16	27/15	5/0	16/4	16/0	5/0	5/0	4/0	6/0
Sval	6/0	25/16	27/13	5/0	16/4	16/0	5/0	5/0	4/0	6/0

b) Bakteriologické nálezy u uhynulých kohoutů a slepic

První den uhynulo celkem 9 ptáků, ze sledovaných vzorků nebyly vykultivovány žádné zárodky. Z pěti kusů uhynulých druhý den po ozáření byly v jednom případě zjištěny zárodky *Escherichia coli* a *Pseudomonas sp.* z jater a kruoru ze srdce. Stejně jako v předešlém případě, u jediného kusu uhynulého třetí den po ozáření byly prokázány bakterie. U ptáka, který uhynul čtvrtý den po ozáření, nebyly vykultivovány žádné bakteriální zárodky ze sledovaných orgánů (tab. V).

V tab. VI je uveden souhrnně ze všech tří pokusů počet přeživších slepic a kohoutů a zjištěný výskyt bakteriémie v jednotlivých dnech. Z přehledu je patrné, že bakteriémie byla zjišťována mezi 2. až 6. dnem po ozáření LD₅₀. Maximum nálezů bylo druhý až čtvrtý den. U kusů, které přežívají, se zdá být výskyt bakteriémie poměrně krátkodobý. U uhynulých kusů, u nichž se

uplatňuje bakteriémie jako podstatný komplikující faktor, byla zjištěna mezi 2. až 8. dnem.

U utracených kusů byly zjištěny ve sledovaných orgánech zárodky *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter anitratum*, *Escherichia coli*.

U uhynulých kusů byly zjištěny zárodky *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus species*, *Pseudomonas sp.*

DISKUSE

Výsledky předkládané v této práci doplňují předchozí výsledky získané při bakteriologickém vyšetřování kohoutů a slepic uhynulých v průběhu nemoci z ozáření (Bódayová a kol. 1966).

Druhý den po ozáření lze charakterizovat jako nástup vlastní bakteriémie, která byla u utracených ptáků zjištěna téměř u 70 % případů. Období 5. až 6. dne je z hlediska bakteriémie zřejmě časovou hranicí, která rozhoduje o tom, zda organismus přežije s následnou reparací a likvidací bakterií v oběhu krevním a orgánech, nebo zda uhynie následkem celkového zhroucení organismu a bakteriémie.

Předkládané výsledky jsou v soulase s některými literárními údaji. Warren a Whipple (1923) zjišťovali zárodky v ozářeném organismu psů rovněž během dvou až tří dnů po ozáření. Troickij a Tumanjanová (1958) zjistili u králíků druhý až čtvrtý den po ozáření v krvi, orgánech a často i v dřeni kostní zárodky *Escherichia coli*, *Staphylococcus* a *Streptococcus*. Naproti tomu celá řada autorů uvádí, že bakteriémie vrcholí až druhý týden po ozáření (Chrom 1935, Miller a kol. 1951, Hammondová a kol. 1954, 1955, Kunstýř a Pospíšil 1962, Kubica a Bukowska 1962).

V hodnocených třech pokusných souborech je jistá biologická variabilita; tak např. ve třetím souboru byl druhý den po ozáření bakteriologický nález zcela negativní, na rozdíl od předchozích nálezů. Podobně je netypický nález čtvrtý den u druhého souboru; u téhož souboru pokusných ptáků se naopak období pozitivních nálezů prodloužilo až do 6. dne. Tyto rozdíly je možno vysvětlit jednak jistou variabilitou pokusného materiálu (individuální rozdílná radiosensitivita, a tím i rozdílný nástup bakteriémie), jednak i tím, že bakteriémie, sama byla způsobena v jednotlivých souborech různými bakteriálními zárodky, které nemusí projevovat stejnou patogenезi v ozářeném organismu. V prvním pokusu byla vykultivována čistá kultura *Pseudomonas aeruginosa*, v druhém pokusu druhý den po ozáření *Pseudomonas aeruginosa* a *Achromobacter anitratum*, čtvrtý den pouze *Achromobacter anitratum* a šestý den *Achromobacter anitratum* a v játrech navíc *Escherichia coli*. Ve třetím opakování byly vykultivovány smíšené *Escherichia coli*, *Achromobacter anitratum* a *Pseudomonas aeruginosa*.

Výsledky kultivací z uhynulých kusů potvrzují naše dřívější nálezy (Bódayová a kol. 1966). Pozitivní kultivace z jater, krve a svalů byly nejčastější mezi 3. až 8. dnem po ozáření. Jestliže srovnáváme nálezy u kusů utracených a uhynulých, vidíme, že u utracených ptáků se bakteriémie vyskytuje 2. až 6. den po ozáření, u uhynulých kusů 2. až 8. den. Kultivace první den u utracených a u 27 z 28 uhynulých ptáků první dva dny byly negativní. Z výsledků získaných na utracených kohoutech a slepicích lze usoudit, že bakterie začínají pronikat do organismu již druhý den po ozáření. Autoinfekce nemá prokazatelně vztah k hynutí první den po ozáření; pro její nástup je potřeba nej-

méně dvou až tři dnů, aby mohla být v dalších dnech (až do 8. dne) případnou příčinou hynutí ptáků. Kusy, které přežívají tuto kritickou dobu, jsou schopny bakteriemi eliminovat.

Uvedenému vysvětlení patogeneze bakteriémie zcela odpovídají i bakteriologické nálezy u ptáků uhynulých v průběhu postradiačního syndromu (nejčastější pozitivní nálezy mezi 2. až 8. dnem po ozáření). Svůj význam v tomto případě mají nepochybně i změny v bílé složce krevního obrazu; výskyt bakteriémie zcela časově zapadá do období leukopenie (Procházková a kol. 1966).

Literatura

- BÓDAYOVÁ L., HORÁKOVÁ V., TOMÁNEK J., 1966, Výskyt bakteriémie u uhynulých kusů kura domácího po ozáření stoupajícími dávkami paprsků X. *Vet. Med. (Praha)* 11: 529-536.
- CHROM S. A., 1935, Studies on the effect of roentgen rays upon the intestinal epithelium and upon the reticulo-endothelial cells of liver and the spleen. *Acta Radiol.* 16: 641.
- EWING W. H., 1960, Enterobacteriaceae. Biochemical methods for group differentiation. *Ilth. Serv. Publ.* 1: 734.
- GORDON L. A., SCRUGGS W. G., LOBUND A. E. C., 1953, Report III.
- HAMMOND C. W., COLLINS H., COOPER D. B., MILLER C. P., 1954, Studies on susceptibility to infection following ionizing radiation. II. Its estimation by oral inoculation at different times of post-irradiation. *J. exp. Med.* 99: 411-418.
- HAMMOND C. W., RUMMLER D., COOPER D. B., MILLER C. P., 1955, Studies on susceptibility to infection following ionizing radiation. III. Susceptibility of the intestinal tract to oral inoculation with *Pseudomonas aeruginosa*. *J. exp. Med.* 102: 403-411.
- KUBICA J., BUKOWSKA B., 1962, Zachowanie si flory jelitowej w ostrej chorobie popromiennej u szczurów. *Acta Microb. Polonica* 11: 111-118.
- KUNŠTÝR I., POSPÍŠIL J., 1962, Penetration of *Serratia marcescens* from intestine into the organism of irradiated dogs. *Folia Microb.* 7: 83-87.
- LAWRENCE J. Y., TENNANT R., 1937, The comparative effects of neutrons and X-rays on the whole body. *J. exp. Med.* 66: 667.
- Manual of microbiological methods, 1957, McGraw-Hill Book Co., New York.
- MILLER C. P., HAMMOND C. W., TOMPKINS M. B. S., 1951, The role of infection in radiation injury. *Arch. Biochem. Biophys.* 38: 331-343.
- PROCHÁZKA Z., HAMPL J., 1966, A contribution to the estimation of radiosensitivity in domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Rad. Biol. Ther.* 7/2: 231.
- PROCHÁZKA Z., BÓDAYOVÁ L., HORÁKOVÁ V., TOMÁNEK J., 1966, The relation between leucocyte levels and bacteriological findings in poultry exposed to increasing X-ray doses. *Docum. vet.* 5: 171-177.
- SALAJKA E., BÓDAYOVÁ L., 1963, A contribution to methods of *Lactobacillus* isolation. *Spisy přír. fak. univ. J. E. Purkyně v Brně, řada K*, 10: 455-456.
- SEDLÁK J., RISCHE H., 1962, Enterobacteriaceae-Infection. Leipzig.
- TROICKIJ V. L., TUMANJAN M. A., 1958, cit. TROICKIJ V. L., KAULEN J. R., TUMANJAN M. A., FRIDENŠTEJN A. J., ČACHAVA O. V., Radiacionnaja immunologija. Moskva 1965.
- WARREN S. L., WHIPPLE C. W., 1923, Roentgen ray intoxication. I. Bacterial invasion of the blood stream as influenced by X-ray destruction of the mucosal epithelium of the small intestine. *J. exp. Med.* 38: 713.

Došlo dne 6. 5. 1968

ГОРАКОВА В., ТОМАНЕК Й. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия). Появление бактериемии у домашней птицы после облучения X-лучами LD₅₀. *Вет мед. (Прага)* 14 (2): 129-136, 1969.

В предложенной работе устанавливали появление бактериемии у домашней птицы, облученной X-лучами дозой LD₅₀. Для опыта, прошедшего в трех этапах, использовали 188

петухов и кур породы нью-гемпшир. Из убитых птиц изолировали зародыши бактерий на 2—8 день после облучения, из погибших на 2—8 день. Культивации на первый день убитых и в течение первых двух дней погибших птиц, за исключением 1 случая из 28 исследованных, оказались отрицательными. Из этих результатов вытекает, что зародыши, проникающие уже на 2 день в кровообращение облученного организма, сильно осложняли заболевание вплоть до 8 дня и могли быть причиной гибели облученного организма.

бактериemia; *Pseudomonas aeruginosa*; *Achromobacter anitratum*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus* sp.

HORÁKOVÁ, V., TOMÁNEK, J. (Research Institute of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *The Occurrence of Bacteremia in Domestic Fowl after Irradiation With X-rays LD₅₀*. Vet. Med. (Praha) 14 (2): 129-136, 1969.

Determined was the occurrence of bacteremia in domestic fowl that had been irradiated with a LD₅₀ dose of X-rays. In the experiment, which was carried out in three stages, 188 cocks and hens of the New Hampshire breed were used. From the killed birds bacterial germs were isolated on the 2nd — 8th day after irradiation, and from the birds that had died also on the 2nd — 8th day. Cultivation from birds killed on the first day and from birds that had died on the first two days was negative with the exception of one case of 28 examined birds. From these results it can be seen that the germs that penetrated into the blood circulation of the irradiated organism already on the second day severely complicated the irradiation sickness up to the eighth day and may have been the cause of the death of the irradiated organism.

bacteremia; *Pseudomonas aeruginosa*; *Achromobacter anitratum*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus* sp.

HORÁKOVÁ, V. - TOMÁNEK, J. (Veterinärmedizinisches Forschungsinstitut, Brno, Czechoslovakia). *Vorkommen der Bakterienämie beim Haushuhn nach Bestrahlung mit X-Strahlen LD₅₀*. Vet. Med. (Praha) 14 (2): 129-136, 1969.

Es wurde das Vorkommen der Bakterienämie bei dem mit einer Dosis von LD₅₀ X-Strahlen behandelten Haushuhn ermittelt. Zu dem in drei Etappen verlaufenden Versuch wurden 188 Hähne und Hennen der New-Hampshire-Rasse benützt. Aus den getöteten Hühnern wurden bakterielle Erreger am 2. — 8. Tage nach der Bestrahlung von den verendeten am 2. bis 8. Tage nach dem Tode isoliert. Die Ergebnisse der Kultivierung bei den am ersten Tage getöteten und in den ersten zwei Tagen bei den verendeten Vögeln, mit Ausnahme eines Falles von insgesamt 28 untersuchten Fällen, waren negativ. Aus diesen Resultaten geht hervor, daß die in den Blutkreislauf des bestrahlten Organismus bereits am 2. Tage eindringenden Erreger die durch Bestrahlung verursachte Erkrankung bis zum 8. Tage wesentlich komplizierten und das Absterben des bestrahlten Organismus eventuell verursachen konnten.

Bakterienämie; *Pseudomonas aeruginosa*; *Achromobacter anitratum*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus* sp.

Adresa autorů:

RNDr. Vlasta Horáková, MVDr. Josef Tománek, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

HYGIENICKO ZDRAVOTNÉ HODNOTENIE MÄSA Z TUNIÁKA NA ZÁKLADE OBSAHU HISTAMÍNU

M. Ferencík

Ústredný štátny veterinárny ústav, Bratislava

FERENCÍK M. *Hygienicko zdravotné hodnotenie mäsa z tuniaka na základe obsahu histamínu*. Vet. Med. (Praha) 14 (2): 137-145, 1969.

Pri kontrolovanom priebehu mikrobiálneho rozkladu mäsa z tuniaka a z niektorých ďalších morských rýb sa u viacerých vzoriek dokázal vznik značného množstva histamínu. Na základe týchto sledovaní, biologických pokusov na laboratórnych zvieratách, ako aj vyšetrenia väčšieho počtu vzoriek dobrého i závadného mäsa sa navrhuje, aby mäso morských rýb s nižším obsahom ako 100 mg⁰/₀ histamínu (pri ostatných vyhovujúcich ukazateľoch) sa hodnotilo ako nezávadné. Mäso s obsahom 100—300 mg⁰/₀ môže byť podmienene požívateľné do výrobkov tepelne opracovaných. Výsledná koncentrácia histamínu nesmie však v nich prekročiť 100 mg⁰/₀. Ak mäso obsahuje viac ako 300 mg⁰/₀ histamínu, treba ho hodnotiť ako nevhodné pre ľudský konzum. Materiál s väčšou koncentráciou ako 1000 mg⁰/₀ histamínu by sa bez riedenia nemal spracovávať ani na kafilerickú múčku.

histidín dekarboxyláza; endogénny, exogénny a indukovaný histamín; kadáverín; putrescín; tyramín; pelamída; sled; treska

V našich predošlých prácach (Ferencík a kol. 1961) sme dokázali, že toxikózy, ktoré sa u nás pozorovali po požití údeného mäsa z tuniaka (Kriška a kol. 1960, Baumgartner a kol. 1961), boli spôsobené vysokým obsahom histamínu. Histamín vzniká pri tom enzymatickou dekarboxyláciou histidínu, ktorý sa nachádza vo svalovine. Dekarboxylačný enzým dodáva kontaminujúca bakteriálna mikroflóra a dekarboxylovať sa môže len voľný histidín (Ferencík 1967, 1968). Faktory ovplyvňujúce priebeh tejto dekarboxylačnej reakcie sme podrobne opísali na inom mieste (Ferencík 1969).

Histamín pokladajú za hlavného toxického činiteľa aj iní autori, ktorí vyšetrovali toxikózy vyvolané mäsom tuniaka (Boyer a kol. 1956, Hillig 1956, Sapin-Jaloustre 1957, Williams 1960, Kimata 1961).

Z uvedeného je zjrejmé, že pri hygienicko zdravotnom hodnotení mäsa z tuniaka, okrem iných skúšok, je potrebné zisťovať v ňom aj koncentráciu histamínu. Obsah histamínu sa v biologickom materiáli môže stanoviť rôznymi spôsobmi. Pre mäso a mäsové výrobky zdá sa byť najvýhodnejšia metodika, ktorá na oddelenie histamínu od ostatných interferujúcich látok používa vysokovoltovú elektroforézu na papieri (Ferencík 1962). Táto metodika totiž umožňuje stanoviť aj ďalšie degradačné produkty aminokyselín a informuje tak tiež o čerstvosti suroviny bez ohľadu na obsah histamínu (Ferencík 1968).

Pre hodnotenie obsahu histamínu snažili sme sa vypracovať určité kritériá, a to jednak na základe sledovania dynamiky vzniku histamínu, prípadne iných toxikologicky významných amínov, v rôznych druhoch mäsa z tuniaka a jednak na základe biologických pokusov, z ktorých mnohé boli podrobne uvedené už

v našich minulých prácach. Predmetom tejto práce je návrh určitých zákonitostí, ktoré možno využiť pri praktickom posudzovaní zdravotnej nezávadnosti mäsa niektorých morských rýb.

MATERIÁL A METÓDY

Štúdium vzniku histamínu sa robilo v mäse tuniaka, pelamídy, sleďa a tresky. Mäso z tuniaka sme rozdelili na tri skupiny: mäso svetlé (na povrchu tela), ružové a tmavé (prekrvené — pri chrbtovej kosti). Všetky druhy mäsa po rozmrazení a príchode do laboratória sa uložili do sterilných nádob a uskladňovali za laboratórnej teploty ($20-22^{\circ}\text{C}$) po rôzne dlhú dobu. Z mäsa sa robili vodné extrakty, v ktorých sa zisťoval obsah histamínu, histidínu, iných aminokyselín a ich degradačných produktov pomocou vysokovoltovej elektroforézy na papieri (Ferenčík 1962, 1967). Stanovenie celkového histidínu sa robilo po 24hodinovej hydrolýze mäsa v 6 N HCl v zatavených ampulkách pri 105°C .

Presnú metodiku biologických pokusov sme uviedli v našich predošliých prácach (Ferenčík a kol. 1961).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vznik histamínu sme pozorovali pri skladovaní viacerých vzoriek mäsa z tuniaka, pelamídy a sleďa. V mäse tresky sa prítomnosť histamínu nezistila ani v jednom prípade. Mikrobiálny rozklad mäsa z tuniaka a pelamídy môže prebiehať dvojakým spôsobom, a to buď za vzniku alebo bez vzniku histamínu. Spôsob rozkladu je v prvom rade závislý na tom, či kontaminujúce baktérie majú histidín dekarboxylázu vo svojom potenciálnom súbore enzýmov, ďalej na koncentrácii voľného histidínu a potom na ďalších faktoroch (Ferenčík 1967, 1969).

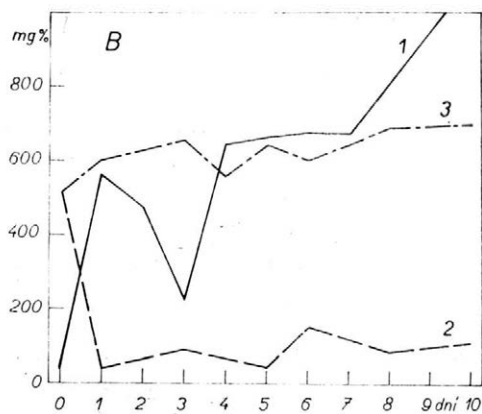
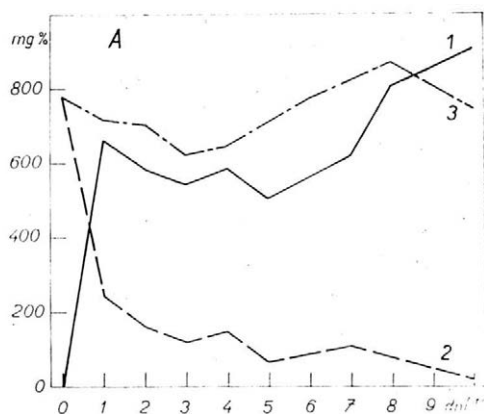
Typický priebeh vzniku histamínu v mäse tuniaka počas jeho skladovania pri izbovej teplote je uvedený na obr. 1. Ako vidieť, značné množstvá histamínu vznikajú vo všetkých troch druhoch mäsa. V mäse svetlom sa zistil vysoký obsah histamínu už po prvom dni skladovania. V ďalších dňoch po počiatočnom poklese mala hladina histamínu mierne stúpajúcu tendenciu s maximom $910\text{ mg}\%$ v posledný desiaty deň sledovania. Obsah histidínu počas prvých dvoch dní značne poklesol a potom sa udržiaval približne na rovnakej úrovni.

Obdobné výsledky sa získali aj u mäsa ružového s maximom $1100\text{ mg}\%$ histamínu.

Mäso tmavé (prekrvené) malo počiatočný obsah histidínu podstatne nižší ako predošlé druhy mäsa. V priebehu rozkladu hladina tohoto voľného histidínu zostávala zhruba rovnaká. Množstvo histamínu v ňom stúplo z počiatočných 12 na $1930\text{ mg}\%$. Z toho vyplýva, že v mäse prekrvenom sa histidín pravdepodobne dekarboxyloval približne rovnakou rýchlosťou, ako bola rýchlosť jeho hydrolýzy zo svalových bielkovín.

Zo všetkých troch druhov mäsa tuniaka, ktorých rozklad sme sledovali, sa časť ihneď po rozmrazení suroviny bežným spôsobom zaúdlila. Zmeny v obsahu histidínu a histamínu sa sledovali potom aj u týchto vzoriek (obr. 1). U údeného mäsa sa ani v jednom prípade počas 10 dní skladovania nepozoroval žiadny vznik histamínu. Hladina histidínu mala u svetlého a ružového mäsa mierne stúpajúcu tendenciu, kým u mäsa prekrveného sa prudko zvyšovala.

1. Vznik histamínu v mäse z tuniaka počas jeho uskladnenia pri izbovej teplote



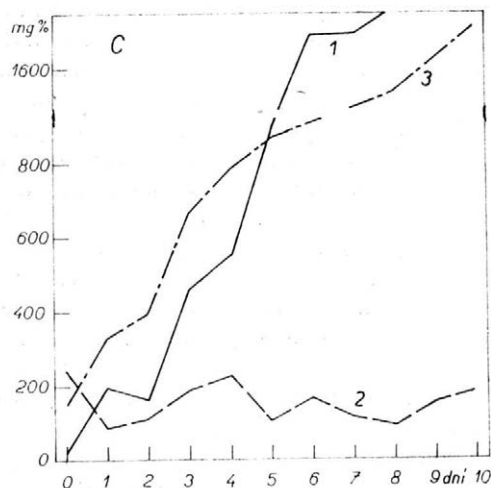
A. Mäso svetlé

1. Histamín

2. Histidín

3. Histidín u toho istého mäsa po
zaúdení

B. Mäso ružové



C. Mäso tmavé (prekrvené)

To je ďalším dôkazom, že za tvorbu histamínu je zodpovedná pôvodná bakteriálna mikroflóra, ktorá sa nachádzala v surovine pred zaúdením. Zistili sme (Havelka 1967, Ferencík 1967), že spomedzi jednotlivých bakteriálnych druhov, ktoré sa izolovali zo vzoriek s vyšším obsahom histamínu, mali vysokú histidín dekarboxylázovú aktivitu hlavne kmene *Hafnia*. Tento bakteriálny druh bol schopný produkovať veľké množstvá histamínu nielen v umele kontaminovanom sterilnom mäse rôznych morských rýb, ale dokonca i v mäse bravčovom (Ferencík 1968).

I. Zmeny v obsahu histamínu a histidínu v mäse tuniaka počas skladovania pri izbovej teplote

Mäso	Histamín (mg%)			Histidín (mg%)			Celkový His v čase „0“
	1	2	3	1	2	3	
Svetlé — surové	0	660	910	770	310	100	3,166 %
— údené	0	0	0	770	705	830	—
Ružové — surové	26	565	1100	520	40	105	4,110 %
— údené	0	0	0	520	620	925	—
Tmavé — surové	12	200	1930	230	85	180	4,932 %
— údené	0	0	0	190	300	1620	—

1 — čas „0“ (do 8 hodín po rozmrazení a rozporcovaní tuniaka)

2 — po 24 hodinách uskladnenia

3 — po 10 dňoch uskladnenia

Zmeny v obsahu histamínu a histidínu, ktoré sme pozorovali v priebehu bakteriálneho rozkladu surového a údeného mäsa z tuniaka, sú uvedené v tab. I.

Z uvedených výsledkov vyplýva, že:

1. Histamín vzniká vo všetkých druhoch mäsa z tuniaka.

2. Pri krátkodobom skladovaní vzniká vyšší obsah histamínu v mäse svetlom, ktoré sa nachádza na povrchu tuniaka, ako v mäse tmavom, ktoré je anatomicky situované v okolí chrbtovej kosti. Pri dlhšom skladovaní vznikajú však absolútne najvyššie množstvá histamínu v mäse prekrvenom. Tieto rozdiely vyplývajú z rôzneho množstva celkového a voľného histidínu (tab. I), z odlišného počtu bakteriálnych zárodkov a z technológie rozmrazovania.

3. Po 24hodinovom skladovaní sa v surovom mäse organolepticky nepozorovali podstatnejšie zmeny. Hladina histamínu však u jednotlivých druhov dosiahla hodnoty 660, 565 a 200 mg % (tab. I). Obdobné hodnoty sme získali aj v ďalších prípadoch sledovaného rozkladu mäsa z tuniaka. Z toho dôvodu i pri zmyslove nezávadných vzorkách je bezpodmienečne potrebné kontrolovať obsah histamínu.

4. Ak sa mäso ihneď po rozmrazení údením spracuje na príslušné výrobky, ďalší histamín nevzniká za predpokladu, že výrobky sa dodatočne nekontaminujú bakteriálnymi druhmi s aktívnou histidín dekarboxylázou. Údené mäso z tuniaka obsahovalo obyčajne len to množstvo histamínu, ktoré sa v ňom nachádzalo už pred zaúdením.

Podľa našich doterajších skúseností je nebezpečie vzniku vysokých koncentrácií histamínu podstatne väčšie v mäse tuniakov dovážaných z Dánska, ako z ostatných štátov. Pri pokusnom sledovaní rozkladu mäsa tuniakov, dovezených z Nórska, sa nám ani v jednom prípade nepodarilo dokázať tvorbu väčšieho množstva histamínu. Histamín vznikal len v tom prípade, keď sa k tomuto mäsu pridali baktérie s aktívnou histidín dekarboxylázou. U tuniakov pochádzajúcich z Japonska a z Turecka podarilo sa nám pri kontrolovanom kazení dokázať vznik histamínu, prípady intoxikácií po požití ich mäsa sme však zatiaľ nezaznamenali. Tieto rozdiely zrejme súvisia s prítomnosťou kvalitatívne odlišných mikroorganizmov v jednotlivých vzorkách, čo vyplýva v prvom rade z rozdielnosti miesta výlovu.

II. Obsah histidínu a histamínu v mäse rôznych morských rýb

Mäso	Počet vyš. vz.	% histamínu	% celk. His	% voľného His
Tuniak dánsky — tmavé prekrvené	32	0,0—2,39	4,65—5,44	0,20—2,86
Tuniak dánsky — ostatné druhy	50	0,0—0,92	2,62—4,21	0,09—1,45
Tuniak nórsky — tmavé prekrvené	21	0,0	4,41—5,50	0,40—1,88
Tuniak nórsky — ostatné druhy	39	0,0	2,15—3,92	0,06—1,60
Pelamída	14	0,0—0,44	2,04—3,64	0,11—1,33
Sleď	8	0,0—0,28	1,77—2,62	0,05—0,70
Treska	12	0,0	1,23—1,75	0,01—0,36

Z tab. II je zrejmé, že množstvo histamínu, ktoré sa môže v mäse rýb vytvoriť, je v určitej korelácii s obsahom celkového a voľného histidínu. Toto je však len jedným z podmienujúcich faktorov, kým druhým je prítomnosť kompetentnej mikroflóry. Okrem mäsa tuniaka môže histamín vznikať aj v mäse z pelamidy a zo sleďa.

Vedľa histamínu sme v toxických vzorkách mäsa z tuniaka našli aj iné biologické účinné amíny, a to tyramín, β -fenyletylamín, tryptamín, kadáverín, putrescín, agmatín. Pokúsili sme sa preto stanoviť toxicitu niektorých z nich. Zistili sme, že pre morčatá pri intraperitoneálnej aplikácii nie je ešte letálnou dávkou 300 mg/kg kadáverínu alebo putrescínu a 200 mg/kg tyramínu alebo β -fenyletylamínu. Letálna toxicita histamínu (LD_{100}) pri intraperitoneálnom podaní je však pre morčatá veľmi nízka 5–20 mg/kg (Ferenčík 1967). Histamín sa okrem toho nachádza v toxických vzorkách vždy aspoň v 10násobnej koncentrácii ako ostatné amíny, z čoho je zrejmé, že musí mať rozhodujúci podiel na celkovej toxicite. Toxicita vyššie uvedených amínov v rôznych kombináciách s histamínom nebola ani v jednom prípade vyššia ako toxicita samotného histamínu.

III. Závislosť medzi obsahom histamínu v mäse tuniaka a jeho toxicitou

Počet vyš. vz.	% z celého súboru	Konc. histamínu v mg%	Toxicita pre človeka	Toxicita pre morča	Mg histamínu podané v extrakte na kg ž. v.
24	9,6	204—1140	+	+	5,1—28,5
3	1,2	312—541	—	+	7,8—13,5
4	1,6	113—165	—	—	2,8—4,1
219	87,6	0—112	—	—	0,0—2,8
250	100				

Pri sledovaní toxicity extraktov z mäsa tuniaka u morčiat (dostávali intra-peritoneálne extrakt úmerný 2,5 g mäsa) sme zistili, že táto je priamo úmerná koncentrácii histamínu (tab. III). Vo vzorkách mäsa, ktoré vyvolali alergické príznaky u konzumentov, sme našli 204 až 1140 mg% histamínu. Všetky tieto vzorky boli toxické i pre morčatá. Ostatné vzorky zo sledovaného súboru (226) obsahovali histamín v množstve 0—541 mg%. Z nich tri (1,2 %) boli toxické pre morčatá, avšak alergické príznaky u dobrovoľníkov sa po ich požití v dávke 100 g neobjavili. Vzorky, ktoré neboli toxické pre morčatá (223), sa dali do normálneho konzumu a ani v jednom prípade sa u konzumentov nezistili nepriaznivé príznaky.

Alergickým prejavom toxických vzoriek mäsa tuniaka u človeka i u morčiat sa dalo zabrániť antihistaminikami (Ferenčík a kol. 1961).

Na základe uvedených poznatkov navrhujeme, aby obsah histamínu v mäse tuniaka a prípadne aj iných morských rýb sa za predpokladu, že mäso je ináč nezávadné, hodnotil nasledovne:

0—100 mg% — mäso vyhovujúce.

101—300 mg% — mäso podmienene požívateľné, a to len po zriedení do výrobkov tepelne opracovaných. Výsledná koncentrácia nesmie prekročiť 100 mg%.

Nad 300 mg% — mäso nevhodné pre ľudský konzum.

Mäso s vyšším obsahom ako 1 % histamínu by sa nemalo priamo spracovávať ani na kafilerickú múčku, ale len po zriedení s mäsom bez histamínu aspoň v pomere 1 : 1. Múčka s takýmto vysokým obsahom histamínu by totiž mohla vyvolať nepriaznivé príznaky u pracovníkov pri manipulácii a taktiež negatívne ovplyvniť zdravie, úžitkovosť a znášku napríklad u hydiny (Shifrine a kol. 1959).

Navrhované hodnoty by mohli platiť i pre mäso pelamídy a sleďa. Nezistili sme síce prípady intoxikácie po ich konzume, avšak pri kontrolovanom priebehu mikrobiálneho rozkladu svalových bielkovín sme dokázali vznik vysokých koncentrácií histamínu aj v mäse týchto druhov rýb.

I keď mäso s obsahom 100—200 mg% histamínu nevyvolalo ani v jednom z nami pozorovaných prípadov alergické príznaky, považujeme už hodnotu 100 mg% za najvyššie prístupnú, a to jednak pre značnú šírku individuálnej toxickej dávky pre človeka a jednak pre rozdielne množstvá histamínu, ktoré sa môžu nachádzať v rôznych častiach už i jednej porcie mäsa (niekedy viac ako ± 50 %).

K obdobným uzáverom prišli aj niektorí iní autori. Tak napríklad podľa Boyera a kol. (1956) a Sapin-Jaloustra (1957) mäso s obsahom 100—150 mg% histamínu vyvolá u niektorých jedincov ľahšie intoxikácie, kým pri obsahu 150—400 mg% objavujú sa už ťažšie príznaky. Rovnako podľa Kimatu (1961) pri posudzovaní hygienickej nezávadnosti mäsa rýb kritickou je koncentrácia 100 mg% histamínu.

Stanovenie histamínu v extraktoch z mäsa je možné robiť len po jeho predchádzajúcej izolácii (papierová elektroforéza, chromatografia na papieri, na tenkých vrstvách, iónomeniče apod.). Priame kolorimetrické alebo biologické stanovenie na izolovaných orgánoch laboratórnych zvierat dáva značne skreslené výsledky.

Pri vyvolaní intoxikácie spôsobenej vysokým obsahom histamínu (nad 100 mg%) v rybacom mäse spolupôsobí u človeka viac faktorov:

1. Aktivita detoxikačných mechanizmov (diaminooxidáza, prípadne metylačný systém, konjugácia s ribózou a s glukurónovou kyselinou, prítomnosť

aktivátorov a inhibítorov enzýmov zapojených do týchto degradačných systémov).

2. Rezorpčné podmienky (stav sliznice intestinálneho traktu).

3. Prítomnosť uvoľňovačov (liberátorov) histamínu a s tým spojený účinok histamínu uvoľneného z biologicky neaktívnej viazanej formy.

4. Aktivita tkanivovej histidín dekarboxylázy (prípadne dekarboxylázy aromatických aminokyselín) a z toho vyplývajúce pôsobenie indukovaného histamínu. Tu treba uvažovať aj aktivitu systémov pôsobiacich represoricky na syntézu indukovaného histamínu (glukokortikosteroidy).

5. Celkový stav organizmu a individuálna vnímavosť (predchádzajúca senzibilizácia, alergické choroby apod.).

Exogénny histamín (z potravy a z činnosti intestinálnych mikroorganizmov) je v prevažnej miere detoxikovaný už v žalúdočnej sliznici, a to hlavne pôsobením diaminooxidázy. Poškodenie stien intestinálnej sliznice a teda zníženie počtu buniek s aktívnou diaminooxidázou, ako aj s tým súvisiaca zmena rezorpčných podmienok, zapríčiní zvýšenie toxicity. Obdobný účinok má aj prítomnosť inhibítorov tohoto enzýmu.

Okrem exogénneho môže pri ichtyotoxikózach spolupôbiť aj histamín uvoľnený zo žírnych buniek („mast cells“) a z buniek, ktoré ho obsahujú v aktívne viazanej forme (uvoľňuje sa pri cholinergickej stimulácii). Toto uvoľnenie okrem rôznych fyzikálnych činiteľov môžu spôsobiť tiež chemické uvoľňovači, ku ktorým, vedľa iných látok, patria aj diamíny, ktorých prítomnosť sme v toxických vzorkách rybieho mäsa často zisťovali. Účinok takto uvoľneného histamínu je veľmi prudký. Podobá sa injekcii čistého histamínu a môže byť eliminovaný antihistaminikami.

Na tkanivovú histidín dekarboxylázu pôsobia aktívne okrem iných aj rôzne stressové faktory. Za jej pomoci syntetizuje sa indukovaný histamín. Tento tretí zdroj histamínu je najnebezpečnejší, lebo nie je ovplyvniteľný antihistaminikami. Opačný účinok ako indukovaný histamín majú glukokortikoidy.

Z týchto vzťahov je zrejmé, že konkrétny priebeh intoxikácie u človeka po požití rybieho mäsa s vysokým obsahom histamínu je treba posudzovať veľmi komplexne. Podľa našich skúseností však mäso s nižším obsahom ako 100 mg % histamínu nevyvolá ešte u konzumentov nepriaznivé príznaky alergického charakteru.

Literatúra

- BAUMGARTNER L., MALÍK J., UHERKO J., 1961, Príspevok k problematike ochorenia po požití mäsa tuniaka. *Veterinářství*, 11 : 25.
- BOYER J., DEPIERRE F., TISSIER M., JACOB J., 1956, Intoxications histaminiques collectives par le thon. *Presse Méd.*, 64 : 1003.
- FERENČÍK M., 1962, Stanovenie histamínu a histidínu pomocou vysokovoltovej papierovej elektroforézy. *Chem. Listy*, 56 : 289.
- FERENČÍK M., 1967, Vznik histamínu a niektorých ďalších aminov s biologickým účinkom pri bakteriálnej dekarboxylácii aminokyselín. Kand. diz. práca, Bratislava.
- FERENČÍK M., 1969, Vznik histamínu pri bakteriálnej dekarboxylácii histidínu v mäse niektorých morských rýb. *J. Hyg. Epid. Microbiol. Immunol.*, — v tlači.
- FERENČÍK M., 1969, Dekarboxylázy aminokyselín. *Chem. Listy*, — v tlači.
- FERENČÍK M., 1968, Použitie vysokovoltovej elektroforézy na papieri pri hygienicko-zdravotnom hodnotení mäsa tuniaka a niektorých morských rýb. *Čs. Hyg.*, 13 : 508.

- FERENČÍK M., KRČMĚRY V., KRIŠKA J., 1961, Význam histamínu pri niektorých ichthyotoxikózach. *Vet. Časopis*, 10 : 182.
- FERENČÍK M., KRČMĚRY V., KRIŠKA J., 1961, Fish poisoning caused by histamine. *J. Hyg. Epid. Microbiol. Immunol.*, 5 : 341.
- FERENČÍK M., KRIŠKA J., KRČMĚRY V., 1961, Experimentálne štúdie ichthyotoxikóz z údeného tuniaka II. *Vet. Časopis*, 10 : 558.
- HAVELKA B., 1967, Význam baktérií z rodu *Hafnia* pri vzniku histamínu v mäse tuniaka. *Čs. Hyg.*, 12 : 343.
- HILLIG F., 1956, Volatile acids, succinic acid, and histamine as indices of decomposition in tuna. *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 39 : 773.
- KIMATA M., 1961, Fish as Food (Borgstrom, G. — editor) 1 : 329. Acad Press, New York — London.
- KRIŠKA J., FERENČÍK M., KRČMĚRY V., LIŠKA O., 1960, Experimentálne štúdie ichthyotoxikóz z údeného tuniaka I. *Čs. Hyg.*, 5 : 580.
- SAPIN — JALOUSTRE H. J., 1957, Une toxi-infection alimentaire peu connue: L'intoxication histaminique par le thon. *Concours Méd.*, 79 : 2705.
- SHIFRINE M., OUSTERHOUT L. E., GRAN G. R., VAUGHN R., 1959, Toxicity to chicks of histamine formed during microbial spoilage of tuna. *Appl. Microbiol.*, 7 : 45.
- SHIFRINE M., ADLER H. E., BURKHALTER A., 1963, Effect of histamine of egg production. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 113 : 479.
- WILLIAMS D. W., 1960, Histamine as a chemical index of decomposition in fish. *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 43 : 431.

Došlo dňa 22. 9. 1967

ФЕРЕНЧИК М. (Центральный государственный институт ветеринарии, Братислава, Чехословакия). Санитарно-медицинская оценка мяса тунца по содержанию гистамина. *Вет. мед. (Прага)* 14 (2) : 137-145, 1969.

При контроле процесса микробного разложения мяса тунца и некоторых других морских рыб у большинства образцов было доказано образование значительного количества гистамина. На основе этих наблюдений, биологических опытов на лабораторных животных, равно как и на основе обследования большого числа образцов безупречного и испорченного мяса, предлагается, чтобы мясо морских рыб с содержанием гистамина, не превышающим 100 мг% (при удовлетворительных прочих показателях) расценивалось как безупречное. Мясо с содержанием 100—300 мг% может быть условно годным для термически перерабатываемых продуктов. Финальная концентрация гистамина в этих продуктах, однако, ни в коем случае не должна превысить 100 мг%. В случае, если мясо содержит свыше 300 мг% гистамина, его следует считать для человеческого потребления негодным. Материал с концентрацией свыше 1000 мг% гистамина без разбавления недопустимо перерабатывать даже на утилизационную муку.

гистидин декарбоксилаза; эндогенный, экзогенный и индцированный гистамин; кадаверин; путресцин; тирамин; палимида; сельдь; треска

FERENČÍK M. (Central State Veterinary Institute, Bratislava). A Sanitary Evaluation of Tunny Meat on the Basis of the Histamine Content. *Vet. Med. (Praha)* 14 (2) : 137-145, 1969.

The checked course of the microbial decomposition of the meat of tunnies and of certain other sea fish revealed a considerable quantity of histamine in several samples. On the basis of this investigation, of biological experiments carried out with laboratory animals, and on the basis of an investigation of a larger number of samples of good and of faulty meat it has been suggested that the meat of sea fish with a histamine content of below 100 mg% (in the case of the other indices being satisfactory) should be considered as faultless. Meat with a content of from 100 to 300 mg% might be considered conditionally usable for heat-treated products. However, the resultant concentration of histamine must in no case exceed 100 mg%. If the meat contains more than 300 mg% of histamine, it must be considered unfit for human consumption. Material with a concentration of over 1000 mg% of hista-

mine should not be used without any risk even for processing into rendering plant meal.

histidine decarboxylase; endogenic, exogenic, and induced histamine; cadaverine; putrescine; tyramine; pelamid; herring; cod

FERENČÍK M. (Staatliche Zentralveterinärinstitut, Bratislava). *Hygienisch-gesundheitliche Bewertung des Thunfischfleisches auf Grund des Histamingehaltes*. Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 137-145, 1969.

Bei der Kontrolle des Verlaufes der mikrobiellen Zersetzung des Thunfischfleisches und des Fleisches einiger anderer Seefische wurde bei mehreren Proben die Bildung einer bedeutenden Histaminmenge nachgewiesen. Auf Grund dieser Befunde, biologischer Versuche mit Labortieren und Untersuchungen einer größeren Anzahl von Proben einwandfreien und mangelhaften Fleisches wird vorgeschlagen, Seefischfleisch mit einem geringeren Histamingehalt als 100 mg⁰/₀ (bei befriedigenden übrigen Kennwerten) als einwandfrei zu bewerten. Fleisch mit einem Gehalt von 100—300 mg⁰/₀ Histamin kann als bedingt genießbar für thermisch behandelte Fleischprodukte bezeichnet werden. Die resultierende Histaminkonzentration darf in diesen Produkten 100 mg⁰/₀ nicht überschreiten. Fleisch mit mehr als 300 mg⁰/₀ Histamin muß als für den menschlichen Konsum ungeeignet bewertet werden. Material mit einer höheren Histaminkonzentration als 1000 mg⁰/₀ sollte ohne Verdünnung nicht einmal zu Kaffleriefuttermehl verarbeitet werden.

Histidin-Dekarboxylase; endogenes, exogenes und induziertes Histamin; Kadaverin; Putreszin; Tyramin; Pelamide; Hering; Stockfisch

Adresa autora:

Ing. Miroslav Ferenčík, Katedra mikrobiologie a imunologie LF UK, Bratislava

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

The occurrence in Denmark of necrotizing enteritis in piglets caused by *Clostridium perfringens* type C. København, Statens veter. serumlaboratorium 1967. S. 1351 — 1359. obr. Meddelelser 452. (*Clostridium perfringens* typ C — selata — výzkum — Dánsko)

Werff G. D. van der

D 51.973/30

Bestrijding en therapie van rotkreupel bij schapen in Friesland. — Control and therapy of foot-rot in sheep in Friesland. Proefschrift — Rijksuniversiteit te Utrecht. Wageningen, Centrum voor landbouwpublikaties en landbouwdocumentaire 1968. 101 s. 12 obr. (Nekrobacilóza — ovce — ochrana a léčení — Holandsko — Friesland)

Dam A.

D 30.900/447

Intraperitoneal infection experiments on calves and mice with *Escherichia coli*. København, Statens veter. serumlaboratorium 1967. S. 531 — 535. tb. Meddelelser 447. (*Escherichia coli* — telata — infekce umělá — metody — intraperitoneální — výzkum — Dánsko)

Friis N. F.

D 30.900/442

Ornithosevirusinfektioner hos husdyr. København, Statens veter. serumlaboratorium 1967. S. 383 — 393. tb. Meddelelser 442. (Ornitóza — hospodářská zvířata — výzkum — Dánsko)

Friis N. F.

D 30.900/448

Occurrence of antibodies against agents of the ornithosis group in domestic animals in Denmark. Niels F. Friis. København, Statens veter. serumlaboratorium 1967. S. 572 — 577. tb. Meddelelser 448. (Virové protilátky — ornitóza — hospodářská zvířata — výzkum — Dánsko)

D 55.233/4/10

Multiplicación del virus aftoso en ovinos previamente irradiados. Buenos Aires, INTA 1967. 130 — 144 s. obr. tb. Revista de investigaciones agropecuarias. Serie 4. Patología animal. Vol. 4. No. 10. (Slintavka a kulhavka — virus — rozmnožování — záření radioaktivní — vliv — výzkum — ovce)

Estrade T. S., Aramburu M. S. de

D 55.233/4/8

Influencia del pH, de la temperatura y de diferentes conservadores en la actividad de la vacuna antiaftosa. Buenos Aires, INTA 1967. S. 116 — 122. Revista de investigaciones agropecuarias. Serie 4. Patología animal. Vol. 4., No. 8. (Vakcíny protislintavkové — účinnost — teplota — vliv — výzkum / Vakcíny protislintavkové — účinnost — pH — vliv — výzkum / Vakcíny protislintavkové — účinnost — konzervační přísady — vliv — výzkum — Argentina)

C 18.614/4

Parazity životných i rasteníj. Vyp. 1. Moskva, Nauka 1968. 249 s. obr. (Veterinární parazitologie — sborníky — SSSR)

C 18.576

Bjulleten' Vsesojuznogo instituta gelmintologii imeni K. I. Skrjabina. Moskva, n. vl. Vyp. 1. 1967. 130 s. tb. (Veterinární helmintologie — sborníky — SSSR / Moskva — Helmintologický ústav K. I. Skrjabina — sborníky)

Enig K., Hazra A. D.

C 18.321/98

K. Fried, J. Jantošovič

VSP, veterinárska fakulta, katedra klinickej diagnostiky a vnútorných chorôb I., Košice

FRIED K., JANTOŠOVIČ J. K röntgenodiagnostike črevných helmintóz u hydiny. Vet. Med. (Praha) 14 (2): 147-154, 1969.

Autori sa zaoberali štúdiom možností röntgenového znázornenia črevných helmintov, najmä askaridií a cestódov u hydiny. Hodnotiac pozorované röntgenové nálezy možno súhrnom povedať, že röntgenové vyšetrenie poskytuje aj u sliepok možnosť zistenia škrkaviek a pásomníc vo forme zväčša charakteristických vyjasnení, nie však ich presného počtu. Silueta pásomníc je (pre ich plochú formu) menej jasná ako u škrkaviek. Len nepatrné zárezy a segmentácia týchto helmintov sotva prichádzajú do úvahy ako rozlišovací znak.

hydina; röntgenodiagnostika; helmintózy

Jednou z metód, ktorá môže doplniť alebo spresniť diagnostiku askaridiózy, je röntgenové vyšetrenie. Toto sa v humánnej medicíne dosť zbežne používa. U domácich zvierat sa doposiaľ len zriedka robí u mäsožravcov a ošípaných (R a p i č — 1940, I l i j a š — 1958). O problematike röntgenodiagnostiky črevných verminóz hydiny nie sú nám z dostupnej literatúry známe žiadne skúsenosti. U hydiny prichádzajú v tomto smere do úvahy len dospelé askarídie a ténie, pretože malé a tenké formy červov, ako sú larvy askaridií, heterakídy a najmä kapilárie vzhľadom na svoje rozmery, najmä pokiaľ ide o hrúbku, pochopiteľne uniknú röntgenologickému podchytu.

Na možnosť röntgenového vyšetrenia črevných helmintov u ľudí poukázal po prvýkrát O. F r i t z v r. 1922, popisujúc defekt kontrastnej náplne podmienený prítomnosťou askaríd v črevnom trakte a v r. 1925 V i e t t i u ténii (cit. D i t t r i c h 1956). Askarídy môžu v oblasti zažívacej rúry u človeka vytvoriť dva typické obrazy (K o s t r a — 1954). V prvom prípade pozorovať charakteristické červovité defekty typickej dĺžky a hrúbky v báriovej náplni tenkého, menej často hrubého čreva. V ose týchto defektov vidno niekedy pruh báriovej hmoty uložennej v zažívacej rúre červa. Po postúpení báriovej zmesi zobrazujú sa askarídy, vďaka báriu, nachádzajúceho sa v zažívacej rúre červov a nalepenému na povrch ich tela ako pruhovité, prípadné až trojnásobne pruhovité čiary. V druhom prípade spôsobujú škrkavky v čreve tzv. *ileus verminosus*, t. j. typický obturačný ileus tenkého čreva. Askarídy na snímku robenom na tzv. hladinky vidno ako kĺbko červovitých tieňov v tympanickej črevnej klučke strácajúce sa pod hladinou v tenkom obsahu čreva. Autor pripomína, že verminózný ileus nie je vyvolávaný len obturáciou červami, ale i súčasne pridruženým spasmom steny tenkého čreva a že výška upchatia sa behom pozorovania môže meniť následkom transportu askaríd aborálnym smerom.

V žalúdku môžu byť škrkavky podľa B o r e š a (1958) len pri anacidite, v hrubom čreve sú už mrtvé a nedajú sa dokázať. Askarídy sa prejavujú pru-

hovitým vyjasnením ľahko špirálovite stočeným, 3–5 mm širokým a asi 30 cm dlhým, podľa Fritza (1924) 4–6 mm širokým a asi 12–18 cm dlhým. Toto vyjasnenie môže mať kontrastný pruh uprostred (útroby čreva naplnené kontrastnou látkou), alebo môžu byť lemované dvomi pruhmi (tangenciálne zachytený povrch s kontrastnou látkou). V plynovej bubline možno niekedy zistiť temnejší pruh, odpovedajúci telu škrkavky. Pokiaľ ide o diferenciálnu diagnostiku, uvádza autor tieto skúsenosti: 1. pásomnice sú dlhšie, vinú sa, stáčajú sa alebo ohybajú, 2. jasné pruhy medzi črevnými kľučkami naplnenými kontrastnou látkou odpovedajú hrúbke preložených stien a pri chronických zrástoch nedajú sa jednotlivé kľučky od seba oddeliť (škrkavky sú vždy špirálovite zahnuté), 3. posledná kľučka ilea pred vstupením do céka sa mnohokrát kontrahuje pozdĺžnymi svalovými vláknami a vytvára tým niekoľko pruhovitých vyjasnení vedľa seba. Podľa Dittricha (1956) nedá sa pásomnica u človeka napriek svojej dĺžke tak dobre rozpoznať ako škrkavka, a to v dôsledku svojej plochej formy. Pri projekcii úzkej strany pásomnice nemožno ju buď vôbec, alebo len veľmi ťažko kognoskovať ako takú vo forme defektu náplne. Preto röntgenový obraz pásomnice možno sledovať len v niekoľkých črevných kľučkách, v ktorých sa dá vyšetriť po šírke. Ako dobrý poznávací znak môžu slúžiť zárezy medzi jednotlivými proglottidami.

Podľa Boreka a kol. (1955) môžu sa askarídy v tenkom čreve na snímku prejaviť po frakciovaní náplni ako pretiahly pruhovitý defekt v náplni kľučiek tenkého čreva, inokedy možno nájsť až po vyprázdnení kľučiek sytý prúžkovitý tieň, ktorý odpovedá kontrastnej náplni tráviacej rúry škrkaviek. Osobitný nález askaríd v choledochu človeka zistili Gasparini a Meneghini (1954) náhodne pri refluxe bária z čreva do žľových ciest cez Oddiho sfinkter, ktorého funkcia bola porušená prítomnosťou malého divertikulu vedľa Vaterovej papily. Polan (1956) popísal u dospeléj ženy nález škrkaviek v žalúdku. Pri vyšetrovaní s málo náplňou sa nezisťuje nič pozoruhodného. Pri väčšej náplni badať neurčité mrštné sa pohybujúce tieň, ktoré sa odmeranou kompresiou pomocou dinštriktoru dajú fixovať. Parazity menili svoju polohu i podobu. Niekedy boli stočené do špirálovitej kľučky, inokedy sa celkom vyrovnali a zapadali do slizničných rias, takže sa zdanlivo stratili. Chýbanie vyslovených a pravidelných pozdĺžnych rias v tenkom čreve chráni pred zámenou červov so slizničnými riasami ako je to možné v žalúdku, kam škrkavky tiež niekedy zabľúdia. Šnejdaris (1957) zistil u človeka tiež kľbko askaríd. Škrkavky je možné zistiť aj v hypofarynxu a ezofagu i v dýchacích cestách (*trachea*), čo je pravdaže zriedkavé, pretože v horných žiľvacích cestách parazity sotva zotrvávajú dlhší čas a na druhej strane sa vypudzuju silnými dávivými pohybmi (Fritz 1924). Parazitické červy v tenkom čreve (predovšetkým askarídy) ako pravidelný nález u obyvateľov Afganistanu pozorovali Sehr a Vyhnanek (1963) pri kontrastnej náplni a niekedy i na natívnom skiagrame.

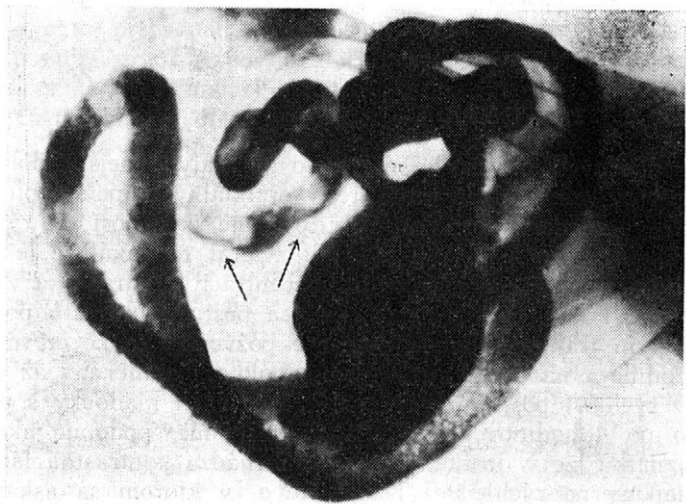
Veterinárne-medicínska literatúra je v tomto smere pomerne chudobná. Röntgenodiagnostikou intestiálnych červov, najmä škrkaviek a pásomníc, u mäsožravcov sa zaoberal Rapič (1940) s pozoruhodnými výsledkami. Pritom podával psovi 100–150 ml a mačke 50–100 ml báriumu sulfátu na lačný žalúdok. U týchto zvierat mohol z cestódov u psa zistiť *Dipylidium caninum* a *Taenia pisiformis* a u mačky *Taenia taeniaeformis* (táto pásomnica ako jediná ukazuje v röntgenovom obraze kontrakčné pohyby). Röntgenovým vyšetrením možno dokázať askarídy v tenkom čreve podľa Ilijaša (1958) s istotou. Hlavným symptómom je tu prítomnosť charakteristickej siluety

so zreteľnými kontúrami, podmienenej parazitmi na tmavom homogennom pozadí kontrastu. Röntgenodiagnostiku pri spirocerkóze aorty u psa po prvýkrát s úspechom použil Koševoj (1930). Krasnoperov (1943) ukázal na možnosť použitia röntgenu pri onchocerkóze v prípade zväpenatenia tkanív. Jakuškin študoval röntgenologicky niektoré pľúcne helmintózy u oviec (cit. Petrov a Gagarin — 1953). U vodnej hydiny nebola röntgenodiagnostika črevných helmintóz (aspoň usudzujúc podľa dostupných literárnych prameňov) vôbec rozpracovaná.

MATERIÁL A METODIKA

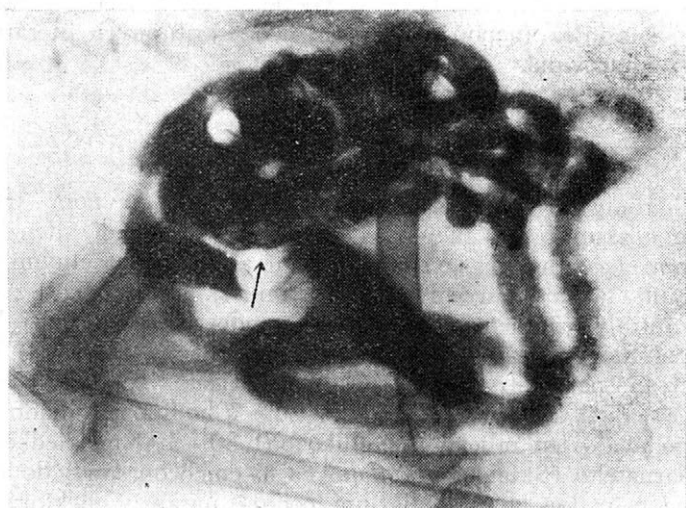
Možnosti röntgenového znázornenia askardií v črevnom trakte sliepok študovali sme u skupiny 30 sliepok, 1—2-ročných, v rôznej intenzite napadnutých škarkavkami (ojedinelými, resp. viacerými až veľmi početnými exemplármi, a to ako larvami, tak aj imágami). Po vyšetrení skiagrafiou boli zvieratá zabitú za účelom kontroly röntgenového obrazu s pitevným nálezom. Vyšetrovanie sme urobili polvlnovým skiagrafickým aparátom značky Movex (Chirana n. p., Praha). Používané parametry: 60 kV, 50 mA, 0,1 sek; vzdialenosť fokusu 60 cm. Vyšetrované zvieratá dostali na lačno po 24—30hodinovej hladovke (v tejto dobe sa im podávalo len mlieko a s glukózou) 80—100 ml riedkej kontrastnej kaše síranu barnatého (Skiabarium Spofa), a to pomocou sondy do hrvola. V prevažnej väčšine prípadov bolo skiabarium podané naraz, v niektorých prípadoch frakcionovane (v dvoch dávkach po 40 ml v zriedení 1:1). Pri frakcionovaní prešiel kontrast síce do kloaky pomerne rýchlo (už asi po 1½hodiny), spôsoboval však len nedostatočné plnenie črevného lumenu, čo znemožňuje alebo sťažuje diagnostické hodnotenie. Spočiatku (u prvej poloviny súboru sliepok) bolo Skiabarium zriedované vodou *ana partes*, neskôr v pomere 1:2, čo sa nám zdá byť výhodnejšie.

Röntgenografické vyšetrenie za použitia zosilovacích fólií bolo robené v bočnej polohe. Prvé vyšetrenie sa dialo asi po hodine od aplikácie bária, ďalšie



1. Hadovité zvlenné defekty kontrastnej náplne v slučke tenkého čreva

podľa rýchlosti jeho pasáže. Keď bolo treba, bolo urobených viacero snímkov (najmenej 2 od každej sličky). Pretože pri značnej náplni čreva kontrastnou látkou možno askariódiu, zvl. ak sú ojedinelé, prehliadnúť, používali sme u viacerých zvierat kompresiu abdomenu pomocou pásu gázy.



2. Sväzok červov vytvárajúci spleť pásikovitých vyjasnení

Za účelom zistenia, či aj škrkavky hydiny sú schopné vytvárať tieň črevného traktu po vstrebaní kontrastnej látky, ako je tomu u ľudských askariíd, vybrali sme viacero najväčších exemplárov škrkaviek a vložili na niekoľko hodín do teplého fyziologického roztoku s prímесou skiabaria v pomere 1 : 2 a potom škrkavky röntgenovali s negatívnym výsledkom. Konečne nás zaujímala aj otázka, aké najmenšie škrkavky možno röntgenologicky ešte zachytiť. Touto problematikou sa ešte zaoberáme.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

I. V predbežných pokusoch sme zisťovali najvhodnejšiu dobu skiagrafie. Zistenie helmintov predpokladá totiž určitý optimálny stupeň náplne čreva kontrastom a jeho rovnomernú hrúbku. Potvrdili sme skúsenosť, že rýchlosť pasáže kontrastnej látky črevom nie je u rôznych zvierat rovnaká, že je značne individuálna. Závisí na dĺžke hladovky a koncentrácii kontrastu a zdá sa, že aj na teplote zmesi. Podľa našich zistení dial sa postup kontrastu po 24hodinovej hladovke črevným traktom slipek pomerne pozvoľné: tenké črevo sa naplňalo asi po 2½ hodine a na dosiahnutie kloaky bolo treba niekedy až 8—10 hodín. Porovnávajúc rýchlosť postupu bária po 24 hodinách hladovky s postupom bária podaného po 48hodinovej hladovke dospeli sme, podobne ako Bundža (1960) k poznatku, že v druhom prípade prechádza kontrastná látka cez črevo do kloaky nepomerne rýchlejšie. Tenké črevo, v ktorom sa askariódiu najviac vyskytujú, sa naplňuje asi po 1—2 hodinách. Podľa Stiftera (1923), Kráľ a Šobru (1926) dostane sa kontrast do svalnatého žalúdka po 30 mi-

nútach, do duodéna po 45 minútach a 2 hodiny po aplikácii nastáva odchod prvých častíc kontrastu trusom. Po 4 hodinách vidieť v tenkom a hrubom čreve len zvyšky kontrastu. B u n d ž a (1960) udáva po 24hodinovej hladovke tieto hodnoty postupu: do svalnatého žalúdka po 15–50 min., do duodéna po 15 min. až 1 hod. 40 min., do jejúna 25 min. až 1 hod. 40 min., do hrubého čрева 1 hod. 20 min. až 4 hod. 25 min., do kloaky 1 hod. 25 min. až 5 hod. 55 min.

Prvé vyšetrenie u človeka po podaní kontrastnej hmoty robí D i t t r i c h (1956) po 30–60 minútach; po tejto dobe je už veľká časť tenkého čрева súvisle naplnená, záverečnú kontrolu robí asi 3 hodiny po podaní kontrastnej hmoty, keď aj zadná časť tenkého čрева je naplnená. Podľa F r i t z a (1924) najpriaznivejšou dobou na pozorovanie žalúdka a horných úsekov tenkého čрева u človeka je až asi 1–1½ hod. po podaní kontrastu, pretože potriesnenie čрева kontrastom je rovnomerné. U sliepok sme snímky robili pri 24hodinovej hladovke v období medzi 2½ až 3½ hodiny po aplikácii bária a pri 48hodinovej hladovke medzi 1. až 2. hodinou.

II. Röntgenový obraz askaridióznei invázie u sliepok býva zväčša charakteristický, takže stanovenie diagnózy nerobí zväčša obťaž. Röntgenologická diagnostika je tu totiž pomerne jednoduchá: škarkavky odpovedne svojmu vonkajšiemu tvaru zatláčajú kontrastnú látku v gastro-enterálnom lumene a tým vytvárajú typické defekty náplne. Tieto defekty mávajú rôznu formu: formu viac alebo menej rovných povrazcov, ale aj oblúku, prípadne eliptických formácií. Na oboch koncoch sa zužujú, čo však nie je vždy postrehnuteľné. Veľkosť, tvar, zčasti aj dĺžka defektov náplne závisí pochopiteľne od morfológických vlastností červov a ich uloženie v črevnom lumene. Škarkavky sú v čreve uložené nezriedka v hadovitej a tiež slučkovitej forme a vykazujú viac-menej hladké a pritom pomerne zreteľné kontúry. Takéto povrázkovité tieňové defekty môžu sa aj u hydiny považovať za typické pre prítomnosť askaridií v črevnom lumene.

Pomerne často sa objavuje viacero (2–3 i viac) takýchto paralelne prebiehajúcich defektov, vytvárajúcich pásikovitý obraz reliéfu tenkého čрева (analogicky ľudským nálezom), čo vzniká zrejme tak, že tesne vedľa seba leží niekoľko alebo viacero červov, ktoré sú oddelené úzkou vrstvou kontrastnej hmoty. V takýchto prípadoch vyplňuje totiž báriová kontrastná látka, ktorá adheruje na povrch červov a povlieka ich pláštom kontrastu nepatrnej hrúbky, skulinu, ktorá sa nachádza medzi susednými škarkavkami. W i g a n d (1944, cit. Fischer) aj experimentálne dokázal, že tieto tieňové pásiky sú zapríčinené kontrastnou látkou, ktorá vyplňuje úzky priestor medzi škarkavkami, uloženými vedľa seba, podobne ako je tomu pri normálnom reliéfe žaludkovej sliznice, kde pásiky kontrastu odpovedajú riasam sliznice, vyplneným kontrastnou látkou, zatiaľ čo na vrchole slizničných klkov kontrastná látka chýba.

Pri hromadnom výskyte askarid v čreve človeka pozorovaný pásikovitý obraz nedá sa podľa F i s c h e r a (1947) vysvetliť len pásikovitým povlakom kontrastnej kaše v rýhach medzi červami uloženými vedľa seba, ale zčasti i črevom červov, naplnených kontrastnou látkou. Niekedy totiž vidieť vedľa seba pozitívne aj negatívne znázornenie súčasne, keď v tieňovom defekte červa je zistiteľný nitkovitý tieň jeho čрева.

Takýto pásikovitý tieň bol po prvýkrát popísaný v r. 1924 (F r i t z) a neskôr r. 1930 (A r c h e r a P e t e r s e n). Podľa názoru väčšiny autorov je vyvolaný kontrastnou náplňou čрева. Z y l k a (1951) dal na overenie tohoto tvrdenia živé ľudské askaridy do teplého kúpeľa s fyziologickým roztokom, ktorý

obsahoval i riedku báriovú kašu. Po viac hodinách škrkavky dobre prepral a nato skiagrafoval. Zistil, že sa v čreve škrkaviek skutočne bárium nachádzalo a potvrdil tým požíranie kontrastnej látky červami.

Črevo červa sa začína plniť už 30 min. po aplikácii kontrastnej látky (Garsche — 1948). Spočiatku spozorovať medzery v kontrastnej náplni čreva, čím sa skýta obraz ruženca. Behom ďalších 30 min. sa ružencovité útvary spájajú do súvislého pásikovitého tieňa, ktorý zostáva viditeľný rôzne dlho: podľa niektorých 3—4 hodiny, podľa iných viac ako 2 dni. Dittrich (1956) pozoroval v jednom prípade až 4 dni. Wigand (1944) však odmietol tvrdenie, že by pásikovitý obraz pri početných škrkavkách ležiacich vedľa seba mohol byť zapríčinený pásikovitým znázornením kontrastu čreva škrkavky, naplneného báriom. Negatívne znázornenie škrkaviek je možné len pomerne krátku dobu a pozitívne znázornenie zotrváva skoro vždy hodiny. Podľa skúseností je negatívne znázornenie omnoho istejšie, kým pozitívne závisí viac-menej od náhody už aj preto, že prijímanie kontrastu červom sa nedeje vždy u všetkých červov, pritom nevedno prečo (Dittrich). Pozitívne znázornenie askaríd sa vzhľadom na malosť parazitov u mäsožravcov podľa Rapicha (1940) neprejavuje. Ani my sme čo len v jednom prípade nevideli takýto tieň, čo konečne i vzhľadom na veľkosť črevného lumenu parazita ani nie je očakávateľné. Ani pri pokusnom overovaní tohoto prípadného javu sme nezistili, že by vtácie škrkavky (*Ascaridia lineata*) vytvárali takýto zistiteľný tieň.

Nahromadením husto zbalených škrkaviek, upchávajúcich črevný lumen vzniká askaridiózný ileus. Pri obturačnom ileu človeka následkom upchatia čreva kĺbkom červov sa všeobecne askarídy nerozoznajú (Dittrich — 1956). Ako príčina ileu (pri masovej invázii) býva konglomerát škrkaviek s patričnými okklúznymi symptómami len pomerne zriedkavý. V takomto prípade stojí v popredí dráždivý účinok parazitov na črevo hostiteľa, ktorý môže viesť k spastickým kontrakciám črevnej steny, a tým k subileickému obrazu (Fischer — 1947). Obdobné pomery sme pozorovali aj u hydiny.

Askarídie v žalúdku sa nám nepodarilo zistiť, zrejme preto, že veľká masa bária obalujúca škrkavky to nedovoľovala.

Röntgenografia je u človeka podľa Minteera (1954) najlepšou metódou na zistenie väčšiny askaríd v tenkom čreve. Vyšetrenie stolice je podľa autora na zisťovanie škrkaviek menej spoľahlivou metódou ako röntgenologické vyšetrenie črevného traktu. Nutno pravda konštatovať, že drobné formy červov, ako sú larvy askarídií a heterakíd nemožno röntgenom zistiť, pretože ich dimenzie nedovoľujú ich zobrazenie na röntgenovom snímku. Aj určité dospelé jedince môžu za okolností uniknúť zisteniu. Zatiaľ čo Ilijaš (1958) tvrdí, že u ošipanej možno zistiť askarídy aj pokiaľ ide o ich počet, u sliepok však podľa našich pozorovaní nemožno presne určiť stupeň invázie röntgenologickou metódou.

Ako dobrý spoznávací znak pásomníc môžu slúžiť zárezy medzi jednotlivými proglottidami, na ktoré poukazuje Dittrich (1956) u človeka a Rapich (1940) u mäsožravcov. U hydiny to podľa našich pozorovaní nepríde do úvahy pre malosť zárezov.

Na znázornenie askaríd podávajú ľuďom frakcionovane menšie dávky báriovej zmesi a opakovane kontrolujú pasáž kontrastnej látky (Boreš — 1947, Kostra — 1954, Borek a kol. — 1955). Frakcionaná náplň menšieho množstva bária podaného *per os* sa u hydiny, ako sa zdá, menej osvedčuje. U ľudí odtlačujú črevné kľúčky od seba distinktorom podľa Holzknechta alebo robia ľahkú kompresiu tubusom, zvl. pri pozitívnom znázorňovaní askaríd

(Fritz — 1924, Fischer — 1947 a Dittrich — 1956). Pomocou tlaku sa kontrast v čreve rozťahuje na rovnomerne tenkú vrstvu, čím sa získavajú jasnejšie obrazy. Ak v jednotlivých črevných slučkách sa nachádzajú 1—3 červy, je aj u mäsožravcov (Rapič — 1940) nutné komprimovať črevné klučky distinktorom, aby sa zbytočne kontrast, ktorý pokrýva a zatieňuje jasné siluety parazitov, zatlačil do susedných črevných slučiek. Ak sú však v čreve prítomné celé zväzky parazitov, dajú sa tieto zistiť aj bez kompresie.

Ukazuje sa, obdobne ako u človeka (Fritz — 1924), že u hydiny je ľahšie zistiť askariádie v slučkách predného úseku tenkého čreva, pretože tu kontrastná látka pomerne rýchlo prechádza bez toho, aby sa nahromadila ako hustý výlev v črevnom lumene. V zadných úsekoch tenkého čreva nie sú už tak priaznivé pomery preto, že preloženie susednými slučkami a zväčša kompaktná náplň čreva prekáža dôkazu červov.

Znázornenie reliéfu čreva býva nezriedka značne sťažené napr. vzájomným prekrývaním črevným slučiek bohatou náplňou črevného lumenu báriom apod. Solitárne škarkavky i skupina viacerých škarkaviek, ale práve tak aj ich zhhluk, môžu ujsť röntgenovému zisteniu vtedy, ak 1. dotyčná črevná slučka je prekrytá inou slučkou, naplnenou kontrastnou látkou (tento prípad býva u sliepok pomerne častý), alebo ak 2. črevný lumen so škarkavkami je silne naplnený kontrastnou látkou (obalenie parazitov silnou vrstvou báriovej kaše a tým zastretie prítomnosti škarkaviek).

Literatúra

- AIKEN D. W., DICKMAN F. N., 1957, *J. amer. med. Assoc.*, 164 : 1317.
ARCHER, PETERSEN, 1930, *J. amer. med. Assoc.* 95 : 1819.
BOREK Z., FRIED K. a kol., 1955, Úvod do rentgenové diagnostiky. SZN Praha.
BOREŠ J., 1947, *Gastro-enterologia bohem.* 1 : 198.
BUNDŽA A., 1960, Dipl. práca VF Košice.
DITTRICH J. K., 1956, Probleme der Parasitologie. Akademie-Verlag Berlin.
FISCHER L., 1947, *Deutsche med. Wochenschrift* 262.
FRIED K., JANTOŠOVIČ J., 1961, *Helminthologia* 3 : 117.
FRITZ P., 1922, *Fortschr. Roentgstr.* 29 : 591.
FRITZ O., 1924, *Fortschr. Roentgstr.* 32 : 650.
GASPARINI, MENEGHINI, 1954, *Radiol. med.* 40 : 890.
ILIJAŠ B., 1958, *Vet. archiv* 28 : 327.
KOSTRA M., 1954, *Ped. listy* 9 : 348.
KRÁL F., ŠOBRA K., 1927, *Sborn. čsl. akademie zeměděl.* I, A, 18 : 641.
MINTEER D. W., 1954, *Am. J. Roentg.* 71 : 416.
PETROV A. M., GAGARIN V. G., 1953, Laboratornyje metody issledovaniya v veterinarii (I. diel). Selchoziz Moskva.
PALAN P., 1956, *Čsl. roentg.* 10 : 161.
RAPÍČ S., 1940, *Vet. archiv* 10 : 254.
SEHR A., VYHNÁLEK L., 1963, *Čsl. rentgenologia* 17 : 338.
ŠTEFFLOVÁ - LEISKÁ, 1957, *Čsl. parasitol.* 4 : 337.
STIFTER F., 1924, *Wiener tierärztl. Monatschrift* 10 : 531.
ŠNEJDERIS M. B., 1957, *Vestn. rent. radiol.* 32 : 28.
WIGAND, 1944, *Fortschr. Rtgstr.* 54 : 607.

Došlo dňa 9. 4. 1968

ФРИД К., ЯНТОШОВИЧ Я. (СХИ, Ветеринарный факультет, кафедра клинической диагностики и внутренних болезней, Кошице, Чехословакия). Рентгенодиагностика кишечных гельминтов у домашней птицы. Вет. мед. (Прага) 14 (2) : 147-154, 1969.

Авторы занимались изучением возможностей рентгеновского изображения кишечных гельминтов у домашней птицы, особенно аскарид и цестод. Оценивая рентгенограммы можно

В общем сказать, что рентгеновское изучение предоставляет также у кур возможность установления аскарид и ленточных червей в виде характерных проявлений, но не их точного количества. Силуэт ленточных червей (из-за их плоской формы) менее ясен, чем как у аскарид. Лишь незначительные врезки и сегментации этих гельминтов вряд ли можно считать отличительными признаками.

домашняя птица; рентгенодиагностика; гельминтозы

FRIED K., JANTOŠOVIČ J. (University of Agriculture, Faculty of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). *On the X-ray Diagnostics of Intestinal Helminthiases of Poultry*. Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 147-154, 1969.

The authors investigated the possibility of an X-ray illustration of intestinal helminths, particularly of ascarides and cestodes, in poultry. When evaluating the X-ray findings it may be said in conclusion that also in chicken X-ray investigation makes it possible to determine the presence of maw-worms and tapeworms mostly in the form of characteristic marks, but not their accurate number. The silhouette of tapeworms (because of their flat form) is less clear than is the case with maw-worms. The only insignificant segmentations of these helminths can hardly be used as a distinctive character.

poultry; X-ray diagnostics; helminthiases

FRIED K., JANTOŠOVIČ J. (Landw. Hochschule, Veterinärfakultät, Lehrstuhl für klinische Diagnostik und innere Krankheiten, Košice, Tschechoslowakei). *Zur Röntgendiagnostik intestinaler Helminthosen beim Geflügel*. Vet. Med. (Praha) 14 (2) : 147-154, 1969.

Die Verfasser studierten das Röntgenbild des Magendarmtraktes bei 30 verschieden-gradig invadierten Hühnern. Das Röntgenbild wurde nachher mit dem Obduktionsbefund konfrontiert. Die röntgenologische Untersuchung bietet auch beim Geflügel die Möglichkeit, die Spulwürmer und Bandwürmer in Form von meist charakteristischen Schattendefekten zu entdecken. Die genaue Anzahl der Würmer läßt sich aber auf diese Weise nicht feststellen. Die Silhouette der Bandwürmer ist (wohl wegen ihrer flachen Form) weniger deutlich als bei den Spulwürmern. Die nur winzigen Einkerbungen und die Segmentierung dieser Helminthen kommen als Unterscheidungsmerkmal kaum in Frage.

Geflügel; Röntgendiagnostik; Helminthosen

Adresa autorov:

Prof. MVDr. Karol Fried, MVDr. Ján Jantošovič, CSc., VŠP, veterinárska fakulta, katedra klinickej diagnostiky a vnútorných chorôb I., Košice, Komenského 71
Vedúci pracoviska: Prof. MVDr. Karol Fried

Dáno k tisku 29. 11. 1968

Podepsáno k tisku 28. 2. 1969

Pospíšil Z., Mesároš E., Štěpánek J.: Patomorfologický náález na zažívadlech u virové gastroenteritidy přirozeně a experimentálně infikovaných selat	81
Černovský J., Kubín M.: Endemické ložisko nonchromogenních mykobakterií u prasat	89
Baštář M., Král J.: Příprava a prověření specifického polyvalentního aglutinačního séra k rychlé identifikaci kultur listerií	95
Prokúpek K.: Penicilinový perlový test v diferenciální diagnostice <i>Bacillus anthracis</i> a <i>Bacillus cereus</i>	103
Kouba V.: Prevalence brucelózy skotu v Československu	113
Koudela K., Sova Z., Hofman J.: Aktivita aminotransferáz asparagátu (SGOT) (2.6.1.1) a alaninu (SGPT) (2.6.1.2) v krevním séru kuřat v prvním měsíci života	123
Horáková V., Tománek J.: Výskyt bakteriémie u kura domácího po ozáření X-paprsky LD ₅₀	129
Ferenčík M.: Hygienicko zdravotné hodnotenie mäsa z tuniaka na základe obsahu histamínu	137
Fried K., Jantošovič J.: K röntgenodiagnostike črevných helmintóz u hydiny	147

СОДЕРЖАНИЕ

Поспишил З., Месарош Е., Штепанек Я.: Патоморфологический диагноз в пищеварительном аппарате при вирусном воспалении желудка и кишок у естественно и экспериментально зараженных поросят	87
Черновски Я., Кубин М.: Эндемический очаг нехромогенных микобактерий у свиней	94
Баштарж М., Крал Я.: Изготовление и проверка специфической многовалентной агглютинативной сыворотки для быстрой идентификации культур листерий	102
Прокупец К.: Пенициллиновый жемчужный тест в дифференциальной диагностике <i>Bacillus anthracis</i> и <i>Bacillus cereus</i>	111
Коуба В.: Преобладание бруцеллеза крупного рогатого скота в Чехословакии	122
Коудела К., Сова З., Гофман Я.: Активность аминотрансфераз аспарагата (SGOT) (2.6.1.1) и аланина (SGPT) (2.6.1.2) в кровяной сыворотке цыплят на первом месяце их жизни	127
Горакова В., Томанек Я.: Появление бактериемии у домашней птицы после облучения X-лучения LD ₅₀	135
Ференчик М.: Санитарно-медицинская оценка мяса тунца по содержанию гистамина	144
Фрид К., Янтошович Я.: Рентгенодиагностика кишечных гельминтов у домашней птицы	153

CONTENT

Pospíšil Z., Mesároš E., Štěpánek J.: Pathomorphological Findings in the Alimentary Tract of Piglets Naturally and Experimentally Infected with Transmissible Gastroenteritis	87
Černovský J., Kubín M.: An Endemic Deposit of Nonchromogenic Mycobacteria in Pigs	94
Baštář M., Král J.: Preparation and Checking of a Specific Polyvalent Agglutination Serum for a Rapid Identification of Listeria Cultures	102
Prokúpek K.: The Penicillin Pearl Test in the Differential Diagnosis of <i>Bacillus anthracis</i> and <i>Bacillus cereus</i>	111
Kouba V.: The Prevalence of Brucellosis of Cattle in Czechoslovakia	122
Koudela K., Sova Z., Hofman J.: The Activity of the Aminotransferases of Asparagat (SGOT) (2.6.1.1) and Alanine (SGPT) (2.6.1.2) in the Blood Serum of Chickens in the First Month of Life	128
Horáková V., Tománek J.: The Occurrence of Bacteremia in Domestic Fowl after Irradiation With X-rays LD ₅₀	136
Ferenčík M.: A Sanitary Evaluation of Tunny Meat on the Basis of the Histamine Content	144
Fried K., Jantošovič J.: On the X-ray Diagnostics of Intestinal Helminthiases of Poultry	154

INHALT

Pospíšil Z., Mesároš E., Štěpánek J.: Pathomorphologischer Befund in den Verdauungsorganen bei Virusgastroenteritis von natürlich und experimentell infizierten Ferkeln	88
Černovský J., Kubín M.: Endemische Herde der nonchromogenen Mykobakterien bei Schweinen	94
Baštář M., Král J.: Herstellung und Überprüfung des spezifischen, polyvalenten Agglutinationsserums zur schnellen Identifikation von Listerellenkulturen	102
Prokůpek K.: Penicillin-Perlttest in der Differentialdiagnostik von <i>Bacillus anthracis</i> und <i>Bacillus cereus</i>	112
Kouba V.: Rinderbrucellose - Prävalenz in der Tschechoslowakei	122
Koudela K., Sova Z., Hofman J.: Aktivität der Aminotransferasen des Asparagats (SGOT) (2.6.1.1) und des Alanins (SGPT) (2.6.1.2) im Blutplasma von Küken im ersten Lebensmonat	128
Horáková V., Tománek J.: Vorkommen der Bakteriämie beim Haushuhn nach Bestrahlung mit X-Strahlen LD ₅₀	136
Ferenčík M.: Hygienisch-gesundheitliche Bewertung des Thunfischfleisches auf Grund des Histamingehaltes	145
Fried K., Jantošovič J.: Zur Röntgendiagnostik intestinaler Helminthosen beim Geflügel	154

TABLE DES MATIÈRES

Pospíšil Z., Mesároš E., Štěpánek J.: Constatacion pathomorphologique sur le tube digestif de la gastroentérite virale chez les veaux infectés naturellement et expérimentalement (res. An/87, Al/88)	
Černovský J., Kubín M.: Foyer endémique des mycobactéries non chromogènes chez les porcs (res. An, Al/94)	
Baštář M., Král J.: Préparation et vérification du sérum spécifique polyvalent d'agglutination pour l'identification rapide des cultures de listerelles (res. An, Al/102)	
Prokůpek K.: Test perlé de pénicilline dans le diagnostic différentiel de <i>Bacillus anthracis</i> et de <i>Bacillus cereus</i> (res. An/111, Al/112)	
Kouba V.: Prépondérance de la brucellose bovine en Tchécoslovaquie (res. An, Al/122)	
Koudela K., Sova Z., Hofman J.: Activité des aminotransférase d'asparagine (SGOT) (2.6.1.1) et d'alanine (SGPT) (2.6.1.2) dans le sérum sanguin des poussins dans le premier mois de la vie (res. An, Al/128)	
Horáková V., Tománek J.: Apparition de la bactériémie chez les gallinacés domestiques à la suite de l'irradiation par les rayons X LD ₅₀ (res. An, Al/136)	
Ferenčík M.: Evaluation hygiénique et sanitaire de la viande de thon sur la base de la teneur en histamine (res. An/144, Al/145)	
Fried K., Jantošovič J.: Radiodiagnostic des helminthoses intestinales de la volaille (res. An, Al/154)	

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS - ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, Legerova 22, Praha 2.