

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

ROČNÍK 20 (XLVIII)
PRAHA
DUBEN 1975
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

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., MVDr.
Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., doc.
MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., MVDr. Jaromír Lát, CSc.,
MVDr. Andrej Mačička, CSc., doc. MVDr. Ladislav Polák,
CSc., MVDr. Jiří Srna, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1975

■
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje stu-
die, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech vý-
zkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědecko-
technických informací. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56
Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné
Kčs 120,-.

■
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обо-
ры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по науч-
ному исследованию в области ветеринарии. Издает Институт
научно-технической информации. Выход в свет ежемесячно.
Редакция 120 56 Прага 2, Слезска 7.

■
The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes
studies, analyses and scientific treatises about the solved
research tasks in the line of the veterinary medicine. Pu-
blished by the Institute of Scientific and Technical Inform-
ation. Issued monthly. Editorial office 120 56 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 von Institut
für wissenschaftlich-technische Informationen. Erscheint mo-
natlich. Redaktion 120 56 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. Publie par l'Institut des Informations Scienti-
ques et Techniques. Paraît une fois par mois. Rédaction
120 56 Prague 2, Slezská 7.

OVĚŘENÍ BAKTERICIDNÍ ÚČINNOSTI JODOFORU A V PAVILÓNECH VÝKRMNY PRASAT

K. Kubíček

Vysoká škola veterinární, Brno

KUBÍČEK K. *Ověření baktericidní účinnosti Jodoforu A v pavilónech výkrmny prasat.* Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 185-192, 1975.

V pavilónech výkrmny prasat byla ověřována baktericidní účinnost studených vodných roztoků Jodoforu A československé výroby a Iosanu, výrobku firmy Ciba-Geigy, a byla srovnávána s účinností chloraminu B použitého ve 2% vodném roztoku 50 až 60 °C teplém. Roztoky byly nanášeny jemným postřikem v množství 0,5 l na 1 m² plochy. Po jedné hodině byl postřik opakován stejným množstvím roztoku. Za hodinu po posledním postřiku jodoforu a za dvě hodiny po posledním postřiku chloraminem B byly z dezinfikovaných ploch odebírány stěry. Vyšetření bylo zaměřeno na průkaz koliformních zárodků, zárodků čeledi *Micrococcaceae* a na stanovení celkového počtu zárodků. Ve čtyřech samostatných pokusech byly celkem vyšetřeny 384 stěry. Roztokem Jodoforu A aplikovaným ve 2% koncentraci po mechanické očištění průměrné kvality nebylo ve srovnání s roztokem chloraminu B dosaženo přijatelných výsledků. Teprve po použití 3% roztoků Jodoforu A i Iosanu byly po dokonalé mechanické očištění dosaženy, s výjimkou omítky a natřeného dřeva, v porovnání s roztokem chloraminu B výsledky přijatelné. Byla zjištěna lepší dezinfikovatelnost hliníkového plechu, kameniny, betonu a kovu proti omítkě a natřenému dřevu. Ze srovnání Jodoforu A se zahraničním Iosanem vyplývá, že ve všech ukazatelích má Jodofor A stejný nebo lepší baktericidní účinek než Iosan. Jodofor A je pro svůj baktericidní účinek vhodným dezinfekčním prostředkem pro preventivní dezinfekci stájí. Aby však výsledky odpovídaly výsledkům při použití 2% roztoků chloraminu B, je nutné použít minimálně 3% koncentraci Jodoforu A. Dobrá mechanická očištění je základní podmínkou jeho účinnosti.

baktericidní účinek; stáje; Jodofor A; Iosan; chloramin B; koncentrace roztoků; dezinfikovatelnost materiálů

Jodoformy se dnes staly nejpoužívanější formou aplikace germicidního jódu. Jedná se o přípravky, v nichž je jód vázán na nosiče ve formě micelárního komplexu, z něhož se postupně ve vodném roztoku uvolňuje aktivní jód. Nosiče jsou různé povrchové aktivní látky, tzv. tenzidy. U jodoformů jsou zachovány pozitivní vlastnosti jódu, to je široké antimikrobiální spektrum a rychlý účinek. Přitom jsou odstraněny jeho negativní vlastnosti, jako je nerozpustnost ve vodě a barvení; do značné míry se podařilo omezit jeho toxicitu a korozivní vlastnosti.

Wagner aj. (1971), Anderson (1962), Davies (1962) a celá řada dalších autorů se shoduje v tom, že k dosažení stejného baktericidního účinku stačí 5x až 8x menší množství jódu proti chlóru.

Podle Svobody aj. (1972) se jodofory užívají v koncentracích 0,2% až 3%. Firma Ciba-Geigy doporučuje u svého preparátu Iosanu 0,5 až 1% koncentraci při průběžné dezinfekci stájového prostředí a koncentraci 3% při ohniskové dezinfekci.

Lachema Brno vyvinula v nedávné době jodofory, z nichž Jodofor A je předurčen k veterinárním účelům. Cílem práce bylo ověřit baktericidní účinek Jodoforu A a srovnat jej s účinností zahraničního Iosanu firmy Ciba-Geigy ve stájových podmínkách. Vycházeli jsme z práce Kubíčka (1975), který na nosičích zjistil, že k úplnému zničení *E. coli* dochází při použití 1,5% vodných roztoků Jodoforu A i Iosanu a ke zničení *St. aureus* při použití roztoků 2%. Současně prokázal rozdílnou účinnost v dezinfikovatelnosti různých materiálů, ale nezjistil závislost účinku na poloze materiálu. Jodofor A v průběhu r. 1974 obdržel ochrannou známku Jodonal A.

MATERIÁL A METODY

Účinnost přípravků jsme ověřovali ve stavebně shodných pavilónech výkrmny prasat. Kapacita pavilónu je cca 800 kusů. Jedná se o celoroštové ustájení na betonových rostech s krmním řídkým krmivem do žlabů. Účinnost preparátů jsme zkoušeli na vápenné omítce štítových stěn, na natřeném dřevě dveří ve štítových zdech, na hliníkovém plechu tvořícím obklad obvodových stěn, na kamenně žlabů, na betonu podlahových roštů a na pozinkovaném hrazení kotců, částečně zkorodovaném.

Po skončeném výkrmu byla vyprázdněná stáj mechanicky vyčištěna tlakovou vodou. Úroveň očisty před dezinfekcí 2% Jodoforem A a před první dezinfekcí 3% Jodoforem A nebyla námi ovlivňována a její kvalita byla různá. Před druhou dezinfekcí 3% Jodoforem A, 3% Iosanem a 2% chloraminem B byla očištěná stáj ještě mechanicky přečištěna našimi pracovníky.

K vlastní dezinfekci byly použity Jodofor A č. 2160, Iosan firmy Ciba-Geigy č. 533042 a chloramin B č. 122—74. V samostatných pokusech byly jemným postříkem aplikovány studené vodné roztoky jodoforů a 50 až 60 °C teplé roztoky chloraminu B v množství 0,5 l na m² plochy. Po jedné hodině byl postřík opakován stejným množstvím roztoků. Expozice po posledním postříku trvala u jodoforů nejméně jednu hodinu, u chloraminu dvě hodiny.

Z uvedených materiálů jsme odebrali stěry z plochy 100 cm² vlhkým sterilním vatovým tampónem, který byl potom zalomen do 25 ml sterilního fosfátového pufru s 0,1 % sirnatanu sodného. Po 20 minutách vytřepání jsme kultivovali do tekuté půdy připravené podle Chejfece k průkazu zárodků koliformních a do masopeptonového bujónu s 8,5 % kuchyňské soli k průkazu zárodků čeledi *Micrococcaceae*. Po 36hodinové inkubaci při 37 °C jsme rekultivovali ze všech pozitivních půd podle Chejfece na Endův agar a ze všech masopeptonových bujónů na krevní agar. Po jejich 24hodinové inkubaci jsme posuzovali růst a připravili preparáty obarvené podle Grama, které jsme mikroskopovali. Za účelem kvantitativního vyšetření celkových počtů zárodků byl neředěný vzorek a následující ředění až do 10⁻³ kultivován v množství 0,5 ml zalitím do masopeptonového agaru. Inkubováno bylo při 30 °C 36 hodin a odečítáno. Takto jsme vyšetřili celkem 384 stěry.

Výsledky kvalitativního vyšetření jsou vyjádřeny relativní četností stěrů, ve kterých byly prokázány koliformní zárodky, resp. *Micrococcaceae*. Kvanti-

tativní hodnocení je vyjádřeno průměrnými, maximálními a minimálními celkovými počty zárodků, zjištěnými na 1 cm² plochy. Současně je využito metody relativní četnosti výskytu jednotlivých stěrů s počtem zárodků v intervalech dekadického logaritmu. Při tomto posledním způsobu hodnocení jsme získané výsledky po dezinfekci jodofony srovnávali s výsledky získanými K u b í č k e m (1971) z reprezentativního souboru stěrů po dezinfekci stájových povrchů 2% roztoky chloraminu B při jinak úplně shodném dezinfekčním postupu.

VÝSLEDKY

Výsledky jsou zřejmé z tabulek a z grafu. V levé části tabulek jsou uvedeny výsledky po dezinfekci jodofony, v pravé části jsou pro porovnání uvedeny výsledky dosažené chloraminem B.

I. Výsledky celkem

Prostředek	Jodofor A			Iosan	Chloramin B
Koncentrace	2 %	3 %	3 %	3 %	2 %
Mechanická očista	průměrná	špatná	dobrá	dobrá	dobrá
Relativní počet stěrů s pozitivním nálezem:					
koliformních zárodků	15,6 %	25,0 %	6,2 %	14,6 %	2,1 %
čeledi <i>Micrococcaceae</i>	16,7 %	12,5 %	8,3 %	16,3 %	6,2 %
Celkový počet zárodků na 1 cm ² :					
průměrný	190 000	65 000	1 911	3 778	83
maximální	2 560 000	726 000	48 000	40 000	2450
minimální	0	14	7	6	0

V tab. I jsou uvedeny výsledky celkem ze všech dezinfikovaných materiálů. Je zřejmé, že po dezinfekci 2% Jodoforem A, následující po průměrné mechanické očištění, je značný výskyt stěrů s průkazem koliformních zárodků a zárodků čeledi *Micrococcaceae*. Rovněž celkové počty jsou v porovnání s výsledky dosaženými 2% chloraminem B příliš vysoké. Po dezinfekci 3% roztokem Jodoforu A, následující po špatné mechanické očištění, se mírně snížil výskyt stěrů s pozitivním nálezem zárodků čeledi *Micrococcaceae*; rovněž se snížil celkový počet zárodků. Naproti tomu počet zárodků s průkazem koliformních zárodků se zvýšil. Ani s těmito výsledky nemůžeme být spokojeni. Teprve po dezinfekci 3% Jodoforem A, následující po dobré mechanické očištění, podstatněji poklesly stěry s pozitivním nálezem koliformních zárodků a čeledi *Micrococcaceae* při současném poklesu celkových počtů zárodků. Avšak ani v tomto případě nebylo ve všech ukazatelích dosaženo výsledků odpovídajících kvalitě dezinfekce 2% chloraminem B. Iosan ve 3% koncentraci vykazuje zejména v kvalitativních ukazatelích horší výsledky než Jodofor A.

V tab. II obdobným způsobem uvádíme výsledky s vyloučením stěrů z omítky a natřeného dřeva. Výsledky jsou po všech dezinfekcích jodofony ve všech

ukazatelích podstatně lepší a po dezinfekci 3 % roztoky Jodoforu A, resp. Iosanu, se po dobré mechanické očištění dostávají ve všech ukazatelích na úroveň hodnot zjišťovaných po dezinfekci 2 % chloraminem B.

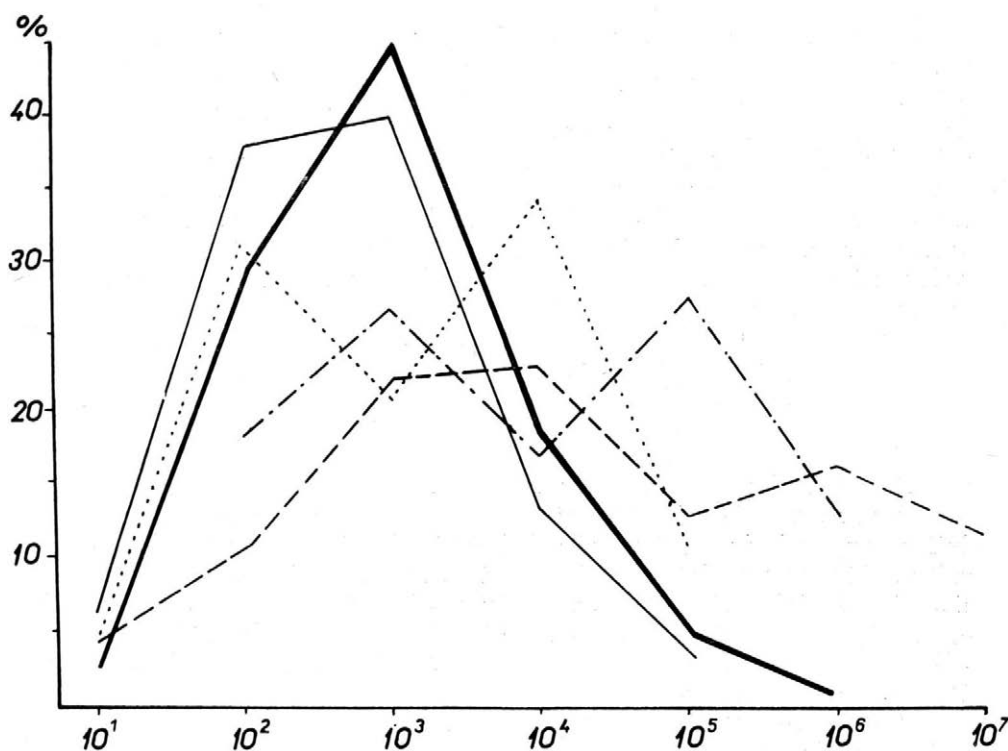
II. Výsledky bez omítky a natřeného dřeva

Prostředek	Jodofor A			Iosan	Chloramin B
Koncentrace	2 %	3 %	3 %	3 %	2 %
Mechanická očista	průměrná	špatná	dobrá	dobrá	dobrá
Relativní počet stěrů s pozitivním nálezem:					
koliformních zárodků	7,8 %	4,7 %	3,1 %	3,1 %	3,1 %
čeledi <i>Micrococcaceae</i>	9,4 %	12,5 %	6,2 %	6,2 %	6,2 %
Celkový počet zárodků na 1 cm ² :					
průměrný	14 783	6 773	550	542	123
maximální	201 500	100 000	8000	4400	2450
minimální	0	9	7	6	0

III. Výsledky na natřeném dřevě a omítkě

Prostředek	Jodofor A			Iosan	Chloramin B
Koncentrace	2 %	3 %	3 %	3 %	2 %
Mechanická očista	průměrná	špatná	dobrá	dobrá	dobrá
Relativní počet stěrů s pozitivním nálezem:					
koliformních zárodků	31,2 %	65,6 %	12,5 %	37,5 %	0 %
čeledi <i>Micrococcaceae</i>	31,2 %	12,5 %	12,5 %	37,5 %	6,2 %
Celkový počet zárodků na 1 cm ² :					
průměrný	591 059	181 718	2 274	10 250	2,5
maximální	2 560 000	726 000	48 000	40 000	6
minimální	11 000	9 500	35	2 000	0

V tab. III jsou uvedeny výsledky získané na natřeném dřevě a omítkě. Výsledky po dezinfekci jodoformy jsou jak v kvalitativních, tak i v kvantitativních ukazatelích podstatně horší než ty, které byly dosaženy po dezinfekci chloraminem B. Také na těchto materiálech byly relativně nejlepší výsledky po dezinfekci jodoformy získány po dobré mechanické očištění 3 % roztoky Jodoforu A. Z porovnání výsledků uvedených v tab. II a III potom vidíme, že natřené dřevo a omítka byly jodoformy daleko hůře dezinfikovány proti ostatním materiálům (kamenina, beton, hliníkový plech, kov), zatímco na nich byly výsledky po dezinfekci chloraminem B v jednom ukazateli stejné a v ostatních ukazatelích dokonce lepší než u ostatních materiálů.



1. Kvantitativní hodnocení celkových počtů zárodků

	prostředek	koncentrace	mechanická očista
————	chloramin B	2‰	dobrá
————	Jodoform A	3‰	dobrá
.....	Iosan	3‰	dobrá
-----	Jodoform A	3‰	špatná
-	Jodoform A	2‰	průměrná

Podle Kubíčka, 1971

Z obr. 1 je zřejmé kvantitativní hodnocení celkových počtů zárodků, provedené metodou relativní četnosti výskytu jednotlivých stěrů s počtem zárodků v intervalech dekadického logaritmu. Je zřejmé, že s přibývajícím posunem doleva. U všech křivek znázorňujících výsledky po dezinfekci jodoformy, mimo dezinfekci 3‰ Jodoformem A po dobré mechanické očištění, upoutá pozornost dvouvrcholový průběh křivek svědčící o nesourodnosti sledovaných souborů. Je to způsobeno podstatně horšími výsledky na omítce a natřeném dřevě. Jen křivka znázorňující výsledky dezinfekce 3‰ Jodoformem A a po dobré mechanické očištění je jednovrcholová s téměř stejnou strmostí a podobným průběhem jako křivka znázorňující výsledky po dezinfekci 2‰ chloraminem B.

DISKUSE

Na základě našich výsledků je možné konstatovat ve shodě s K u b í č k e m (1975), že Jodofor A i při dezinfekci stájí má stejný, popřípadě i lepší baktericidní účinek než Iosan. Jodofor A je vhodným prostředkem pro preventivní dezinfekci stájí. Po dobré mechanické očištění, která je základní podmínkou dobrého dezinfekčního účinku, a při dodržení opakovaného postřiku s celkovou spotřebou 1 l roztoku na 1 m² dezinfikované plochy doporučujeme koncentraci roztoku minimálně 3%. Námi doporučená koncentrace je ve srovnání s údaji výrobce Iosanu vyšší. Vyplyvá to jak z metodiky ověřování, tak i z metodiky hodnocení. Metodika práce byla volena tak, aby se v největší možné míře vystihlo prostředí zemědělské praxe. Již výsledky K u b í č k a (1975) získané na nosičích ukazují, že k dokonalému zničení odolnějších gram pozitivních zárodků *St. aureus* je potřeba minimálně 2% koncentrace. Ve stájových podmínkách, ve kterých i po dokonalé mechanické očištění musíme počítat s určitými zbytky organických látek a ve kterých se povrch materiálů stal používáním hůře dezinfikovatelným, musíme podle našich výsledků koncentraci zvýšit nejméně na 3%.

Naše výsledky jsou rovněž v souladu s údaji W a g n e r a aj. (1971), A n d e r s o n a (1972), D a v i e s e (1962) a řady dalších, kteří se shodují v tom, že k dosažení stejného baktericidního účinku stačí pětikrát až osmkrát menší množství aktivního jódu proti aktivnímu chlóru. Můžeme totiž vypočítat, že při předpokládaném minimálním obsahu 25 % aktivního chlóru v chloraminu B a při minimálním obsahu 1,75 % aktivního jódu v Jodoforu A, by 2% roztoku chloraminu B při osmkrát vyšší účinnosti jódu odpovídal svým účinkem 3,5% roztok Jodoforu A.

V práci se potvrdily rovněž poznatky K u b í č k a (1975) o rozdílné dezinfikovatelnosti různých materiálů. Byla prokázána podstatně horší dezinfikovatelnost natřeného dřeva a omítky. Bohužel tyto materiály nebyly zařazeny jako nosiče v práci K u b í č k a (1975). Jejich horší dezinfikovatelnost může být způsobena vlivem pH, jejich pórézností nebo jinými negativními vlastnostmi.

Literatura

- ANDERSON, L. von: Jodophore als Desinfektionsmittel in der Milchwirtschaft. Milchwissenschaft, 17, 1962, s. 513-517.
- DAVIES, J. G.: Iodophors as detergent sterilizers. J. appl. Bact. 25, 1962, s. 195-201.
- KUBÍČEK, K.: Total number of microbes as one of the possible indicators of efficiency of the preventive disinfection of the stable surfaces. Acta vet., Brno, 40, 1971, s. 105-114.
- KUBÍČEK, K.: Baktericidní účinnost jodoforů československé výroby na nosičích. Vet. Med. (Praha), 19, 1975, č. 1, s. 13-22.
- SVOBODA, K. — BOLEK, S. aj.: Dezinfekce a sterilizace v prevenci nozokomiálních nákaz. Praha 1972. 263 s.
- WAGNER, A. — FABIAN, A. aj.: Comparative investigation of sour disinfectants from the aspect of milk industry, with particular respect to iodophores. Elelmiszervizsgalati Közlemenyek, 17, 1971, s. 71-82.
- , Ciba-Geigy, Basel: Iosan. Prospekt.
- , Lachema, n. p., Brno: Jodofory. Předběžná informace, 1973.
- , Lachema, n. p., Brno: Jodofory. Pro služební potřebu. 1972, 80 s.

Došlo dne 5. 10. 1974

КУБИЧЕК К. (Ветеринарный институт, Брно, Чехословакия). Проверка бактерицидного эффекта Йодофора А в павильонах откорма свиней. Vet. Med. (Praha) 20 (4): 185-192, 1975.

В павильонах откорма свиней проверялось бактерицидное действие холодных водных растворов Йодофора А чехословацкого производства, Иосана — продукта фирмы Сибя-Гейги — и сравнивалось с действием хлорамина В, примененного в 2 % водном растворе +50 — +60 °С. Растворы наносились мелким опрыскиванием в количестве 0,5 л на 1 м² площади. Спустя один час опрыскивание повторялось одинаковым количеством раствора. Через час после последнего опрыскивания йодофорами и через два часа после последнего опрыскивания хлорамином В с обрабатываемых площадей отбирались образцы. Обследование было направлено на доказательство колиформных зародышей, зародышей семейства *Micrococcaceae* и определение общего числа зародышей. Раствор Йодофора А, примененный в 2% концентрации, после механической обработки среднего качества не дал положительных результатов по сравнению с раствором хлорамина В. Только после применения 3-процентного раствора Йодофора А и Иосана после тщательной механической обработки, за исключением штукатурки и накрашенного дерева, были достигнуты благоприятные результаты по сравнению с примененным раствором хлорамина В. При этом была установлена лучшая способность к дезинфекции листового алюминия, каменно-керамических изделий, бетона и металла по сравнению со штукатуркой и накрашенным деревом. Из сравнения Йодофора А с заграничным Иосаном вытекает, что по всем показателям Йодофор А имеет такое же или даже лучшее бактерицидное действие, чем Иосан. Йодофор А по своему бактерицидному эффекту является подходящим дезинфицирующим средством для профилактической обработки свинарников. Для достижения результатов, соответствующих 2-процентным растворам хлорамина В, однако необходимо применить минимально 3% концентрацию Йодофора А. Хорошая механическая обработка — основное условие его эффективности.

бактерицидное действие; свинарники; Йодофор А; Иосан; хлорамин В; концентрация растворов; способность материала к дезинфекции

KUBÍČEK K. (University School of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *Testing the Bactericidal Effectiveness of Jodozor A in the Halls of the Pig Fattening House.* Vet. Med. (Praha) 20 (4): 185-192, 1975.

In the halls of the pig fattening house the bactericidal effectiveness of cold water solutions of Czechoslovakia-made Jodozor A and the product of the Ciba-Geigy company Iosan was tested and compared with the effectiveness of Chloramin B used in a water solution at the temperature of 50 to 60 °C. The solutions were applied by fine spraying at the rate of 0.5 lt. per 1 m² of area. After one hour the spray was applied again at the same rate. One hour after the last Jodozor spray and two hours after the last Chloramin B spray, smears were collected from the disinfected surfaces. The examination included the detection of coliform germs, germs of the *Micrococcaceae* family, and the determination of the total number of germs. On the whole, 384 smears were examined in four separate trials. The application of Jodozor A in 2 % concentration, after mechanical average-quality purification, did not give acceptable results, in comparison with the solution of Chloramin B. Only when solutions of Jodozor A and Iosan were used in 3 % concentration after perfect mechanical purification, satisfactory results were obtained (with the exception of plaster and painted wood), in comparison with the Chloramin B solution. Better disinfectibility was found in aluminium sheet, terracotta, concrete, and metal, as distinct from plaster and painted wood. The comparison of Jodozor A with abroad-made Iosan indicates that Jodozor has the same or a better bactericidal effect than Iosan in all indices. Due to its bactericidal effect, Jodozor A is a suitable disinfectant for preventive disinfection of farm animal houses. In order to achieve results corresponding to those provided by 2 % solutions of Chloramin B it is necessary to use at least a 3 % concentration of Jodozor A. Good mechanical purification is a basic prerequisite for its effectiveness.

bactericidal effect; farm animal houses; Jodozor A; Iosan; Chloramin B; solution concentration; disinfectibility of materials

KUBÍČEK K. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno, Tschechoslowakei). *Überprüfung der bakteriziden Wirkung des Jodoform A in den Pavillons einer Schweine-mästerei*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 185-192, 1975.

In den Pavillons einer Schweinegroßmästerei wurde die bakterizide Wirksamkeit kalter wässriger Lösungen des Jodoform A tschechoslowakischer Erzeugung und des Präparats Iosan der Firma Ciba-Geigy überprüft und mit der Wirkung der zweiprozentigen 50 bis 60 Grad warmen Chloramin-B-Lösung verglichen. Die behandelten Flächen wurden mit einer Menge von 0,5 l Lösung je 1 m² fein besprüht. In einer Stunde wurde erneut mit der gleichen Menge gesprüht. In einer Stunde nach der letzten Bespritzung mit Jodoform und in zwei Stunden nach der letzten Bespritzung mit Chloramin B wurden von den desinfizierten Flächen Aufstriche entnommen. Die Untersuchung war auf den Nachweis von coliformen Erregern, ferner von Erregern der Familie *Micrococcaceae* sowie auf die Bestimmung der Gesamterregeranzahl eingestellt. In vier selbständigen Versuchen wurden insgesamt 384 Aufstriche untersucht. Bei der zweiprozentigen Jodoform-A-Lösung wurden nach mechanischer Reinigung durchschnittlicher Qualität keine befriedigenden Resultate im Vergleich zum Chloramin B erzielt. Erst nach Benutzung dreiprozentiger Lösungen des Jodoform A und des Iosan wurden nach gründlicher mechanischer Reinigung mit Ausnahme des Verputzes und des angestrichenen Holzes annehmbare Resultate erzielt. Es wurde eine bessere Desinfizierbarkeit von Aluminiumblech, Steinzeug, Beton und Metall im Vergleich zum Verputz und angestrichenen Holz festgestellt. Aus dem Vergleich des Jodoform A mit dem ausländischen Präparat Iosan geht hervor, daß das Jodoform A in allen Kennwerten den gleichen oder sogar besseren bakteriziden Effekt als das Iosan aufweist. Das Jodoform A ist in Hinsicht auf die bakterizide Wirkung ein geeignetes Desinfektionsmittel zur präventiven Stalldesinfektion. Um Resultate zu erreichen, die der Benutzung von zweiprozentigen Chloramin-B-Lösungen gleichkommen, müssen mindestens dreiprozentige Jodoform-A-Lösungen benutzt werden. Die grundlegende Bedingung für die Wirksamkeit dieses Präparats ist eine gute mechanische Reinigung.

bakterizide Wirkung; Stallungen; Jodoform A; Iosan; Chloramin B; Konzentration der Lösungen; Desinfizierbarkeit von Materialien

Adresa autora:

MVDr. K. K u b í č e k, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

D. Píchová, J. Pícha

Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha-Uhřetěves

PÍCHOVÁ D., PÍCHA J. *Hladiny luteinizačního hormonu u ovcí různých plemen.* Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 193-198, 1975.

Byly stanoveny hodnoty LH v průběhu pohlavního cyklu, které se nacházely v rozmezí 1 až 6 ng ml⁻¹, s vrcholem 60 až 250 ng ml⁻¹ v den estru. Tím, že se jehňata ponechají u matek, zastavuje se normální cyklus; průkazné rozdíly v klidových hladinách LH byly nalezeny u plemen finské ovce, romanovské ovce a plemene žírné merino. Po ovariektomii došlo ke zvýšení LH u ovcí plemene cigája na 6 ng ml⁻¹ a u ovcí plemene žírné merino na 18 až 22 ng ml⁻¹.

ovce; plemena; LH; ovariektomie; pohlavní cyklus; klidové hladiny

Studie týkající se úlohy gonadotropních hormonů v reprodukčních procesech byly omezeny dlouhou dobu nedostatkem metody pro měření těchto látek. V nedávných letech začaly být používány radioimunologické metody, které umožňují větší počet stanovení s vyšší citlivostí a vysokým stupněm přesnosti ve srovnání s biologickými metodami.

První práce (Niswender aj., 1968, Geshwind a Dewey, 1968, Wheatley a Radford, 1969 a Roche aj., 1970) sledovaly hladiny cirkulujícího luteinizačního hormonu (LH) v průběhu cyklu a časovou závislost mezi začátkem estru a vrcholem LH, který předchází ovulaci. Jak shodně nalezli autoři vrchol LH v estru, převyšuje mnohonásobně základní hladinu, která v plazmě během cyklu byla nízká, a to v rozmezí 2 až 3 ng ml⁻¹ (Geschwind a Dewey, 1968). Wheatley a Radford (1969) uvádějí kolísání v rozmezí 5 až 15 ng ml⁻¹. Hodnoty mezi vrcholy LH v rozmezí mezi 0,5 až 2 ng ml⁻¹ nalezli Reeves aj. (1970) a Niswender aj. (1968). Niswender aj. (1968) nalezli vrchol LH v rozmezí 28 až 60 ng ml⁻¹, Wheatley a Radford (1969) nalezli hodnoty od 46 do 460 ng ml⁻¹ (s průměrem 172 ng ml⁻¹), Reeves aj. (1970) hodnoty 56 ng ml⁻¹ a Maurer aj. (1972) pozorovali vzestup LH z 5 ng ml⁻¹ na 120 ng ml⁻¹ za 8,5 hodiny po začátku estru. Z pozorování hodnot u 40 zvířat začíná zvyšování LH v den estru za 4,6 hodiny po začátku estru a vrchol se dostavuje za 12,0 hodin (Wheatley a Radford, 1969). U některých zvířat v tomto období nebyla však nalezena zvýšená hladina LH. Reeves aj. (1970) nalezli zvýšení pouze u dvou z pěti pozorovaných estrů.

Charakteristické preovulační zvýšení LH a jeho denní kolísání pozorovali Land aj. (1973) u ovcí různých plemen a Maurer aj. (1972) u ovcí

po aplikaci progesteronu. Během období anestrus vrchol LH se objevuje za 42 až 68 hodin a estrus byl určen 2 až 12 hodin před vrcholem LH, který vzrostl nad 100 ng ml^{-1} . Během období páření se stejný vrchol LH objevuje za 34 hodiny. Koncentrace LH není přímo závislá na sezónním výskytu estru u ovcí, jak rovněž nalezl Roche aj. (1970). Land aj. (1973), kteří sledovali rozdíly v koncentraci LH během 1 až 16 dnů cyklu, našli $1,29 \text{ ng ml}^{-1}$ pro romanovské ovce, $1,11 \text{ ng ml}^{-1}$ pro plemeno berrichon a $1,08 \text{ ng ml}^{-1}$ pro plemeno solognet.

MATERIAL A METODA

Ke sledování hladin LH v průběhu cyklu sloužily ovce plemene romanovské (2 ks), finská ovce (1 ks) a kříženka východofřížská ovce x žírné merino (1 ks). Pro sledování rozdílů v koncentraci LH byly použity ovce plemene romanovské (4 ks), finské (5 ks) a žírné merino (4 ks). Aby byly zajištěny klidové hodnoty luteinizačního hormonu, byly vybrány matky stejného stáří, kterým byla ponechána jehňata; tato zvířata byla sledována po dobu 90 dnů. Vliv ovariectomie na koncentraci LH byl sledován u ovce žírné merino (1 ks) a u ovcí plemene cigája (2 ks). Kontrola estru byla prováděna beranem. Krev byla odebírána z *vena jugularis* vždy ve stejném čase.

LH jsme stanovili radioimunologickou metodou, jejímž základem je vazba neznačeného a značeného antigenu s protilátkou a precipitace komplexu přidáním druhých protilátek. Podrobně byla tato metodika zpracována v práci Madeje (1973) a Stupnickiho (1973).

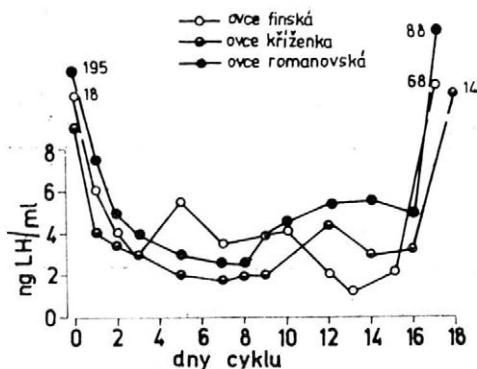
Jako standard pro jódování a kalibrační křivky byl použit LH LER 1056 — C₂, poskytnutý laskavě prof. Reichertem.

VÝSLEDKY A DISKUSE

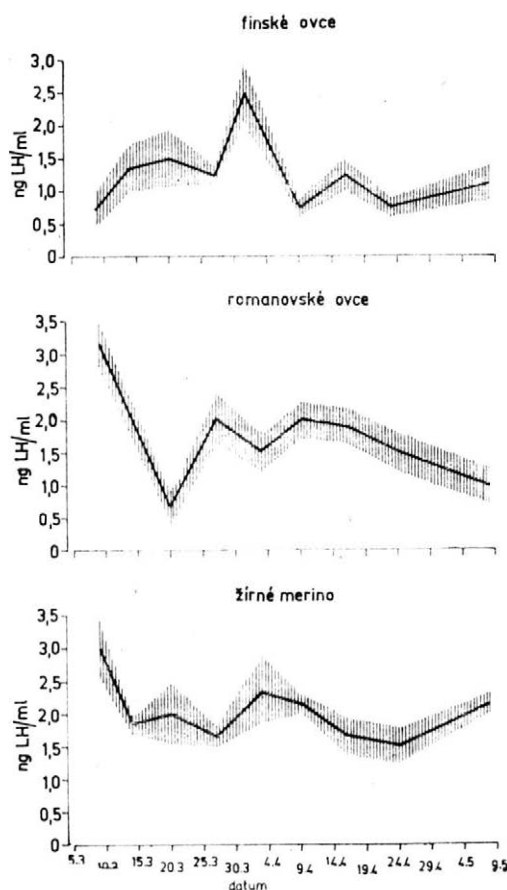
I. Testy průkaznosti LH

Ukazatel	Odběry								
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.
Žírné merino: romanovské	0,25	0,49	1,57	0,31	1,24	0,49	0,72	0,00	2,21
Romanovské: finské	4,62*	1,02	0,76	0,84	1,46	4,22*	1,57	1,65	0,24
Finské: žírné merino	4,21*	0,79	0,48	1,88	0,20	6,42*	1,02	2,53*	3,29*

* průkaznost $P < 0,05$



1. Hladina LH u ovcí v cyklu



2. Hladiny LH

Pohlavní cyklus začíná v den estru projevem říje a je doprovázen vzestupem LH, který měl u našich zvířat rozmezí 60 až 250 ng ml⁻¹. Hodnoty LH v období mezi vrcholy se měnily poměrně málo a pohybovaly se u ovcí romanovských v rozmezí 2 až 6 ng ml⁻¹, u ovce finské mezi 1 až 5 ng ml⁻¹ a u kříženky mezi 2 až 5 ng ml⁻¹, jak je uvedeno na obr. 1. Hladiny LH mezi sledovanými plemeny (mimo den říje) v průběhu estrálního cyklu nebyly statisticky průkazné.

Ponecháním jehňat u matek jsme zabránili tomu, aby se cyklus opakoval. Klidové hladiny LH podle jednotlivých plemen jsou uvedeny na obr. 2. Nejnižší průměrná hodnota byla nalezena u finské ovce 1,3 ng ml⁻¹ (0–4 ng ml⁻¹). U romanovské ovce průměrná koncentrace LH byla 1,5 ng ml⁻¹ (kolísání v rozmezí 0–4 ng ml⁻¹) a nejvyšší průměrná hodnota byla zjištěna u plemene žirné merino 2,05 ng ml⁻¹ (s rozpětím 1–3,5 ng ml⁻¹). Jak je uvedeno v tab. I a II, rozdíly mezi plemeny jsou statisticky průkazné.

Jak vyplývá z výsledků, námi nalezené hodnoty v prvním až šestnáctém dnu cyklu kolísaly v rozmezí 2 až 6 ng ml⁻¹, což jsou koncentrace poněkud vyšší než našli Geschwinda Dewey (1968) a než udávají Niswender aj. (1968). Rovněž některé vysoké hodnoty LH, nalezené v den estru, jsou u našich plemen vyšší než udávají Reeves aj. (1970). U některých zvířat jsme našli pouze zvýšené hodnoty, což ukazuje na pozdější vzestup hladiny LH.

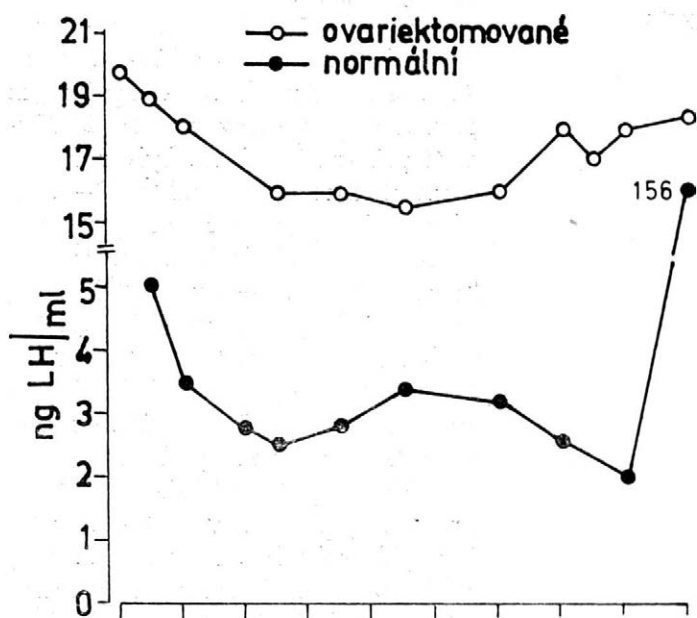
Plemenné rozdíly v hladině LH prokázal Land aj. (1973) u ovcí romanovských, solonet a berrichon. Podobné průkazné rozdíly existují mezi klidovými hodnotami LH u plemen romanovské, finské a žirné merino.

II. Analýza variance LH

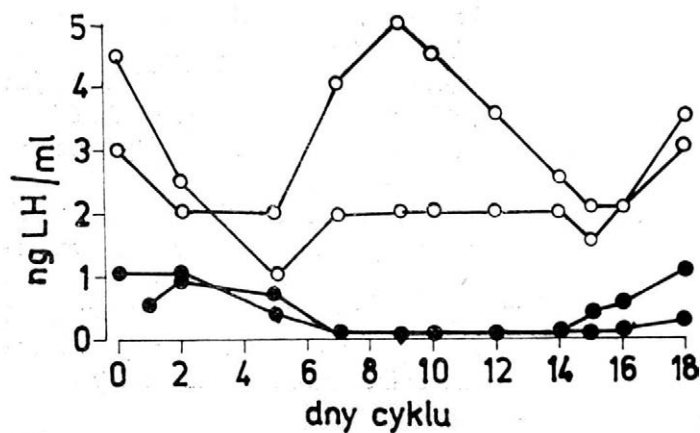
Ukazatel	Analýza				
	stupně volnosti	rezid. směr. odchylka	průměrný čtverec	F	F _{0,05}
Plemeno	2	0,795	3,627*	5,73	3,17
Období	8		2,330*	3,68	2,11
Interakce	16		0,564	0,89	2,08

* průkaznost $P < 0,05$

žirné merino



cigája



3. Hladiny LH u ovcí

U ovcí plemene cigája se normální námi nalezené hodnoty pohybovaly od 0 do 1,5 ng ml⁻¹ a po ovariektomii se zvýšily na koncentraci až 5 ng ml⁻¹, u plemene žírné merino na 18 až 20 ng ml⁻¹ (obr. 3). Hladina LH u ovcí po ovariektomii byla vysoce ($P < 0,01$) průkazně vyšší v porovnání s ovcemi neo-variektomovanými, jak shodně uvádějí Niswender aj. (1968).

Ovariektomie přerušuje negativní zpětný systém řídicí sekreci LH a vyvolává uvolňování, jak popsali Butler aj. (1971). Reeves aj. (1972) našli před ovariektomií hodnoty u čtyř ovcí $1,2 \pm 0,3$ ng ml a po ovariektomii se průměrná koncentrace zvýšila až 16x ve srovnání s hodnotou před ovariektomií.

Literatura

- BUTLER, W. R. — BOLT, D. J. — MALVEN, P. V.: Transient surges of LH release in ovariectomized sheep. *The Physiologist*, 14, 1971, s. 117.
- GESCHWIND, I. I. — DEWEY, R.: Dynamics of luteinizing hormone (LH) secretion in the cycling ewe: A radioimmunoassay study. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 129, 1968, č. 2, s. 451.
- LAND, R. B. — PELLETIER, J. — THIMONIER, J. — MAULEON, P.: A quantitative study of genetic differences in the incidence of oestrus, ovulation and plasma luteinizing hormone in the sheep. *J. Endocr.*, 58, 1973, s. 305-317.
- MADEJ, A.: Badania nad poziomem prolaktyny u krow w cyklu prawidłowym i po usunięciu przetrwałego ciała żółtego. [Disertační práce.] PAN, Jablona u Varšavy, 1973.
- MAURER, R. E. — REVENAL, P. — JOHNSON, E. S. — MOYER, R. H. — HIRATA, A. — WHITE, W. T.: Levels of luteinizing hormone in the sera of ewes near the time of estrus as determined by radioimmunoassay. *J. Anim. Sci.*, 34, 1972, s. 88.
- NISWENDER, G. D. — ROCHE, D. L. — FOSTER, D. L. — MIDGLEY, A. R.: Radioimmunoassay of serum levels of luteinizing hormone during the cycle and early pregnancy in ewes. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 129, 1968, č. 3, s. 901.
- REEVES, J. J. — ARIMURA, A. — SHALLY, A. V.: Serum levels of prolactin and luteinizing hormone (LH) in the ewe at various stages of the estrous cycle. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 134, 1970, s. 938.
- REEVES, J. J. — O'DONNELL, A. — DENORSIA, F.: Effect of ovariectomy on serum luteinizing hormone (LH) concentrations in the anestrus ewe. *J. Anim. Sci.*, 35, 1972, s. 73.
- ROCHE, J. F. — FOSTER, D. L. — KARSCH, F. J. — COOK, B. — DZIUK, P. J.: Levels of luteinizing hormone in sera and pituitaries of ewes during the oestrus cycle and anestrus. *Endocrinology*, 86, 1970, č. 3, s. 568.
- STUPNICKI, R. — MADEJ, A. — DOBROWOLSKI, W.: Circadian rhythm of plasma prolactin levels in cows. 7th Conf. of European Comp. Endocrinologists, Budapest, August 26-31, 1973.
- WHEATLEY, I. S. — RADFORD, H. M.: Luteinizing hormone secretion during the oestrus cycle of the ewe as determined by radioimmunoassay. *J. Reprod. Fertil.*, 19, 1969, s. 311.

Došlo dne 21. 8. 1974

ПИХОВА Д., ПИХА Я. (Научно-исследовательский институт животноводства, Прага-Угржи-невес, Чехословакия). Уровни лютеинизационного гормона у овец разных пород. *Vet. Med. (Praha)* 20 (4): 193-198, 1975.

Определялись значения ЛГ во время полового цикла, которые находились в диапазоне 1—6 нг мл⁻¹, с максимумом 60—250 нг мл⁻¹ в день течки. В результате того, что ягнята оставляются у матерей, прекращается нормальный цикл, достоверные различия в состоянии

покоя ЛГ были установлены у пород финских овец, романовской и у пород жирный меринос. После овариотомии произошло повышение ЛГ у овец цигайских на 6 нг мл⁻¹ и овец породы жирный меринос на 18–22 нг мл⁻¹.

орцы; породы; ЛГ; овариотомия; половой цикл; уровни покоя

PÍCHOVÁ D., PÍCHA J. (Research Institute of Livestock Production, Praha-Uhřetěves, Czechoslovakia). *The Levels of the Luteinization Hormone in the Sheep of Various Breeds*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 193-198, 1975.

Determined were the LH values in the course of the sexual cycle which ranged within limits of 1 ng ml⁻¹, with a peak of 60 to 250 ng ml⁻¹ on the day of oestrus. By leaving the lambs with their mothers, the normal cycle is stopped, conclusive differences in the rest levels of LH were found out in the Finnish sheep breed, in Romanov sheep, and in the mutton Merino breed. After ovariectomy there occurred an increase of LH in sheep of the Tsigai breed to 6 ng ml⁻¹ and in sheep of the mutton Merino breed to 18 to 22 ng ml⁻¹.

sheep; breeds; LH; ovariectomy; sexual cycle; rest levels

PÍCHOVÁ D., PÍCHA J. (Forschungsinstitut für tierische Produktion, Praha-Uhřetěves, Tschechoslowakei). *Luteinisierungshormon-Spiegel bei Schafen verschiedener Rassen*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 193-198, 1975.

Die im Verlauf des sexuellen Zyklus festgestellten LH-Werte befanden sich in den Grenzen von 1 bis 6 ng ml⁻¹ mit dem Gipfel von 60 bis 250 ng ml⁻¹ am Oestrus-Tag. Dadurch, daß man die Lämmer bei den Müttern beläßt, wird der normale Zyklus eingestellt. Signifikante Unterschiede in den Ruhezeit-Spiegeln des Luteinisierungshormons wurden bei finnischen Schafen, beim Romanov-Schaf und beim Fleischmerinoschaf vorgetroffen. Nach Ovariectomie kam es zur Erhöhung des LH-Spiegels bei Zigaia-Schafen bis auf 6 ng ml⁻¹ und bei Fleischmerinoschafen bis auf 18 bis 22 ng ml⁻¹.

Schafe; Rassen; Ovariectomie; sexueller Zyklus; Ruhezeit-Werte

Adresa autorů:

MVDr. D. Píchová, MVDr. J. Pícha, Výzkumný ústav živočišné výroby, 251 61 Uhřetěves u Prahy

HODNOTY AKTIVÍT ISOENZÝMOV DEHYDROGENÁZY KYSELINY MLIEČNEJ SÉRA HOSPODÁRSKÝCH ZVIERAT

A. Michálek, J. Marcaník

Vysoká škola veterinárska, Košice

MICHÁLEK A., MARCANÍK J. Hodnoty aktivít izoenzýmů dehydrogenázy kyseliny mléčné séra hospodářských zvířat. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 199-205, 1975.

Referuje sa o vybranej metodike agargélovej elektroforézy, ktorá dovoľuje previesť kvalitatívne aj kvantitatívne štúdium izoenzýmů LDH séra zvierat. Hodnoty izoenzýmů: kôň LDH-1 33,0% LDH-2 27,9% LDH-3 24,3% LDH-4 9,6% LDH-5 5,2%; ovca LDH-1 57% LDH-2 10,8% LDH-3 21,6% LDH-4 5,2% LDH-5 5,4%; krava LDH-1 45,9% LDH-2 25,8% LDH-3 15% LDH-4 7% LDH-5 6,8%; ošípaná LDH-1 44,4% LDH-2 24,9% LDH-3 13,6% LDH-4 8,8% LDH-5 8,3%. Za rovnakých podmienok najmenší stupeň heterogenity vykazoval enzým séra oviec.

laboratórna diagnostika; izoenzýmy LDH; kôň; krava; ošípaná; ovca; agargélová elektroforéza

Izoenzýmy dehydrogenázy kyseliny mliečnej (LDH-1 až LDH-5) dnes znamenajú mnohé neprebádané možnosti aplikácie aj vo veterinárnej medicíne. Nie je tomu tak dávno, čo sa začali objavovať práce zamerané na využitie izoenzýmů dehydrogenázy kyseliny mliečnej na tomto poli (Masters, 1963; Bartík, Marcaník, 1967). Avšak prevažná orientácia metodík delenia izoenzýmů na elektroforézu s ich následnou kvantifikáciou súvisí s pracovnosťou a prístrojovou vybavenosťou laboratórií, čo do istej miery sťažuje a ohraničuje rozpracovanie otázok širšej aplikovateľnosti izoenzýmů LDH.

Klinické využitie javu heterogenity enzýmu ponúka ďalšie možnosti klinickým laboratóriám a aj experimentálnemu pracovníkovi medicíny preniknúť hlbšie do patogenézy, terapie a diagnostiky. Napr. na základe analýzy izoenzýmového obrazca LDH séra koní možno previesť biochemickú diferenciáciu anémii koní (Osbaldiston aj., 1970).

Rozpracovanie spomínaných ako i ďalších otázok problematiky izoenzýmů zaslúžilo by si oveľa väčšiu pozornosť. Odtiaľ vychádza aj naša snaha hľadania a modifikácie pracovných metód stanovenia aktivít jednotlivých izoenzýmů LDH pre hospodárske zvieratá s použitím v laboratóriách s klinicko-biochemickým a vedeckým zameraním a snaha po klinickom uvedení izoenzýmů LDH.

MATERIAL A METÓDY

Pre meranie normálnych aktivít enzýmu a izoenzýmov LDH séra kráv, oviec, koní a ošípaných sa zobrali vzorky krvi od zvierat z produkčných chovov, primeraného výživného stavu, bez rozdielu pohlavia, klinicky zdravé. Krv sme odobierali v letnom, jesennom a zimnom období; krv sa po zrazení a uložení séra pri 4 °C analyzovala do 48 hodín; hovädzí dobytok — dojnice veku 2 až 8 rokov, plemena český červenostrakatý, do piateho mesiaca gravidity; ovce plemena merino, veku 1,5 až 4 roky, chov odčervovaný; kone — teplokrvné línie, veku 3 až 12 rokov; ošípané — jatočnej veľkosti nad 60 kg, plemena slovenská biela ušľachtilá.

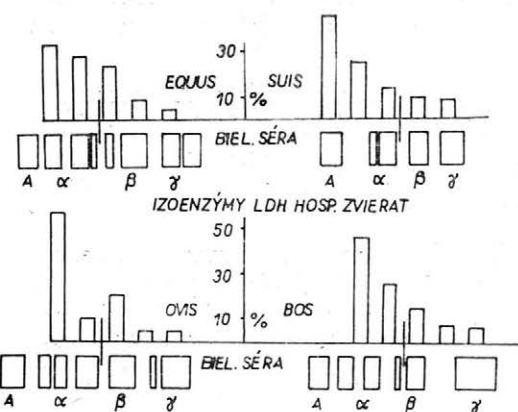
Reagencie: 1,5% Bacto Difco Agar gel vo veronalovom pufrí pH 8,6, $u = 0,06$; detekčný roztok pre vizualizáciu aktivity izoenzýmov v elektroforeogramoch / 1 M DL — mliečnan sodný 1 ml, NAD^+ (fy Boehringer) 10 mg/ml 1 ml, 0,5 M fosfátový pufr pH 7,4 5 ml, NBMT (2-/p-nitrofenyl/-5-fenyl-3-3/3,3-dimetoxy-4-difenylyl/tetrazolium chlorid) vo fosfátovom pufrí 0,5 M o pH 7,4 5 ml, 0,005 M $MgCl_2$ 1 ml, 0,1 N NaCN 1 ml, fenazinmetosulfát 10 mg/0,5 ml. 0,5 ml. Prístroj pre elektroforézu bol zhotovený na pracovisku podľa Večereka aj., (1968).

U jednotlivých druhov zvierat sme sledovali celkové aktivity enzýmu LDH séra známou fotometrickou metódou (Ševela, Továrek, 1959) a súčasne izoenzýmov podľa metódy Večereka a kol. (1968) s opísanými odlišnosťami. Elektroforetické delenie prebiehalo 210 minút pri teplote prostredia 2 až 4 °C. Potom sme vyrezané agarové prúžky preniesli do detekčného roztoku a inkubovali v termostate pri 37 °C počas 70 minút. Farebne vyjadrená aktivita jednotlivých izoenzýmov na elektroforeogramoch sa merala priamo extinkčným registračným zariadením s automatickou registráciou integrácie fy Zeiss, zn ERI 10 (NDR, far. filter č. 3, B = 1).

Štatistické hodnotenie získaných výsledkov sa spracovalo podľa Reisenauer (1970) na Ústave matematicko-štatistických metód VŠV.

VÝSLEDKY

Vychádzali sme z celkovej aktivity enzýmu v sére, ktorá je udávaná v medzinárodných jednotkách IU. Získané hodnoty prináša tab. I, kde má každý druh uvedený počet hodnotených jedincov súboru (n), celkovú aktivitu (IU) a percentuálne zastúpenie aktivity jednotlivými izoenzýmami (obr. 1).



1. Isoenzýmové obrazce LDH séra zvierat vo vzájomnom postavení k bielkovinovému spektru

I. Celková aktivita LDH séra jednotlivých druhov zvierat a podiel aktivít izoenzýmov vyjadrený v percentách

Druh	UI (37 C)	LDH-1	LDH-2	LDH-3	LDH-4	LDH-5
Kôň	263,00	33,00	27,90	24,30	9,60	5,20
	230–300	29–38	25–32	21–29	8–11	2–7
s_x	9,90	0,70	0,63	0,72	0,49	0,25
	$n = 43$	$n = 40$				
Ovca	265,00	57,00	10,80	21,60	5,20	5,40
	180–340	51–66	8–13	17–27	3–7	2–8
s_x	40,10	1,00	0,60	0,80	0,20	0,40
	$n = 45$	$n = 38$				
Krava	853,00	45,90	25,80	15,00	7,00	6,80
	740–980	42–52	21–30	12–17	5–11	2–10
s_x	32,80	0,90	0,70	0,40	0,50	0,70
	$n = 39$	$n = 30$				
Ošipaná	356,20	44,40	24,90	13,60	8,80	8,30
	260–450	39–52	19–26	9–15	4–12	3–12
s_x	22,20	0,90	0,40	0,50	0,30	0,60
	$n = 40$	$n = 56$				

Obrázok zachycuje diagram podielnosti jednotlivých izoenzýmov na celkovej aktivite a ich rozdelenie v agare vo vzájomnom postavení k bielkovinám séra. Získané výsledky kvalitatívneho štúdia heterogenity LDH séra ukázali, že u koní, kráv, ošipaných a oviec možno uvedenou metódou zachytiť všetkých päť foriem LDH. Prvá anodická frakcia enzýmu dostala označenie LDH-1, ku katóde sa najrýchlejšie pohyboval izoenzým LDH-5; intermediárny izoenzým LDH-1 až ku LDH-5 s výnimkou oviec, kde druhým najaktívnejším izoenzýmom dôležité z metodického hľadiska. Jednotlivé frakcie enzýmu boli od seba zreteľne oddelené, okrem oviec, a vzájomné rozostavenie izoenzýmov po delení bolo pozoruhodné rovnakými vzájomnými vzdialenosťami u všetkých zvierat. Za daných podmienok delenia najmenší stupeň heterogenity vykazoval enzým LDH séra oviec, čo sa prejavilo v neúplnosti oddelenia jednotlivých izoenzýmov.

Jednotná metodika stanovenia izoenzýmov nám dáva možnosti medzidruhového porovnania. Uvedené izoenzýmové obrazce majú najmarkantnejšiu spoločnú vlastnosť v tom, že najvyššie aktivity prejavujú anodické izoenzýmy LDH-1, LDH-2; aktivity jednotlivých izoenzýmov sa postupne znižujú od LDH-1 až ku LDH-5 s výnimkou oviec, kde druhým najaktívnejším izoenzýmom séra je LDH-3. Pri hodnotení jednotlivých izoenzýmov rozptyl skupinových priemerov (s_x) ukazuje, že LDH-5 zo všetkých izoenzýmov má najväčšiu kolísavosť hodnôt u všetkých sledovaných druhov zvierat.

Elektroforéza je pre izoenzýmy najvhodnejším deliacim prostriedkom s veľkou a jemnou rezolučnou silou. Vzájomné účinky bielkovín s ionogénnymi skupinami nosného prostredia elektroforézy a celým radom druhých látok bezpochyby môžu spôsobiť zreteľné zmeny elektroforetického obrazu v kvalitatívnom aj v kvantitatívnom zmysle (Troickij, 1962; Valenta aj. 1971). To sa pričíta aj vplyvu čistoty agaru, pretože rozdielne zdroje a šarže agaru poskytujú aj odchyľne výsledky, a preto vo väčšine prípadoch čistenie agaru je nevyhnutné (Kreutzer, Eggels, 1965; Kreutzer, Fennis, 1964).

Viaceré práce (Wieme, 1965; Kreutzer, Eggels, 1965) pri posudzovaní vhodnosti agaru na delenie poukazujú, že je ťažko porovnávať výsledky aktivít izoenzýmov LDH získané elektroforetickým delením v rôznych výrobných šaržách agaru. To nezmenšuje užitočnosť stanovenia izoenzýmov LDH pre klinické účely vtedy, ak výsledky sa porovnávajú pri tých istých metodických podmienkach.

Dômyselné usporiadanie prvkov elektroforetického delenia umožňuje získavať reprodukovateľné podmienky hodnotenia aktivít izoenzýmov metódou Večereka aj. (1968). Tým sa zabezpečuje predovšetkým dokonalá štandardizácia všetkých podmienok delenia, založená na starostlivom predbežnom štúdiu a rozbere podmienok delenia a vyhodnocovania frakcií. Požaduje sa predovšetkým dobré a rovnomerné chladenie gélovej vrstvy (Wieme, 1965), pretože izoenzýmy prejavujú veľké rozdielnosti v tepelnej stabilite.

Vizualizácia aktivity izoenzýmov farbením vyžaduje veľa teoretických námetok. Redukcia tetrazoliového farbiva je tu funkciou mnohých premenných. Už pri delení izoenzýmov musia sa voliť také podmienky, aby LDH-3 bol mimo aplikačného miesta vzorky, kde zmenené reakčné podmienky by nám zreteľne skreslovali výsledky (Starkweather aj., 1966).

Vhodnou metodikou pre stanovenie celkovej LDH u ľudí a aj u zvierat sa ukázalo použitie reakcie v smere $L \rightarrow P$ s Tris pufrum o pH 8,8 a 0,05 M (Valenta aj., 1971; Amador aj., 1963).

Otázka normálnych hodnôt aktivít enzýmov séra zdravých zvierat je veľmi aktuálna, ale stále zložitá. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že najnižšia hodnota bola zaznamenaná pri koňoch, najvyššia pri hovädzom dobytku. V porovnaní rovnaké výsledky prináša Zimmerman aj. (1965).

Delenie izoenzýmov séra koní taktiež v agarovom géli vykonal Gerber (1966). V sére koní detekoval len štyri frakcie LDH s najväčšou aktivitou lokalizovanou v oblasti betaglobulínov. Najmenšia aktivita sa vykazovala v oblasti gammaglobulínov. No v orgánových homogenátoch sa zistilo päť izoenzýmov LDH. Táto skutočnosť môže dokumentovať citlivosť katodického izoenzýmu v oblasti gamaglobulínov. Coffman aj. (1969) uvádza u koní v sére tiež päť izoenzýmov s najväčšou aktivitou lokalizovanou na LDH-3.

Štúdie izoenzýmov LDH u hovädzieho dobytku, spracovaná viacerými kolektívmi (Cahn aj., 1962; Prasse, 1969; Agresti aj., 1971), preukazujú existenciu piatich izoenzýmov v sére s podobným izoenzýmovým rozložením celkovej aktivity LDH ako v našich šetreniach.

U ošpaných postupnosť klesania aktivity izoenzýmov od LDH-1 až po LDH-5 v sére je zhodná s výsledkami Baustada a Tollersruda (1969), kedy v porovnaní LDH-4 a LDH-5 javia zreteľnejšie vzájomné rozdielnosti oproti našim výsledkom. Aj Hylgaard-Jensen (1967) udáva nižšie

hodnoty pre LDH-4 a LDH-5. Nájdene určité rozdielnosti vo výsledkoch môžu byť poznačené, ako ukazuje práca tohto autora, použitím techniky získavania vzoriek krvi pre analýzu.

Neúplný elektroforetický enzymogram LDH u dospelých ošípaných v sére našli Fieldhouse, Masters (1966) ktorí v diagrame aktivít izoenzymov LDH udávajú len štyri izoenzymy s najväčšou aktivitou LDH-1, hoci všetkých päť foriem enzýmu detekovali v homogenátoch pečene, pľúc a sleziny.

Masters (1963) u oviec analyzoval heterogénnosť sérovej LDH elektroforézou v škrobe. Delením dospel k dvom elektroforetickým odlišným formám. V šetreniach Paulsona a kol. (1966) sérum jahniat vykazovalo päť elektroforetických foriem LDH s podobným obrazcom aktivít izoenzymov ako v našich výsledkoch a vo výsledkoch Tollesruda (1971). Oveľa lepšiu deliteľnosť sérovej LDH oviec sme dosiahli pri delení v polyakrylamidovom géli.

Za technickú spoluprácu autori ďakujú s. Bérešovi, prac. Ústavu chémie, biochémie a toxikológie, VŠV v Košiciach.

Literatura

- AGRESTI, A. — PERSECHINO, A. — MASTRANGELO, P.: Comportamento della lacticcodeidrogenasi serica e dei suoi isoenzimi nei bovini sani. *Acta med. vet.*, Napoli, 17, 1971, s. 483-492.
- AMADOR, E. — DORFMAN, L. E. — WACKER, W. E. C.: Serum lactic dehydrogenase activity: An analytical assessment of current assays. *Clin. Chem.*, 1963, č. 9, s. 391-399.
- BARTÍK, M. — MARCANÍK, J.: Izoenzýmy dehydrogenázy kyseliny mliečnej v diagnostike. *Veterinárstvie*, 17, 1967, s. 556-561.
- BAUSTAD, S. — TOLLERSRUD, S.: Isoenzymes of lactate dehydrogenase in swine: stability during storage at different temperatures and by heat treatment. *Acta vet. scand.*, 10, 1969, s. 372-381.
- CAHN, R. D. — KAPLAN, N. O. — LEVINE, L. — ZWILLING, E.: Nature and development of lactic dehydrogenases. *Science*, 136, 1962, s. 962-969.
- COFFMAN, J. R. — MUSSMAN, H. C. — CAWLEY, L. P.: Lactic dehydrogenase isoenzymes in equine infection anemia. *Cornell Vet.*, 59, 1969, s. 397-403.
- FIELDHOUSE, B. — MASTERS, C. J.: Development redistribution of porcine LDH. *Biochim. biophys. Acta*, 118, 1966, s. 538-545.
- GERBER, H.: Aktivitätsbestimmungen von Serumenzymen in der Veterinärmedizin III. G. LDH-isoenzyme in eigenen Organen und im Serumkranken und gesunden Pferde. *Schweizer Arch. Tierheilk.*, 108, 1966, s. 33-46.
- HYLDGAARD-JENSEN, J.: The influence of blood-sampling technique on lactic acid dehydrogenase in pig plasma. *Acta vet. scand.*, 8, 1967, s. 83-85.
- KREUTZER, H. H. — EGGELS, P. H.: LDH isoenzymes after electrophoretic separation on agar gels prepared from different kinds of agar. *Clinica chim. Acta*, 12, 1965, s. 80-88.
- KREUTZER, H. H. — FENNIS, W. H. S.: Washing of agar for agar gel electrophoresis. *Clinica chim. Acta*, 9, 1964, s. 404-407.
- MASTERS, C. J.: The electrophoretic heterogeneity of ovine lactate dehydrogenase. *Aust. J. Biol. Sci.*, 16, 1963, s. 709-716.
- OSBALDISTON, G. W. — COFFMAN, J. R. — KRUCKENBERG, S.: Biochemical differentiation of equine anemias. *J. Am. vet. med. Ass.*, 157, 1970, s. 322-325.
- PAULSON, G. D. — POPE, A. L. — BAUMANN, C. A.: Lactic dehydrogenase isoenzymes in tissues and serum of normal and dystrophic lambs. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 122, 1966, s. 321-324.
- PRASSE, K. W.: Lactic dehydrogenase activity and isoenzyme distribution in serum of normal cattle. *Am. J. vet. Res.*, 30, 1969, s. 2181-2184.

- REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace. Praha, SNTL 1970.
- STARKWEATHER, W. H. — SPENCER, H. H. — SCHWARTZ, E. L. — SCHOCH, H. K.: The electrophoretic separation of lactate dehydrogenase isoenzyme and their evaluation in clinical medicine. 67, 1966, s. 329-342.
- ŠEVELA, M. — TOVÁREK, J.: Metoda stanovení laktikodehydrogenázy v tělních tekutinách. Čas. Lék. Čes., 98, 1959, s. 844-847.
- TOLLERSRUD, S.: A serum enzyme increasing effect of non-toxic herring meal fed to sheep. Acta vet. scand., 12, 1971, s. 375-392.
- TROICKIJ, G. V.: Elektroforez belkov. Izd. Charkovskogo ordena trud. Kras. Znam. gosud. univ. im. Gorkogo, Charkov 1962.
- VALENTA, M. — HYLDGAARD-JENSEN, J. — JENSEN, S. E.: Interaction of veronal, pyrophosphate, citrate and protein with lactate dehydrogenase determination and kinetics. Acta vet. scand., 12, 1971, s. 15-35.
- VEČEREK, B. — ŠTĚPÁN, J. — HYNIE, I. — KÁCL, K.: Micromodification of quantitative electrophoresis in agar gel. Coll. Czechosl. Chem. Comm., 33, 1968, s. 141-147.
- WIEME, R. J.: Agar gel electrophoresis. Elsevier Publ. Comp., Amsterdam, London, N. Y., 1965.
- ZIMMERMAN, J. H. — SCHWARTZ, M. A. — BOLEY, L. E. — WEST, M. C.: Comparative serum enzymology. J. Lab. clin. Med., 66, 1965, s. 961-972.

Došlo dne 30. 5. 1974

МИХАЛЕК А., МАРЦАНИК Й. (Ветеринарный институт, Кошице, Чехословакия). Значения активностей изоэнзимов дегидрогеназы молочной кислоты сыворотки сельскохозяйственных животных. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 199-205, 1975.

Описывается выбранная методика агар-гелевого электрофореза, которая позволяет провести качественное и количественное изучение изоэнзимов LDH сыворотки животных. Ниже приводятся значения изоэнзимов: лошадь LDH-1 33,0 %, LDH-2 27,9 %, LDH-3 24,3 %, LDH-4 9,6 %, LDH-5 5,2 %; овца LDH-1 57 %, LDH-2 10,8 %, LDH-3 21,6 %, LDH-4 5,2 %, LDH-5 5,4 %; корова LDH-1 45,9 %, LDH-2 25,8 %, LDH-3 15 %, LDH-4 7 %, LDH-5 6,8 %; свинья LDH-1 44,4 %, LDH-2 24,9 %, LDH-3 13,6 %, LDH-4 8,8 %, LDH-5 8,3 %. При таких же условиях минимальную степень гетерогенности показывал энзим сыворотки овец.

лабораторная диагностика; изоэнзимы LDH; лошадь; корова; свинья; овца; агар-гелевый электрофорез

MICHÁLEK A., MARCANÍK J. (University School of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). The Activity Values of the Isoenzymes of Lactic Acid Dehydrogenase in the Serum of Farm Animals. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 199-205, 1975.

The authors describe selected methods of agar-gel electrophoresis enabling the qualitative and quantitative study of LDH isoenzymes in animal serum. Isoenzyme values: horse LDH-1 33.0 %, LDH-2 27.9 %, LDH-3 24.3 %, LDH-4 9.6 %, LDH-5 5.2 %; sheep LDH-1 57 %, LDH-2 10.8 %, LDH-3 21.6 %, LDH-4 5.2 %, LDH-5 5.4 %; cow LDH-1 45.9 %, LDH-2 25.8 %, LDH-3 15 %, LDH-4 7 %, LDH-5 6.8 %; pig LDH-1 44.4 %, LDH-2 24.9 %, LDH-3 13.6 %, LDH-4 8.8 %, LDH-5 8.3 %. Under the same conditions, the lowest degree of heterogeneity was found in the enzyme of sheep serum.

laboratory diagnosis; isoenzymes of LDH; horse; cow; pig; sheep; agar-gel electrophoresis

MICHÁLEK A., MARCANÍK J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice, Tschechoslowakei). *Aktivitätswerte der Isoenzyme der Serummilchsäuredehydrogenase bei landwirtschaftlichen Nutztieren*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 199-205, 1975.

Es wird berichtet über eine ausgewählte Methodik der Agargelelektrophorese, die ein qualitatives und quantitatives Studium der LDH-Isoenzyme des Serums von Tieren ermöglicht. Isoenzym-Werte: Pferd LDH-1 33,0 %, LDH-2 27,9 %, LDH-3 24,3 %, LDH-4 9,6 % und LDH-5 5,2 %; Schaf LDH-1 57 %, LDH-2 10,8 %, LDH-3 21,6 %, LDH-4 5,2 % und LDH-5 5,4 %; Kuh LDH-1 45,9 %, LDH-2 25,8 %, LDH-3 15 %, LDH-4 7 % und LDH-5 6,8 %; Schwein LDH-1 44,4 %, LDH-2 24,9 %, LDH-3 13,6 %, LDH-4 8,8 % und LDH-5 8,3 %. Unter gleichen Bedingungen wies den kleinsten Heterogenitätsgrad das Enzym des Schafserums auf.

Labordiagnostik; LDH-Isoenzyme; Pferd; Kuh; Schwein; Schaf; Agargel-Elektrophorese

Adresa autorů:

MVDr. A. Michálek, MVDr. J. Marcaník, Vysoká škola veterinárská, Komenského 71, 041 81 Košice

Upozorňujeme čtenáře, že v publikaci Studijní informace ÚVTI, 1974, č. 3, řada Základní vědy v zemědělství, vychází práce ing. J. Kučery, CSc.,

CHOVÁNÍ ZVÍŘAT A DĚDIČNOST

Práce je určitou syntézou vědních oborů zabývajících se chováním zvířat, zejména etiologie a genetiky chování. Současná etiologie věnuje velkou pozornost vrozenému druhově specifickému chování, ale málo se zabývá rozdíly v chování v rámci druhu a jejich dědičností, kterým věnuje hlavní pozornost genetika chování. Autor shrnuje a hodnotí poznatky a názory i jejich historický vývoj a uvádí příklady zejména z výzkumu a pozorování domácích zvířat a lovné zvěře a z výzkumu laboratorních zvířat a modelových objektů. Pro srovnání uvádí také údaje o dědičnosti chování u člověka.

Publikaci **CHOVÁNÍ ZVÍŘAT A DĚDIČNOST** lze objednat v odbytovém oddělení Ústavu vědeckotechnických informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena 18,— Kčs.

Z. Čupera

Ustav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv v Brně, odbor biopreparátů, Ivanovice na Hané

ČUPERA Z. *Imunogenní aktivita vakcín proti vzteklině*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 207-214, 1975.

Porovnávali jsme účinnost mozkomíšních, avianizovaných a tkáňových vakcín proti vzteklině, vyráběných v ČSSR, s některými vakcínami zahraničními. Dosažené výsledky byly současně srovnávány s mezinárodním standardem, vakcínou dodanou na požádání Světovou zdravotnickou organizací. Ke stanovení účinnosti bylo použito metod: stanovení obsahu viru ve vakcíně na myších, zkouška účinnosti na morčatech — Koprowski, zkouška účinnosti a stanovení ED₅₀ na myších — naše modifikace metody Nazarovovy. Účinnost československé vakcíny mozkomíšní byla velmi dobrá a při srovnání se zahraničními vakcínami (SSSR, Bulharsko) i s mezinárodní standard-vakcínou bylo dosaženo stejných výsledků. ED₅₀ těchto vakcín bylo zjištěno 2,49 mg až 8,00 mg. U čs. avianizované vakcíny byla zjištěna vyšší účinnost než u vakcín zahraničních (Holandsko, Španělsko, Alžír), index imunogenity byl 0,87 až 1,14. Tkáňové vakcíny jsou v ČSSR vyráběny zatím v ověřovacích sériích, přesto však bylo dosaženo stejných výsledků jako u vakcín zahraničních (SSSR, Francie). ED₅₀ tkáňových vakcín bylo zjištěno 5,21 mg až 16,50 mg.

vakcína mozkomíšní, avianizovaná a tkáňová; obsah viru ve vakcíně; účinnost na morčatech; účinnost na myších; stanovení ED₅₀

Vzteklina zůstává i dnes jednou z nebezpečných nákaz, ohrožujících nejen zdraví zvířat, ale také zdraví a život člověka. Jedním z účinných prostředků v boji proti tomuto onemocnění je soustavná a cílevědomá vakcinace zvířat — psů, koček, skotu — která nejčastěji přicházejí do styku s hlavními rozšiřovateli této nákazy, s liškami. K vakcinaci zvířat lze v současné době použít různých druhů vakcín živých nebo různým způsobem inaktivovaných, vyrobených z mozkomíšní tkáně zvířat, z embryonální tkáně, nebo na tkáňových kulturách.

V ČSSR se do roku 1965 používalo k vakcinaci zvířat proti vzteklině výhradně vakcín připravených z mozkomíšní tkáně infikovaných králíků, koní nebo ovcí. Od roku 1965 se používá k vakcinaci psů avianizovaná vakcína typu Flury LEP, připravená ze tkání infikovaných kuřecích embryí. V současné době se ověřuje použití tkáňové vakcíny připravené na tkáních BHK buněk, na kterých se pomnožil fixní virus vztekliny kmen SAD-Vnukovo.

Kvalita protivzteklinových vakcín se zjišťuje převážně zkouškami na laboratorních zvířatech — myších nebo morčatech. Pro jednotlivé druhy vakcín doporučuje Světová zdravotnická organizace (W. H. O.) standardní zkoušky účinnosti:

Pro vakcíny připravené z mozkomíšní tkáně — zkoušku účinnosti na myších podle H a b e l a (1966) nebo NIH test (S e l i g m a n, 1966). Pro živé vakcíny typu Flury — zkoušku účinnosti na morčatech (K o p r o w s k i, 1966), nebo na myších N y l a r test (D e a n, 1966). Účinnost živých vakcín je možné stanovit také na základě obsahu viru ve vakcíně určením LD₅₀ na myších (O t t a C a r l s o n, 1960, B o u r d i n a S u r e a u, 1965). Z dalších metod je možné použít zkoušku účinnosti na myších podle S e l i m o v a a K l u j e v o v é (1969), která je vhodná pro všechny druhy vakcín. Na našem pracovišti se používá ke stanovení účinnosti protivzteklinových vakcín modifikovaná metoda na myších podle N a z a r o v a (Č u p e r a, 1969), která je vhodná ke stanovení účinnosti zejména při sériové kontrole jednotlivých operačních čísel protivzteklinových vakcín.

MATERIAL A METODA

POUŽITÉ VAKCÍNY

Čs. vakcíny

— výrobce Bioveta, Ivanovice na Hané

Vakcína proti vzteklině — operační čísla: 02, 36, 44 — 20% mozkomíšní suspenze ovcí infikovaných fixním virem vztekliny, kmen GNKI-ÚSKVBL. Vakcína je konzervovaná fenolem a lyofilizovaná.

Vakcína proti vzteklině avianizovaná — operační čísla: 02, 104, 217 — živá vakcína, připravená jako 33% lyofilizovaná suspenze kuřecích embryí, ve kterých se pomnožil virus vztekliny, kmen Flury LEP.

Tkáňová protivzteklinová vakcína — operační čísla: 01, 01K, 04, 37, 38, 39 — lyofilizovaná suspenze tkáňových buněk BNK, ve kterých se pomnožil virus vztekliny, kmen SAD-Vnukovo.

Zahraniční vakcíny

W. H. O. s t a n d a r d

Rabies vaccine IRP-RV — 155D, XII-181 — výrobce International Laboratory for Biological Standards, Copenhagen, Denmark.

S S S R

Antirabičeskaja vakcina — operační číslo: 155 — lyofilizovaná 20% mozkomíšní suspenze ovcí infikovaných fixním virem vztekliny, konzervovaná fenolem. Výrobce: GNKI Moskva.

Inaktivovannaja kulturnaja antirabičeskaja vakcina — operační číslo: 159K — výrobce Institut polyomyelitidy a virus. encefalitid AMH, Moskva.

Vakcinnyj virus bešenstva B 32 — operační číslo: 33, 45 — lyofilizovaná suspenze buněk BHK, ve kterých se pomnožil virus vztekliny, kmen SAD I., výrobce Institut AMH, Moskva.

Alžír

Vaccin antirabique Flury HEP lyophilisé — operační číslo: 05 — živá vakcína, připravená jako 33% suspenze kuřecích embryí infikovaných virem vztekliny Flury HEP, lyofilizovaná. Výrobce Institut Pasteur d'Algérie.

Bulharsko

Vakcína bjas — operační číslo: 790/18 — 50% lyofilizovaná emulze mozkové tkáně ovcí infikovaných virem fixe, kmen Filaksija. Výrobce Veter. instit. po imunologia, Sofia 24.

Francie

Vaccin inactive antirabique-Rabiffa — operační číslo: 1191 — připravená na tkáňových kulturách, inaktivovaná teplem a betapropionlaktonem, lyofilizovaná. Výrobce Institut de serotherapie de Toulouse.

Holandsko

Rabies vaccin Flury LEP — operační číslo: 74 — 33% lyofilizovaná suspenze kuřecích embryí, ve kterých se pomnožil virus vztekliny, kmen Flury LEP. Výrobce Central Veterinary Institute, Department Rotterdam.

Španělsko

Cooper's LEP Flury Strain Antirabies-vaccine — operační číslo: 33 — připravená ze tkání kuřecích embryí infikovaných virem vztekliny, kmen Flury LEP. Výrobce Cooper-Zeltia, S. A. Porriño, Spain.

POUŽITÉ METODY STANOVENÍ ÚČINNOSTI

Stanovení LD₅₀ — obsah viru ve vakcíně:

Skupinám myší o váze 8 až 10 g (šest myší na každé ředění) se aplikuje *i. c.* vakcína v ředění 10⁻¹ až 10⁻⁶ v dávce 0,03 ml. Myši se sledují 21 den. Podle hynutí myší v jednotlivých skupinách (hynutí do pěti dnů po vakcinaci se hodnotí jako nespecifické) se výpočtem podle Reed-Muencha stanoví titr vakcíny. Vyhovující vakcína musí mít titr nejméně 10^{-3,0}.

Zkouška účinnosti na morčatech — Koprowski:

Skupina morčat o váze nejméně 350 g se vakcinuje 0,25 ml 5% vakcíny *i. m.* Za 21 den po vakcinaci se morčata infikují *i. m.* virem vztekliny v ředění o 1 nižším, než ve kterém při předchozí titraci viru bylo zjištěno 100% hynutí morčat. Současně se stejným způsobem infikuje skupina morčat kontrolních, nevakcinovaných. Vyhovující vakcína musí chránit nejméně 70% z vakcinovaných morčat, přičemž 80% kontrolních morčat musí infekci podlehnout.

Zkouška účinnosti na myších — Nazarov (modifikace Čupera):

Skupinám myší o váze 15 až 18 g se aplikuje *i. p.* 0,20 ml různé ředěné vakcíny tak, aby v první skupině obdržela každá myš 8 mg účinného základního substrátu, ve druhé skupině 4 mg, ve třetí skupině 1 mg účinného substrátu; čtvrtá skupina myší je kontrolní, nevakcinovaná. Za 24 hodiny po první

vakcinaci se stejným způsobem provede revakcinace. Počet myši ve skupinách je pět. Za 10 dnů po revakcinaci se myši všech skupin infikují suspenzí viru fixe (kmen GNKI-ÚSKVBL) dávkou 0,10 ml podkožně v oblasti koňku nosu. Virus musí být naředěn tak, aby v dávce 0,10 ml bylo obsaženo 100 LD₅₀. Myši se po infekci sledují 12 dnů. Aby vakcína byla vyhovující, musí kontrolní myši všechny uhynout, z vakcinovaných mohou uhynout: ve třetí skupině pět myši, ve druhé skupině nejvíce tři myši, v první skupině jedna myš. V případě, kdy v první nebo ve druhé skupině uhynie o jednu myš více než připouští kritérium zkoušky, je rozhodující index imunogenity, to je poměr myši přežitých ve skupinách první až třetí k myším uhynulým. Vyhovující vakcína musí mít index imunogenity 0,66 a vyšší.

Stanovení 50 % chráněnosti vakcíny — ED₅₀:

Průběh zkoušky je shodný s předcházející metodou, rozdíl je v tom, že mezi druhou a třetí skupinu myši se vsune další skupina, ve které obdrží každá myš 2 mg účinného substrátu. Tímto způsobem dosáhneme dvojnásobného sériového ředění vakcíny. Podle počtu uhynulých myši v jednotlivých skupinách výpočtem podle Reed-Muencha se stanoví účinná dávka základního substrátu vakcíny, která chrání 50 % vakcinovaných myši proti následné čelení viru — ED₅₀. Se zkoušenou vakcínou se současně titruje již známá, standardní vakcína. Vyhovující vakcína musí mít index imunogenity, to je poměr ED₅₀ vakcíny standardní k ED₅₀ vakcíny zkoušené, 0,60 a vyšší.

VÝSLEDKY

Z hlediska stanovení účinnosti bylo přezkoušeno celkem 21 operační číslo různých protivzteklinových vakcín, z toho pět čísel byla vakcína mozkomíšní, šest čísel vakcína avianizovaná a deset čísel vakcína tkáňová. Z hlediska původu vakcíny bylo dvanáct operačních čísel československé výroby, čtyři čísla ze Sovětského svazu a po jednom čísle z Alžíru, Bulharska, Francie, Holandska a Španělska. Zjištěné výsledky účinnosti vakcín v jednotlivých skupinách byly porovnávány s účinností mezinárodní standard-vakcíny, která byla v každé skupině současně ověřována.

Obsah viru ve vakcíně — LD₅₀ — byl stanoven u šesti avianizovaných vakcín typu Flury a u jedné vakcíny mozkomíšní, živé, bulharského původu, u které byl zjištěn obsah viru nejvyšší (LD₅₀ 10^{-5,17}). Z avianizovaných vakcín byl zjištěn nejvyšší titr viru u československých vakcín (LD₅₀ 10^{-3,15}, 10^{-3,00}, 10^{-2,75}), vakcína holandská měla titr viru 10^{-2,50}, španělská 10^{-2,40}, alžírská vakcína Flury HEP jen 10^{-2,36} (tab. I).

Současně se stanovením viru ve vakcíně byla u tří avianizovaných vakcín stanovena účinnost zkouškou na morčatech. Nejvyšší chráněnost vykazovala československá vakcína — 88 % účinnost. Vakcína holandská měla účinnost 77 %, španělská jen 60 % (tab. I).

Účinnost avianizovaných vakcín byla dále přezkušována za použití naší modifikace Nazarovovy metody zkouškou na myších. I v tomto případě dosáhly nejvyššího indexu imunogenity vakcíny československé — 1,14, 1,14, 0,87. Zahraníční vakcíny, i když z hlediska účinnosti vyhověly požadavkům zkoušky, měly index imunogenity nižší; španělská vakcína 0,87; holandská a alžírská 0,60. Index imunogenity mezinárodní standard-vakcíny byl 0,87 (tab. I).

i. Vakcíny avianizované: stanovení obsahu viru ve vakcíně
zkouška účinnosti na myších
zkouška účinnosti na morčatech

Původ vakcíny	Druh vakcíny	Operační číslo	Titř viru	Index imunogenity na myších	Procento účinnosti na morčatech
Standard W. H. O.	IRP-RV	XIII-181		0,87	
ČSSR	LEP	02	2,75	0,87	×
ČSSR	LEP	104	3,00	1,14	88
ČSSR	LEP	217	3,15	1,14	×
Holandsko	LEP	74	2,50	0,66	77
Španělsko	LEP	33	2,40	0,87	60
Alžír	HEP	05	2,36	0,66	×
Bulharsko	živá m. m.	790	5,17	1,14	×

Titř viru vyjádřen v logaritmech reciprokových hodnot

Index imunogenity = poměr přeživších myší ze skupin I-III k myším uhynulým

II. Vakcíny tkáňové: stanovení účinnosti na myších — ED₅₀
index imunogenity

Původ vakcíny	Druh vakcíny	Operační číslo	ED ₅₀ v mg	Index imunogenity
Standard W. H. O.	IRP-RV	XIII-181	6,08	
ČSSR	TK	01	7,02	0,86
ČSSR	TK	01K	16,50	0,36
ČSSR	TK	0	7,37	0,82
ČSSR	TK	37	5,21	1,14
ČSSR	TK	38	7,18	0,84
ČSSR	TK	39	10,93	0,55
SSSR	TK	33	13,00	0,46
SSSR	TK	45	8,25	0,73
SSSR	TK	159K	16,87	0,36
Francie	TK	1191	9,84	0,61

Index imunogenity = poměr ED₅₀ vakcíny standardní k ED₅₀ vakcíny zkoušené

Účinnost tkáňových vakcín byla zjišťována metodou stanovení SE₅₀ — váhového množství účinné látky, jejíž aplikace vyvolá 50% chráněnost vakcinovaných myší proti následné čelenzi vzteklinového viru. Tkáňové vakcíny vykazovaly v porovnání s mezinárodní standard-vakcínou (ED₅₀ 6,08 mg) různou chráněnost. Nejvyšší účinnost byla zjištěna u československé vakcíny s operačním číslem 37 (ED₅₀ 5,21 mg, index 1,14). Dobrá účinnost byla dále zjištěna u čs.

vakcín s operačními čísly 01 (ED_{50} 7,02 mg, index 0,86), 04 (ED_{50} 7,37 mg, index 0,82), 38 (ED_{50} 7,18 mg, index 0,84), u sovětské vakcíny s operačním číslem 45 (ED_{50} 8,25 mg, index 0,73) a u francouzské vakcíny s operačním číslem 1191 (ED_{50} 9,84 mg, index 0,61). U ostatních tkáňových vakcín byla v porovnání se standardem W. H. O. zjištěna nedostatečná chráněnost: čs. vakcína operační číslo OlK a 39, sovětská vakcína číslo 33 a 159K (tab. II).

Stejným způsobem — stanovením ED_{50} — byla zjišťována účinnost mozkomíšních vakcín. Ve všech případech byla zjištěna ve srovnání se standard-vakcínou dostatečná účinnost. Sovětská vakcína operační číslo 155 měla nejvyšší účinnost, index 1,93 a 1,19, bulharská vakcína operační číslo 790 měla index 1,80, čs. vakcíny operační čísla 02, 36, 44 měly index imunogenity 0,62, 1,09 a 0,76 (tab. III).

III. Vakcíny mozkomíšní: stanovení účinnosti na myších — ED_{50} index imunogenity

Původ vakcíny	Druh vakcíny	Operační číslo	1. série		2. série		3. série	
			ED_{50} v mg	index imuno- genity	ED_{50} v mg	index imuno- genity	ED_{50} v mg	index imuno- genity
Standard W. H. O.	IRP-RV	XIII-181	1,55		4,76		6,08	
ČSSR	m. m.	02	2,49	0,62	×	×	×	×
ČSSR	m. m.	36	×	×	4,64	1,03	5,56	1,09
ČSSR	m. m.	44	×	×	×	×	8,00	0,76
SSSR	m. m.	155	0,80	1,93	4,00	1,19	×	×
Bulharsko	m. m.	790	0,87	1,80	×	×	×	×

Index imunogenity = poměr ED_{50} vakcíny standardní k ED_{50} vakcíny zkoušené
m. m. = mozko-míšň

DISKUSE

Výsledky, kterých jsme na našem pracovišti při hodnocení protivzteklinových vakcín dosáhli, ukazují, že:

Avianizovaná vakcína proti vzteklině Flury LEP, vyráběná Biovetou, Ivanovice na Hané, je vysoce účinná a ve srovnání s použitými vakcínami z Alžíru, Holandska a Španělska měla jak nejvyšší obsah viru ve vakcíně, tak i nejvyšší index imunogenity při zkouškách účinnosti na myších a procento účinnosti při zkouškách na morčatech.

Československé tkáňové vakcíny, i když se zatím vyrábějí pokusně v ověřovacích seriích, dosáhly stejných výsledků jako vakcína sovětská či francouzská.

U vakcín mozkomíšních byla zjištěna dostatečná chráněnost ve všech případech jak u československých preparátů, tak u preparátu sovětského a bulharského.

V našich pokusech jsme zjistili ED_{50} u vakcín mozkomíšních 2,49 až 8,00 mg, u vakcín tkáňových 5,21 až 16,87 mg. Lavender a Frank (1971) zjistili u kachní embryonální TK vakcíny ED_{50} 0,37 až 0,55 mg. Aktivitu protivzteklinových vakcín porovnávali rovněž Selimov a Klujeva (1969)

a zjistili u avianizovaných vakcín ED_{50} 8,20 až 20,50 mg, u vakcíny tkáňové 0,51 až 26,33 mg. Smolinský (1969) uvádí ED_{50} u čs. mozkomíšní vakcíny 6,26 mg, u vakcíny Hemptovy 8,24 mg, u tkáňové vakcíny z kmene SAD 0,25 mg. V těchto pokusech však autoři hodnotí tkáňovou vakcínu jako ekvivalentní s 5% vakcínou mozkomíšní. V našich pokusech jsme tkáňovou vakcínu posuzovali při hodnocení množství účinného substrátu jako virus-medium.

Hodnoty ED_{50} jednotlivých autorů, stejně jako naše zjištění, se u jednotlivých druhů a vyšetření liší a jsou rozdílné i u téhož operačního čísla při zkouškách v různém časovém období (ED_{50} standard-vakcíny 1,55, 4,76 a 6,08 mg). Hodnoty ED_{50} tedy samy o sobě, bez současného pozorování s ED_{50} zkoušené vakcíny k ED_{50} známé osvědčené nebo standardní vakcíny, nevystihují plně kvalitu zkoušené vakcíny. Pro tu je proto směrodatný index imunogenity, to je poměr ED_{50} vakcíny zkoušené a standardní.

Literatura

- BOURDIN, P. — SUREAU, P.: Sur l'efficacité de la vaccination antirabique des chiens avec la vaccin Flury LEP à Madagascar. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, XVIII, 1965, č. 3, s. 243-246.
- CUPERA, Z.: Titrace účinnosti vakcíny proti vzteklině v ČSSR se zaměřením na avianizovanou vakcínu Flury LEP. *Vet. Med. (Praha)*, 14, 1969, č. 7, s. 393-400.
- DEAN, J. D.: The Nyler test for measuring potency of antirabies vaccine. *Laboratory Techniques in Rabies*, W. H. O., Geneve, 1966.
- HABEL, K.: Habel test for potency. *Laboratory Techniques in Rabies*, W. H. O., Geneve, 1966.
- KOPROWSKI, H.: Guinea pig test for chicken embryo vaccine. *Laboratory Techniques in Rabies*, W. H. O., Geneve, 1966.
- LAVENDER, J. F. — van FRANK, R. M.: Zonal-centrifuged purified duck embryo cell culture rabies vaccine for human vaccination. *Appl. Microbiol.*, 22, 1971, č. 3, s. 358-365.
- NAZAROV, V. P.: Bešenstvo životnych. Moskva, 1961.
- OTT, G. L. — CARLSON, W. E.: Potency testing of live modified rabies vaccine. *Vet. Med.*, 55, 1966, s. 45-48.
- SELIGMAN, E. B.: Potency test requirements of the U. S. national institutes of Health (NIH). *Laboratory Techniques in Rabies*, W. H. O., Geneve, 1966.
- SELIMOV, M. A. — KLUJEVA, E. V.: Method to determine the immunogenic activity of antirabies vaccine with street virus of rabies in mice. *Vet. Cas.*, 12, 1969, č. 3-4, s. 123-126.
- SMOLINSKÝ, A.: Porovnávacie štúdium imunogénnej aktivity tkanivových antirabických vakcín. [Diplomová práca.] VŠV Košice, 1969.

Došlo dne 10. 6. 1974

ЧУПЕРА З. (Институт по государственному контролю ветеринарных биопрепаратов и медикаментов, Брно, секция биопрепаратов, Ивановице на Гане, Чехословакия). Иммуногенная активность вакцин от бешенства. *Vet. Med. (Praha)* 20 (4): 207-214, 1975.

Мы сравнивали эффективность спинномозговых, авианизированных и тканевых вакцин от бешенства, выпускаемых в СССР, с некоторыми zahraničnimi вакцинами. Полученные результаты одновременно сравнивались с международным стандартом, с вакциной, полученной по просьбе Мировой организации по здравоохранению. Для определения эффективности применялись методы: определение содержания вируса в вакцине у мышей, испытание эффективности у морских свинок — Копровски, испытание эффективности и определение ED_{50} у мышей — наша модификация метода Назарова. Эффективность чехословацкой спинномозговой вакцины была хорошей, а при сравнении с zahraničnimi вакцинами (СССР, Болгария) и с международной стандарт-вакциной были получены одинаковые результаты.

ED₅₀ этих вакцин составляло 2,49—8,0 мг. У чехословацкой авианизированной вакцины была установлена более высокая эффективность, чем у заграничных вакцин (Голландия, Испания, Алжир), индекс иммуногенности равнялся 0,87—1,14. Тканевые вакцины в ЧССР пока выпускаются в тест-сериях, несмотря на это, однако, были достигнуты одинаковые результаты, как и у заграничных вакцин (СССР, Франция). ED₅₀ тканевых культур (вакцин) равняется 5,21—16,50 мг.

спинномозговая вакцина; авианизированная и тканевая вакцины; содержание вируса в вакцине; эффективность у морских свинок; эффективность у мышей; определение ED₅₀

ČUPERA Z. (Institute for State Control of Biopreparations and Drugs, Brno, Department of Biopreparations, Ivanovice na Hané, Czechoslovakia). *Immunogenic Activity of Vaccines against Rabies*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 207-214, 1975.

The effectiveness of cerebrospinal avianized and tissue vaccines against rabies produced in Czechoslovakia was compared with that of some foreign vaccines. At the same time, the results obtained were compared with the international standard — vaccine obtained on request from the World Health Organization. The following methods were used for the determination of effectiveness: determination of the content of virus in vaccine in mice, effectiveness test in guinea-pigs — Koprowski, effectiveness test and ED₅₀ determination in mice — our modification of Nazarov's method. The effectiveness of the Czechoslovak cerebrospinal vaccine was very good. The results were the same as in the case of the foreign vaccines (Soviet, Bulgarian) and the international standard vaccine used for comparison. The ED₅₀ determined in these vaccines ranged from 2.49 mg to 8.0 mg. The avianized Czechoslovak vaccine showed higher effectiveness of foreign vaccines (Holland, Spain, Algeria). The immunogenicity index was 0.87—1.14. For the time being, tissue vaccines are produced in testing series in Czechoslovakia; nevertheless, they gave the same results as foreign vaccines (Soviet, French). The ED₅₀ of tissue vaccines was found to range from 5.21 mg to 16.50 mg.

cerebrospinal vaccine; avianized and tissue vaccine; virus content in vaccine; effectiveness on guinea-pigs; effectiveness on mice; ED₅₀ determination

ČUPERA Z. (Institut für staatliche Kontrolle der Veterinärbiopreparate und -medikamente in Brno, Abteilung Biopreparate, Ivanovice na Hané, Tschechoslowakei). *Immunogene Aktivität der Antitollwut-Vakzinen*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 207-214, 1975.

Es wurde die Wirksamkeit zerebrospinaler, avianisierter und Gewebvakzinen gegen die Tollwut, die in der ČSSR erzeugt werden, mit einigen ausländischen Vakzinen verglichen. Die erreichten Resultate wurden gleichzeitig mit dem internationalen Standard, d. h. einer von der Weltgesundheitsorganisation erlangten Vakzine verglichen. Zur Bestimmung der Wirksamkeit wurden folgende Methoden benutzt: Bestimmung des Virusgehalts der Vakzine bei Mäusen, Prüfung der Wirksamkeit bei Meerschweinchen, Koprowski-Test, Prüfung der Wirksamkeit und ED₅₀-Bestimmung bei Mäusen und schließlich unsere Modifikation der Nazarov-Methode. Der Effekt der tschechoslowakischen zerebrospinalen Vakzine war ein sehr guter. Bei Vergleich zu ausländischen Vakzinen (SSSR, Bulgarien) und zu der internationalen Standardvakzine wurden gleiche Resultate erzielt. Das ED₅₀ dieser Vakzinen betrug 2,49 mg—8,0 mg. Bei der tschechoslowakischen avianisierten Vakzine wurde ein höherer Effekt als bei den ausländischen Vakzinen (Holland, Spanien, Algerien) festgestellt, der Immunogenitätsindex betrug 0,87—1,14. Die Gewebvakzinen werden in der ČSSR vorläufig in Kontrollserien erzeugt. Trotzdem aber wurden dieselben Resultate wie bei den ausländischen Vakzinen (SSSR, Frankreich) erzielt. Das ED₅₀ der Gewebvakzinen betrug 5,21 mg—16,50 mg

zerebrospinale Vakzine; avianisierte und Gewebvakzine; Virusgehalt der Vakzine; Effekt auf Meerschweinchen; Effekt auf Mäuse; ED₅₀-Bestimmung

Adresa autora:

MVDr. Z. Čupera, Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, 683 23 Ivanovice na Hané

KLINICKÉ VYŠETŘENÍ KRVE SRNČÍ ZVĚŘE (*CAPREOLUS CAPREOLUS* L.) A DANČÍ ZVĚŘE (*DAMA DAMA* L.) PŘIROZENĚ INVADOVANÉ PARAZITY

J. Páv, D. Zajíček, M. Dvořák

Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Zbraslav n. Vlt.

Ústřední státní veterinární ústav, Praha

Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva, Jílové u Prahy

PÁV J., ZAJÍČEK D., DVOŘÁK M. *Klinické vyšetření krve srnčí zvěře (*Capreolus capreolus* L.) a dančí zvěře (*Dama dama* L.) přirozeně invadované parazity.* Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 215-221, 1975.

U pěti kusů srnčí zvěře (*Capreolus capreolus* L.) a u jedenácti kusů dančí zvěře (*Dama dama* L.) obojího pohlaví a v různém stáří, ulovených v několika oborech v Čechách v průběhu dvou let při podzimních a zimních odstřelech, byly zjišťovány v krvi počet erytrocytů, leukocytů, obsah hemoglobinu, hodnoty hematokritu, MCV, MCH, MCHC, bílého krevního obrazu, celkového proteinu, jeho frakcí (albumin α -, β - a γ -globulin), aktivity SGOT, SGPT, alkalické fosfatázy a hladiny vápníku, fosforu a hořčíku. Vyšetřovali jsme krev odebranou ze srdce krátce po ulovení zvěře a výsledky jsme hodnotili ve vztahu k přirozeným polyvalentním invazím cizopasníků druhu *Capreolus capreoli*, *Bicaulus sagittatus*, *Dictyocaulus viviparus*, *Paramphistomum* sp. *Haemonchus contortus*, *Ostertagia circumcincta*, *O. ostertagi*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Bunostomum trigonocephalum*, *Nematodirus filicollis*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum columbianum*, *Trichocephalus ovis*, *Eimeria auburnensis*, *E. faurei* a *E. ninaekohlyakimovae*, vyskytující se u jednotlivých kusů vyšetřené zvěře v různé intenzitě a druhovém složení.

srnčí zvěř (*Capreolus capreolus* L.); dančí zvěř (*Dama dama* L.); polyvalentní invaze parazitů; hematologie; krevní sérum; celkový protein; proteinové frakce; aminotransferázy (SGOT, SGPT); alkalická fosfatáza; minerálie v séru (Ca, P, Mg)

Cílevědomé myslivecké hospodaření v chovu spárkaté zvěře v oborech i ve volnosti umožňuje rozšiřovat základní znalosti z její fyziologie. U srnčí zvěře (*Capreolus capreolus* L.) sledovali hematologické hodnoty Valentinčíč (1970), Valentinčíč, Dolzan (1971) ve vztahu k invazím žaludečních a střevních trichostrongylidů a Drescher — Kadenová, Hoppe (1972, 1973), kteří zjištěné parazitální invaze blíže nespecifikovali. Foreyt, Trainer (1970) sledovali hladinu hemoglobinu, hematokritu a celkového sérového proteinu při experimentální haemonchóze viržinských jelenů (*Odocoileus virginianus*), Pujman (1970), Pujman, Hanušová (1970) stanovili hematologické hodnoty u jelena (*Cervus elaphus* L.) ve vztahu k působení chlorprothixenu, Zajíček aj. (1973) sledovali vybrané hodnoty biochemického vyšetření a hematologie ve vztahu k přirozeným helmintózám mufloní zvěře.

V příspěvku se zabýváme vybranými hodnotami vyšetření krve a krevního séra u srnčí (*C. capreolus* L.) a dančí (*Dama dama* L.) zvěře přirozeně invadované plicními a gastrointestinálními cizopasníky.

MATERIÁL A METODA

Hodnoty jsme sledovali celkem u 11 kusů dančí zvěře (*Dama dama* L.) a u 5 kusů srnčí zvěře (*Capreolus capreolus* L.) v různém stáří ulovené v různých oborech v letech 1972 a 1973. Krev jsme odebírali ze srdce dlouhou injekční jehlou a injekční stříkačkou co nejdříve po ulovení. K hematologickému vyšetření jsme krev konzervovali Komplexonem-III. Pro výpočet erytrocytů a leukocytů jsme použili baničkové metody, hemoglobin jsme stanovovali cyanhemoglobinovou metodou, hematokritové hodnoty metodou Wintrobovou a diferenciální rozpočet bílých krvinek (200) v krevních roztěrech barvených podle Wrighta (polychromatické barvení Calbiochem AG.), MCV, MCH a MCHC jsme vypočítali podle platných vzorců.

Krevní sérum jsme získávali ustátím při teplotě do 18 °C. Po oddělení krevního séra jsme je slili do nové zkumavky a nejpozději do 24 hodin po odběru jsme stanovovali aktivitu SGOT (EC 2. 6. 1. 1.) a SGPT (EC 2. 6. 1. 1.) kolorimetricky podle Reitmana a Frankela v modifikaci Bergmayera a Bernta (1962), aktivitu alkalické fosfatázy kolorimetricky (Dzúrik, 1967), celkový protein refraktometricky, jednotlivé frakce bílkovin elektroforézou na papíře vyhodnocením příslušných hodnot na ERI 65 (Zeiss, Jena), vápník titrací podle metody Homolky (1971), fosfor fotometricky na spektrofotometru Eppendorf podle metody Homolky (1971) a hořčík fotometricky mikrometodou podle Mattenheimerova (1966). Ke statistickému vyhodnocení jsme použili *t* — testu.

Ze stejně označených vývrhů sledované zvěře jsme hodnotili intenzitu invazí plicních, jaterních a gastrointestinálních cizopasníků helmintologickou pitvou podle Skrjabina, intenzitu nálezů oocyst kokcií v seškrabech ze sliznice tenkého a tlustého střeva a z trusu koprologickým vyšetřením metodou podle Wetzela (1951) při použití Brezova flotačního roztoku (hodnoty E. P. G. — Eggs per gram; O. P. G. — Oocysts per gram).

VÝSLEDKY

Podle výsledků helmintologických pitev jsme zjišťovali u srnčí zvěře (*Capreolus capreolus* L.) nematody druhu *Capreocaulus capreoli*, *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Ostertagia circumcincta*, *Bunostomum trigonocephalum*, *Chabertia ovina*, *Trichocephalus ovis* a oocysty kokcií *Eimeria auburnensis*, *E. faurei* a *E. ninaekohlyakimovae*; u dančí zvěře (*Dama dama* L.) nematody druhu *Dictyocaulus viviparus*, *Bicaulus sagittatus*, *Paramphistomum* sp., *Ostertagia circumcincta*, *O. ostertagi*, *Nematodirus filicollis*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum columbianum* a kokcie *Eimeria ninaekohlyakimovae*. U srnce (stáří 5 r.) jsme hodnotili intenzitu invaze podle koprologického nálezu vajíček helmintů a oocyst kokcií, protože krev byla odebrána intravitam z *vena jugularis* při transportu.

Přehled výsledků parazitologického, hematologického i biochemického vyšetření je uveden u srnčí zvěře v tab. I a u dančí zvěře v tab. II. Výsledky vyšetření srnčí zvěře jsou seřazeny podle jednotlivých kusů ve vzestupném sledu stáří, u dančí zvěře jsou seřazeny podle věkových skupin (stáří 1—2 r., 4—5 r., 7—8). Každá skupina je uzavřena průměrnými hodnotami s vyjádřením standardní odchylky ($\pm$).

II. Hodnoty klinického vyšetření krve dančí zvěře (*Dama dama* L.) různého stáří přirozeně invadované cizopasníky

		♀ 1 r.	♀ 2 r.	♂ 2 r.	♂ 1 r.	♀ 1 r.	Průměrné hodnoty SD ±	♀ 4 r.	♀ 5 r.	♀ 4 r.	♀ 5 r.	Průměrné hodnoty SD ±	♀ 7 r.	♀ 8 r.	Průměr	Celkové průměrné hodnoty SD ±
Erythrocyty	10 ⁶	12,21	7,41	12,13	11,32	10,14	10,64 ± 2,00	9,15	11,50	8,13	10,67	9,86 ± 1,53	9,33	9,59	9,46	10,14 ± 1,61
Hemoglobin	g%	14,00	12,60	9,40	17,20	14,00	13,44 ± 2,81	13,00	16,30	19,00	14,50	15,70 ± 2,58	20,70	14,80	17,75	15,05 ± 3,11
Hematokrit	Vol%	37,70	45,10	23,00	53,36	39,56	39,74 ± 11,18	41,40	50,60	55,70	52,44	50,04 ± 6,07	65,30	46,92	56,11	46,46 ± 11,15
MCV	μ ³	30,88	60,86	18,96	47,11	39,01	39,36 ± 15,90	45,25	44,00	68,51	49,15	51,82 ± 11,36	69,99	48,93	59,46	47,55 ± 21,37
MCH	pg	11,47	17,00	7,75	15,19	13,81	13,04 ± 3,60	14,21	14,17	23,37	13,59	16,54 ± 4,56	22,19	15,48	18,81	15,36 ± 4,40
MCHC	%	37,14	27,90	40,87	32,23	35,39	34,71 ± 4,88	31,40	32,21	34,11	27,65	31,34 ± 2,74	31,70	31,54	31,62	32,92 ± 3,86
Leukocyty	10 ³	1,80	0,40	2,70	2,90	0,60	1,68 ± 1,15	1,40	4,80	1,70	1,30	2,30 ± 1,67	0,80	1,90	1,35	1,85 ± 1,25
Neutrofilní	%	39,08	28,90	32,82	37,99	39,32	35,62 ± 4,60	42,65	29,17	31,87	27,50	32,80 ± 6,79	28,24	28,65	28,45	33,29 ± 5,46
Eosinofilní	%	2,52	0,92	10,69	11,73	1,71	5,51 ± 5,24	0,98	0,46	1,10	5,70	2,06 ± 2,44	1,76	4,68	3,22	3,84 ± 3,99
Bazofilní	%	1,26	0,92	4,58	1,12	0,85	1,75 ± 1,58	0,49	0,93	1,10	5,06	1,90 ± 2,11	0,59	9,36	4,98	2,39 ± 2,80
Lymfocyty	%	56,30	67,89	51,98	46,93	52,99	55,22 ± 7,82	54,41	68,06	64,29	55,70	60,62 ± 6,56	68,82	56,14	62,48	58,50 ± 7,50
Monocyty	%	0,84	1,38	—	2,23	5,13	2,40 ± 1,90	1,47	1,39	1,65	5,70	2,55 ± 2,10	0,59	1,17	0,88	1,96 ± 1,80
Celkový protein	g%	4,28	4,03	6,25	4,03	4,03	4,52 ± 0,99	4,22	4,03	4,03	4,03	4,08 ± 0,14	4,22	4,22	4,22	4,31 ± 0,62
Albuminy	%	49,00	53,00	53,00	53,00	53,00	52,22 ± 1,78	43,00	49,00	49,00	49,00	47,50 ± 3,00	43,00	48,82	43,00	48,82 ± 4,11
α-globulin	%	8,00	6,00	6,00	11,00	6,00	7,40 ± 2,19	8,00	6,00	6,00	6,00	6,50 ± 1,00	8,00	8,00	8,00	7,18 ± 1,61
β-globulin	%	18,00	19,00	19,00	16,00	19,00	18,20 ± 1,30	21,00	12,00	12,00	12,00	14,25 ± 4,50	21,00	21,00	21,00	17,27 ± 3,70
γ-globulin	%	35,00	22,00	22,00	20,00	22,00	24,20 ± 6,09	28,00	33,00	33,00	33,00	31,75 ± 2,50	28,00	28,00	28,00	27,64 ± 5,40
S G O T	μM/ml/hod/37 °C	5,53	4,89	5,72	3,65	6,33	5,22 ± 1,04	5,75	3,52	8,10	3,80	5,29 ± 2,12	5,13	7,54	6,34	5,45 ± 1,50
S G P T	μM/ml/hod/37 °C	3,13	2,44	3,96	1,85	2,22	2,72 ± 0,83	2,06	2,01	2,81	2,06	2,24 ± 0,33	2,54	2,04	2,29	2,47 ± 0,60
Vápník (Ca)	mg%	10,60	9,33	10,68	10,68	8,16	9,89 ± 1,12	8,08	7,64	9,02	10,87	8,90 ± 1,45	7,31	10,29	8,80	9,33 ± 1,38
Fosfor (P)	mg%	4,40	4,44	5,45	5,45	5,35	5,02 ± 0,51	10,08	6,80	9,16	4,71	7,69 ± 2,30	8,52	5,55	7,04	6,85 ± 0,44
Hofčík (Mg)	mg%	2,57	3,74	5,70	5,70	6,00	4,74 ± 1,51	—	1,98	3,15	7,70	4,28 ± 3,01	2,45	5,10	3,78	4,41 ± 1,89
Stav krevního séra (hemolýza)						±					±					
Parazitologický nález (pítevní):		O. o. 47 Ch. o. 38	O. c. 3 Oes. 4	D. v. 2 B. s. 7	B. s. 11 N. f. 5	D. v. 5 O. c. 12		O. c. 73	Orgány neúplně Plice neg.	O. c. 4	O. c. 3 Ch. o. 3		P. sp. Oes. E. nky.	4 O. o. 7	5	

Vysvětlivky zkratk parazitologických nálezů:
D. v. — *Dictyocaulus viviparus*

B. s. — *Bicaulus sagittatus*
P. sp. — *Paramphistomum spec.*

O. c. — *Ostertagia circumcincta*
O. o. — *Ostertagia ostertagi*

N. f. — *Nematodirus filicollis*
Ch. o. — *Chabertia ovina*

Oes. — *Oesophagostomum columbianum*
E. nky. — *Eimeria ninakohlyakimovae*

I. Hodnoty klinického vyšetření krve srnčí zvěře (*Capreolus capreolus* L.) různého stáří přirozeně invadované cizopasníky

		♀ 1 r.	♀ 1 r.	♂ 3 r.	♀ 3 r.	♂ 5 r.	Průměrné hodnoty SD ±
Erytrocyty	10 ⁶	8,84 ^{1/2}	8,82	9,43	7,95	14,24	9,76 ± 2,59
Hemoglobin	g%	16,25	13,40	16,50	18,50	20,60	17,05 2,50
Hematokrit	Vol %	45,08	46,00	43,24	36,80	47,20	43,66 4,15
MCV	μ ³	51,00	52,15	45,85	46,29	36,03	46,26 6,39
MCH	pg	18,38	15,19	17,50	23,27	14,47	17,76 3,45
MCHC	%	36,05	29,13	36,16	50,27	40,16	38,75 24,61
Leukocyty	10 ³	8,30	2,60	3,30	3,30	3,90	4,28 2,08
Neutrofilní	%	24,83	25,60	29,17	34,14	37,98	30,34 5,66
Eozinofilní	%	2,68	3,20	1,39	8,76	0,78	3,36 3,17
Bazofilní	%	2,68	1,60	1,39	1,51	0,78	1,59 0,69
Lymfocyty	%	69,13	69,60	67,34	51,06	58,14	63,05 8,19
Monocyty	%	0,67	—	0,69	4,53	2,33	2,06 1,81
Celkový protein	g%	4,41	4,22	4,22	4,03	4,22	4,22 0,14
Albuminy	%	33,00	42,00	39,00	49,00	42,00	41,00 5,78
α-globuliny	%	10,00	7,00	5,00	5,00	7,00	6,80 2,04
β-globulin	%	34,00	20,00	24,00	20,00	20,00	23,60 6,06
γ-globulin	%	23,00	31,00	32,00	26,00	31,00	28,60 3,91
S G O T	μM/ml/hod/37 °C	—	9,64	8,78	7,79	10,51	9,18 1,16
S G P T	μM/ml/hod/37 °C	—	4,99	4,76	3,56	5,09	4,60 0,70
Alkalická fosfatáza	K. A. j.	—	—	—	—	9,77	—
Vápník (Ca)	mg%	7,86	9,22	10,29	10,19	8,46	9,22 1,10
Fosfor (P)	mg%	6,10	6,30	5,75	6,00	10,80	6,99 2,14
Hořčík (Mg)	mg%	4,95	6,00	5,60	5,55	4,95	5,30 0,52
Stav krevního séra (hemolýza)		++	++	+	+	+	
Parazitologický nálezu:		T. c. 92 O. c. 527 T. o. 2 Ch. o. 22	C. c. 12 Ch. o. 130 E. a. ++ E. f. ++	O. c. 75 Ch. o. 6	C. c. 14 O. c. 114 Ch. o. 9 E. a. ++	Koprol. H. c. 396 B. t. 198 O. sp. 55 Ch. 198 Oe. 32 T. 165 T. o. 66 E. nky +++	

Vysvětlivky zkratk parazitologických nálezů:

C. c. — *Capreocaulus capreoli*

T. c. — *Trichostrongylus colubriformis*

H. c. — *Haemonchus contortus*

O. c. — *Ostertagia circumcincta*

B. t. — *Bunostomum trigonocephalum*

Ch. o. — *Chabertia ovina*

T. o. — *Trichocephalus ovis*

E. a. — *Eimeria auburnensis*

E. f. — *E. faurei*

E. nky. — *E. ninaekoblyakimovae*

Oba druhy sledované spárkaté zvěře (*Capreolus capreolus* L. a *Dama dama* L.) náleží zoologicky mezi převýkavce jelenovité a vlivem svého způsobu života a obývaného prostředí mají až na malé výjimky shodnou parazitofaunu s ostatními převýkavci (Ryšavý, 1954; Erhardová, Kotrlý, 1955; Kotrlý, 1958; Ryšavý, Prokopič, 1958; Tománek, 1967). Vzhledem ke stáří zvěře a k zimnímu období, v němž se vyšetřovalo, považujeme intenzitu zjištěných polyvalentních invazí za slabou až středně silnou s nevýraznými chronickými příznaky onemocnění.

Znalosti o fyziologii srnčí zvěře jsou prozatím kusé a u dančí zvěře vůbec chybějí, pravděpodobně proto, že se velmi obtížně získává materiál k vyšetření. Abychom měli určitá a alespoň vzdáleně porovnatelná kritéria, srovnávali jsme zjištěné hodnoty s dosud známými hodnotami u domácích převýkavců (koza, ovce a skot) podle údajů Christopha a Meyera (1965), kromě autorů, kteří se touto problematikou přímo zabývali.

Podle výsledků hematologického vyšetření 13 kusů srnčí zvěře obojího pohlaví a různého stáří uvádějí Drescher — Kadenová a Hoppe (1972, 1973) následující hodnoty: erytrocyty 11,63 (10,28—12,97) $\cdot 10^6$, hemoglobin 17,42 (14,09—20,75) g %, hematokrit 42,5 (32—53) %, průměr erytrocytu 5,28 (4,95—5,61) μ , MCH 14,77 (12,73—16,8) pg, leukocyty 1,87 (0,82—2,92) $\cdot 10^3$, neutrofilní leukocyty 39,85 (36,4—43,3) %, eozinofilní 8,9 (4,4—13,4) %, bazofilní 0,95 (0,5—1,4) %, lymfocyty 47,4 (40,6—54,2) % a monocyty 0,85 (0,3—1,4) %. Oba autoři neuvádějí bližší stav parazitární invaze, pouze ji konstatují. Námi zjištěné hodnoty se celkově pohybovaly v uváděných mezích.

Valentinčič a Dolzan (1971) zhodnotili výsledky hematologického vyšetření u 53 kusů srnčí zvěře. Ve srovnání s průměrnými hodnotami u zdravé srnčí zvěře některé naše průměrné hodnoty z celého souboru (tab. I) jsou o málo nižší, např. celkový počet erytrocytů (Valentinčič, Dolzan, 1971 — 10,1 $\cdot 10^6$), hodnoty hematokritu (52,7 %), MCV (52,2 μ^3), MCHC (17,4 %), počet leukocytů (6,1 $\cdot 10^3$), neutrofilních leukocytů (35,26 %) a monocytů (1,27 %). Námi zjištěné hodnoty byly však vyšší než stejné hodnoty u skupiny srnčí zvěře trpící průjmovým onemocněním při masivní invazi gastrointestinálních cizopasníků a u skupiny experimentálně invadované larvami trichostrongylidů (Valentinčič, Dolzan, 1971). U obou mladých srnek ve stáří jednoho roku s dosti masivními invazemi helmintů a kokcií (viz. tab. I — ♀ 1 r., — ♀ 1 r.), jejichž intenzita nálezů dosáhla u *E. auburnensis* a *E. faurei* 1650 O. P. G. (oocysts per gram), odpovídaly námi zjištěné hodnoty údajům Valentinčiče a Dolzana (1971), stanovené při experimentálních invazích trichostrongylidy. U starší zvěře byly hodnoty shodné s hodnotami u zdravých kusů uváděných týmiž autory. Hematologické hodnoty srnčí zvěře se celkově více blíží základním fyziologickým hodnotám u koz než u ovcí.

Valentinčič, Dolzan (1971) uvádějí u zdravé srnčí zvěře následující hodnoty bílkovinných frakcí: pro zvěř ve stáří jeden rok albuminy 40 %, α -globulin 11,76 %, β -globulin 20,04 % a γ -globulin 28,2 %, pro zvěř ve stáří tři roky albuminy 51,06 %, α -globulin 9,83 %, β -globulin 14,69 %, γ -globulin 24,42 %. Námi zjištěné průměrné hodnoty u roční zvěře jsou nižší u albuminu a α -globulinu, vyšší u β -globulinu a téměř shodné u γ -globulinu; u tříleté zvěře byly průměrné hodnoty nižší u albuminu, α -globulinu a vyšší u β - a γ -globulinu.

Hodnoty SGOT, SGPT, alkalické fosfatázy, vápníku, fosforu a hořčíku nebyly zatím u srnčí zvěře sledovány. Ve srovnání s malými domácími přežvýkavci zjišťovali jsme u srnčí zvěře vyšší hodnoty u SGOT, SGPT a hořčíku; u alkalické fosfatázy, vápníku a fosforu se pohybovaly v rozmezí udávané fyziologické tolerance pro domácí přežvýkavce.

U dančí zvěře stojící fylogeneticky blíže jelenům jsme porovnávali získané údaje s výsledky Pujmana a Hanušové (1970), Drescher-Kadenové a Hoppeho (1972, 1973), Foreyta a Trainera (1970). V porovnání hodnot pro laně (Pujman, Hanušová, 1970) má dančí zvěř nižší průměrný počet erytrocytů ($-12,4 \cdot 10^6$), hodnoty hemoglobinu ($-19,5 \text{ g\%}$), počtu leukocytů ($-2,4 \cdot 10^3$) a hematokritu (50 %). Nižší hodnoty hematokritu byly zjištěny jen u malých zvířat do dvou roků stáří, u starších věkových skupin byly hodnoty hematokritu vyrovnané. Hodnoty leukogramu jsou u dančí zvěře vyšší než u laně. Ve srovnání s výchozími hematologickými hodnotami jelenů viržinských (*Odocoileus virginianus*) podle údajů Foreyta a Trainera (1970) má dančí zvěř nižší obsah hemoglobinu (O. v. $-20,3 \text{ g\%}$), hodnoty hematokritu (O. v. $-54-55 \text{ \%}$) a celkový obsah sérového proteinu (O. v. $-7,8-7,9 \text{ g\%}$).

Ve srovnání s hodnotami skotu jsme u všech kategorií vyšetřené dančí zvěře zjistili nižší hodnoty celkového proteinu, vyšší hodnoty aktivity SGOT i SGPT. Hodnoty bílkovinných frakcí, vápníku, fosforu a hořčíku se pohybovaly ve fyziologickém rozmezí.

Vzhledem k nízké intenzitě parazitárních invazí u dančí zvěře můžeme považovat uvedené údaje za základní fyziologické hodnoty pro jednotlivé věkové skupiny. U srnčí zvěře je nutno přihlídnout ke stupni intenzity invaze ve vztahu ke stáří zvěře. Vzhledem k tomu, že oba druhy zvěře jsou loveny většinou v klidovém stavu, můžeme opomenout stressový stav zvířat lovených při nahánkách.

Literatura

- BERGMAYER, H. V. — BERNT, E.: Methoden der enzymatischen Analyse. Weinheim, Floss., 1962.
- DRESCHER-KADEN, U. — HOPPE, P.: Vergleichende hämatologische Untersuchungen an wildlebenden Wiederkäuern (Rehe, Rotwild, Gamsen, Rentiere). 1. Mitteilung: Erythrozytenzahl, Erythrozytendurchmesser, Hämoglobingehalt und Hämatokrit. Z. Jagdwissensch., 18, 1972, s. 121-132.
- DRESCHER-KADEN, U. — HOPPE, P.: Vergleichende hämatologische Untersuchungen an wildlebenden Wiederkäuern (Rehe, Rotwild, Gamsen, Rentiere). 2. Mitteilung: Das weiße Blutbild (Zahl der gesamten und der eosinophilen Leukozyten, Differentialblutbild. Z. Jagdwissensch., 19, 1973, s. 65-76.
- DZÚRIK, R.: Enzymológia. Obzor, Bratislava, 1967, s. 154-155.
- ERHARDOVÁ, B. — KOTRLÝ, A.: Cizopasní červi zažívacího ústrojí našich volně žijících přežvýkavců. Čs. Parasit., 1955, č. 2, s. 41-68.
- FOREYT, W. — TRAINER, D. O.: Experimental haemonchosis in white-tailed deer. J. Wildlife Dis., 1970, č. 6, s. 35-42.
- HOMOLKA, J.: Klinické biochemické vyšetřovací metody. Avicenum, Praha, 1971, s. 181-194.
- HOŘEJŠÍ, J. — FASSATI, M. — JÍCHA, J. — KANDRÁČ, M. — MAŠEK, K. — MIČALEC, Č. — SLAVÍK, K.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. Stát. zdrav. nakl., Praha, 1964, 693 s.

- CHRISTOPH, J. M. — MEYER, H.: Arbeitsmethoden des Laboratoriums in der Veterinärmedizin. Klinisches Laboratorium. Hirzel Verlag, Leipzig, 1965.
- KOTRLÝ, A.: Plicní helmintofauna spárkaté zvěře v ČSR. Čs. Parasit., 1958, č. 5, s. 101-110.
- MATTENHEIMER, H.: Mikromethoden für das klinisch-chemische und biochemische Laboratorium. Walter de Gruyter and Co., Berlin, 1966, s. 86-87.
- PUJMAN, V.: Vliv chlorprothixenu na krevní obraz laně. Biologizace Chem. Výž. Zvíř., 1970, č. 4, s. 375-379.
- PUJMAN, V. — HANUŠOVÁ, D.: Über kurzfristige Veränderungen des Blutbildes bei Hirschkuh und Fasan nach der Injektion von Chlorprothixen. Folia Haematol., 93, 1970, s. 273-276.
- RYŠAVÝ, B. — PROKOPIČ, J.: Některé poznatky o helmintofauně lovné zvěře a volně žijících zvířat obory v Topolčiankách. Bilógia, 13, 1958, s. 496-501.
- TOMÁNEK, J.: Příspěvek k poznání helmintofauny srnčí zvěře Severomoravského kraje. Vet. Med. (Praha), 1967, č. 12, s. 739-744.
- VALENTINČIČ, S.: Beitrag zur Kenntniss des normalen Blutbildes beim Reh und seiner Änderungen durch Wurmbefall. Tag. Berl. dt. Akad. Landwirtsch.-Wiss. Berlin, 113, 1970, s. 245-255.
- VALENTINČIČ, S. — DOLZAN, J.: Das normale Blutbild beim Reh und dessen Änderungen unter der Einwirkung der Magentrichostromyloiden. Actes du X^e Congrès, Paris, 3—7 mai 1971, s. 411-424.
- WETZEL, R.: Verbesserte McMaster-Kammer zum Auszählen von Wurmeiern. Tierärztl. Umsch., 1951, č. 6, s. 209-210.
- ZAJÍČEK, D. — PÁV, J. — DANĚK, J. — DVOŘÁK, M. — MÁROVÁ, M.: Hematologické a některé biochemické hodnoty krevního séra muflonů přirozeně invadovaných parazity. Vet. Med. (Praha), 18, č. 2, s. 95-102.

Došlo dne 22. 7. 1974

ПАВ Й., ЗАЙИЧЕК Д., ДВОРЖАК М. (Научно-исследовательский институт лесного и охотничьего хозяйства, Збраслав н. Влт., Центральный государственный вет. институт, Прага, Научно-исследовательский институт по биофакторам и ветмедикаментам, Йилове у Праги, Чехословакия). Клиническое обследование крови косули (*Capreolus capreolus* L.) и лани (*Dama dama* L.), естественно зараженных паразитами. Vet. Med. (Praha) 20 (4): 215-221, 1975.

У пяти косуль (*Capreolus capreolus* L.) и 11 ланей (*Dama dama* L.) обоего пола и разного возраста, пойманных в некоторых лесах в Чехии в течение двух лет при осеннем и зимнем отстреле, определялось в крови число эритроцитов, лейкоцитов, содержание гемоглобина, значения гематокрита, MCV, MCH, MCHC, белая картина крови, общий протеин, его фракции (альбумин, α -, β - и γ -глобулин), активности SCOT, SCPT, щелочные фосфатазы и уровни кальция, фосфора и магния. Нами обследовалась отобранная кровь из сердца вскоре после улова животного; результаты обрабатывались по отношению к естественному поливалентному заражению паразитами вида: *Capreolus capreoli*, *Bicaulus sagittatus*, *Dictyocaulus viviparus*, *Paramphistomum* sp., *Haemonchus contortus*, *Ostertagia circumcincta*, *O. ostertagi*, *Trichostromyloides colubriformis*, *Bunostomum trigonocephalum*, *Nematodirus filicollis*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum columbianum*, *Trichocephalus ovis*, *Eimeria auburnensis*, *E. faurei*, *E. ninaekohlyakimovae*, встречающихся у отдельных голов обследуемых животных в разной интенсивности и видного состава.

косуля (*Capreolus capreolus* L.); лань (*Dama dama* L.); поливалентная инвазия паразитов; гематология; кровяная сыворотка; общий протеин; протеиновые фракции; аминокислоты (SCOT, SCPT); щелочная фосфатаза; минеральные вещества в сыворотке (Ca, P, Mg)

PÁV J., ZAJÍČEK D., DVORÁK M. (Research Institute of Forestry and Game Management, Zbraslav nad Vltavou, Central State Veterinary Institute, Praha, Research Institutes for Biofactors and Veterinary Drugs, Jílové u Prahy, Czechoslovakia). *Clinical Examination of the Blood of Roe-Deer (Capreolus capreolus L.) and Fallow Deer (Dama dama L.) Naturally Invaded by Parasites*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 215-221, 1975.

Roe-deer (*Capreolus capreolus* L. — five animals) and fallow deer (*Dama dama* L. — eleven animals) of both sexes and at different age were subject to blood examination. The deer were killed in several preserves in Bohemia during autumn and winter shootings in two years. The following blood values were determined: erythrocyte count, leucocyte count, hemoglobin content, hematocrit values, MCV, MCH, MCHC, white blood picture, total protein, its fractions (albumin, α -, β - and γ -globulin) SGOT, SGPT, and alkaline phosphatase activities, and calcium, phosphorus, and magnesium levels. Examinations were performed in the blood collected from heart soon after the killing of the animals and the results were evaluated in relation to natural polyvalent invasions by parasites of the following species: *Bicaulus sagittatus*, *Dictyocaulus viviparus*, *Paramphistomum* sp., *Haemonchus contortus*, *Ostertagia circumcincta*, *O. ostertagi*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Bunostomum trigonocephalum*, *Nematodirus filicollis*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum columbianum*, *Trichocephalus ovis*, *Eimeria auburnensis*, *E. faurei*, and *E. ninaekohlyakimovae*, occurring in different intensities and species composition in individual animals of the deer tested.

roe-deer; (*Capreolus capreolus* L.); fallow deer (*Dama dama* L.); polyvalent parasite invasions; hematology; blood serum; total protein; protein fractions; aminotransferases (SGOT, SGPT); alkaline phosphatase; minerals in serum (Ca, P, Mg)

PÁV J., ZAJÍČEK D., DVORÁK M. (Forschungsinstitut für Forstwirtschaft und Jagdwesen, Zbraslav nad Vltavou; Staatliches Zentralinstitut für Veterinärmedizin, Praha; Forschungsinstitut für Biofaktoren und veterinäre Medikamente, Jílové u Prahy, Tschechoslowakei). *Klinische Untersuchungen des Blutes von auf natürliche Weise mit Parasiten invadiertem Rehwild (Capreolus capreolus L.) und Damwild (Dama dama L.)*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 215-221, 1975.

Bei fünf Stück Rehwild (*Capreolus capreolus* L.) und 11 Stück Damwild (*Dama dama* L.) beiderlei Geschlechts und unterschiedlichen Alters, das in einigen Gehegen in Böhmen während zwei Jahren bei den Herbst- und Winterabschüssen erlegt wurde, wurde im Blut die Erythrozyten- und Leukozytenanzahl, der Hämoglobingehalt, die Werte des Hämatokrits, des MCV, des MCH, des MCHC, des weißen Blutbilds, des Gesamtproteins und dessen Fraktionen (Albumin, α -, β -, und γ -Globulin) der SGOT, der SGPT und der Alkaliphosphatase sowie der Kalzium-Phosphor- und Magnesiumspiegel ermittelt. Wir untersuchten das kurz nach Erbeutung des Wildes aus dem Herz entnommenen Blut und die Ergebnisse bewerteten wir in bezug auf die natürlichen polyvalenten Invasionen der Parasiten bei *Capreolus capreolus*, und zwar *Bicaulus sagittatus*, *Dictyocaulus viviparus*; *Paramphistomum* sp., *Haemonchus contortus*, *Ostertagia circumcincta*, *O. ostertagi*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Bunostomum trigonocephalum*, *Nematodirus filicollis*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum columbianum*, *Trichocephalus ovis*, *Eimeria auburnensis*, *E. faurei* und *E. ninaekohlyakimovae*. Diese Parasiten traten bei den einzelnen untersuchten Tieren in verschiedener Intensität und verschiedenen Arten auf.

Rehwild (*Capreolus capreolus* L.); Damwild (*Dama dama* L.); polyvalente Parasiteninvasion; Hämatologie; Blutserum; Gesamtprotein; Proteinfractionen; Aminotransferasen (SGOT, SGPT); Alkaliphosphatase; Mineralstoffe im Serum (Ca, P, Mg)

Adresa autorů:

MVDr. J. Páv, Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, 255 80 Zbraslav n. Vlt.

MVDr. D. Zajíček, CSc., Ústřední státní veterinární ústav, 165 03 Praha 6 - Lysoň

RNDr. M. Dvořák, Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva, 254 01 Jílové u Prahy

Výběr z přírůstků
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI
z úseku veterinární medicína

Uvedené publikace je možné si zapůjčit osobně nebo písemně v ÚZLK, výpůjční oddělení, 120 56 Praha 2, Slezská 7. Výpůjční doba: pondělí až pátek od 9 do 18 hodin. U každé žádané publikace uveďte signaturu.

D 61.814/2

Parazyty, parazity a šljachy jich likvidaciji. Vypusk 2. Kyjiv, Naukova dumka 1973. 191 s. obr. tab. (Veterinární parasitologie — sborník — SSSR — USSR)

D 58.119/3

Izotopes and eradiation in parasitology 3. Vienna, IAEA 1973. 206 s. obr. tab. (Mezinárodní agentura pro atomovou energii — konference o využití radioisotopů a záření v parasitologii — 1971 — sborník mezinárodní)

E 36.124

Dikrocelioza po selskostopanskite životni. Sofija, Izd. na Bălgarskata akademija na naukite 1973. 119 s. 29 obr. (Motolice — cizopasnici — hospodářská zvířata — příručka)

ALLEN, R. W.

D 39.169/604

The biology of Thysanosoma actinioides (Cestoda: Anoplocephalidae) a parasite of domestic and wild ruminants. Las Cruces (New Mexico), Agric. exp. station 1973. 68 s. 27 obr. 17 tab. Bulletin 604. (Přežvýkavci — cizopasnici — Thysanosoma actinioides — výzkum — USA)

GEBELHOFF, E.

E 32.333/834

Der Einfluß von Zeckeninfestationen mit Boophilus decoloratus (Koch, 1844) und Hyalomma anatolicum excavatum (Pomerantzev, 1946) auf das Blutbild des Kalbes. Inaug.-Diss. d. Freien Univ. Berlin. Berlin, Inst. für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin 1973. 53 s. obr. tab. (Telata — krevní obraz — cizopasnici — Boophilus decoloratus — vliv — výzkum / Hyalomma anatolicum excavatum — cizopasnici — telata — krevní obraz — vztahy — výzkum — NSR — disertační práce)

GIORDIS, H.

C 17.756/166

Parasitism in pastured and feedlot cattle. Athens (Georgia), Coll. of agric. exp. stations 1973. 22 s. obr. Research report 166. (Skot — pastva — cizopasnici — výzkum — USA)

C 21.541/35

Coccidiose bei Geflügel. Antwerpen, Whitmoyer products N. V. (1973). 12 s. obr. tab. Technical review 35. (Kokcidiosa — drůbež)

VZTAH KONCENTRACE KYSELINY CITRÓNOVÉ K NĚKTERÝM UKAZATELŮM KVALITY EJAKULÁTU HŘEBCE

O. Čermák

Střední zemědělská technická škola, Boskovice

CERMÁK O. *Vztah koncentrace kyseliny citrónové k některým ukazatelům kvality ejakulátu hřebce.* Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 223-226, 1975.

V práci je popsán vztah kyseliny citrónové k dalším chemickým a biologickým ukazatelům fertility hřebčího spermatu. Byl zjištěn kladný vztah kyseliny citrónové k hustotě a pohyblivosti spermií, ke koncentraci ergothioneinu a hemolytické aktivitě a záporný vztah k pH a polarografické aktivitě bílkovin. Je poukázáno na významnou nutriční funkci kyseliny citrónové.

kyselina citrónová; ergothionein; polarografická aktivita; hemolytická aktivita; korelace

Vztah mezi chemickou skladbou a fyziologickými vlastnostmi koňského spermatu byl studován několika autory již v padesátých letech. Tak L a z a r s k á (1954) se pokusila určit vztah mezi pH a objemem, pohyblivostí a hustotou spermatu. Závislost se jí nepodařilo určit, stejně jako o rok později P ě č n i k o v o v i (1955). S z u m o w s k i a S t o e b e r (1955) si všímali bílkovin semenné plazmy a zjistili, že jejich elektroforetická analýza může sloužit jako indikátor fertilitních vlastností spermatu. M a r d e n a W e r t h e s s e n (1956) a W e r t h e s s e n a j. (1957) se zabývali studiem neproteinových sulfhydrylových skupin v hřebčím spermatu a zjistili jejich pozitivní korelaci k plodnosti spermatu. Podle M a n n a a j. (1956) jsou charakteristickými komponenty hřebčího spermatu kyselina citrónová a ergothionein, jež souvisejí s androgenní aktivitou podobně jako například fruktóza u býků a jako takové podléhají i sezónním změnám. Uvedení autoři pozorovali jejich pokles od února do června a vzestup v druhé polovině roku. Tyto změny souhlasily se sezónními změnami v koncentraci spermií. Průměrný obsah kyseliny citrónové ve spermatu se pohybuje okolo 26 mg % a ergothioneinu 7 mg % (C o l e a C u p p s, 1969). Cílem našich pokusů bylo zjistit, zda existuje vztah mezi koncentrací kyseliny citrónové a některými dalšími biologickými a chemickými vlastnostmi spermatu.

MATERIAL A METODA

K pokusům jsme používali sperma 14 plemenných hřebců (8 polokrevníků lehkého rázu a 6 pony), které jsme odebírali ve tří- až čtrnáctidenních intervalech v období od října do dubna. Po odběru bylo vyšetřeno na pohyblivost,

hustotu, pH a byl stanoven objem jeho spermatické a gelové frakce. Z chemických zkoušek jsme stanovovali koncentraci kyseliny citrónové podle Specka aj. (1946), ergothioneinu podle Huntera (1949) (s tou výjimkou, že místo kalibrační křivky čistého ergothioneinu, který jsme neměli k dispozici, jsme na fotokolorimetru odečítali propustnost v procentech při vlnové délce 425 nm a odečítali ji od 100; výsledek jsme používali jako relativní ukazatel koncentrace ergothioneinu), polarografickou aktivitu bílkovin modifikovanou reakcí Brdičkovou (Heyrovský a Zuman, 1953) a hemolytickou aktivitu podle Masakiho aj. (1965). Z vypočtených korelačních koeficientů jsme odvozovali vztah kyseliny citrónové k ergothioneinu a dalším studovaným vlastnostem spermatu.

VÝSLEDKY

Z tab. I je patrná kladná korelace mezi koncentrací kyseliny citrónové v ejakulátu a mezi pohyblivostí, hustotou spermií, koncentrací ergothioneinu a hemolytickou aktivitou spermatu. Vysokou zápornou korelaci jsme zjistili mezi obsahem kyseliny citrónové a pH, střední zápornou korelaci mezi kyselinou citrónovou a polarografickou aktivitou bílkovin.

I. Vztah mezi koncentrací kyseliny citrónové a některými ukazateli kvality ejakulátu

Kyselina citrónová mg% od do (prům. hodnoty)	Objem			Pohyblivost %	Hustota tis.	pH	Ergothionein A_{425nm}	Polarografická aktivita – výška křivky mm	Hemolytická aktivita – extinkce fotometru	Počet měření
	spermatické frakce ml	gelové frakce ml	celkem ml							
0–5 (2,0)	35,4	12,1	47,5	51	176	—	14	—	0,61	40
6–12 (9,0)	46,0	7,1	53,1	69	228	8,1	31	72	0,88	23
11–15 (13,5)	34,8	9,8	44,6	64	202	8,0	41	58	0,89	28
16–20 (17,5)	30,2	4,3	34,5	68	232	8,1	38	61	1,25	22
21–25 (24,1)	38,0	0	38,0	64	230	8,0	41	65	1,48	8
26 a více (38,0)	38,4	20,0	58,4	67	253	7,3	37	58	1,05	12
r =	–0,03	0,30	0,22	0,63	0,85	–0,93	0,64	–0,54	0,61	celkem 133
P	—	—	—	0,05	0,001	0,001	0,05	—	0,05	

DISKUSE

Naše pozorování jsou ve shodě s údaji Manna aj. (1956) o vztahu koncentrace kyseliny citrónové a ergothioneinu k hustotě spermií. Rovněž kladná korelace kyseliny citrónové k ergothioneinu nasvědčuje, že jejich vylučování do spermatu je zřejmě řízeno jedním faktorem. O hemolytickém faktoru, který má podle četných autorů povahu enzymu, lze říci totéž. Že stoupající obsah kyseliny citrónové působí pokles pH, potvrzují i naše dřívější pozorování u spermatu býčím (dosud nepublikováno). Mírný záporný vztah k polarografické aktivitě spermatu nasvědčuje tomu, že při vyšší hustotě spermií dochází k poklesu polarograficky aktivních bílkovin, ať už jejich přímou spotřebou spermie, či jejich nižším podílem ve spermatu. Stimulační vliv kyseliny citrónové na pohyblivost spermií zřejmě ukazuje, že kyselina citrónová je jednak významným faktorem nutričním, jednak že její zjištěné koncentrace ještě nesnižují motilitu spermií za normálních fyziologických podmínek. Teprve její dodatečné přidávání, jak je známo z technologie konzervace spermatu, uvádí spermie do anabiózy.

Literatura

- COLE, H. H. — CUPPS, P. T.: Reproduction in domestic animals. New York, London, 1969.
- HEYROVSKÝ, J. — ZUMAN, P.: Úvod do praktické polarografie. ČSAV Praha, 1953.
- HUNTER, 1949, cit. MANN.: The Biochemistry of Semen. New York, 1964.
- LAZARSKA, B.: Uspolzelalznosc miedzy skladem chemicznych a niektórymi własnościami fiziologicznymi nasienia ogiera. Roczn. Nauk rol., Ser. B, 68, 1954, s. 465-473.
- MANN, T. — LEONE, E. — POLGE, C.: The composition of the stallion's semen. J. Endocr., 13, 1956, s. 279-290.
- MARDEN, W. — WERTHESSEN, U. T.: Influence of seminal fluid on sperm motility. Fert. Steril., 1956, č. 7, s. 508-525.
- MASAKI, J. — TOMIZUKA, T. — HIROE, K.: Occurrence and distribution of hemolytic agents in bull semen. Bull. of Nation. Inst. of Anim. Industry, 1965, č. 8, s. 41-45.
- PEČNIKOV, P. P.: Fiziko-chimičeskije svojstva semeni žerebca. Vop. fiziol. rozmnož. lošaděj. Selchozgir., 1955, s. 74-134.
- SPECK aj., 1964, cit. MANN, T.: The Biochemistry of Semen. New York, 1964.
- SZUMOWSKI, P. — STOEBER, M.: Sur les proteines du plasma séminal du cheval. Annls. Zootech., 1955, č. 4, s. 165-171.
- WERTHESSEN, N. T. — MARDEN, W. — HAAG, F. — GOLDZIEHER, J. W.: The influence of seminal fluid on fertility. Proc. Soc. Stud. Fertil., 1957, č. 8, s. 42-52.

Došlo dne 5. 2. 1974

ЧЕРМАК О. (Сельскохозяйственный техникум, Босковице, Чехословакия). О значении лимонной кислоты в лошадиной сперме. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 223-226, 1975.

В работе описано отношение лимонной кислоты к некоторым химическим и биологическим показателям фертильности спермы жеребцов. Установлено положительное отношение между лимонной кислотой, густотой и подвижностью сперматозоидов, концентрацией эрготионеина и гемолитической активностью, а также отрицательное отношение этой кислоты к pH и полярографической активности белков. Показана важная питательная функция лимонной кислоты.

лимонная кислота; эрготионеин; полярографическая активность; гемолитическая активность; корреляция

CERMAK O. (Secondary Agricultural Technical School, Boskovice, Czechoslovakia). *On the Importance of Citric Acid in Horse Sperm*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 223-226, 1975.

The paper describes the relation of citric acid to other chemical and biological indices of the fertility of stallion sperm. A positive relation was found between citric acid and the density and motility of spermatozoa, to the concentration of ergothioneine, and hemolytic activity, and a negative relation to pH and to the polarographic activity of proteins. Attention is drawn to the important nutritional function of citric acid.

citric acid; ergothioneine; polarographic activity; hemolytic activity; correlations

CERMAK O. (Landwirtschaftliche technische Mittelschule, Boskovice, Tschechoslowakei). *Bedeutung der Zitronensäure im Pferdesperma*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 224-226, 1975.

In der vorliegenden Arbeit wird die Beziehung der Zitronensäure zu weiteren chemischen und biologischen Kennwerten der Hengstspermafertilität beschrieben. Es wurde eine positive Korrelation der Zitronensäure zur Spermiedichte und -motilität, zur Ergothioneinkonzentration und zur hämolytischen Aktivität sowie eine negative Korrelation zum pH und zur polarographischen Aktivität des Eiweißes festgestellt. Es wird auf die bedeutsame nutritionelle Funktion der Zitronensäure im Hengstsperma hingewiesen.

Zitronensäure; Ergothionein; polarographische Aktivität; hämolytische Aktivität; Korrelation

Adresa autora:

MVDr. O. Čermák, CSc., Střední zemědělská technická škola, 680 01 Boskovice

ABNORMALITY V STAVBE AKROZÓMU SPERMIE KÁČERA

M. Maretta

Vysoká škola veterinárska, Košice

MARETTA M. *Abnormality v stavbe akrozómu spermie káčera*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 227-230, 1975.

Elektrónmikroskopicky sme sledovali zmeny na štruktúrach akrozómu spermie káčera. Pozorovali sme zmeny v uložení akrozómového tŕňa v jadre, prítomnosť dvoch trňov. Na akrozómovej čiapke boli pozorované tvarové zmeny a prítomnosť iných štruktúr a vakuól v nej. Výrazné zmeny na akrozómovej čiapke a akrozómovom tŕni boli pozorované u spermii, ktorých jadro bolo silne tvarovo deformované.

abnormálne spermie; akrozóm; elektrónová mikroskopia; káčer

Výskyt abnormálnych spermii v ejakuláte samcov bol predmetom početných štúdií, či už vo svetelnej mikroskopii alebo v elektrónovej mikroskopii. Sledovalo sa jednak ich percento výskytu ako aj ich morfológické zvláštnosti. Použitie elektrónovej mikroskopie umožnilo detailnejšie všímať si ich štruktúrne zvláštnosti.

Pri spermii cicavcov boli opísané rôzne tvarové a štruktúrne abnormality akrozómu (Bane, 1961, Blom a Birch-Andersen, 1962, Bane a Nicander, 1966, Kaczmariski, 1972). Pri spermii hydiny tvarové a čiastočne i štruktúrne abnormality akrozómu, pozorované vo svetelnom mikroskope, opísali Wakely a Kosin (1951).

V našom príspevku prinášame opis štruktúrnych abnormalít akrozómu spermie káčera, ktoré sme pozorovali v semene zdravých káčerov zaradených do plemenitby.

MATERIAL A METÓDY

Semenó sme získavali od troch káčerov masážou a tiež po zabíí zo semenovodu. Semenó sme najprv mikroskopicky posúdili a potom fixovali v 3% glutaraldehyde vo fosfátovom pufri a 1% OsO₄ tiež vo fosfátovom pufri. Odvodnenie sme previedli v stúpajúcom rade acetónu alebo alkoholu, podľa zalievacieho média. Ako zalievacie médium sme použili Durcupan ACM a Epon 812 (Luft, 1961). Ultratenké rezy sme získavali na ultramikrotóme Tesla BS 490. Kontrastovanie sme robili podľa Reynolds a Watsona (1958). Takto ofarbené rezy sme prehliadali v elektrónovom mikroskope Tesla BS 613.

Akrozóm spermie káčera pozostáva z dvoch častí: akrozómového trňa a akrozómovej čiapky. Akrozómový trň je ihlicovitého tvaru a v dĺžke asi jednej tretiny je zasadený do invaginácie predného úseku hlavičky, zatiaľčo zbývajúca časť vyčnieva a je pokrytá akrozómovou čiapkou. Čiapka má tvar opačne postaveného „V“ a bázou zvonku nasadá na predný úsek hlavičky. Medzi akrozómovým trňom a akrozómovou čiapkou je uložený jemný granulárny materiál (obr. 1, 2). Detailnejšie sa jemnou stavbou akrozómu zaoberáme inde (Marretta, 1974).

Skladba akrozómu káčera, rovnako ako u ostatných druhov hydiny, je oproti spermiiam cicavcov značne odlišná, a preto i abnormality akrozómu sú odlišného charakteru. Pokiaľ ide o výskyt abnormalít u spermie káčera so zachovalým tvarom hlavičky, obidve akrozómové štruktúry patria medzi najstabilnejšie zložky spermie a zriedka môžeme na nich pozorovať štrukturálne zmeny. Vyskytujúce sa zmeny môžu pritom postihnúť akrozómový trň rovnako ako akrozómovú čiapku.

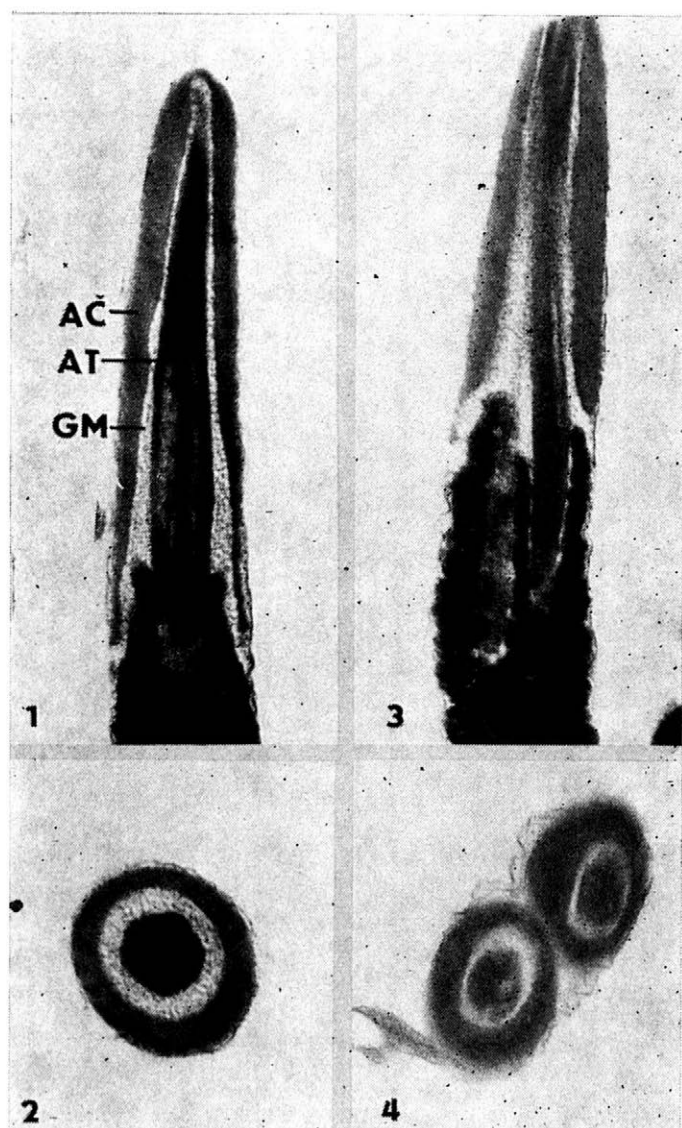
Z abnormalít akrozómového trňa sme u spermii káčera ojedinele nachádzali nepravidelné uloženie spomínaného útvaru. Táto abnormalita sa prejavuje jeho šikmým zasadením do jadra v mieste jeho normálneho uloženia. Niekedy je uvedená dislokácia tak veľká, že spodný koniec akrozómového trňa vyčnieva navonok z jadra (obr. 6). Jeho stavba i rozmery sú pritom zachované. Akrozómová čiapka je u takýchto spermii uložená zhodne so smerom akrozómového trňa, pričom si zachováva normálny tvar i stavbu. Okrem tejto zmeny na akrozómovom trni sme v ojedinelých prípadoch pozorovali prítomnosť dvoch trňov, pričom jeden bol plne vyvinutý, kým druhý bol zachovaný iba čiastočne (obr. 3). I v tomto prípade bola akrozómová čiapka vyvinutá normálne.

Oproti zmenám na akrozómovom trni sa abnormality akrozómovej čiapky vyskytujú o niečo častejšie. Vyplýva to z jej stavby ako i z povrchového uloženia, v dôsledku čoho býva častejšie postihovaná tvarovými zmenami. Zmeny tvaru akrozómovej čiapky sme pozorovali najmä u tých spermii, kde v oblasti čiapky boli prítomné iné štruktúry pri zadržaní časti cytoplazmy (obr. 8). Štrukturálne zmeny akrozómovej čiapky sa vyskytujú veľmi zriedka. V doterajšom štúdiu sme iba v jednom prípade pozorovali prítomnosť štruktúry okrúhleho tvaru v stene akrozómovej čiapky (obr. 5). Tento útvar je rovnakej elektronickej hustoty ako akrozómová čiapka a od okolia je oddelený svetlým dvorcom. Stena akrozómovej čiapky je pritom nepravidelne hrubá.

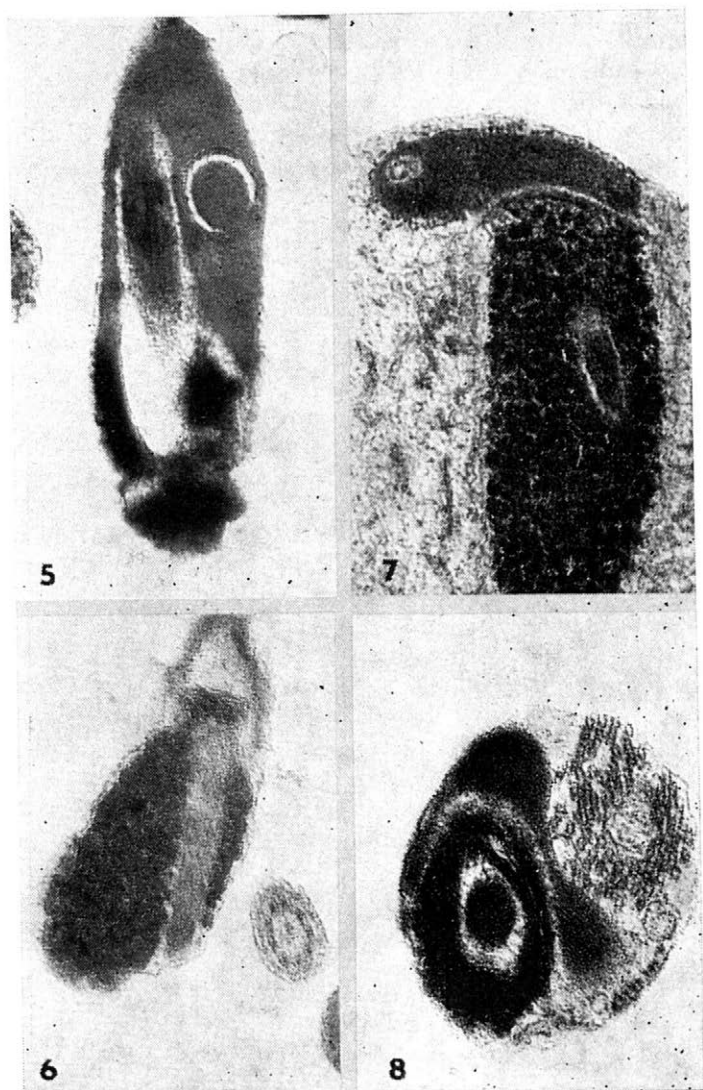
Výraznejšie tvarové abnormality akrozómu sme pozorovali u spermii s normálnym tvarom hlavičky, ale s neukončeným vývojom, kde boli často také defekty, ktoré majú charakter neukončeného vývoja akrozómu. Akrozómový trň u takýchto spermii môže, ale nemusí byť postihnutý, kým akrozómová čiapka býva vždy postihnutá. Táto má zvyčajne tvar klobúčika a môže byť naklonená na niektorú stranu (obr. 7). Jej celistvosť a tvar bývajú niekedy narušené prítomnosťou vakuól, alebo iných štruktúr vo vnútri.

Okrem už opísaných zmien na štruktúrach akrozómu sme pozorovali, aj keď ojedinele, dvojité akrozómy obalené do jednej cytoplazmatickej membrány. Obidva akrozómy majú pritom normálnu stavbu bez zjavného poškodenia (obr. 4).

Všetky doteraz nami opísané abnormality sme pozorovali na spermiiach so zachovalým tvarom hlavičky. Predpokladáme, že tieto abnormality, alebo aspoň



1. Pozdĺžný prierez akrozómom normálnej spermie. AT — akrozómový trň, AČ — akrozómová čiapka, GM — granulárny materiál. $\times 51\,500$
2. Priečny prierez akrozómom normálnej spermie. $\times 79\,000$
3. Pozdĺžný prierez akrozómom s dvoma akrozómovými trňami v jadre. $\times 43\,000$
4. Priečny prierez dvoma akrozómami obalenými jednou cytoplazmatickou membránou. $\times 49\,200$



5. Pozdĺžny prierez akrozómom. V akrozómovej čiapke sa nachádza okrúhly útvar. $\times 51\,600$

6. Šikmý prierez akrozómom so šikmo zasadeným akrozómovým tŕňom v jadre. $\times 51\,600$

7. Pozdĺžny prierez proximálnym úsekom hlavičky s nedostatočne kondenzovaným chromatinom. Akrozómová čiapka je stlačená na bok. Vo vnútri sa nachádza vakuóla. $\times 39\,500$

8. Šikmý prierez akrozómom, kde akrozómová čiapka je deformovaná prítomným zbytkom mikrotubúl. $\times 68\,800$

niektoré z nich, ako duplicita akrozómového trňa a prítomnosť dvoch akrozómov, sú sprievodným znakom diploidných spermií. Vychádzame pritom jednak z vlastných pozorovaní ako i zo zistení Zibrína (1971), ktorý u diploidných spermií býka pozoroval takmer pravidelne i zmeny na akrozóme. Pri tomto názore zotrvávame i napriek údajom Gledhilla (1965), že u diploidných spermií býka je prítomná iba jedna sada cytoplazmatických štruktúr včítane akrozómu. O štrukturálnych zmenách na akrozóme sa autor nezmieňuje.

Rozsiahle zmeny v stavbe i tvare akrozómu sme pozorovali u spermií s tvarovými zmenami hlavičky. Boli to prevažne hlavičky, u ktorých buď nepreběhla modelácia jadra do normálneho tvaru váľca aký je u normálnych spermií, alebo táto prebehla len čiastočne. U takýchto spermií vývoj akrozómu zastal v počiatočných formovaniach sa alebo došlo k formovaniu akrozómu, ale v abnormálnej podobe. Akrozómová čiapka i akrozómový trň boli vždy postihnuté, pričom výraznejšie zmeny sme pozorovali na akrozómovej čiapke.

Porovnávať nami opísané zmeny so zmenami akrozómu aké opísali u spermií cicavcov Bane (1961), Bane a Nicander (1966), Blom a Birch-Andersen (1962) a iní nemožno vzhľadom na odlišnosti v stavbe. Ich výskyt je u spermií hydiny oproti spermiám cicavcov menej častý, zato sa zdá, že je štrukturálne rozmanitejšie. Opísané zmeny nie je možné vo svetelnom mikroskope pozorovať. Preto je potrebné pri hodnotení morfológických vlastností spermie a vzhľadom na dôležitosť, ktorá sa akrozómu pri oplodnení pripisuje, uvedenú skutočnosť brať do úvahy.

Literatúra

- BANE, A.: Acrosomal abnormality associated with sterility in boar. Proc. VI-th Int. Cong. Anim. Reprod., The Hague, 1961, č., s. 810.
 BANE, A. — NICANDER, L.: Electron and light microscopical studies on spermateliosis in boar with acrosome abnormalities. J. Reprod. Fert., 1966, č. 11, s. 133-138.
 BLOM, E. — BIRCH-ANDERSEN, A.: Ultrastructure of the sterilizing „knobbed sperm“ defect in the bull. Nature, 194, 1962, s. 939.
 GLEDHILL, B. L.: Cytophotometry of presumed diploid bull spermatozoa. Nord. Vet. Med. 17, 1965, s. 328-335.
 KACZMARSKI, F.: Ultrastructural abnormalities of spermatozoan heads in two inbred strains of mice. Bull. Acad. Pol. Sci., 22, 1972, s. 103-106.
 LUFT, J. H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1961, č. 9, s. 409-414.
 MARETTA, M.: The ultrastructure of the spermatozoon of the drake. I. Head. Acta vet. Hung., 1974, v tlači.
 REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 17, 1963, s. 208-212.
 WAKELY, J. — KOSIN, I. L.: A study of the morphology of the turkey spermatozoa with special reference to the seasonal prevalence of abnormal types. Am. J. vet. Res., 1951, č. 12, s. 240-245.
 WATSON, M. L.: Staining of tissue for electron microscopy with heavy metals. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1958, č. 4, s. 475-478.
 ZIBRÍN, M.: Elektronmikroskopické štúdium defektov nukleoplazmy spermií býkov so zreteľom na ich vznik. [Kand. diz. práca.] VŠV Košice, 1970.

Došlo dne 14. 5. 1974

MARETTA M. (Veterinárny inštitút, Košice, Československo). Abnormalnosti строения акрозома спермы селезня. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 227-230, 1975.

Мы изучали электронно-микроскопическим путем изменения структур акрозома спермы селезня. Мы наблюдали изменения расположения акрозомального шипа в ядре, присутствие

двух шипов. На акрозомальной верхушке замечены изменения формы и наличие иных структур и вакуолей в ней. Отчетливые изменения акрозомальной верхушки и шипа замечены у тех сперматозоидов, ядро которых сильно деформировано.

абнормальные спермии; акрозом; электронная микроскопия; селезень

MARETTA M. (University School of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). *Abnormalities in the Acrosome Construction of Drake Spermatozoon*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 227-230, 1975.

Changes in the acrosome structure of drake spermatozoon were studied electron-microscopically. There were changes in the position of the acrosomal spine in the nucleus; the presence of two spines. The acrosome cap was observed to bear shape changes; other structure and vacuoles were present in the cap. Pronounced changes on acrosomal cap and acrosomal spine were observed in spermatozoa having nuclei with considerable shape deformations.

abnormal spermatozoa; acrosome; electron-microscopy; drake

MARETTA M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice, Tschechoslowakei). *Abnormalitäten in der Akrosomstruktur der Enterichspermie*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 227-230, 1975.

Mit Hilfe des Elektronenmikroskops verfolgten wir die Veränderungen in den Strukturen des Akrosoms der Enterichspermie. Wir stellten Veränderungen in der Lagerung des Akrosomdorns im Kern und die Gegenwart von zwei Dornen fest. An der Akrosomkappe wurden Formveränderungen und die Gegenwart anderer Strukturen und Vakuolen in derselben verzeichnet. Ausgeprägte Veränderungen in der Akrosomkappe und dem Akrosomdorn wurden bei Spermien beobachtet, deren Kern stark deformiert war.

abnormale Spermien; Akrosom; Elektronenmikroskopie; Enterich

Adresa autora:

MVDr. M. Marett, CSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 71, 041 81 Košice

SLEDOVÁNÍ RŮSTU CYSTOGENNÍ A PROLIFERATIVNÍ FORMY TOXOPLASMA GONDII NA PK BUŇKÁCH

M. Pejše, V. Roudná

Ustřední státní veterinární ústav, Praha-Lysolaje

PEJŠE M., ROUDNÁ V. Sledování růstu cystogenní a proliferativní formy *Toxoplasma gondii* na PK buňkách. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 231-237, 1975.

Imunofluorescenční technikou byla detekována cystogenní a proliferativní forma *T. gondii* na PK buňkách (epitel prasečích ledvin) rostoucích na krycích sklíčkách v Leightonových zkumavkách. Při inokulaci cystogenní formy byly toxoplazmy zjistitelné již druhý den po inokulaci jako jednotlivé kulovité buňky. Postupně se toxoplazmy začaly dělit a vznikaly kulovité útvary, obsahující stále více těsně nahloučených a pravidelně rozložených toxoplazem. Tyto útvary dosáhly po osmi dnech růstu velikosti 15 až 20 μ . Začaly se rozpadat v jednotlivé toxoplazmy, ze kterých se opět začaly vyvíjet zmíněné útvary, až se z nich vytvořily 22. den po inokulaci cysty *T. gondii*, které si zachovaly virulenci pro myš. Trofozoiti se množili intenzivněji a v preparátech se jeví jako jednotlivé volné toxoplazmy uspořádané v buňkách tkáně v podobě pseudocyst. Někteří však vytvářeli po sedmi dnech inkubace stejné útvary jako cystogenní formy. Zachovávali si virulenci pro myš ještě 42. den po inokulaci. Jejich účinek byl protrahovanější než před pasážováním na tkáňových kulturách. Popsaný modelový pokus naznačuje využití této metody pro rychlou diagnostiku toxoplazmózy, zejména cystogenní formy. Bude však nutné prověřit metodiku na materiálu ze spontánně infikovaných zvířat.

Toxoplasma gondii — cystogenní a proliferativní forma; kultivace na tkáňových kulturách; imunofluorescence

Při kultivaci *T. gondii* na tkáňových kulturách byly s úspěchem použity různé druhy buněk. Na příklad Guimarães a Meyer (1942) a Mühlpfordt (1952) kultivovali toxoplazmy na kuřecí embryonální tkáni, Holz a Albrecht (1953) na morčecí kostní dřevu. Schuhová (1957) použila buňky He-La k udržování dlouhodobé kultury proliferativní formy *T. gondii*. Franchi aj. (1968) srovnávali růst toxoplazem na buňkách z prasečích ledvin, z opičích ledvin a z králičího korneálního epitelu a nejlépe se jim osvědčily buňky z prasečích ledvin. Kaufman aj. (1959) a Matsubayashi a Akao (1963) zjistili, že proliferativní forma roste na tkáňových kulturách rychleji než forma cystogenní. Růst cystogenní formy *T. gondii* na krycích sklíčkách v Leightonových zkumavkách sledovali Bickford a Burnstein (1966), a to na Hep-2 buňkách (laringeální epiteliální karcinom). Toxoplazmy odečítali mikroskopicky v preparátech barvených hematoxylin-eosinem. Použitý kmen *T. gondii* vytvářel cysty v mozku pokusných bílých myší, ale zároveň vznikal u těchto zvířat během pěti až šesti dnů v dutině břišní

exsudát s jednotlivými volnými toxoplazmami. Tento exsudát pak byl použit k inokulaci tkání.

Účelem naší práce bylo zjistit na modelových pokusech, zda lze inokulovat na tkáňové kultury toxoplazmy přímo ve formě cyst a za jakou dobu jsou toxoplazmy detekovatelné v preparátech obarvených imunofluorescenční technikou. Dále jsme sledovali jejich růst a srovnávali s růstem proliferativní formy *T. gondii*.

MATERIÁL A METODY

TKÁŇOVÉ KULTURY

Kmen PK buněk (prasečí ledvinové buňky) byl kultivován na krycích sklíčkách v Leightonových zkuševkách. Jako inokulum byla použita suspenze obsahující 150 000 buněk v 1 ml. Do každé zkuševky bylo inokulováno 1,5 ml buněk resuspendovaných v Earlovu mediu obsahujícím 0,5 % laktalbumin hydrolyzátu, 10 % telecího séra a antibiotika. Kultury byly infikovány po 48 hodinách, kdy byl vytvořen na sklíčkách souvislý monolayer. Zároveň bylo kultivační medium nahrazeno mediem udržovacím, které na rozdíl od prvního obsahovalo pouze 5 % telecího séra. K další výměně media došlo za 12 hodin po infikování kultur a potom pravidelně dvakrát týdně. Leightonovy zkuševky byly inkubovány při 37 °C.

KMENY TOXOPLAZEM

- Kmen N-57/72 byl izolován ze svaloviny norka jako cystózní forma *T. gondii* a je udržován pasážemi na bílých myších, pro které je avirulentní.
- Proliferativní forma (trofozoiti) byl lidský kmen „P“ *T. gondii* získaný z ÚEM Praha. U bílých myší vytváří exsudát v dutině břišní a zabíjí je během pěti až šesti dnů. Je udržován pasážemi na bílých myších v tří až čtyřdenních intervalech.

INOKULACE TOXOPLAZEM

Jedna série Leightonových zkuševek byla infikována po 0,1 ml 5% suspenze mozku myši v udržovacím mediu, který obsahoval cysty kmene N-57/72 a druhá série po 0,1 ml neředěného exsudátu myši odebraného třetí den *p. i.*, který obsahoval trofozoity kmene ÚEM.

PŘÍPRAVA A ODEČÍTÁNÍ PREPARÁTŮ

Sklička s tkáňovými kulturami byla vyjímána z Leightonových zkuševek v určitých časových intervalech po inokulaci a byla barvena antitoxoplazmovým konjugátem (výrobek Biovety, n. p., Ivanovice na Hané) metodou podle Kramáře aj. (1966), a to s použitím Evansovy modře přímo v konjugátu. Preparáty jsme odečítali na sovětském fluorescenčním mikroskopu ML 2 s použitím excitačního filtru FS-1-2 ve spojení s filtry BS-2-2 a SZS-7-2 a zábranného filtru ŽS-18-2.

OVĚŘOVÁNÍ ŽIVOTNOSTI A VIRULENCE INOKULOVANÝCH KMENŮ

Medium z Leightonových zkuševek bylo vždy inokulováno dvěma toxoplazma-negativním myším (15–20 g) *i. p.* V případě, že myši uhynuly, byl exsudát vyšetřován fázovým kontrastem na přítomnost trofozoitů *T. gondii*. Myši,

které přežily, byly po měsíci utráceny a vyšetřeny mikroprecipitací v agaru (MPA) a komplement fixační reakcí (KFR) na přítomnost specifických protilátek a zároveň byly vyšetřeny mozky mikroskopicky na přítomnost cyst *T. gondii*.

VÝSLEDKY

Nálezy zjištěné v tkáňových kulturách imunofluorescenční technikou v jednotlivých dnech po inokulaci:

a) Kmen N-57/72 — cysty *T. gondii*

2. den: Ojedínělé jednotlivé toxoplazmy kulovitěho tvaru, roztroušené nepravidelně v buňkách tkáně.
3. den: Ojedínělé toxoplazmy typického půlměsíčkovitěho tvaru, a to ojedíněle nebo ve dvojicích, čtveřicích a osmicích. Tyto útvary se jeví jako pravidelné kulovité konfigurace s těsně nahloučenými a pravidelně rozloženými toxoplazmami. Jednotlivé útvary jsou rozloženy nepravidelně v buňkách tkáně.
4. den: Podobný obraz jako třetí den, ale větší počet útvarů; některé z nich obsahují až 16 toxoplazem. Počet větších útvarů převyšuje počet útvarů menších.
5. den: Podobný obraz jako čtvrtý den, ale buňky obsahující toxoplazmy tvoří podkovovité nebo prstencovité formace.
8. den: Převládají pravidelné kulovité útvary s velkým počtem toxoplazem velikosti 15 až 20 μ .
11. den: Ojedínělé útvary jako osmý den, zároveň však řada jednotlivých i dvojitých toxoplazem roztroušených ložiskovitě v buňkách.
15. den: Podobný obraz jako čtvrtý den.
22. den: Ojedínělé útvary jako osmý den, ale jsou obdány membránou; připomínají cysty *T. gondii* ve tkáních zvířat. Zároveň řada jednotlivých a dvojitých toxoplazem rozložených v buňkách tkáně. Bílé myši infikované *i. p.* médiem, které obsahovalo části tkáně se stejným nálezem jako v preparátu, reagovaly za čtyři týdny po infekci sérologicky pozitivně (MPA, KFR); v mozku byly zjištěny cysty *T. gondii*.
56. den: Toxoplazmy jednotlivě nebo v malých nepravidelných shlucích, vesměs kulovitěho tvaru. Biologický pokus na bílých myších negativní.

Během sledování vývoje cystogenní formy *T. gondii* byla celkově pozorována relativně malá destrukce tkáně.

b) Kmen „P“ ÚEM — trofozoiti *T. gondii*

2. den: Jednotlivé toxoplazmy nepravidelně roztroušeny v tkáni v poměrně velkém počtu, některé vytvářejí shluky.
3. a 4. den: Podobný obraz jako druhý den, pouze větší počet toxoplazem.
7. a 8. den: Podobný obraz jako čtvrtý den, navíc ojedínělé pravidelné útvary (16 toxoplazem) podobné jako u cystogenní formy.

42. den: Podobný obraz jako čtvrtý den, toxoplazmy však mají většinou kulovitý tvar, i když si některé zachovávají svůj charakteristický tvar. Mediem, obsahujícím části tkáně se stejným nálezem jako v preparátu, byly infikovány bílé myši. Ty desátý den *p. i.* uhynuly a v exsudátu byli zjištěni trofozoiti *T. gondii*.

Během sledování vývoje trofozoitů byla pozorována celkově mnohem větší destrukce tkáně než u cystogenní formy.

DISKUSE

Růst cystogenního kmene v buňkách tkáně probíhal od druhého až do osmého dne od jednotlivých toxoplazem kulovitěho tvaru (pravděpodobně znak adaptace toxoplazem ke tkáni) až po pravidelné kulovité útvary, velikosti 15–20 μ , s těsně nahloučenými a pravidelně rozloženými toxoplazmami. Podkovovité a prstencovité formace napadených buněk pravděpodobně vznikly tím, že buňky v centru těchto formací degenerovaly vlivem dřívější infekce. Podobné nálezy i závěry uvádějí Bickford a Burnstein (1966). Jedenáctý den nastává již rozpad zmíněných útvarů, o čemž svědčí ložiskovité rozložení jednotlivých i dvojitých toxoplazem v buňkách tkáně. Kdyby šlo o toxoplazmy vyvíjející se pomalu z primárního inokula, nebyly by rozloženy ložiskově, ale byly by roztroušeny nepravidelně po celé tkáni. Růst útvarů pokračoval až do 22. dne, kdy došlo k tvorbě cyst *T. gondii* a zároveň již začínal jejich opětovný rozpad. Lze usuzovat, že v první fázi svého růstu nebyl kmen ještě natolik adaptován na cizorodou tkáň, aby již v této etapě byl schopen tvořit cysty a že k tomu došlo až v druhé fázi jeho růstu. Kontrolní vyšetření 56. den ukázalo, že toxoplazmy byly v této době již degenerované a nebyly schopné se pomnožit v organismu myši.

Trofozoiti se z počátku množili pro ně charakteristickým způsobem. Docházelo u nich k neustálému úplnému dělení a jednotlivé toxoplazmy se hromadily v hostitelských buňkách v nepravidelných shlucích, takže vznikala pseudocysta tvořená stěnou buňky a jednotlivými toxoplazmami uvnitř buňky. V dalších dnech docházelo k prasknutí stěn pseudocyst a k napadání nových buněk jednotlivými toxoplazmami. Sedmý den po inokulaci začaly některé toxoplazmy vytvářet útvary charakteristické pro určité stadium cystogenních forem *T. gondii*. Kontrolní vyšetření 42. den ukázalo, že některé toxoplazmy si zachovaly svoji virulenci, protože pokusné myši podlehlly infekci, i když po delší době.

Podobně jako Kaufman aj. (1959) a Matsubayashi a Akao (1963) jsme zjistili rychlejší množení trofozoitů než cystogenních forem *T. gondii*. Zypen a Piekarski (1967) tuto skutečnost potvrzují a předpokládají, že existují mezi různými stadii *T. gondii*, to je mezi trofozoity, toxoplazmami v cystách (tzv. zoity) a zoity rozmnožujícími se po prasknutí cyst, fyziologické rozdíly, které jsou morfologicky těžko postihnutebné. Zjistili totiž při ultramikroskopickém sledování všech tří uvedených stadií *T. gondii*, že ultrastruktura trofozoitů je charakterizována složkami, které opodstatňují jejich vysokou aktivitu (velký počet ribozoitů, dobře vyvinuté endoplazmatické retikulum s velkými granulemi RNK, malý obsah glykogenu). Zoiti v cystách jsou naopak charakterizováni složkami svědčícími o jejich nízké aktivitě, kdežto zoiti uvolnění z cyst se svým charakterem blíží víc trofozoitům.

Tato pozorování by vysvětlovala, proč u některých kmenů dochází k rychlému množení a úplnému rozdělení mateřských toxoplazem v toxoplazmy dceřinné a u jiných k pomalejšímu množení s nedokonalým rozdělením buněk. Někdy dochází v organismu hostitele k přechodu proliferativních forem ve formy cystogenní a naopak. O příčinách, podmínkách a frekvenci přeměny těchto forem doposud málo známe. Možná, že k tomu dochází právě změnou zmíněných fyziologických vlastností jednotlivých kmenů, a to pravděpodobně vlivem vnějších podmínek. Náznaky přechodu z proliferativní formy ve formu cystogenní, kterou jsme pozorovali u kmene trofoozitů sedmý den po inokulaci, by mohly mít podobný původ.

Praktický význam pokusů spočívá v případné možnosti rychlé diagnostiky toxoplazem z infikovaného materiálu, a to zejména cystogenních forem *T. gondii*. Prozatím používaná diagnostika biologickým pokusem je zdoluhavá, protože cysty v mozku pokusných myší se odčítají až za tři až čtyři týdny po inokulaci suspektního materiálu, zatímco zmíněným způsobem lze diagnostikovat toxoplazmy v několika dnech. V této souvislosti se nám osvědčila imunofluorescenční technika, protože toxoplazmy jsou jí mnohem lépe detekovatelné než klasickými barvicími metodami. Imunofluorescence umožňuje diagnostikovat parazity v dané tkáni velmi brzy, a to dříve, než dojde k viditelnému cytopatickému efektu. Tkáňové buňky z prasečích ledvin se ukázaly vhodným substrátem pro kultivaci toxoplazem. Celou práci je však nutné hodnotit jako modelový pokus, který bude zapotřebí propracovat a prověřit na materiálu sponatánně infikovaných zvířat, u kterých množství cyst bývá většinou menší než u experimentálně infikovaných myší.

Literatura

- BICKFORDT, A. A. — BURNSTEIN, T.: Maintenance of *Toxoplasma gondii* in Monolayer Cultures of Human Epithelial (H. Ep.-2) Cells. Am. J. vet. Res., 27, 1966, s. 319-325.
- GUIMARÃES, F. N. — MEYER, H.: Cultivo de *Toxoplasma* Nicolle et Manceaux, 1909, em culturas de tecidos. Revta bras. Biol., 1942, č. 2, s. 123-129.
- HOLZ, J. — ALBRECHT, M.: Die Züchtung von *Toxoplasma gondii* in Zellkulturen. Z. Hyg. Infekt.-Kr., 136, 1953, s. 605-609.
- KAUFMAN, H. E. — MELTON, M. L. — REMINGTON, J. S. — JACOBS, L.: Strain differences of *Toxoplasma gondii*. J. Parasit., 45, 1959, s. 189-190.
- KRAMÁŘ, J. — ČERNÁ, Ž. — CHALUPSKÝ, J.: Důkaz toxoplazem v histologických řezech imunofluorescenční technikou. Čs. Epidem. Mikrobiol. Imunol., 15, 1966, s. 321-327.
- MATSUBAYASHI, H. — AKAO, S.: Morphological studies on the development of the *Toxoplasma* cysts. Am. J. trop. Med. Hyg., 1963, č. 12, s. 321-333.
- MÜHLFORDT, H.: Das Verhalten von *Toxoplasma gondii* (Stamm BK) in den Gewebekulturen. Z. Tropenmed. Parasit., 1952, č. 4, s. 53-63.
- SCHUHOVÁ, V.: Dlouhodobé kultury *Toxoplasma gondii* na He-La buňkách. Čs. Epidem. Mikrobiol. Imunol., 6, 1957, s. 9-11.
- ZYPEN, E. — PIEKARSKI, G.: Ultrastrukturelle Unterschiede zwischen der sog. Proliferationsform (RH-Stamm, BK-Stamm) und dem sog. Cysten-Stadium (DX-Stamm) von *Toxoplasma gondii*. Zentbl. Bakt., I. Abt. Orig., 203, 1967, s. 495-517.

Došlo dne 18. 2. 1974

ПЕЙШЕ М., РОУДНА В. (Центральный государственный ветеринарный институт, Прага, Чехословакия). Изучение роста цистогенной и пролиферативной формы *Toxoplasma gondii* у РК клеток. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 231-237, 1975.

Иммунофлуоресцентной техникой детектировалась цистогенная и пролиферативная форма *T. gondii* у РК клеток (эпителий свиных почек), растущих на предметных стеклышках в пробирках Лейттона. При инокуляции цистогенной формы токсоплазмы были установимы уже на второй же день после инокуляции, как отдельные шарообразные клетки. Постепенно токсоплазмы начали делиться и получались шарообразные формы, содержащие больше тесноскопленных и равномерно размещенных токсоплазм. Эти образования после восьмидневного роста достигли размера 15–20 μ . Начали делиться на отдельные токсоплазмы, из которых снова начали развиваться приведенные образования; на 22 день после инокуляции из них стали образовываться чистые *T. gondii*, которые сохранили вирулентность для мышей. Трофозоиты размножались интенсивнее и в препаратах вели себя как отдельные свободные токсоплазмы, собранные в клетках ткани в виде псевдоцист. Однако, некоторые после семи дней инкубации давали такие же образования, как и цистогенные формы. Они сохраняли вирулентность для мышей еще на 42 день после инокуляции. Их действие было более длительным, чем перед пассированием на тканевых культурах. Описанный модельный опыт свидетельствует об использовании этого метода для быстрой диагностики токсоплазмоза, в особенности цистогенной формы. Однако, необходимо будет проверить методику на материале из спонтанно инфицируемых животных.

Toxoplasma gondii — цистогенная и пролиферативная форма; культивация на тканевых культурах; иммунофлуоресценция

PEJŠE M., ROUDNÁ V. (Central State Veterinary Institute, Praha, Czechoslovakia). Investigation of the Growth of Cystogenous and Proliferous Forms of *Toxoplasma gondii* on PK Cells. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 231-237, 1975.

By means of immunofluorescent technique a cystogenous and proliferous form of *T. gondii* was detected on PK cells (the epithelium of pig kidneys), growing on cover glasses in Leighton test tubes. In the case of inoculation of the cystogenous form, the toxoplasmas were detectable, and already on the second day after inoculation as individual globular cells. Gradually the toxoplasmas began to separate and there arose globular formations containing increasingly more closely grouped and regularly separated toxoplasma. After eight days of growth these formations reached the size of 15–20 μ . They began to disintegrate into the individual toxoplasmas, from which the mentioned formations began to develop, until, on the 22nd day after inoculation, cysts of *T. gondii* formed, which retained their virulence for mice. The trophozoites multiplied more intensively and in the preparations, they appeared as individual free toxoplasmas arranged in the cells of the tissue in the form of pseudocysts. However, after seven days of incubation some of them formed the same formations as the cystogenous forms did. They retained their virulence for mice until the 42nd day after inoculation. Their effect was more protracted than it had been before the passaging on tissue cultures. The described model experiment indicates the possibility of utilization of this method for a speedy diagnosis of toxoplasmosis, especially of the cystogenous form. It will, however, be necessary to check the method with material from spontaneously infected animals.

Toxoplasma gondii — cystogenous and proliferous form; cultivation on tissue cultures; immunofluorescence

PEJŠE M., ROUDNÁ V. (Staatliches Zentralveterinärinstitut, Praha, Tschechoslowakei). Untersuchungen über das Wachstum der zystogenen und proliferativen *Toxoplasma-gondii*-Form auf PK-Zellen. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 231-237, 1975.

Hit Hilfe der Immunofluoreszenztechnik wurde die zystogene und proliferative Form von *T. gondii* auf PK-Zellen (Schweinenierenepithel), die auf Deckgläschen in Leightonschen Reagenzgläsern wächst, detektiert. Bei Inokulierung der zystogenen Form waren die Toxoplasmen bereits am zweiten Tag nach der Inokulation als einzelne kugelförmige Zellen feststellbar. Allmählich begannen die Toxoplasmen sich zu teilen und es bildeten sich kugelförmige Gebilde, die immer mehr dicht zusammengeballte und regelmäßig verteilte Toxoplasmen enthielten. Diese Gebilde erreichten nach sieben Tagen des Wuchses die Größe von 15 bis 20 μ . Diese zerfielen all-

mählich in einzelne Toxoplasmen, aus denen sich wiederum erwähnte Gebilde zu entwickeln begannen, bis sich schließlich am 22. Tag nach der Inokulation T.-gondii-Zysten bildeten, die die Virulenz für Mäuse behielten. Die Trophozoiten vermehrten sich intensiver und erschienen in den Präparaten als einzelne freie Toxoplasmen, die in den Gewebezellen in Form von Pseudozysten angeordnet waren. Einige aber bildeten nach siebentägiger Inkubation dieselben Gebilde wie die zystogenen Formen. Sie behielten die Virulenz für Mäuse noch am 42. Tag nach der Inokulation. Die Wirkung derselben war nachhaltiger als vor dem Passagieren auf Gewebekulturen. Der beschriebene Modellversuch deutet die Ausnutzbarkeit dieser Methode zur schnellen Diagnostik der Toxoplasmose, insbesondere der zystogenen Form an. Es wird aber die Überprüfung der Methodik am Material aus spontan infizierten Tieren nötig sein.

Toxoplasma gondii — zystogene und proliferative Form; Kultivierung auf Gewebekulturen; Immunofluoreszenz

Adresa autorů:

MVDr. M. Pejš e, RNDr. V. Roudná, Ústřední státní veterinární ústav, Sídliště, 165 03 Praha 6 - Lysolaje

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 5 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

budou uveřejněny následující články:

- Urbanová Z., Zahradníková M., Schovánek V., Polák L. a kol.: Účinek tylosinu u prasat
- Bartoš J., Habrda J.: Skiabaryum-Spofa v prevenci a léčbě průjmových onemocnění novorozených telat
- Herzig I., Věžník Z., Pospíšil Z., Paserin V.: Zhodnocení zdravotní nezávadnosti dřevoimpregnační látky Pentor 70
- Surynek J.: Aktivita lipázy v krevním séru telat při rozdílném typu krmení
- Paulov Š.: Účinky niklu na rast a pečeňové bielkoviny kačíc
- Bartoš S., Doležel F., Kölbl M.: Vliv katecholaminů na metabolismus glukózy a mastných kyselin u koz
- Matouch O., Návesník S.: Vyšetření a výskyt vztekliny na území ČSR v letech 1969 až 1973
- Adamec O., Košutský J., Ledeč M.: Vplyv lindanu na biologickú účinnosť estradiolu u kurčiat

VYUŽITÍ ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE K RYCHLÉ DIAGNOSTICE POXVIROVÉHO ONEMOCNĚNÍ (NEŠTOVIC) PRASAT

B. Šmíd, L. Valíček, J. Menšík

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

ŠMÍD B., VALÍČEK L., MENŠÍK J. *Využití elektronové mikroskopie k rychlé diagnostice poxvirového onemocnění (neštovic) prasat.* Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 239-243, 1975.

Pro rychlý průkaz prasečího poxviru v kůži přirozeně infikovaných prasat byla použita jednoduchá elektronové mikroskopická metoda negativního barvení. Výsledek byl ověřen nálezem intracytoplazmatických inkluzí v histologických řezech a průkazem virionů v ultratenkých řezech buňkami epidermis.

prasečí poxvirus; rychlá diagnostika; elektronová mikroskopie; negativní barvení; ultratenké řezy; histologie; intracytoplazmatické inkluze

Pro úspěšnou likvidaci některých virových onemocnění hospodářských zvířat i lidí je často rozhodující rychlá diagnostika, která je však limitována časovou i metodickou náročností technik užívaných při identifikaci viru. Při vývoji nových diagnostických virologických metod je proto snaha zrychlit, zjednodušit a zpřesnit diagnostiku. Poněvadž morfologie virů představuje jeden ze základních znaků sloužících k jejich skupinové klasifikaci, byl vývoj diagnostiky zaměřen i na elektronovou mikroskopii, využívanou jinak ve virologii, především ve výzkumu. Důsledkem bylo vypracování jednoduché a rychlé metody, která umožňuje využít elektronový mikroskop i v rutinní diagnostice (Cruickshank aj., 1966; Skalinsky a Borissovitch, 1966; Spradbrow a Francis, 1969; aj.). Tato rychlá a jednoduchá metoda využívá k uvolnění viru z infikovaných buněk jejich lýzy destilovanou vodou, kdežto dříve vyžadovala přípravu virové suspenze náročné koncentrační a purifikační postupy. Virus uvolněný lýzou je dále zpracováván metodou negativního barvení, zavedenou ve virologii již dříve (Brenner a Horne, 1959). Na základě zjištěné morfologie viru je pak možné v některých případech buď přímo stanovit diagnózu, nebo ji podstatně urychlit a usměrnit zařazením viru do určité klasifikační skupiny.

Cílem naší práce bylo ověřit si použitelnost uvedené metody při rychlé diagnostice hromadného kožního onemocnění prasat a získaný výsledek potvrdit dalšími, časově a metodicky náročnějšími metodami.

MATERIÁL A METODY

Selata. Materiál k laboratornímu vyšetření byl získán z kožních změn selat bílého ušlechtilého plemene ve stáří osm týdnů.

Negativní barvení. Použili jsme metodu, kterou popsali Mc Ferran aj. (1971). Z kožních změn byly odebrány malé kousky tkáně, které byly rozdrnceny a rozetřeny na podložní sklo. Po zaschnutí byla na roztěr nanесena kapka destilované vody a na ni byla přiložena nosná síťka potažená formvarovou blankou. Po jedné minutě byla síťka sejmuta a zbytek tekutiny na síťce byl odsát filtračním papírem. Po třicetiminutovém schnutí byla na síťku nanесena kapka 1% vodného roztoku kyseliny fosfowolframové (pH 6,8). Kapka barviva byla rychle odsáta a preparát byl ihned prohlížen v elektronovém mikroskopu.

Histologie. Excize papulopostulárních kožních změn byly fixovány v 10% formalínu a zhotovené parafinové řezy byly barveny hematoxylin-eosinem.

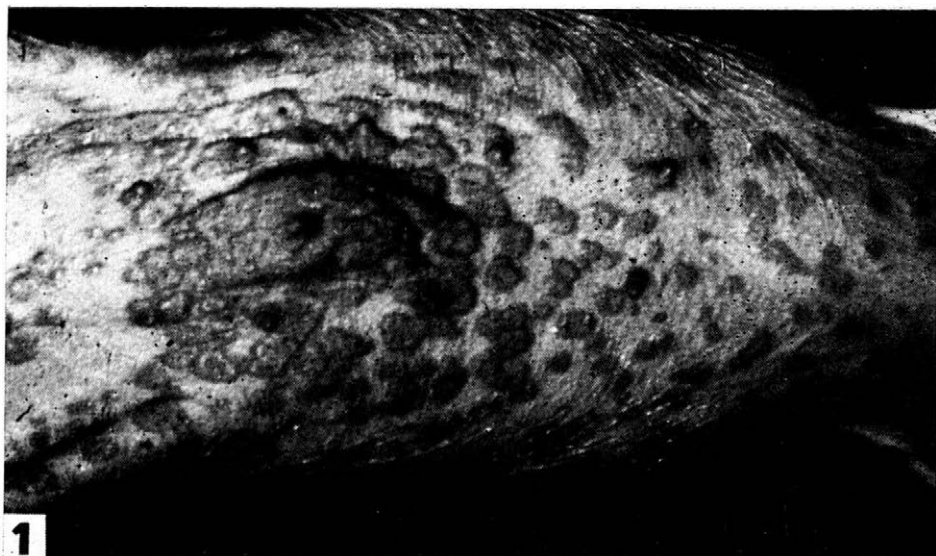
Ultratenké řezy. Z kožních změn fixovaných v 10% formalínu byly nakrájeny kousky tkáně velikosti asi 1 mm³ a po opláchnutí ve fosfátovém pufru pH 7,4 byly fixovány v 1% roztoku OsO₄ (Millonig, 1961) jednu hodinu při teplotě 4 °C. Po odvodnění v acetonu byly kousky tkáně zality do Viapalu a polymerovány 48 hodin při teplotě 60 °C. Ultratenké řezy byly zhotoveny skleněnými noži na ultramikrotomu Tesla BS 490 a kontrastovány 2% vodným roztokem uranylacetátu a roztokem citrátu olova (Reynolds, 1963).

K prohlížení i fotografování jsme použili elektronový mikroskop Tesla BS 513.

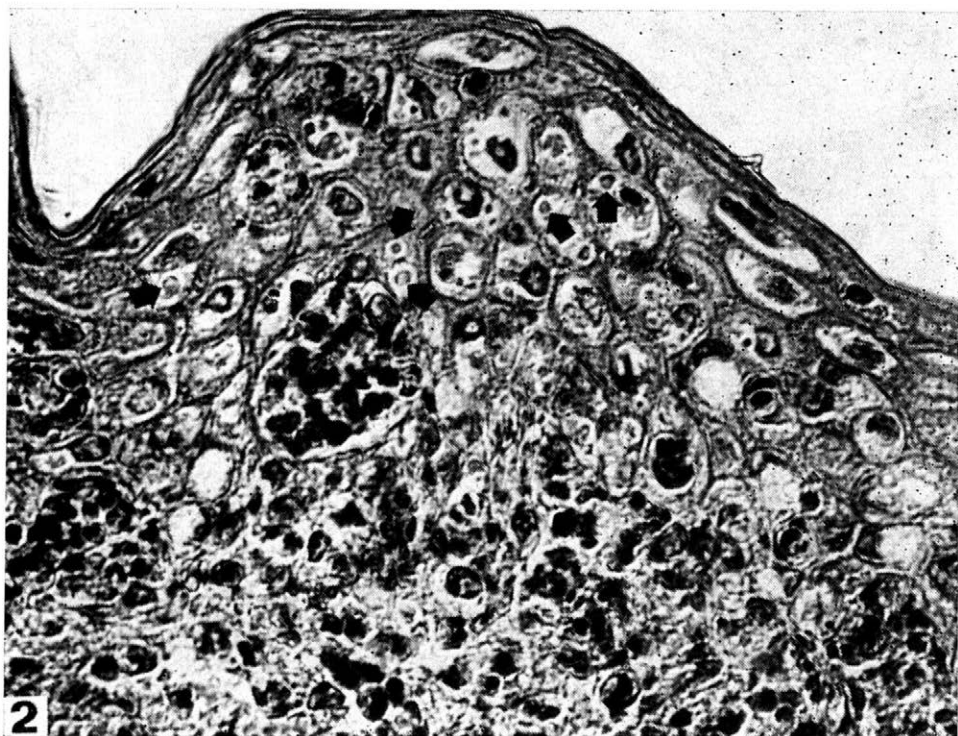
VÝSLEDKY

Klinické projevy onemocnění. V jednom porodním turnusu s 1400 selaty a odstávčaty se objevilo vedle bronchopneumonie, kolienteritidy a virové gastroenteritidy hromadné onemocnění připomínající neštovice prasat. Onemocněním byla postižena převážně selata po odstavu, 6 až 10 týdnů stará, ale v celé řadě vrhů byla nemocná již selata tří- až pětítýdenní. Ve většině případů probíhalo onemocnění ve formě generalizované infekce a méně rozsáhlé lokální změny byly spíše výjimkou. Vzhledem k tomu, že bylo současně postiženo asi 40 % vrhů, mohla být nákaza pozorována v různých stádiích a fázích svého vývoje. Na břiše a vnitřních plochách stehen, na hrudi, krku a na laterálních plochách trupu byly patrné malé, silně zarudlé skvrny, uprostřed nichž se vytvářely papulky velikosti prosa až hrášku (obr. 1). Tyto papulky se postupně zvětšovaly a měnily v hnisavé puchýřky žlutavě šedé barvy. Puchýřky praskaly a zasychaly v šedohnědé krusty, které byly ohraničeny valovitým okrajem. Po odloupenutí zůstaly nepigmentované dolíčky, které pak postupně mizely. Klinické příznaky onemocnění v různých stádiích vývoje byly zjišťovány po dobu 10 týdnů. Po odstavu všech selat a desinfekci porodny se v dalším turnuse nákaza již neobjevila.

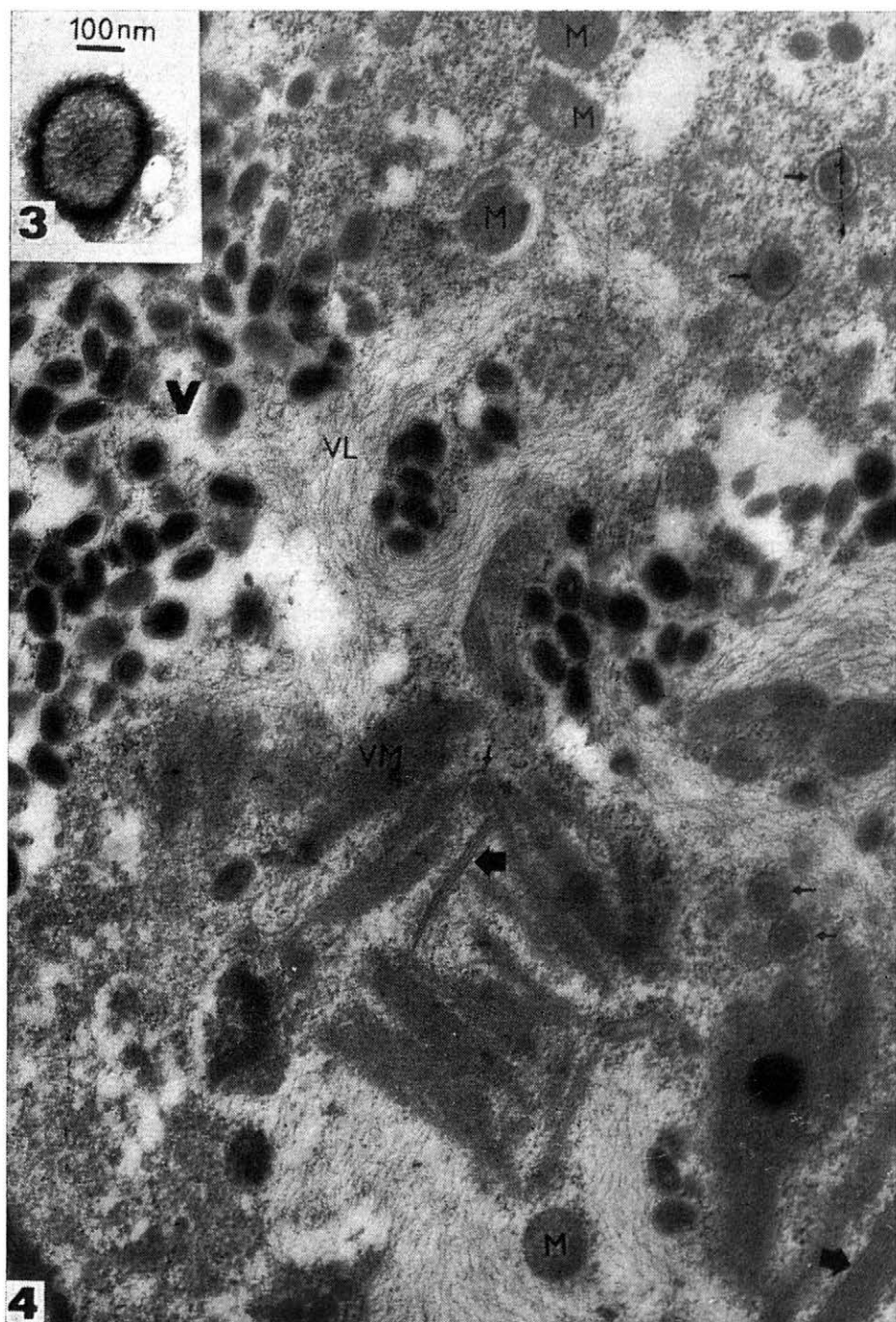
Velikost a struktura negativně barveného viru. Při negativním barvení lyzovaného materiálu z kožních změn byly prokázány virové partikule, které svou strukturou odpovídaly struktuře poxvirů. Virion mě-



1. Papulo-pustulární neštovičné změny na břiše selete



2. Histologický řez papulo-pustulární kožní změnou. Epiteliální buňky s intracytoplazmatickými eosinofilními inkluzemi (šipky); X 750



3. Virion prasečího poxviru; negativní barvení; $\times 66\,000$

4. Ultratenký řez cytoplazmou epidermální buňky. M = mitochondrie; VL = vláknitá struktura; V = viriony; VM = virová matrix; silné šipky = paralelní příčně pruhovaná vlákna; tenké šipky = vývojové formy virionu (subviriony); $\times 25\,600$

řil kolem $300 \times 230 \times 100$ nm a na jeho povrchu byla patrná spleť krátkých vláken o průměru asi 10 nm (obr. 3).

Histologický nále z. Při histologickém vyšetření papulo-pustulárních kožních změn byly epitelální buňky epidermis zbuřelé. U většiny buněk byla jádra vakuolizovaná a v cytoplasmě se vyskytovaly četné eozinofilní inkluze různé velikosti (obr. 2).

Průkaz viru v ultratenkých řezech buňkami epidermis. Virus vyvolával v epidermálních buňkách (obr. 4) změny charakterizované elektronově světloú intranukleární inkluzí složenou z jemných vláken. Základní cytoplazma byla z velké části nahrazena vláknitou strukturou obdobného charakteru jako v jaderné inkluzi. Mitochondrie byly v různém stadiu destrukce, zatímco tonofibrily byly neporušené. V cytoplasmě se vyskytovala virová matrix, paralelní příčně pruhovaná vlákna, subviriony a viriony.

DISKUSE

Naše výsledky potvrdily vhodnost použité elektronově mikroskopické metody negativního barvení při rychlé diagnostice neštovic prasat a jsou tak v soulase s výsledky jiných autorů (Skalinskia Borissovitch, 1966). Metoda lýzy infikovaných buněk destilovanou vodou s následným negativním barvením viru zkracuje podstatně diagnostiku onemocnění, poněvadž umožňuje získat výsledky v průběhu prvních hodin po odběru klinického materiálu. Metoda je však využitelná i při průkazu jiných virů v klinickém materiálu, jak o tom svědčí výsledky získané při diferenciaci poxvirů a herpesvirů z materiálů z kožních lézí krav (Gibbs aj., 1970; McFerran aj., 1971), při průkazu pápovavirů v bradavicích skotu (McFerran aj., 1971), u viru lidských neštovic, u viru *herpes simplex* a *herpes zoster* (Cruickshank aj., 1966) a při průkazu prasečího cytomegaloviru v nosní sliznici selat (Scott aj., 1973). O dalším využití metody bylo referováno při průkazu různých virů ve změněných chloriolantoidních blanách kuřecích embryí nebo v alantoidní tekutině (McFerran aj., 1971), v orgánových kulturách (Tyrell a Almeida, 1967) a v buněčných kulturách (Spradrow a Francis, 1969; McFerran aj., 1971; Schulze, 1973; aj.). Nespornou výhodou uvedené metody je rychlost diagnózy a jednoznačnost pozitivních nálezů, což nahradí mnohdy zdoluhavé izolační a sérologické průkazy. Nevýhodou je vysoká pořizovací cena elektronového mikroskopu, u něhož se pro virologickou diagnostiku požaduje rozlišovací schopnost nejméně 10 Å.

Elektronově mikroskopickou metodu negativního barvení viru je třeba ovšem považovat za pomocnou laboratorní metodu, stejně jako všechny metody laboratorního vyšetřování. Z toho vyplývá, že negativní nále z, ať již z důvodu malého množství viru nebo metodických chyb, nevylučuje absolutně přítomnost viru ve vyšetřovaném materiálu.

K ověření správnosti diagnózy jsme použili histologický průkaz intracytoplazmatických inkluzí v kožních buňkách a dále elektronově mikroskopický průkaz různých forem viru v ultratenkých řezech kožními buňkami. Zjištěné nálezy jsou v soulase s popisem u jiných autorů (Reczko, 1959; Cheville, 1966; Conroy a Meyer, 1971; aj.).

Cílem další práce bude ověření popsané metody při rychlé identifikaci jiných virů.

Literatura

- BRENNER, S. — HORNE, R. W.: A negative staining method for high resolution electron microscopy of viruses. *Biochim. biophys. Acta*, 34, 1959, s. 103-110.
- CONROY, J. — MEYER, R. C.: Electron microscopy of swinepox virus in germfree pigs and in cell culture. *Am. J. vet. Res.*, 32, 1971, s. 2021-2032.
- CRUICKSHANK, J. G. — BEDSON, H. S. — WATSON, D. H.: Electron microscopy in the diagnosis of smallpox. *Lancet*, 1966, č. 3, s. 527-530.
- GIBBS, E. P. J. — JOHNSON, R. H. — VOYLE, C. A.: Differential diagnosis of virus infections of the bovine teat skin by electron microscopy. *J. comp. Path.*, 80, 1970, s. 455-463.
- CHEVILLE, N. F.: The cytopathology of swine pox in the skin of swine. *Am. J. Path.*, 49, 1966, s. 339-352.
- McFERRAN, J. B. — CLARKE, J. K. — CURRAN, W. L.: The application of negative contrast electron microscopy to routine veterinary virus diagnosis. *Res. vet. Sci.*, 1971, č. 12, s. 254-257.
- MILLONIG, G.: Advantages of a phosphate buffer for OsO_4 solutions in fixation. *J. appl. Phys.*, 32, 1961, s. 637.
- RECZKO, ě.: Elektronenmikroskopische Untersuchung der mit originären Schweinepocken Bauchhaut des Ferkels. *Arch. ges. Virusforsch.*, 1959, č. 9, s. 193-213.
- REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 17, 1963, s. 208.
- SCHULZE, P.: Der Schnelldiagnose von Viren mit dem Elektronenmikroskop. *Mh. VetMed.*, 28, 1973, s. 208-213.
- SCOTT, A. C. — LAMONT, P. H. — CHAPMAN, M. S. — HARDING, J. D.: Electron microscopy in the rapid diagnosis of inclusion body rhinitis of pigs. *Vet. Rec.*, 93, 1973, s. 127.
- SKALINSKI, E. I. — BORISSOVITCH, Y. F.: The fine structure of swine pox virus. Edited by Uyeda. In *Proceeding 6th Internat. Congr. Electron Microsc.*, 1966, č. 2, s. 189-190.
- SPRADBROW, P. B. — FRANCIS, J.: Electron microscopy as an aid to the rapid identification of animal viruses. *Vet. Rec.*, 84, 1969, s. 244-246.
- TYRRELL, D. A. J. — ALMEIDA, J. D.: Direct electron-microscopy of organ cultures for the detection and characterization of viruses. *Arch. ges. Virusforsch.*, 22, 1967, s. 417-425.

Došlo dne 21. 11. 1974

ШМИД В., ВАЛИЧЕК Л., МЕНШИК Я. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия). Применение электронной микроскопии при быстрой диагностике поксвирусного заболевания (оспа) свиней. *Vet. Med. (Praha)* 20 (4) : 239-243, 1975.

Для быстрого диагноза свиного поксвируса в коже свиней, зараженных естественным путем, применялся простой электронно-микроскопический метод отрицательной окраски. Результат был удостоверен диагнозом интрацитоплазматического включения в гистологических срезах и доказательством вирионов в ультратонких срезах клетками эпидермы.

свиной поксвирус; кожа; быстрая диагностика; электронная микроскопия; отрицательная окраска, ультратонкие срезы; гистология; интрацитоплазматические включения

ŠMÍD B., VALÍČEK L., MENŠÍK J. (Veterinary Research Institute, Brno, Czechoslovakia). *Application of Electron Microscopy for a Rapid Diagnosis of Pox Virus Diseases (Small-Pox) of Pigs*. *Vet. Med. (Praha)* 20 (4) : 239-243, 1975.

For a rapid proving of the pig pox virus in the skin of naturally infected pigs, the simple electron microscopic method of negative staining was used. The result was checked by means of the finding of intracytoplasmatic inclusions in the histological sections and the proving of the presence of virions in the ultra-thin sections through the cells of the epidermis.

pig pox virus; skin; rapid diagnosis; electron microscopy; negative staining; ultra-thin sections; histology; intracytoplasmatic inclusions

ŠMÍD B., VALÍČEK L., MENŠÍK J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). *Ausnutzung der Elektronenmikroskopie zur schnellen Diagnostik der Poxvirus-Erkrankung (Pocken) bei Schweinen*. Vet. Med. (Praha) 20 (4) : 239-243, 1975.

Zum schnellen Nachweis des Poxvirus in der Haut natürlich infizierter Schweine wurde eine einfache elektronenmikroskopische Methode der negativen Färbung benutzt. Das Ergebnis wurde durch Befund von intrazytoplasmatischen Inkluden in histologischen Schnitten und Virionennachweis in ultradünnen Schnitten von Epidermiszellen überprüft.

Schweinepoxvirus; Haut; schnelle Diagnostik; Elektronenmikroskopie; negative Färbung; ultradünne Schnitte; Histologie; intrazytoplasmatische Inkluden

Rukopis odevzdán k tisku 28. 1. 1975 – Podepsáno k tisku 18. 7. 1975

Adresa autorů:

MVDr. B. Šmíd, MVDr. L. Valíček, doc. MVDr. J. Menšík, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno 21

V květnu letošního roku vyvrcholily u nás oslavy 30. výročí osvobození naší vlasti vlastní slavnou Rudou armádou a v celém světě se vzpomíná 30. výročí porážky fašismu a ukončení druhé světové války.

9. květen, den osvobození Prahy, vešel do našich dějin jako symbol věčného přátelství a bratrství národů Československa a Sovětského svazu, které se zrodilo ve společném protifašistickém a národně osvobozeneckém boji během druhé světové války. Sovětský lid a jeho armáda nesli na svých bedrech hlavní břemeno této války, přinesli obrovské oběti a měli rozhodující úlohu v rozdrčení fašismu i v národním a sociálním osvobození četných národů v Evropě a v dalších světadílech.

Svoboda národů vykoupil sovětský lid životy 20 miliónů svých hrdinných synů a dcer na bojištích u Moskvy, Stalingradu, Leningradu, Sevastopolu a ve velkých strategických bitvách, které byly dovršeny bitvou o Berlín s bezpodmínečnou kapitulací hitlerovského Německa. Ve všech těchto bitvách, v partyzánských bojích, v koncentračních táborech, ale i v zázemí, v továrnách a na polích prokazovali sovětské lidé masové hrdinství.

V úctě se skláníme a vzdáváme poděkování sovětským hrdinům a všem statečným bojovníkům jiných národů, kteří položili životy za naši svobodu. S hlubokou vděčností skládáme hold sovětské armádě a velkému sovětskému lidu za svobodu, kterou nám v květnových dnech před 30 lety přinesli, i za pomoc, kterou nám potom poskytovali při budování socialistické společnosti.

S hrdostí myslíme i na příslušníky první organizované síly našeho protifašistického odboje v zahraničí, zejména na příslušníky našeho armádního sboru, který se vytvořil v Sovětském svazu a který pod vedením armádního generála Ludvíka Svobody bojoval po boku Rudé armády a přispěl k porážce fašismu.

Vděčně oceňujeme i statečnost a obětavost českých a slovenských bojovníků, kteří doma i v zahraničí aktivně bojovali proti fašismu. Mnozí z nich ztratili život na frontách, ve fašistických věznicích a koncentračních táborech, v partyzánských oddílech během Slovenského národního povstání i v květnovém povstání českého lidu a na pražských barikádách. Všem, kteří položili život za svobodu naší vlasti, patří trvalá úcta. Jejich odkaz bude navždy žít v našich myslích a v činech našeho lidu.

V jubilejních dnech 30. výročí porážky fašismu si znovu připomeňme historické podmínky vzniku druhé světové války. Nesmíme nikdy zapomenout, že to byly především západoevropské kapitalistické mocnosti, které zprvu umožňovaly hitlerovskou expanzi, až se samy staly obětmi této politiky. Kdyby západoevropské mocnosti byly včas přistoupily na sovětské návrhy systému kolektivní bezpečnosti a na společný postup proti hrozbě nacistické agrese, mohlo být zabráněno nejničivější a nejstrašnější válce v dějinách lidstva.

Počínaje anexí Rakouska a obsazováním dalších území a států bez boje, nebo na základě snadných vítězství, se fašistické Německo

zmocnilo beztréstně téměř celého ekonomického a zbrojního potenciálu Evropy. Tak došlo k růstu sebevědomí hitlerovců o jejich nadlidství, o světové nadvládě a k plnému projevu fašismu, který se ukázal jako nejbrutálnější a nejbarbarštější režim, jaký kdy lidstvo poznalo. Projevil se jako největší nepřítel všech svobodomyslných národů, jako smrtelné nebezpečí pro lidskou civilizaci. Činnost fašistů v okupovaných zemích zastínila hroznou středověkou církevní inkvizici a byla apokalypsou ve XX. století.

Politika zvůle a teroru však nezůstaly bez odezvy. Zmobilizovaly a sjednotily všechny demokratické a protifašistické síly ve světě, a tak došlo k vytvoření protihitlerovské koalice, jejímiž hlavními nositeli byl Sovětský svaz, Velká Británie a Spojené státy americké.

V r. 1941 byl přepaden Sovětský svaz. Sovětský lid, vedený KSSS, povstal na obranu své vlasti a v úporných a krutých bitvách zastavil nepřítele a zničil jeho hlavní sílu. To mělo rozhodující vliv na celý průběh druhé světové války a předurčilo i její vítězný konec.

Napadení Sovětského svazu hitlerovským Německem vyvolalo válku, která měla od samého začátku charakter obrovské třídní srážky. Historické vítězství sovětského lidu nad německým fašismem je po Velké říjnové revoluci nesporně nejvýznamnější událostí novodobých dějin, která v uplynulých 30 letech od základů změnila společensko-politickou mapu světa. Vítězný postup Rudé armády, heroický odpor partyzánských jednotek i pevná politicko-morální jednota sovětského zázemí, která zmobilizovala sovětský lid k obrovskému soustředění a pracovnímu úsilí, aktivizovaly revoluční hnutí a inspirovaly rozvoj národně osvobozeneckého hnutí snad ve všech utlačovaných zemích na světě. Národně osvobozenecký boj ve většině těchto zemí vedl po porážce německého fašismu a japonského militarismu k rozpadu světové koloniální soustavy. Po válce vzniklo více než 80 nových národních států, z nichž mnohé směřují vývoj svého státního zřízení k typu lidové demokracie, nebo vytvářejí cestou znárodnování klíčových oblastí národního hospodářství prostor pro uplatňování socialistických tendencí svých národních ekonomik. V současné době po pádu fašistického režimu v Portugalsku získávají státní samostatnost i poslední portugalské kolonie. Nesmírné hrdinství a třídní statečnost prokázal lid Vietnamu. Vítězství, kterého dobyl, znovu prokázalo, že nelze žádnými válečnými prostředky vnutit vůli lidu bojujícímu za svobodu.

V zemích bezprostředně osvobozených Rudou armádou přerůstaly národní a demokratické revoluce v revoluce socialistické v takovém rozsahu, že se záhy po válce vytvořila světová socialistická soustava, jejíž stále rostoucí síla je nyní hlavní zárukou, že mír na světě se stane trvalou jistotou.

I u nás byl vznik lidové demokratického zřízení před 30 lety výsledkem protifašistického boje a dějinného zápasu českého a slovenského pracujícího lidu v čele s KSČ o národní a sociální svobodu. Tento zápas byl programově usměrněn VII. sjezdem strany, na němž byla na obranu země proti hrozbě fašistického Německa vypracována politika lidové fronty, která se opírala o spojení se Sovětským svazem. Tak vznikl v naší zemi ještě před začátkem druhé svě-

tové války základ k široké jednotě našeho lidu v čele s dělnickou třídou proti pozdějším fašistickým okupantům. Tato linie se stala v průběhu druhé světové války hybnou silou našeho národně osvobozenického hnutí a vyústila v utvoření Národní fronty, v níž se spojovaly pod vedením KSČ všechny pozitivní politické síly. Cíle tohoto boje byly vyjádřeny moskevským vedením KSČ, kdy ústy Klementa Gottwalda k formující se jednotce v SSSR byl 27. května 1942 vysloven programový postulát k základním taktickým a politickým principům národně osvobozenického boje a podán náčrt k poválečnému uspořádání v osvobozené vlasti. Z této programové koncepce vznikl později Košický vládní program, který se stal základním dokumentem pro politické, sociální a ekonomické přeměny v naší společnosti po r. 1945 a který vytvářel i předpoklady pro socialistický vývoj v naší vlasti.

Po napadení Sovětského svazu hitlerovským Německem se přeměnil dosavadní charakter druhé světové války ve válku antifašistickou a osvobozenickou, což výrazným způsobem ovlivnilo i rozvoj a průběh národně osvobozenického boje českého a slovenského lidu. V r. 1943 byla uzavřena československo-sovětská smlouva o přátelství, vzájemné pomoci a poválečné spolupráci. Tato smlouva usměrnila činnost zahraničního odboje i aktivitu odboje domácího, který v r. 1944 přerostl na Slovensku ve všelidové povstání, v historické Slovenské národní povstání, které bylo v podstatě i začátkem realizace poválečného vývoje v naší vlasti. Na povstaleckém území náš lid vyhlásil a poprvé uváděl do života základní principy lidové demokratického zřízení. Nástup přetváření naší společnosti potom pokračoval s postupující frontou na území osvobozeném Rudou armádou až po Květnové povstání českého lidu. Na osvobozeném území byly zakládány národní výbory, které se staly strážci výstavby nového – vskutku lidového – státního aparátu.

Hodnotíme-li nyní po 30 letech výsledky národní a demokratické revoluce, která se vyvíjela na základě Košického vládního programu a která přerostla v revoluci socialistickou, můžeme konstatovat, že se splnily všechny zásady uvedené v Košickém vládním programu a že se u nás v historicky velmi krátké době podařilo nastolit socialistické výrobní vztahy s mohutným rozvojem výrobních sil.

Socialistická ekonomika, kterou jsme vybudovali, má po všech stránkách vysokou úroveň. Československý průmysl dnes vyrábí 8,6krát více než v r. 1948, v průmyslu vyrábíme za jeden a půl měsíce tolik, kolik v buržoazní republice za celý rok. Na Slovensku se za 9 pracovních dnů vyrobí celá dřívější roční produkce. Od r. 1948 vzrostl národní důchod 4,7krát a společenský produkt více než 5krát. V přepočtu na 1 obyvatele vyrábíme 4krát více, než je světový průměr. Průmysl změnil svoji strukturu, zvládl řadu nových technicky náročných výrobních a stal se základem industrializace všech oblastí našeho státu. Těžisté výroby je nyní v odvětví vytvářejícím techniku a pokrok. Základní prostředky z hodnoty 650 miliard v r. 1937 vzrostou letos na hodnotu téměř 2 biliónů Kčs.

Jedním z ukazatelů rozvoje naší společnosti v uplynulých 30 letech jsou výsledky dosažené v oblasti školství, kultury, umění a vědy.

Tyto výsledky jsou dobrým příslibem pro náš další vývoj. ČSSR je nyní stupněm vzdělanosti svého obyvatelstva na jednom z předních míst mezi nejvyspělejšími zeměmi světa. Proti r. 1937 máme 3,4krát více středoškolských a 5krát více vysokoškolských studentů. V r. 1937 jsme měli 13 vysokých škol, dnes 37. Podíl obyvatelstva se středoškolským vzděláním je více než trojnásobný a s vysokoškolským vzděláním čtyřnásobný. Byla vybudována moderní výzkumná a vývojová základna a kvalitativně se změnilo poslání vědy. Počet pracovníků této základny se z 3 tisíc v r. 1945 nyní zvýšil na 150 tisíc. Za posledních 20 let byla dvaceti tisícům vědeckých pracovníků udělena vědecká hodnost kandidáta nebo doktora věd.

Zásadním historickým přerodem prošlo i naše zemědělství, které z typické malovýroby přešlo na velkovýrobu, založenou na strojové technice a moderní chemii. Zemědělství, v současné době s půdním fondem asi o jednu desetinu menším, vyrábí na jednoho obyvatele o dvě pětiny výrobků více než před válkou. Počet pracovníků v zemědělství ve srovnání s předválečným stavem klesl na méně než třetinu a pracující v zemědělství jsou nyní jedním z pevných pilířů naší socialistické společnosti, jak ukázalo i krizové období v r. 1968, které velmi dobře prověřilo socialistické uvědomění našich družstevních rolníků.

V procesu socializace naši vesnice nabyly na významu péče o zdraví zvířat. Proto byla v uplynulých letech vybudována příslušná materiálně technická základna, která umožňuje dobrou kontrolu zdravotního stavu zvířat zejména z hlediska infekčních chorob. V uplynulých 25 letech přestaly být na našem území zdravotním problémem téměř všechny klasické nákazy včetně tuberkulózy a brucelózy skotu. Poslední dvě nákazy mohly být efektivně eradikovány v krátké době proto, že byly v plánech protituberkulózních a protibrucelózních opatření náležitě využity přednosti socialistického zemědělství: plánovitost, výrobní kooperace mezi podniky se zdravým skotem a podniky s nakaženým skotem, celospolečenský zájem, atd. Tento příklad racionálních opatření k rychlému vymýcení tuberkulózy a brucelózy skotu ukazuje možnosti realizace vědeckých programů, které v třídní společnosti jsou tak rychle jen obtížně uskutečnitelné.

Politicko-ekonomická soustava socialistického zemědělství a zájem celé společnosti na efektivní produkci potravin vytvářejí obrovský prostor pro uplatnění preventivní veterinární medicíny, která se v podmínkách rozvoje vědeckotechnické revoluce stala významnou výrobní silou. Velmi rychle postupující koncentrace živočišné výroby s velmi vysokou produktivitou práce vyžaduje chov zcela zdravých zvířat, a tak lze očekávat, že již v příštích letech budeme řešit zakládání velkochovů, ve kterých budou zvířata prosta infekčních a parazitárních chorob a ve kterých i výživa, jako hlavní faktor tvorby zdravotního stavu a užitkovosti, bude vědecky řízena. V těchto podmínkách bude mít velký význam v reprodukci i genetika jako prostředek perspektivní prevence zdraví zvířat.

Charakteristickým znakem dosavadního rozvoje našeho zemědělství byla technická revoluce. Nashromážděné vědecké poznatky

v oblasti biologie a dokončení výstavby velkovýrobní základny živočišné výroby vytvářejí podmínky pro uplatnění a rozvoj biologické revoluce, která vyvolá zcela novou situaci pro efektivní získávání potravin živočišného původu.

S dobudováním moderní velkovýrobní základny v našem zemědělství budou dosavadní formy jednoduché, většinou horizontální kooperace přerůstat ve vertikální integrační vazby s účinnějšími výrobními a ekonomickými vztahy mezi zemědělstvím, potravinářským průmyslem a obchodem. Tuto novou organizaci společenské výroby předvídali již Marx a Engels, kteří ve svých dílech zdůrazňovali, že spojení zemědělství s průmyslem se stane jednou z nejracionálnějších forem výroby. Tato integrace zemědělské výroby potravin s potravinářským průmyslem se nepochybně promítne i do logické organizace zdravotní péče o zvířata a vyvolá v praxi uplatnění dalších netradičních metod preventivní veterinární medicíny.

Hospodářským výsledkům dosaženým při budování naší socialistické společnosti odpovídá i naše životní úroveň. Osobní spotřeba i index reálných mezd se proti roku 1937 zvýšil více než třikrát. Je nemyslitelné, aby jiný společenský řád vykonal svými vlastními prostředky za období 30 let své existence to, co vybudoval z rozrušené poválečné ekonomické základny náš lid. Toto velké dílo, které bylo vytvořeno od r. 1949, tj. od IX. sjezdu KSČ, který vytýčil program výstavby socialismu, nelze nyní ještě ani plně docenit.

Je samozřejmé, že velké úspěchy, kterých bylo dosaženo v budování socialistické společnosti, byly doprovázeny i potížemi, nedostatků a omyly. KSČ, věrná marx-leninismu, je však úspěšně překonávala a vyvozovala z nich poučení. Velmi vážným obdobím byla poslední léta 4. pětiletky. Krizové období však bylo překonáno a po konsolidaci se naše společnost opět velmi úspěšně rozvíjí.

Uplynulých 30 let je velkou epochou našich dějin, je to epocha vítězství socialismu v naší vlasti. Opírajíce se o přátelství a spojení se Sovětským svazem a s ostatními bratrskými socialistickými zeměmi i o stále rostoucí síly míru ve světě, hledíme do budoucnosti s hlubokým přesvědčením a jistotou v další úspěšný rozvoj socialismu a komunismu v naší vlasti.

Prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc.
úřadující rektor Vysoké školy veterinární v Brně

Kubíček K.: Ověření baktericidní účinnosti jodoformu A v pavilónech výkrmny prasat	185
Píchová D., Pícha J.: Hladiny luteinizačního hormonu u ovcí různých plemen	193
Michálek A., Marcaník J.: Hodnoty aktivit izoenzymů dehydrogenázy kyseliny mléčné séra hospodářských zvířat	199
Čupera Z.: Imunogenní aktivita vakcín proti vzteklině	207
Páv J., Zajíček D., Dvořák M.: Klinické vyšetření krve srnčí zvěře (<i>Capreolus capreolus</i> L.) a dančí zvěře (<i>Dama dama</i> L.) přirozeně invadované parazity	215
Čermák O.: Vztah koncentrace kyseliny citrónové k některým ukazatelům kvality ejakulátu hřebce	223
Marett M.: Abnormality v stavbě akrozómu spermie káčera	227
Pejše M., Roudná V.: Sledování růstu cystogenní a proliferativní formy <i>Toxoplasma gondii</i> na PK buňkách	231
Šmíd B., Valíček L., Menšík J.: Využití elektronové mikroskopie k rychlé diagnostice poxviróvého onemocnění (neštovic) prasat	239

СОДЕРЖАНИЕ

Кубичек К.: Проверка бактерицидного эффекта Йодоформа А в павильонах откорма свиней	191
Пихова Д., Пиха Я.: Уровни лютеинизационного гормона у овец разных пород	197
Михалек А., Марцаник Й.: Значения активностей изоэнзимов дегидрогеназы молочной кислоты сыворотки сельскохозяйственных животных	204
Чупера З.: Иммуногенная активность вакцин от бешенства	213
Пав Й., Зайчик Д., Дворжак М.: Клиническое обследование крови косули (<i>Capreolus capreolus</i> L.) и лани (<i>Dama dama</i> L.) естественно зараженных паразитами	220
Чермак О.: О значении лимонной кислоты в лошадиной сперме	225
Маретта М.: Аномальности строения акрозома спермы селезня	229
Пейше М., Ровудна В.: Изучение роста цитогенной и пролиферативной формы <i>Toxoplasma gondii</i> у РК клеток	236
Шмид В., Валичек Л., Меншик Я.: Применение электронной микроскопии при быстрой диагностике поксвирусного заболевания (оспа) свиней	242

CONTENT

Kubíček K.: Testing the Bactericidal Effectiveness of Jodoform A in the Halls of the Pig Fattening House	191
Píchová D., Pícha J.: The Levels of the Luteinization Hormone in the Sheep of Various Breeds	198
Michálek A., Marcaník J.: The Activity Values of the Isoenzymes of Lactic Acid Dehydrogenase in the Serum of Farm Animals	204
Čupera Z.: Immunogenic Activity of Vaccines against Rabies	214
Páv J., Zajíček D., Dvořák M.: Clinical Examination of the Blood of Roe-Deer (<i>Capreolus capreolus</i> L.) and Fallow Deer (<i>Dama dama</i> L.) Naturally Invaded by Parasites	221
Čermák O.: On the Importance of Citric Acid in Horse Sperm	226
Marett M.: Abnormalities in the Acrosome Construction of Drake Spermatozoon	230
Pejše M., Roudná V.: Investigation of the Growth of Cystogenous and Proliferous Forms of <i>Toxoplasma gondii</i> on PK Cells	236
Šmíd B., Valíček L., Menšík J.: Application of Electron Microscopy for a Rapid Diagnosis of Pox Virus Diseases (Small-Pox) of Pigs	242

Kubiček K.: Überprüfung der bakteriziden Wirkung des Jodofors A in den Pavillons einer Schweinemästerei	192
Píchová D., Pícha J.: Luteinisierungshormon-Spiegel bei Schafen verschiedener Rassen	198
Michálek A., Marcaník J.: Aktivitätswerte der Isoenzyme der Serummilchsäuredehydrogenase bei landwirtschaftlichen Nutztieren	205
Čupera Z.: Immunogene Aktivität der Antitollwut-Vakzinen	214
Páv J., Zajíček D., Dvořák M.: Klinische Untersuchungen des Blutes von auf natürliche Weise mit Parasiten invadiertem Rehwild (<i>Capreolus capreolus</i> L.) und Damwild (<i>Dama dama</i> L.)	221
Čermák O.: Bedeutung der Zitronensäure im Pferdesperma	226
Mareta M.: Abnormalitäten in der Akrosomstruktur der Enterichspermie	230
Pejše M., Roudná V.: Untersuchungen über das Wachstum der zyto-genen und proliferativen <i>Toxoplasma-gondii</i> -Form auf PK-Zellen	236
Šmíd B., Valíček L., Menšík J.: Ausnutzung der Elektronenmikroskopie zur schnellen Diagnostik der Poxvirus-Erkrankung (Pocken) bei Schweinen	243

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS – ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS – ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, Legerova ulice 22, 120 00 Praha 2.