

8/13

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA



6

ROČNÍK 20 (XLVIII)
PRAHA
ČERVEN 1975
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

Rídí 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, rozborů 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 Prag 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-
fiques et Techniques. Paraît une fois par mois. Rédaction
120 56 Prague 2, Slezská 7.

PRŮKAZ GLYKOGENU V LEUKOCYTECH SKOTU ZDRAVÉHO A LEUKÓZNÍHO

D. Sodomková, R. Rademacher, J. Vaňásek

*Státní veterinární ústav, veterinární nemocnice, referenční laboratoř pro leukózu skotu
Hradec Králové*

KÜNZ, fakultní nemocnice, II. interní klinika, Hradec Králové

SODOMKOVÁ D., RADEMACHER R., VAŇÁSEK J. *Průzkum glykogenu v leukocytech skotu zdravého a leukózního.* Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 315-320, 1975.

U leukemických krav je významně vyšší procento lymfocytů a lymfoidních buněk periferní krve i dřeně s intenzivně zbarvenými fialovými granuly glykogenu v plazmě, jež se však výjimečně vyskytnou i v lymfocytech zdravých krav. Lymfocyty s negativní PAS reakcí jsou jak u krav zdravých, tak u krav leukemických. PAS reakci lze tedy použít jen jako pomocnou metodu pro odlišení leukemických lymfocytů v komplexu dalších cytochemických reakcí. U neutrofilních leukocytů periferní krve zdravého i leukózního skotu vykazovala PAS reakce hodnotu ++ až ++++. Ve dřeních obou skupin se projevovalo u myelocytů a promyelocytů oslabení reakce (0 až +). Eosinofilní leukocyty a jejich vývojová stadia dávaly PAS reakci negativní. Monocyty vykazovaly slabou reakci v periférii zdravého skotu, o něco silnější u leukózního skotu. PAS reakce erytrocytární a trombocytární vývojové řady dřeně byla negativní. cytochemie; glykogen; kostní dřeň; krev; krevní roztěr; leukóza skotu; lymfocyty

U chronických lymfadenóz lidí je obvykle udáván zvýšený obsah uhlovodanů v krevních buňkách typu leukemických lymfocytů proti lymfocytům zdravých lidí. Cytochemickou diferenciaci v humánní medicíně řadou reakcí (sudanová čern, PAS reakce, esterázy, alkalická fosfatáza) pracoval Heřmanský (1968, 1969). Beckman (1971) pracoval cytochemickou diferenciaci akutních leukemií dětí za použití těchto reakcí včetně reakce peroxidázové. Krug a Stenzel (1969) prověřili nálezy Valentina aj. (1952) a Merkera a Chun Jin Hui (1960) u myeloproliferativních onemocnění. Autoři se zčásti shodují v názoru, že u chronických myeloidních leukemií je ve srovnání se zdravými lidmi poloviční obsah glykogenu u neutrofilních granulocytů.

U domácích zvířat přezkoušeli metodiku PAS reakce podle Wislockiho aj. (1949) u skotu Bauer-Sičová (1963, 1965), Müller (1964), Sergany aj. (1966), Grundboeck, Wilczyńska-Ciemiga (1968, 1969/70), Gluzman aj. (1972) a Achmetšin (1972); z našich autorů Pravda (1966), Smahelová (1970) a Heřmanský aj. (1970).

Bauer-Sičová (1963) nezjistila u dvaceti zvířat podezřelých z leukózy významné odchylky v obsahu glykogenu lymfocytů ve srov-

nání se zvířaty z leukózy nepodezřelými (index glykogenu 17,4; 12,0). Naopak u zvířat pravděpodobně leukózních (šest případů) byl index glykogenu vyšší (53,3), stejně jako u tří zvířat tumorózně nemocných leukózou (index 91,3) a u čtyř telat s tumorózní leukózou mladých zvířat (index 62,2). Shodně uvádějí Sergany aj. (1966), že u těchto tří posledních skupin leukózních zvířat je pravděpodobně obsah glykogenu vyšší. Toto zvýšení však není pravidlem, takže reakce na glykogen nemůže sloužit za průkaz tumorózní formy leukózy, ale jen jako pomocná reakce. Podobně Grundboeck aj. (1968, 1969/70) docházejí k závěru, že v leukózových stádech je procento PAS pozitivních lymfocytů vyšší u zvířat s lymfocytózou než u zvířat s normálním krevním obrazem. U zvířat hematologicky negativních jsou hodnoty PAS pozitivních reakcí v lymfocytech jen výjimečné. Leukóza ovlivňuje tedy obsah glykogenu v lymfocytech, k jeho zvýšení však dochází jen u omezeného počtu případů. Smahelová (1970) zjistila, že PAS reakce je dostatečně citlivá pro stanovení plemenných rozdílů. Nejsilnější pozitivita byla prokázána u granulocytární řady skotu s jednostrannou užitkovostí (ayshire a jersey $^{+++}$), slabá (+ až $^{++}$) u skotu českého strakatého a pincgavského s kombinovanou užitkovostí.

MATERIÁL A METODA

PAS reakci jsme dělali v modifikaci podle Wislockiho aj. (1949) jako součást humánního modelu Heřmanského aj. (1970) společně s reakcí na lipidy v metodice podle Sheehana a Storeyho (1947) v modifikaci Heřmanského aj. (1970) se sudanovou černí, dále s reakcí na nespecifickou esterázu podle Löfflera (1971), naftol-AS-D-chloracetát esterázu podle Moloneye aj. (1960) a reakcí na alkalickou fosfatázu podle Hayhoa a Quagliina (1958). Reakce probíhala souběžně s ostatními v modelu Heřmanského aj. (1970) z periferní krve 16 kusů a dřeně 13 kusů zdravého skotu českého strakatého plemene. Současně byly tytéž reakce barveny z buněk periferní krve (25 kusů) a dřeně (21 kus) skotu téhož plemene nemocného leukózou.

Modifikace podle Wislockiho aj. (1949) se dělala stejnými barvivý souběžně na pracovišti humánním (doc. MVDr. Vaňásek – VLVDÚ Hradec Králové), takže bylo možno porovnávat intenzitu reakce u lidí a u skotu.

Pracovní postup při metodice podle Wislockiho aj. (1949):

1. fixace Rossmanovým roztokem vždy čerstvým – 5 minut,
2. důkladné opláchnutí vodou, oschnutí,
3. 1% roztok kyseliny jodisté v destilované vodě – 5 minut,
4. opláchnutí vodou, oschnutí,
5. barvení Schiffovým leukofuchsinem – 30 až 40 minut,
6. opláchnutí destilovanou vodou, oschnutí,
7. dobarvení suchých nátěrů 2% vodným roztokem čištěné metylénové zeleně – 5 minut.

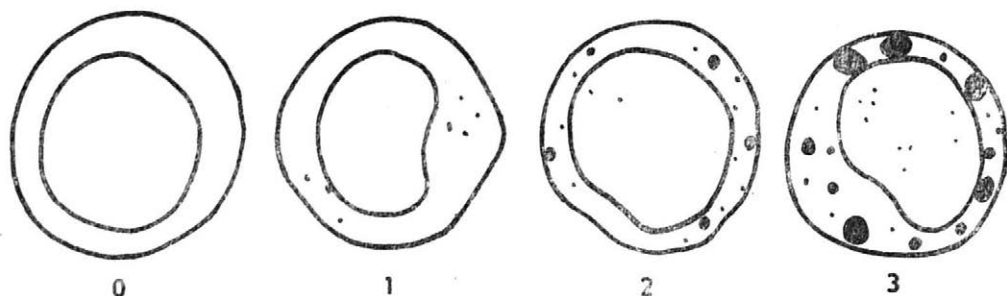
Příprava Rossmanova roztoku: 5 dílů nasyceného roztoku kyseliny pikrové v 96% etylalkoholu smíchat s 1 dílem 40% formaldehydu.

Příprava Schiffova leukofuchsinu: 2 g bazického krystalického fuchsinu rozpustit ve 400 ml vroucí destilované vody, ochladit na 50 °C, přefiltrovat; k filtrátu přidat 10 ml 2 N HCl a 4 g pyrosiřičitanu sodného; směs zazátkovat a nechat v temnu a chladu přes noc; přidat 1 g živočišného uhlí, protřepat, přefiltrovat; k filtrátu přidávat po malých dávkách 2 N HCl (asi 10 ml) tak dlouho, až kapka směsi na sklíčku není růžová; chránit při +4 °C v temnu, doba trvání tři až čtyři týdny.

Síla pozitivní reakce byla posouzena:

- 0 – bez granul v plazmě
- 1 – ojedinělá jemná granula v plazmě
- 2 – větší množství jemných granul v plazmě
- 3 – velká i jemná granula v plazmě

Stupeň positivity PAS reakce je znázorněn na obr. 1.



1. Stupně positivity PAS reakce

VÝSLEDKY A DISKUSE

PAS reakce podle Wislockiho aj. (1949) vykazovala u neutrofilních leukocytů periferie zdravého i leukózního skotu českého strakatého a dánského plemene zřetelně silnou reakci ++ až +++. Ve dřeních zdravého i leukózního skotu se projevilo u myelocytů a promyelocytů zřetelné oslabení reakce (0 až +) při hodnocení do +++. Charakteristika neutrofilních leukocytů je tedy podobně jako u lidí dána zřetelnou PAS reakcí. Eosinofilní leukocyty a jejich vývojová stadia dávaly PAS reakci negativní.

Monocyty vykazovaly slabou reakci v periferii zdravého skotu, jež se projevila v průměru zřetelně silnější reakcí u monocytů leukózního skotu.

Lymfocyty ve shodě s Grundboeckem a Wilczyňskou-Ciemigou (1969/70) vykazovaly u krav pozitivních při vyšetření na leukózu (hematologicky event. patologicko-anatomicky a histologicky) v 74 % pozitivní PAS reakci, a to v hodnotách: 1 – 50,0 %, 2 – 27,7 %, 3 – 22,2 %. Zvláště nápadná reakce (3) byla s jedním až sedmi granuly

intenzívně fialově zbarvenými, různé velikosti, umístěnými v plazmě lymfocytů.

Naproti tomu u roztěrů ze zvířat negativních při vyšetření na leukózu byla silná reakce (3) pouze v jednom případě (6,25 %), ojedinělá jemná granula (1) byla v 25,0 %, četná jemná granula (2) byla zjištěna ve 12,5 %.

V kostních dřeních krav pozitivních při vyšetření na leukózu byla v lymfoidních buňkách prokázána pozitivní PAS reakce ve všech 21 případech, a to v hodnotě 2 až 3. Ve dvou případech byla zvláště nápadná fialově zbarvená granula sahající i přes jádro. Rovněž plazmatické buňky měly v 17 % nafialovělé zabarvení ve světlých místech plazmy.

V kostních dřeních krav negativních při vyšetření na leukózu byla PAS reakce s výjimkou jednoho případu (7,6 %) negativní, nikde se nevyskytla silná reakce 3. Plazmatické buňky měly ve dvou případech (15,2 %) pozitivní reakci.

Tyto údaje jsou v souladu se závěry Bauer-Sičové (1963), Grundboeck a Wilczyňské-Ciemigy (1968, 1969/70), Serganyho aj. (1966).

Literatura

- ACHMETŠIN, P. E.: Citochimické studie o leukóze velkého rožatého skota. Ref. Vsesvaz. symposia o problému leukóz hospodářských zvířat v Charkově. Moskva, 1972, s. 85.
- BAUER-SIČOVÁ, P.: Zur Zytochemie der Leukozyten des Rindes — Normalbefunde und Beobachtungen bei einigen Leukosepatienten. Zentbl. VetMed., A, 10, 1963, s. 365-380.
- BAUER-SIČOVÁ, P.: Zytochemie der neutrophilen Granulozyten. Antrittsvorlesung, Giesen 1964. Zentbl. VetMed., A, 12, 1965, s. 365-379.
- BECKMANN, H.: Zytochemische Differenzierung akuter Leukämien des Kindesalters. Acta histochem., IX, 1971, s. 185-196.
- GLUZMAN, A. F. — DORONIN, N. N. — BUSOL, V. A. — LJAŠENKO, A. T. — SUŠKEVIČ, L. P. — BUTENKO, Z. A.: Citochimické studie o leukóze velkého rožatého skota. Ref. Vsesvaz. symposia o problému leukóz hospodářských zvířat v Charkově. Moskva, 1972, s. 83-84.
- GRUNDBOECK, M. — WILCZYŃSKA-CIEMIGA, K.: Periodic acid Schiff (P. A. S.) reaction of blood lymphocytes from normal and affected with leucosis cows. Bull. vet. Inst. Puławy, 12, 1968, č. 1-4, s. 22-24.
- GRUNDBOECK, M. — WILCZYŃSKA-CIEMIGA, K.: Zawartość glikogenu w limfocytach u zdrowych i chorych na białaczkę krów. Polskie Archiwum wet., 12, 1969/70, č. 3-4.
- HAYHOE, F. G. C. — QUAGLINO, D.: Cytochemical demonstration and measurements of leucocyte alkaline phosphatase activity in normal and pathological states by a modified azo-dye coupling technique. Br. J. Haemat., 1958, č. 4, s. 375-389.
- HERMANSKÝ, F.: La valeur de quelques méthodes cytochimiques dans la classification des leucoses immatures et atypiques. Nouv. Rev. Franc. Hemat., 1968, č. 8, s. 239-242.
- HERMANSKÝ, F.: Význam cytochemického vyšetřování patologických buněk myeloidního původu. Folia haematol., 91, 1969, s. 192-202.
- HERMANSKÝ, F. — LODROVÁ, V. — PÖSSNEROVÁ, V.: Cytochemické vyšetřování leukocytů u některých laboratorních a domácích zvířat. Folia haematol., 92, 1970, s. 249-258.
- KRUG, K. — STENZEL, L.: Význam PAS reakce u myeloproliferativních onemocnění. Folia haematol., 91, 1969, s. 312-316.
- LÖFFLER, H.: Zytochemische Klassifizierung der Leukosen bei Erwachsenen. Acta histochem., IX, 1971, s. 181-190.
- MERKER, H. — CHUN JIN HUI: Ref. 66. Verhandl. Dte Ges. Inn. Med. J. F. Bergmann, München, 1960, s. 1050.

- MOLONEY, W. C. — PHERSON, K. Mc. — FLIEGELMANN, L.: Esterase activity in leucocytes demonstrated by use of naphthol-AS-D-chloracetate substrate. *J. Histochem. Cytol.*, 1960, č. 8, s. 200-207.
- MÜLLER, W.: Zytochemische Untersuchungen über den Glykogengehalt der Leukozyten des Rindes mit besonderer Berücksichtigung der Leukose. *Vet. Med. Diss.*, Hannover, 1964.
- PRAVDA, D.: Současný stav a poslání bovinní hematologie a hematologické hodnoty krve českého strakatého skotu. [Habil. práce.] I. a II. díl. VŠV, Brno 1966.
- SERGANY, M. — FREESE, K. — HERZOG, A.: Der Glykogengehalt von Lymphozyten im Ausstrich bei gesunden, leukotischen und leukoseverdächtigen Rindern. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, 79, 1966, s. 4-6.
- SHEEHAN, H. L. — STOREY, G. W.: *J. Path. Bact.*, 59, 1974, s. 336-347.
- SMAHELOVÁ, S.: Pokus o ověření a uplatnění některých cytochemických vyšetřovacích metod ve veterinární hematologii (PAS reakce, alkalická fosfatáza, sudanová reakce). [Diplom. práce.] VŠV, Brno 1970, 53 s.
- VALENTINE, W. N. — BECK, W. S. — HOLLETTE, H. — MILLS, J. S. — LAERENCKE, Blood, 1952, č. 7, s. 959.
- WISLOCKI, G. B. — RHEINGOLD, J. J. — DEMPSEY, E. W.: The occurrence of the periodic acid Schiff reaction in various normal cells of blood and connective tissue. *Blood*, 1949, č. 4, s. 562-568.

Došlo dne 27. 11. 1974

SODOMKOVA D., RADEMAHER P., VANJASEK J. (Государственный ветеринарный институт, ветеринарная больница, экспериментальная лаборатория для лейкоза крупного рогатого скота, Градец Кралове, Облздрав, факультетная больница, II клиника по внутренним болезням, Градец Кралове, Чехословакия). Достоверность определения гликогена в лейкоцитах здорового и заболевшего лейкозом крупного рогатого скота. *Vet. Med. (Praha)* 20 (6) : 315-320, 1975.

У коров, заболевших лейкозом, значительно повышен процент лимфоцитов и лимфоидных клеток периферийной крови и костного мозга, интенсивно окрашенного фиолетовыми гранулами гликогена в плазме, которые лишь в исключительных случаях могут быть и в лимфоцитах здоровой коровы. Лимфоциты с отрицательной ПАСК реакцией можно найти как у здоровых коров так и у коров заболевших лейкозом. ПАСК реакцией, в таком случае, можно пользоваться лишь как вспомогательным методом для различения лейкозных лимфоцитов в комплексе дальнейших цитохимических реакций. У нейтрофильных лейкоцитов периферийной крови, здорового и заболевшего лейкозом крупного рогатого скота, ПАС реакция была ++ вплоть до ++++. В костном мозгу обеих групп в миелоцитах и промиелоцитах проявлялась ослабленная реакция (0 — +). Эозинофильные лейкоциты и их стадия развития давали отрицательную ПАСК реакцию. Моноциты показывали слабую реакцию в периферии здорового крупного рогатого скота, несколько сильнее у скота, заболевшего лейкозом. ПАСК реакция эритроцитарной и тромбоцитарной серий развития была отрицательной.

цитохимия; гликоген; костный мозг; кровь; кровяные мазки; лейкоз крупного рогатого скота; лимфоциты

SODOMKOVÁ D., RADEMACHER P., VAŇÁSEK J. (State Veterinary Institute, Veterinary Hospital, Reference Laboratory for Cattle Leucosis, Hradec Králové, Faculty Hospital of the Regional Institute of National Health, 2nd Clinic of Internal Medicine, Hradec Králové, Czechoslovakia). *Glycogen Demonstration in the Leucocytes of Healthy and Leucotic Cattle*. *Vet. Med. (Praha)* 20 (6) : 315-320, 1975.

In leukemic cows the percentage of leucocytes and lymphoid cells of the peripheral blood and marrow, with intensely stained violet glycogen granules in the plasma, which nevertheless exceptionally appear even in the leucocytes and lymphocytes of healthy cows, is significantly higher. Lymphocytes with a negative PAS reaction are found in both healthy and leukemic cows. PAS reaction can therefore be used as an auxiliary method for differentiating leukemic lymphocytes in a complex of further cytochemical reactions. In neutrophilous peripheral blood leucocytes of healthy and leucotic cattle the PAS reaction attained the values of ++ to ++++.

In the marrow of both groups an attenuated reaction was recorded in the myelocytes and promyelocytes (0 to +). Eosinophilous leucocytes and their developmental stages yielded negative PAS reaction. Monocytes showed a weak reaction in the periphery of healthy cattle whereas in the leucotic cattle the reaction was somewhat stronger. PAS reaction of the erythrocyte and thrombocyte bone marrow series was negative. cytochemistry; glycogen; bone marrow; blood; blood smear; cattle leucosis; lymphocytes

SODOMKOVÁ D., RADEMACHER R., VAŇÁSEK J. (Staatliches Veterinärinstitut, Veterinärkrankenhaus, Referenzlaboratorium für Rinderleukose, Hradec Králové, Bezirksanstalt für Volksgesundheit, Fakultätskrankenhaus, II. interne Klinik, Hradec Králové, Tschechoslowakei). *Glykogennachweis in Leukozyten des gesunden und leukosen Rindviehs*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 315-320, 1975.

Die leukämischen Kühe haben einen signifikant höheren Prozentsatz der Lymphozyten und lymphoiden Zellen des peripherischen Bluts sowohl des Marks mit intensiv gefärbten violeten Glykogengranula in dem Plasma, die jedoch ausnahmsweise auch in Lymphozyten gesunder Kühe vorkommen. Lymphozyten mit der negativen PAS-Reaktion sind sowohl bei gesunden, als auch bei leukämischen Kühen. Die PAS-Reaktion kann daher nur als Hilfsmethode für die Unterscheidung der leukämischen Lymphozyten in dem Komplex weiterer zytochemischen Reaktionen eingesetzt werden. Bei neutrophilen Leukozyten des peripherischen Bluts des gesunden sowohl leukosen Rindviehs wies die PAS-Reaktion einen Wert von ++ bis +++ auf. Im Knochenmark der beiden Gruppen trat bei Myelozyten und Promyelozyten eine Schwächung der Reaktion (0 bis +) ein. Eosinophile Leukozyten und ihre Entwicklungsstadien gaben eine negative PAS-Reaktion. Monozyten wiesen eine schwache Reaktion in der Peripherie des gesunden Rindviehs, etwas stärker bei leukosem Rind auf. Die PAS-Reaktion der erythrozytären und thrombozytären Entwicklungsreihe des Marks war negativ.

Zytochemie; Glykogen; Knochenmark; Blut; Blutabstrich; Rinderleukose; Lymphozyten

Adresa autorů:

MVDr. D. Sodomková, MVDr. R. Rademacher, CSc., Státní veterinární ústav, veterinární nemocnice, 500 00 Hradec Králové,

MUDr. J. Vaňásek, KÚNZ, fakultní nemocnice, II. interní klinika, 500 00 Hradec Králové

AMÉBY SKUPINY LIMAX U NĚKTERÝCH HOSPODÁŘSKÝCH A DOMÁCÍCH ZVÍŘAT

V. Kadlec

Státní veterinární ústav, Terežín

KADLEC V. *Améby skupiny limax u některých hospodářských a domácích zvířat.* Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 321-326, 1975.

Nahodilým výběrem bylo u pěti druhů hospodářských a domácích zvířat izolováno 14 kmenů améb skupiny limax. Améby byly zachyceny v ústrojí dýchacím, zažívacím a pohlavním. Podle systematického zařazení patří izoláty k rodům *Acanthamoeba*, *Hartmannella* a *Vahlkampfia*. Jejich teplotní optimum bylo při 37 °C. Pokus o průkaz patogenetických schopností se zástupci jednotlivých rodů na laboratorních zvířatech měl negativní výsledek.

limax améby; *Acanthamoeba*; *Hartmannella*; *Vahlkampfia*; výskyt u hospodářských a domácích zvířat

Zájem o skupinu tzv. malých volně žijících améb v posledním desetiletí je motivován zjištěními (Butt, 1964; Fowler a Carter, 1965; Červa a Novák, 1968), že jsou schopny vyvolat u lidí meningoencefalitidy s letálním průběhem. Dosud se podařilo prokázat (Culbertson, 1961; Červa aj., 1969; Jadin a Willaert, 1971) parazitické schopnosti u několika kmenů, které podle systematického zařazení Pagea (1967, 1967a) patří k rodům *Naegleria* a *Acanthamoeba*. O parazitismu těchto améb, zvaných podle způsobu pohybu – limax, v organismech některých hospodářsky významných druhů zvířat jsou v literatuře jen sporé údaje. Adamová (1964) cituje R. G. Plummera, který izoloval z nosního hleny koně s katarem dýchacích cest kmen *Acanthamoeba* W 1. Dwivedi (1965) a McConnell aj. (1968) publikují ojedinělé případy amébiáz skotu, manifestujících se plicním onemocněním. Ayers aj. (1972) referují o acanthamébiáze u psa.

Cílem předložené práce bylo zjistit přítomnost améb skupiny limax v organismech nemocných nebo uhynulých hospodářských a domácích zvířat a poukázat na jejich potenciální etiologii v patogenezi některých zvířecích onemocnění.

MATERIÁL A METODY

Améby byly izolovány z klinického materiálu a při autopsiích zvířat. Sekční materiál, exkrekty sliznic dýchacího a pohlavního ústrojí a seškraby stěn střevních byly přeneseny za aseptických podmínek přímo

nebo po předešlém zpracování jinou parazitologickou i bakteriologickou metodou na povrch agarů s vrstvou suspenze horkem usmrcené kultury *Aerobacter* (= *Enterobacter*) *aerogenes* (Culbertson aj., 1965). Petriho misky s agarem byly po naočkování vloženy do polyetylenových sáčků, neprodyšně uzavřeny a inkubovány po dobu minimálně sedmi dnů při teplotě 37 °C. Kultury byly kontrolovány mikroskopií Petriho misek při 100X zvětšení. Klonální kultury byly získány přenesením agarového bločku s vegetativním nebo encystovaným stadiem na povrchu na novou agarovou půdu. Při klonování bylo využito migračních vlastností améb (McIntosh a Chang, 1971) podle Neffovy metody a k vyloučení kontaminantů pak nemuselo být použito antibiotik.

Barvicí metody: trvalé preparáty se pořizovaly fixací Schaudinnovým nebo Carnoyovým roztokem, barvením železitým hematoxylinem, trichromem podle Massona nebo Giemsovou metodou a zalitím do kanadského balzámu.

Identifikace améb: k systematickému zařazení izolovaných kmenů jsme použili kritérií Pagea (1967, 1967a, 1968) a Singha a Dase (1970): způsob pohybu a tvorba pseudopodií, poměr délky k šířce při pohybu, tvar trofozoitů, počet kontraktilních vakuol a jejich vyprazdňovací perioda, rychlost pohybu, tvorba bičíkatého stadia, tvar a velikost cyst a způsob jaderného dělení. Patogenetické schopnosti kmenů byly studovány vždy s jedním zástupcem rodu na bílých myších a morčatech metodami popsanými Červou (1967, 1967a), Wilsonem aj. (1967) a Singhem a Dase (1970).

VÝSLEDKY

Ze 14 améb skupiny limax, izolovaných nahodilým výběrem z veterinárního materiálu (tab. I), bylo šest kmenů *A. polyphaga*. Vegetativní stadia acanthaméb se pohybují širokým lobopodiem, z něhož se tvoří úzké zašpičatělé výběžky cytoplazmy (= *acanthopodia*). Obvykle mají jedno váčkovité jádro. Typ jaderného dělení je mitotický s rozpuštěním jadérka a jaderné blány v průběhu mitózy. Cysta acanthaméb obsahuje endocystu více méně mnohoúhelníkovitého nebo hvězdčovitěho tvaru.

Čtyři izoláty byly *Hartmannella vermiformis*. Trofozoity hartmannell mají obvykle protáhlý tvar pouze s jedním širokým lobopodiem bez plazmatických výběžků.

Plazma obsahuje jedno vezikulární jádro. Při jaderném dělení jsou jadérko a jaderná membrána rozpuštěny. Hartmannelly podobně jako acanthaméby tvoří bičíkatá stadia.

Tři kmeny příslušely k rodu *Vahlkampfia*. Tento rod zahrnuje améby v pohybu monopodiální, které se pohybují znatelně erupčním způsobem. Normálně vahlkampfie obsahují jedno váčkovité jádro. Mají promitotický způsob jaderného dělení, během něhož se tvoří charakteristické „polární čepičky“, odvozené z hmoty jadérka. Jeden z izolovaných kmenů byl později označen jako species nova – *Vahlkampfia enterica*.

Poslední kmen č. 311 nebyl systematicky zařazen. Jeho vegetativní stadia se vyznačovala tvorbou prstovitých pseudopodií z kontrahovaných forem a lobopodií při pohybu vpřed. Za těchto okolností pak měli tro-

I. Původ kmenů a způsob jejich izolace

Kmen číslo	Původ	Klinický nebo patologicko-anatomický nález	Způsob izolace
<i>A. polyphaga</i> 1289	<i>Bos taurus</i> ♀ sliznice poševní	<i>abortus</i>	přímo amébova půda
<i>H. vermiformis</i> 690	<i>Canis familiaris</i> hlen z bronchů	<i>susp. ascaridiosis</i>	přímo amébová půda
<i>V. enterica</i> 836	<i>Meleagris gallopavo</i> sliznice střevní	<i>coccidiosis, histomonosis, trichomoniasis</i>	sekundárně z Ringerova roztoku
<i>A. polyphaga</i> 63	<i>Bos taurus</i> ♂ praeputium	<i>susp. evanthema vesiculosum coitale</i>	přímo amébová půda
<i>A. polyphaga</i> 58—9	<i>Columba domestica</i> sliznice střevní	<i>trichomoniasis</i>	přímo amébová půda
<i>H. vermiformis</i> 2594	<i>Meleagris gallopavo</i> sliznice horních cest dýchacích	<i>mycoplasmosis</i>	sekundárně z játrového bujónu
<i>A. polyphaga</i> 2603	<i>Meleagris gallopavo</i> sliznice střevní	<i>mycoplasmosis</i>	sekundárně z játrového bujónu
<i>H. vermiformis</i> 2603	<i>Meleagris gallopavo</i> sliznice horních cest dýchacích	<i>mycoplasmosis</i>	sekundárně z Ringerova roztoku
<i>H. vermiformis</i> 3140	<i>Meleagris gallopavo</i> sliznice slepého střeva	<i>mycoplasmosis</i>	přímo amébová půda
<i>A. polyphaga</i> 3139	<i>Meleagris gallopavo</i> sliznice slepého střeva	<i>mycoplasmosis</i>	přímo amébová půda
<i>A. polyphaga</i> 375	<i>Bos taurus</i> ♂ praeputium	preventivní kontrola	sekundárně z játrového bujónu
<i>V. inornata</i> 130	<i>Sus scrofa</i> ♀ sliznice dutiny nosní	<i>rhinitis atrophicans</i>	přímo amébová půda
<i>Vahlkampfia</i> sp. 1162	<i>Sus scrofa iuven.</i> sliznice dutiny nosní	?	přímo amébová půda
neurčený 311	<i>Bos taurus</i> ♂ praeputium	<i>susp. exanthema ves. coitale</i>	přímo amébová půda

fozoiti válcovitý tvar, jehož délka se pohybovala mezi 26,0 až 37,5 μm a šířka od 11,0 do 19,0 μm . V cytoplazmě byla většinou jediná kontraktilní vakuola umístěná na zádi těla za jádrem a několik větších granulí. Zřídka byly v plazmě až tři kontraktilní vakuoly. Jádro při pohybu améby leželo v zadní polovině těla a měřilo okolo 5 μm . Jadérko nepravidelného tvaru měřilo kolem 2,5 μm . Améba netvořila bičíkaté stadium.

Cysty byly kulaté se silnou hladkou stěnou, která byla lehce zvlněná. Jediné jádro měřilo kolem 3 μm . Mimo ně obsahovala plazma cyst jemná granula, občas s jedním větším na periferii. Velikost cyst se pohybovala od 11 do 15 μm , většinou kolem 12 μm . Po excystaci zůstával prázdný obal s poměrně širokým (3,5 μm) excystačním otvorem.

Binárnímu štěpení tohoto kmene předcházeli mitotický způsob jaderného dělení.

Optimální kultivační teplota pro všechny izolované kmeny byla 37 °C.

Patogenetické schopnosti jsme u zástupců jednotlivých rodů neprokázali. Infekční pokusy na laboratorních zvířatech ukázaly, že při použité metodě přežívá v savčím organismu po dobu až 30 dní *A. polyphaga*, aniž by u hostitele vyvolala příznaky onemocnění (tab. II).

II. Infekční pokusy

Kmen	Pokusné zvíře	Počet	Způsob aplikace	Záchyt inokulovaných améb
<i>A. polyphaga</i> č. 1289	bílé myši	10	i. peritoneálně i. cerebrálně	pozitivní
<i>Hartmannella vermiformis</i> č. 690	bílé myši	6	i. cerebrálně i. nazálně	negativní
<i>Vahlkampfia</i> spec.	bílé myši morčata	6 2	i. cerebrálně i. nazálně i. pulmonálně	negativní

DISKUSE

Výskyt limax améb nebyl při vyšetřování veterinárního materiálu sledován systematicky. Izolace speciálními metodami byla provedena teprve při podezření z jejich přítomnosti, prozrazující se typickým pohybem vegetativních stadií nebo charakteristickým tvarem cyst. Přesto se ve sledovaném období podařilo izolovat 14 kmenů u pěti druhů zvířat, což svědčí o poměrně velkém rozšíření těchto organismů. Byly zachyceny v ústrojí dýchacím, zažívacím a pohlavním. Na přítomnost améb v dýchacím ústrojí skotu poukázali Dwivedi (1965) a McConnell aj. (1968), u koně je zjistil Plummer (cit. Adamová, 1964).

Všechny izoláty patří systematicky ke skupině limax améb, jež zahrnuje kmeny schopné přecházet k parazitickému způsobu života. Améby rodu *Naegleria*, jehož některé kmeny vyvolávají u lidí letální meningo-

cefalitidy a jsou vysoce patogenní pro laboratorní zvířata, se nám izolovat nepodařilo. Se zástupci všech tří rodů — *Acanthamoeba*, *Hartmannella* a *Vahlkampfia*, k nimž naše izoláty patří, byly provedeny infekční pokusy na laboratorních zvířatech s negativním výsledkem. Pouze kmen *A. polyphaga* č. 1289 pravidelně přežíval v hostitelském organismu. Z Červových pokusů (1967, 1967a) však vyplývá, že patogenita améb je závislá na mnoha faktorech. Etiologický vztah izolovaných améb k chorobám, resp. úhynu hospodářsky významných nebo domácích zvířat, se ve studovaném materiálu nepodařilo zatím prokázat. Nelze ho však kategoricky vyloučit, soudě podle toho, že izoláty jsou dobře adaptovány na růst při 37 °C.

Literatura

- ADAM, K. M. G.: A comparative study of Hartmannellid amoebae. *J. Protozool.*, 1964, č. 11, s. 423-430.
- AYERS, K. M. — BILLUPS, L. H. — GARNER, F. M.: Acanthamoebiasis in a dog. *Vet. Path.*, 1972, č. 9, s. 221-226.
- BUTT, C.: Primary amoebic meningoencephalitis. *Am. J. clin. Path.*, 42, 1964, s. 513.
- CULBERTSON, C. G.: Pathogenic *Acanthamoeba* (*Hartmannella*). *Am. J. clin. Path.*, 35, 1961, s. 195-202.
- CULBERTSON, C. G. — ENSMINGER, P. W. — OVERTON, W. M.: The isolation of additional strains of pathogenic *Hartmannella* sp. (*Acanthamoeba*). Proposed culture method for application to biological material. *Am. J. clin. Path.*, 43, 1965, s. 383-387.
- ČERVA, L.: Intracerebral inoculation of experimental animals in pathogenetical studies of *Hartmannella castellanii*. *Folia parasitol.*, Praha, 14, 1967, s. 171-176.
- ČERVA, L.: Intranasal, intrapulmonary and intracardial inoculation of experimental animals with *Hartmannella castellanii*. *Folia parasitol.*, Praha, 14, 1967a, s. 207-215.
- ČERVA, L. — NOVÁK, K.: Amébová meningoencefalitida v ČSSR. (Předběžná zpráva o prvních 16 detekovaných případech.) *Čs. Epidem. Mikrobiol. Imunol.*, 17, 1968, s. 65-66.
- ČERVA, L. — FERDINANDOVÁ, M. — NOVÁK, K. — PTÁČKOVÁ, V. — SCHROTTENBAUM, M. — ZIMÁK, V.: Meningoencephalitis durch *Amoebida Naegleriidae*. *Munch. Med. Wschr.*, 111, 1969, s. 2090-2094.
- DWIVEDI, J.: Pulmonary lesions in an Indian buffalo associated with *Acanthamoeba* sp. *Indian Microbiol.*, 1965, č. 5, s. 31-34.
- FOWLER, M. — CARTER, F.: Acute pyogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba* sp. *Br. med. J.*, 1965, č. 2, s. 740-742.
- JADIN, J. B. — WILLAERT, E.: Trois cas de méningo-encéphalite amibienne à *N. gruberi* observées à Anvers (Belgique). *J. Protozool.* 18 (Suppl.), 190, 1971, s. 49.
- McCONNELL, E. E. — GARNER, F. M. — KIRK, J. H.: Hartmannellosis in a bull. *Pathologia vet.*, 1968, č. 5, s. 1-6.
- McINTOSH, A. H. — CHANG, R. S.: A comparative study of 4 strains of harmanellid amoebae. *J. Protozool.*, 18, 1971, s. 632-636.
- PAGE, F. C.: Taxonomic criteria for limax amoebae, with description of 3 new species of *Hartmannella* and 3 of *Vahlkampfia*. *J. Protozool.*, 14, 1967, s. 499-521.
- PAGE, F. C.: Re-definition of genus *Acanthamoeba* with descriptions of three species. *J. Protozool.*, 14, 1967a, s. 709-724.
- PAGE, F. C.: Generic criteria for *Flabellula*, *Rugipes*, and *Hyalodiscus*, with descriptions of species. *J. Protozool.*, 15, 1968, s. 9-26.
- SINGH, B. N. — DAS, S. R.: Studies on pathogenic and non-pathogenic small free-living amoebae and the bearing of nuclear division on the classification of the order *Amoebida*. *B. Biol. Sciences*, 259, 1970, s. 435-476.
- WILSON, D. — BOVEE, E. C. — BOVEE, G. J. — TELFORD, S. R. Jr.: Induction of amoebiasis in tissues of white mice and rats by subcutaneous inoculation of small free-living, inguinal, and parasitic amoebas with associated coliform bacteria. *Expl. Parasit.*, 21, 1967, s. 277-286.

Došlo dne 21. 11. 1974

КАДЛЕЦ В. (Государственный институт ветеринарии, Терезин, Чехословакия). Амёбы группы лимакс у некоторых сельскохозяйственных и домашних животных. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 321-326, 1975.

Методом случайного отбора у пяти видов сельскохозяйственных и домашних животных было изолировано 14 штаммов амёб группы лимакс. Амёбы были обнаружены в дыхательных, пищеварительных и половых органах. Согласно систематической классификации изоляты относятся к родам *Acanthamoeba*, *Hartmannella* и *Vahlkampfia*. Их температурный оптимум был при 37 °C. Попытка доказать патогенетические способности с представителями отдельных родов на лабораторных животных дала отрицательный результат.

Лимакс амёбы; *Acanthamoeba*; *Hartmannella*; *Vahlkampfia*; появление у сельскохозяйственных и домашних животных

KADLEC V. (State Veterinary institute, Terezin, Czechoslovakia). *Amoebae of the Limax Group in Some Species of Farm and Domestic Animals*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 321-326, 1975.

Fourteen strains of amoebae of the Limax group were isolated by random selection in five species of farm and domestic animals. The amoebae were captured in the respiratory and digestive tracts and in sex organs. According to the systematic classification, the isolates belong to the following genera: *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, and *Vahlkampfia*. Their temperature optimum was 37 °C. The trial to demonstrate a pathogenetic character of the representative of individual genera on laboratory animals gave a negative result.

Limax amoebae; *Acanthamoeba*; *Hartmannella*; *Vahlkampfia*; occurrence in farm and domestic animals

KADLEC V. (Staatliche Veterinäranstalt, Terezín, Tschechoslowakei). *Amöben der Gruppe Limax bei einigen Wirtschafts- und Haustieren*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 321-326, 1975.

Bei zufälliger Auswahl wurden bei fünf Arten von Wirtschafts- und Haustieren 14 Stämme der Amöbengruppe Limax isoliert. Die Amöben wurden in den Atmungs-, Verdauungs- und Geschlechtsorganen vorgetroffen. Der systematischen Einreihung gemäß gehören die Isolate zu den Gattungen *Acanthamoeba*, *Hartmannella* und *Vahlkampfia*. Das Temperaturoptimum derselben lag bei 37 °C. Der Versuch eines Nachweises pathogener Fähigkeiten der einzelnen Gattungen bei Labortieren hatte ein negatives Resultat.

Лимакс-Амёбы; *Acanthamoeba*; *Hartmannella*; *Vahlkampfia*; Auftreten bei Wirtschafts- und Haustieren

Adresa autora:

RNDr. Vít Kadlec, Státní veterinární ústav, 411 55 Terezín

ACIDOBAZICKÉ HODNOTY KRVE PRASETE

K. Štros, J. Komárek, L. Jadrný

Okresní veterinární zařízení, Pardubice

Státní veterinární ústav, Pardubice

Oddělení klinické biochemie OÚNZ, Pardubice

ŠTROS K., KOMÁREK J., JADRNÝ L. *Acidobazické hodnoty krve prasete*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 327-337, 1975.

U 100 klinicky zdravých prasat, rozdělených po 20 kusech do pěti kategorií (selata, prasata 30—40 kg, prasata 80—100 kg, prasnice a kanci), jsme stanovili základní ukazatele acidobazické rovnováhy venózní krve (*v. auricularis externa*). Určili jsme pH, pCO₂, celkový CO₂, BE, BB, SB, AB (base excess, buffer base, standardní bikarbonát, aktuální bikarbonát) jedinců, skupin, souboru — metodou podle Astrupa (přístroj Astrup PHM 71 a BMS 2). Výsledky jsme sestavili do tabulky a grafů včetně Siggaard-Andersenova nomogramu a vypočetli statistickou významnost při $p > 0,05$. U souboru 100 prasat jsme zjistili průměrné hodnoty acidobazické rovnováhy krve: pH 7,306 ± 0,013, pCO₂ 53,4 ± 1,6 mm Hg, celkový CO₂ 27,6 ± 0,5, BE — 1,0 ± 0,4, BB 46,2 ± 0,7, SB 23,5 ± 0,4, AB 26,0 ± 0,5 mEq l⁻¹.

acidobazická rovnováha; prase; pět váhových kategorií; Astrupův přístroj

Hodnoty acidobazické rovnováhy krve (dále ABR) zvířat jsou významnými ukazateli poměrů ve vnitřním prostředí organismu. Upřesňují naše znalosti o zdravotním stavu jedince i celého stáda zvířat. Jsou součástí tzv. profilových metabolických testů, často užívaných u skotu, zvláště u dojnic. Vyšetření acidobazické homeostázy má vztah k energetickému i minerálnímu metabolismu, výměně plynů, exkreci. Na udržení homeostázy v organismu se účastní celý komplex činitelů vnějšího i vnitřního prostředí. Výsledky acidobazické analýzy krve umožňují posoudit vlivy obou prostředí na celkový zdravotní stav organismu.

Poruchy ABR se vyskytují například u jedinců s intenzivním látkovým metabolismem. Acidóza prasnic může způsobit prenatální úhyn, perinatální mortalitu s predispozicí ke vzniku mastitid, metritid, syndromu agalaktie a poruchy reprodukčního cyklu. Při velkovýrobní technologii v chovu prasat mohou mít metabolické poruchy ve stádě prasat hrozný charakter se značnými ztrátami.

V rámci hybridizačního programu v chovech prasat bude nutné využít výsledků vyšetření ABR krve pro posouzení funkčního stavu organismů prasat (a to dříve, než zjistíme snížení užitkovosti a klinicky se projevující poruchu), popřípadě pro výběr jedinců s vysokou homeostatickou schopností.

V předložené práci jsme se pokusili stanovit základní hodnoty ABR v krvi klinicky zdravých prasat (podle jednotlivých kategorií) a přispět tak k dosud velmi neúplným znalostem o normálních poměrech.

Na potřebu vypracovat normy sledovaných ukazatelů u jednotlivých kategorií prasat v našich ekologických podmínkách při určité technologii poukazuje Bartko (1974).

Dosud nejdokonalejší metodou pro stanovení hned několika ukazatelů acidobazického stavu vnitřního prostředí organismu je metoda ekvilibrační podle Astrupa (Astrup a Schröder, 1956; Astrup aj., 1960; Siggaard-Andersen aj., 1960 – cit. Lebeda, 1971). Literatura o jejím použití u prasat je sporá. V literatuře nám dostupné jsme navíc narazili na roztržičnost a neúplnost údajů především v použité krvi (arteriální, venózní, kapilární, resp. arterializované) v plemenné příslušnosti, stáří, resp. hmotnosti prasat, pohlaví, způsobu krmení, použití narkózy, tělesném výkonu, elektrické stimulaci, účelu a zaměření práce.

U hospodářských zvířat s výjimkou skotu jsou počty vyšetřených málo reprezentativní, spíše jen orientační a představují namátkové studie. Málo zpráv je o patologii ABR ve srovnání s klinikou u prasat.

Extravitální vlivy na ABR krve u 11 prasat čtyři měsíce starých, o hmotnosti 35 až 50 kg, studovali Bartko aj. (1973). Zjistili, že lze při teplotě 4 °C krev vyšetřovat do šesti hodin; to přibližně odpovídá závěrům Nejedlého (1974), který udává, že při teplotě 0 až 4 °C lze vyšetřovat do čtyř hodin po odběru.

Jagoš aj. (1975) však připouštějí v krajním případě vyšetření do 48 hodin po odběru krve za určitých technických podmínek včetně konečné korekce zjištěných acidobazických hodnot.

Randall (1971) zjišťoval hodnoty pH a $p\text{CO}_2$ u 299 selat v krvi, kterou získal z pupěční arterie bezprostředně po jejich narození. Uvádí v souvislost stoupající acidemii a hyperkapnii se sníženou životaschopností selat. U plně životaschopných bylo $\text{pH } 7,31 \pm 0,004$ a $p\text{CO}_2 \ 58,8 \pm \pm 0,49$, u málo životaschopných $\text{pH } 6,50$ až $6,90$ a $p\text{CO}_2 \ 105$ až 185 mm Hg .

Aalund a Nielsen (1960) vyšetřovali na jatkách krev 57 omráčených prasat o hmotnosti 90 kg, klinicky zdravých, nehladových. Uvádějí 94,7 % hodnot standardního bikarbonátu (SB) v rozmezí 16,1 až 25,6 mE l^{-1} , 86,0 % v rozmezí 18,0 až 26,5 mE l^{-1} . Vyslovili názor, že u prasat jsou nižší hraniční hodnoty SB ve srovnání s krví krav. Příčinu vidí v námaze při nahánění prasat, resp. při odběru krve. Tím korigují normální hranice uváděné u prasat mezi 18,0 až 27,0 mE l^{-1} . Citují výsledky Astrupa, který za normální považuje 19,0 až 24,0 mE l^{-1} , přičemž 80 % jeho výsledků bylo mezi 20,0 až 23,0 mE l^{-1} .

Schülke aj. (1968) sledovali vliv okolní teploty (35 °C) na krevní indexy u 10 kastrátů o hmotnosti 30 až 40 kg. Při hyperventilaci zjistili pokles $t\text{CO}_2$ a zvýšení pH; vypočítaný $p\text{CO}_2$ v době nejvyšší hyperventilace poklesl v průměru na polovinu výchozích hodnot.

Steinhardt aj. (1974) studovali vliv svalového výkonu trvajícího 10 minut na ABR prasete o hmotnosti 73,5 kg. Po ukončení svalového výkonu v čase 0 minut zjistili $\text{pH } 7,38$, $p\text{CO}_2 \ 29,0$, BE $-7,4$; po

20 minutách pH 7,44, pCO₂ 32,0, BE -2,6; po 30 minutách pH 7,48, pCO₂ 32,0, BE 0,8 a přibližně stejné byly výsledky i v 80. minutě.

Bartko aj. (1974) studovali dynamiku ABR u 62 prasat od 1. do 56. dne života. Průměrné hodnoty za období byly pH 7,40, pCO₂ 41,40, BE +0,84, BB 46,75, SB 25,43, AB 25,67, tCO₂ 26,94, Hb 7,80. Pokles všech hodnot byl výrazný v prvních dvou dekádách, celé období dvou měsíců se vyznačovalo labilitou acidobazické homeostázy.

Výsledky vyšetření ABR prasat podle různých autorů jsme sestavili do tab. I.

I. Výsledky vyšetření acidobazické rovnováhy krve prasat podle různých autorů

Prase	n	pH	pCO ₂	BE	SB	Autor
Žírné	3	7,417	40,60	1,63	25,20	Lebeda, Buš (1970)
Žírné	6	7,344	40,06	-3,05	21,17	Lebeda (1970)
100 kg	5	7,376	48,60	1,20	24,80	Bouda, Illek (1970)
17-18 kg	6	7,260	48,00	2,80		Van Den Hende aj. (1970)
		až	až	až		
		7,460	105,00	7,80		
35-50 kg	11	7,322	39,49	-4,88	20,26	Bartko aj. (1973)

V patologických podmínkách studovali SB prasat Aalund a Nielsen (1960): při enteritidě byla jeho hodnota 14,8 mE l⁻¹, při peritonitidě 19,4 mE l⁻¹ a při pneumonii 19,8 až 22,3 mE l⁻¹.

MATERIÁL A METODA

ABR krve prasat jsme vyšetřovali u pěti kategorií: selata, prasata o hmotnosti 30 až 40 kg, prasata o hmotnosti 80 až 100 kg, prasnice a kanci - plemene lanrase a české bílé ušlechtilé s různým podílem krve uvedených plemen. Krmení bylo standardní, převážně kompletními směsmi. Ustájení bylo kotcové, výjimečně s výběhy.

Krev byla odebírána v ranních hodinách po krmení z *v. auricularis externa* do 2ccm injekčních stříkaček z umělé hmoty s malým množstvím heparinu a s několika kuličkami pro roztřepání krve. Při odběru jsme dbali na to, aby do krve nevnikly vzduchové bubliny; stříkačky po odběru byly uloženy do polystyrénové krabice s ledem. Do dvou hodin po odběru byla krev laboratorně zpracována.

Laboratorní vyšetření bylo prováděno na přístroji Astrup PHM 71 a BMS 2, na kterém bylo vyšetřeno pH přímo a pCO₂ nepřímou ekvilibrační metodou. Base excess, buffer base, total CO₂, aktuální a standardní bikarbonát byly odečteny ze Siggaard-Andersenova nomogramu (dále jenom BE, BB, AB, SB).

Výsledky byly statisticky zhodnoceny, byla stanovena směrodatná odchylka, průměrné hodnoty jednotlivých skupin, celého souboru a statistická významnost při $p > 0,05$. Dosažené výsledky jsme sestavili do tab. II a do obr. 1–9.

VÝSLEDKY

II. Hodnoty acidobazické rovnováhy krve prasat ve skupinách a souboru

Skupina	n	pH	pCO ₂	tCO ₂	BE	BB	SB	AB
			torr	mE l ⁻¹				
I. selata 12–15 kg	20	7,251 ⁺	57,7	26,5 ⁺	–3,0	43,6 ⁺	21,9	24,8
		±0,024 ⁺⁺	3,4 ⁺⁺	1,1 ⁺⁺	1,0 ⁺⁺	1,4 ⁺⁺	0,9 ⁺⁺	1,1 ⁺⁺
		7,101	43,0	22,8	–9,0	37,5	17,3	21,5
		až 7,320	72,0	31,5	0,0	49,0	24,5	29,5
II. prasata 30–40 kg	20	7,278	57,8	28,3	–1,0	45,8 ⁺	23,5	26,6
		±0,023	2,2	1,4 ⁺⁺	0,8 ⁺⁺	1,7	1,1 ⁺⁺	1,4 ⁺⁺
		7,178	51,0	24,6	–6,0	40,5	19,5	23,0
		až 7,355	67,5	34,8	5,0	55,0	28,5	33,0
III. prasata 80–100 kg	20	7,285 ⁺	55,2	27,3	–2,2	45,9	22,6	25,2
		±0,025	4,2	1,5	1,2	1,5 ⁺⁺	1,0	1,4
		7,205	34,5	20,2	–8,5	37,5	17,5	18,7
		až 7,392	71,5	32,0	1,5	50,0	25,7	30,0
IV. prasnice	20	7,386	44,7	27,8 ⁺	1,2	47,9	25,4	26,3
		±0,016 ⁺⁺	2,0 ⁺⁺	0,8	0,7 ⁺⁺	1,2 ⁺⁺	0,7 ⁺⁺	0,9 ⁺⁺
		7,330	39,5	24,5	–1,5	44,0	23,0	23,2
		až 7,445	56,0	31,9	5,5	52,0	29,0	30,5
V. kanci	20	7,329	51,9	28,3	–0,1	47,8	24,3	26,7
		±0,013 ⁺⁺	3,2 ⁺⁺	1,3 ⁺⁺	0,1 ⁺⁺	1,2 ⁺⁺	0,7 ⁺⁺	1,2 ⁺⁺
		7,280	45,0	25,0	–3,5	44,5	21,5	23,5
		až 7,385	72,0	36,2	3,5	53,5	27,5	34,0
VI. prasata – soubor	100	7,306	53,4	27,6	–1,0	46,2	23,5	26,0
		±0,013	1,6	0,5	0,4	0,7	0,4	0,5
		7,101	34,5	20,2	–9,0	37,5	17,3	18,7
		až 7,445	72,0	36,2	5,5	55,0	29,0	34,0

Nejnižší mezní hodnoty jsou vyznačeny v tab. II podtržením plnou čarou, nejvyšší tečkovanou. Křížkem jsou označeny hodnoty na hranici významnosti, dvěma křížky hodnoty statisticky významné při $p > 0,05$.

Statistickým zhodnocením jsme zjistili významné rozdíly ABR v hodnotách: pH a pCO₂ – mezi skupinou I a IV, V, dále mezi skupinou IV

a V (mezi pohlavím); total CO_2 — mezi skupinou I a II, V; BE — mezi skupinou I a II, IV, V, dále mezi skupinou IV a V (mezi pohlavím); BB — mezi skupinou I a III, IV, V; SB — mezi skupinou I a II, IV, V; AB — mezi skupinou I a II, IV, V.

Na hranici významnosti jsou hodnoty pH mezi skupinou I a III, hodnoty BB mezi skupinou I a II a tCO_2 mezi skupinou I a IV. Ostatní hodnoty v rozdíle jsou statisticky nevýznamné.

Nejnižší mezní hodnoty byly u I. a III. skupiny (selata, prasata 80 až 100 kg) ve čtyřech indexech (pH, BE, BB, SB, resp. pCO_2 , tCO_2 , BB, AB). Nejvyšší mezní hodnoty jsme získali u IV. a V. skupiny (prasnice, kanci) ve třech indexech (pH, BE, SB, resp. pCO_2 , tCO_2 , AB).

Pozoruhodné jsou statisticky významné rozdíly mezi skupinou selat a ostatními skupinami ve všech sedmi indexech. Hodnoty pH, pCO_2 a BE jsou statisticky významné mezi kanci a prasnicemi.

Aktuální pH krve selat kolísalo od 7,101 do 7,320 s průměrem $7,251 \pm 0,024$, krve prasat o hmotnosti 30 až 40 kg od 7,178 do 7,355 s průměrem $7,278 \pm 0,023$, prasat o hmotnosti 80 až 100 kg od 7,205 do 7,392 s průměrem $7,285 \pm 0,025$, prasnic od 7,330 do 7,445 s průměrem $7,386 \pm 0,016$, kanců od 7,280 do 7,385 s průměrem $7,329 \pm 0,013$ a u souboru 100 prasat od 7,101 do 7,445 s průměrem $7,306 \pm 0,013$.

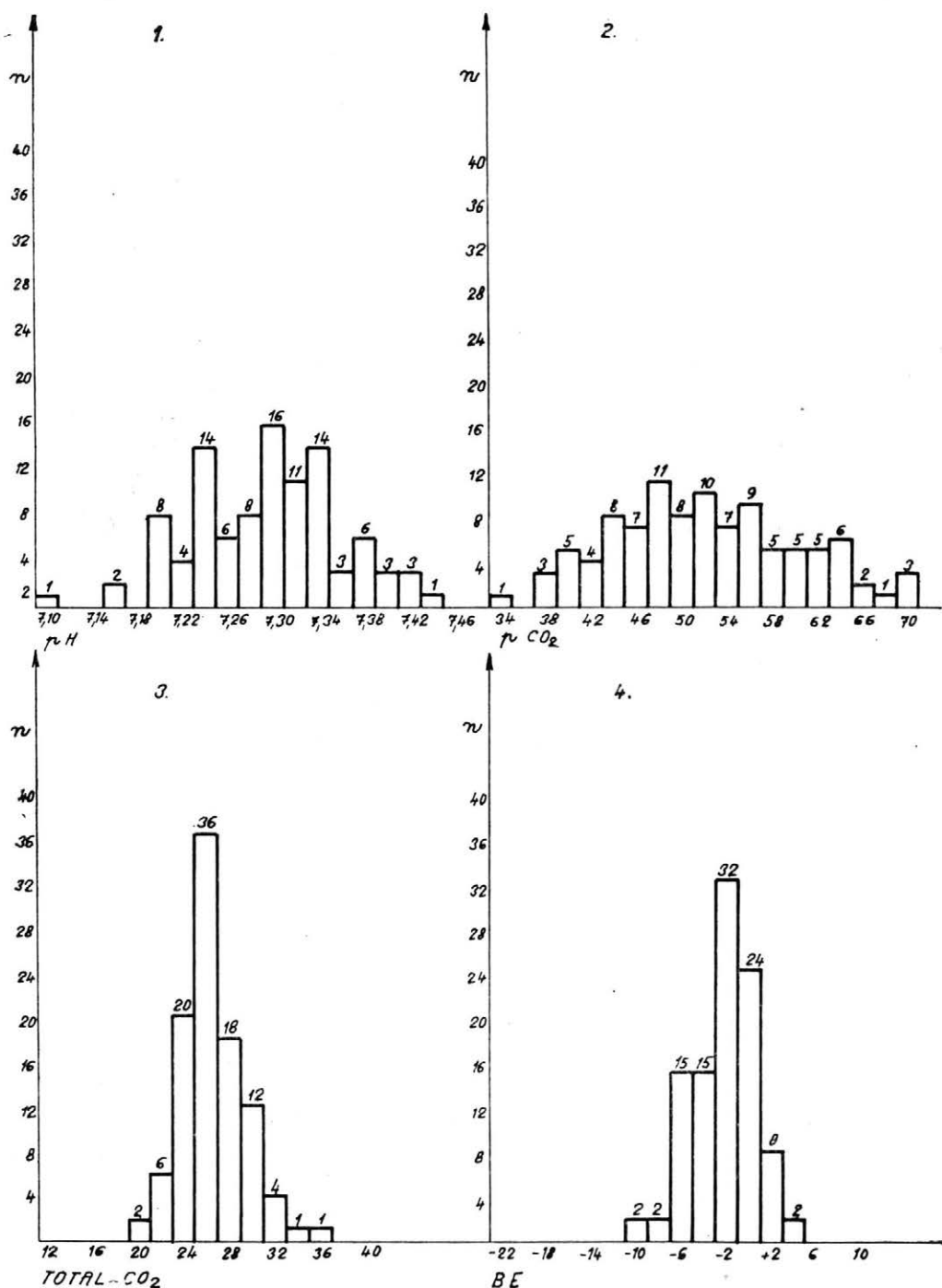
Hodnota pCO_2 selat kolísala od 43,0 do 72,0 s průměrem $57,7 \pm 3,4$ torru, prasat o hmotnosti 30 až 40 kg od 51,0 do 67,5 s průměrem $57,8 \pm 2,2$, prasat o hmotnosti 80 až 100 kg od 34,5 do 71,5 s průměrem $55,2 \pm 4,2$, prasnic od 39,5 do 56,0 s průměrem $44,7 \pm 2,0$, kanců od 45,0 do 72,0 s průměrem $51,9 \pm 3,2$ a u celého souboru od 34,5 do 72,0 s průměrem $53,4 \pm 1,6$.

Total CO_2 selat kolísalo od 22,8 do 31,5 s průměrem $26,5 \pm 1,1 \text{ mE l}^{-1}$, prasat o hmotnosti 30 až 40 kg od 24,6 do 34,8 s průměrem $28,3 \pm 1,4$, prasat o hmotnosti 80 až 100 kg od 20,2 do 32,0 s průměrem $27,3 \pm 1,5$, prasnic od 24,5 do 31,9 s průměrem $27,8 \pm 0,8$, kanců od 25,0 do 36,2 s průměrem $28,3 \pm 1,3$ a u souboru od 20,2 do 36,2 s průměrem $27,6 \pm 0,5$.

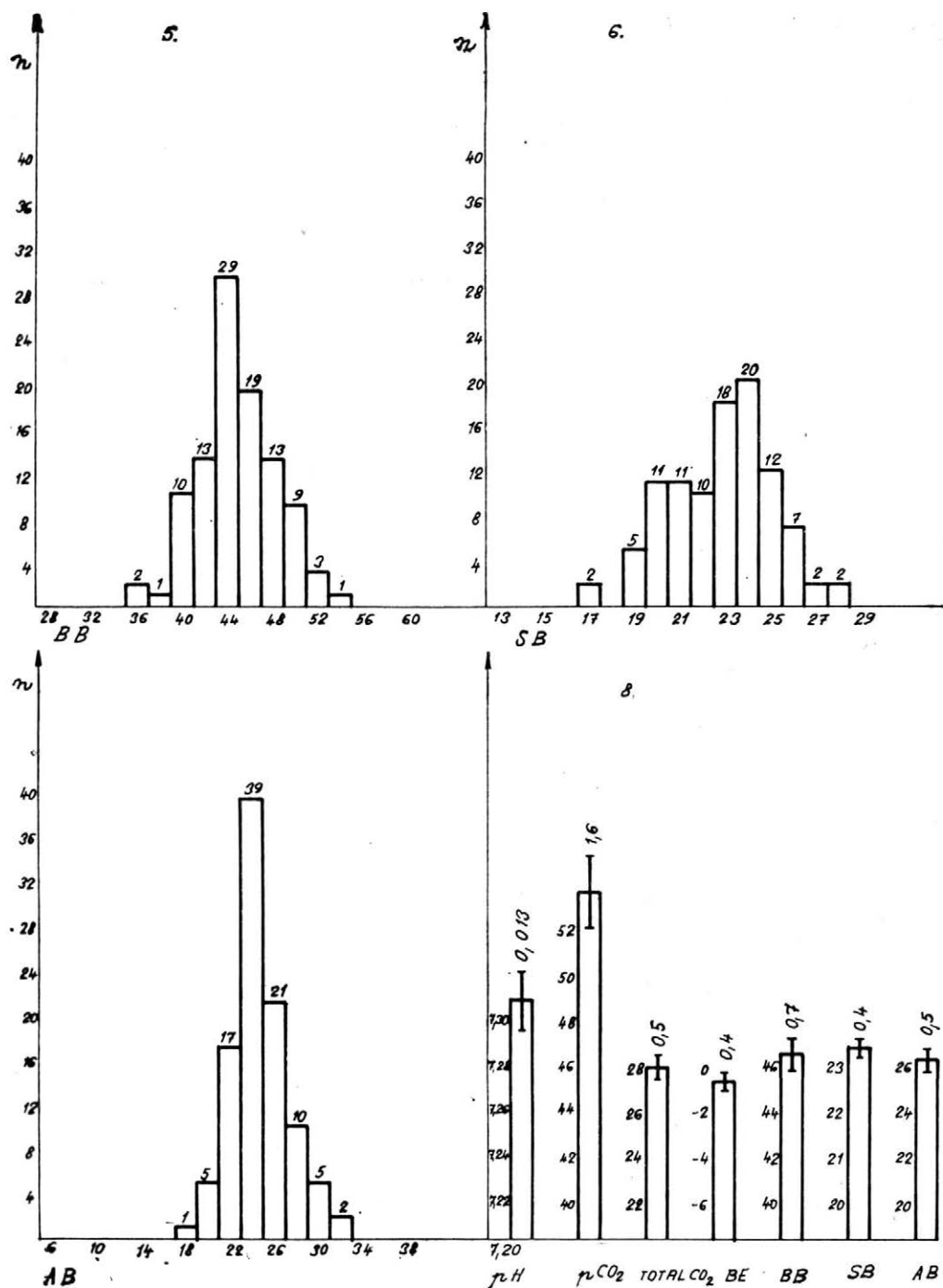
BE selat kolísalo od -9,0 do 0,0 s průměrem $-3,0 \pm 1,0 \text{ mE l}^{-1}$, prasat o hmotnosti 30 až 40 kg od -6,0 do 5,0 s průměrem $-1,0 \pm 0,86$, prasat o hmotnosti 80 až 100 kg od -8,5 do 1,5 s průměrem $-2,2 \pm 1,2$, prasnic od -1,5 do 5,5 s průměrem $1,25 \pm 0,7$, kanců od -3,5 do 3,5 s průměrem $-0,07 \pm 0,14$ a u souboru od -9,0 do 5,5 s průměrem $-1,0 \pm 0,4$.

BB selat kolísalo od 37,5 do 49,0 s průměrem $43,6 \pm 1,4 \text{ mE l}^{-1}$, prasat o hmotnosti 30 až 40 kg od 40,5 do 55,0 s průměrem $45,8 \pm 1,7$, prasat o hmotnosti 80 až 100 kg od 37,5 do 50,0 s průměrem $45,9 \pm 1,5$, prasnic od 44,0 do 52,0 s průměrem $47,9 \pm 1,2$, kanců od 44,5 do 53,5 s průměrem $47,8 \pm 1,2$ a u souboru od 37,5 do 55,0 s průměrem $46,2 \pm 0,7$.

SB selat kolísalo od 17,3 do 24,5 s průměrem $21,9 \pm 0,9 \text{ mE l}^{-1}$, prasat o hmotnosti 30 až 40 kg od 19,5 do 28,5 s průměrem $23,5 \pm 1,1$, prasat o hmotnosti 80 až 100 kg od 17,5 do 25,7 s průměrem $22,6 \pm 1,0$, prasnic od 23,0 do 29,0 s průměrem $25,4 \pm 0,7$, kanců od 21,5 do 27,5 s průměrem $24,3 \pm 0,7$ a u souboru od 17,3 do 29,0 s průměrem $23,5 \pm 0,4$.



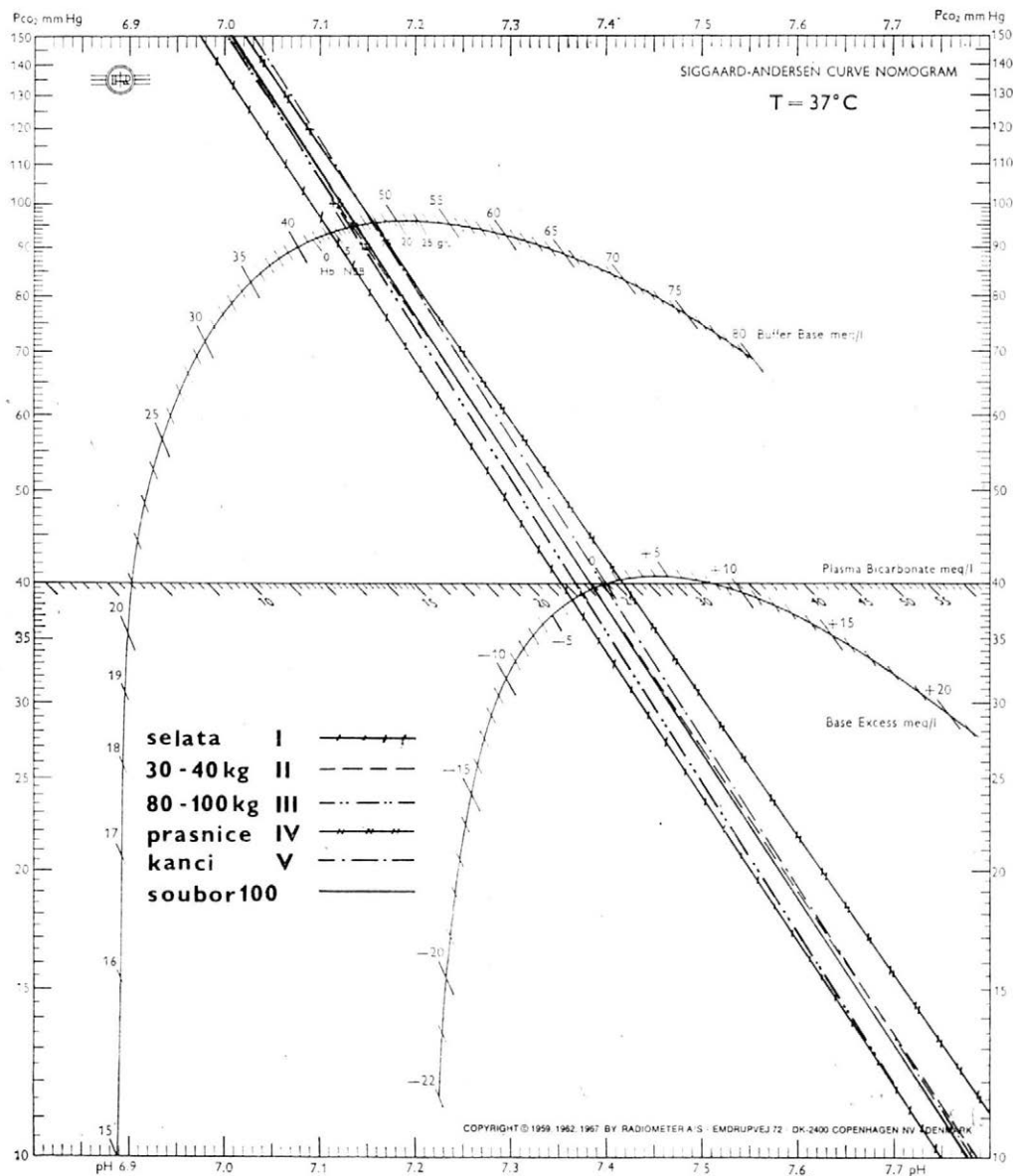
1.—4. Hodnoty acidobazické rovnováhy krve prasat ve skupinách a souboru



5.—8. Hodnoty acidobazické rovnováhy krve prasat ve skupinách a souboru

AB selat kolísal od 21,5 do 29,5 s průměrem $24,8 \pm 1,1$ mE l^{-1} , prasat o hmotnosti 30 až 40 kg od 23,0 do 33,0 s průměrem $26,6 \pm 1,4$, prasat a hmotnosti 80 až 100 kg od 18,7 do 30,0 s průměrem $25,2 \pm 1,4$, prasnic od 23,2 do 30,5 s průměrem $26,3 \pm 0,9$, kanců od 23,5 do 34,0 s průměrem $26,7 \pm 1,2$ a u souboru od 18,7 do 34,0 s průměrem $26,0 \pm 0,5$.

Na obr. 1–7 jsou znázorněny hodnoty ABR krve prasat na ose x, na ose y jsou počty prasat ze souboru. Na obr. 8 jsou na ose x jednotlivé



hodnoty ABR, na ose y dosažené průměrné hodnoty souboru prasat a směrodatné odchylky indexů. Dosažené výsledky pěti kategorií prasat a souboru prasat jsou zaneseny v Siggaard-Andersenově curve nomogramu (obr. 9).

DISKUSE

Nejrozsáhlejší počet zvířat vyšetřil Randall (1971). U 299 selat po narození z krve pupeční arterie určoval pH a $p\text{CO}_2$ a podle výsledných hodnot posuzoval životaschopnost narozených selat. Výsledné hodnoty jsou přibližně shodné s našimi, kterých jsme dosáhli ve skupině I – selata – i při rozdílném stáří sledovaných zvířat.

Hodnoty SB prasat o hmotnosti 80 až 100 kg se přibližují výsledkům, které měli Aalund a Nielsen (1960) u 57 prasat o hmotnosti 90 kg. Nižší hraniční hodnoty SB jsme navíc zjistili i u skupiny I (selata) a II (prasata 30 až 40 kg). U prasnic a kanců jsou naše hraniční hodnoty SB přibližně shodné s hodnotami uváděnými běžně u krav (například Lebeda, 1971; Hauser-Hürliemann, 1967; Mack, 1968 aj.). Všechny výsledné hodnoty ABR krve budou zřejmě ovlivněny váhovou, resp. věkovou strukturou vyšetřované skupiny prasat.

Extrémní hodnoty v našem pozorování (pH a BE u skupiny selat a jejich rozdíl proti skupině prasnic a kanců) nedosahují hodnot zjištěných van den Hendem aj. (1970), kteří dosáhli pH 6,80 a BE – 22,0 mE l^{-1} . U málo životaschopných selat zjistil Randall (1971) pH 6,50 až 6,95 a $p\text{CO}_2$ 105 až 185 mm Hg.

Bartko aj. (1973) u 11 prasat o hmotnosti 35 až 50 kg určili hodnotu BE v průměru – 4,88 mE l^{-1} , zatímco my jsme ve své sestavě v odpovídající skupině II zjistili $-1,0 \pm 0,86$. Pouze průměr BE ve skupině I (selata) – $3,0 \pm 1,0$ se blíží jimi zjištěnému průměru BE u 11 prasat.

Výsledky, kterých dosáhli Bartko aj. (1974) u 62 prasat ve stáří od 1. do 56. dne života, se liší od našich hodnot pH, $p\text{CO}_2$ a BE ve skupině I (selata).

Naše práce si nečiní nároky na stanovení standardu fyziologických acidobazických hodnot u prasete. Jsme si vědomi toho, že hodnoty ABR mohou být ovlivněny celou řadou stressových vlivů, které však pravděpodobně nebude možné vždy přesně a beze zbytku určit, resp. vyloučit.

Je nutné souhlasit s názorem Lebedy (1972), že normální hodnoty ABR i jiných biochemických ukazatelů nelze určovat na základě klinického zdraví (trias, výživný stav, habitus). Získávání fyziologických hodnot v tzv. optimálních stádech je samozřejmým požadavkem. Mimo zjišťované fyziologické hodnoty musí být i ostatní biochemické parametry normální, což jsme ve své práci beze zbytku nerespektovali.

Vzhledem k výraznému rozdílu hodnot ABR v jednotlivých skupinách se zaměříme zejména na rozšíření souboru skupiny „prasnice“, jejíž hodnoty se co nejvíce přibližovaly literárním, resp. předpokládaným hodnotám a u níž poruchy acidobazické rovnováhy přicházejí nejvíce v úvahu.

Literatura

- AALUND, O. — NIELSEN, K.: Determination of standard bicarbonate in blood. Investigations on the acid-base metabolism in cattle and swine. Nord. VetMed., 1960, č. 12, s. 605-620.
- BARTKO, P.: Stav a perspektívy veterinárnej starostlivosti vo veľkochovoch ošípaných v SSR. Veterinárství XXIV, 1974, č. 5, s. 215-216.
- BARTKO, P. — VRZGULA, L. — CHYLA, M.: Dynamika indexov acidobázickej homeostázy krvi prasiat do odstavu. Vet. Cas., XVI, 1974, č. 5-6, s. 131-137.
- BARTKO, P. — VRZGULA, L. — PŘOSTOVÁ, M. — MICHNA, A.: Štúdium niektorých extravitálnych vplyvov na acidobázický stav krvi u ošípaných. Vet. Cas., XV, 1973, č. 3, s. 73-78.
- HAUSER-HÜRLIMANN, K.: Bestimmung des Normalwertes des Standardbicarbonates im Blut von Pferd, Rind, Hund und Katze (Elektrometrische Methode nach P. Astrup). [Diss.] Zürich 1967.
- JAGOŠ, P. — BOUDA, J. — KOŠATKOVÁ, J.: Příspěvek ke sledování acidobázické rovnováhy ve veterinární medicíně. Veterinárství, XXV, 1975, č. 1, s. 19-20.
- LEBEDA, M.: Acidobázická fyziologie a patofyziologie hospodářských zvířat se základy detekce a terapie poruch. Pardubice 1971.
- LEBEDA, M.: Normální acidobázické hodnoty venózní krve krav a hodnocení stupně kompenzace metabolické poruchy. Veterinárství, XXII, 1972, č. 10, s. 454-456.
- MAACK, H. R.: Untersuchungen über den Säure-Basen-Zustand des Blutes bei gesunden und kranken Rindern mit Hilfe der Blut-pH-Messung. [Diss.] Hannover 1968.
- NEJEDLÝ, B.: Vnitřní prostředí, klinická biochemie a praxe. Avicenum, Praha 1974.
- RANDALL, G. C. B.: The Relationship of Arterial Blood pH and pCO₂ to the Viability of the Newborn Piglet. Can. J. comp. Med., 35, 1971, č. 2, s. 141-146.
- SCHÜLKE, B. — LYHS, L. — KÄDING, O.: Über den Einfluß exogener Hyperthermie und thermischer Hyperventilation auf den Partialdruck des CO₂ im Blut des Schweines. Arch. exp. VetMed., 22, 1968, č. 3, s. 633-637.
- VAN DEN HENDE, C. — MUYLLE, E. — OYSERT, W.: Oxygen Utilisation and Metabolic Acidosis after Exercise in Pigs. Zentbl. VetMed., A, 17, 1970, č. 2, s. 167-173.
- STEINHARDT, M. — BÜNGER, U. — LYHS, L. — WACHTEL, A.: Eine Versuchseinrichtung zur motorischen Belastung und zum Training von Schweinen. Mh. VetMed., 29, 1974, č. 13, s. 498-506.

Došlo dne 4. 11. 1974

ШТРОС К., КОМАРЕК Й., ЯДРНЫ Л. (Районная ветеринарная лечебница, Пардубице, Государственный ветеринарный институт, Пардубице, Отделение клинической биохимии Районной поликлиники, Пардубице, Чехословакия). Кислотно-щелочные показатели в крови свиней. Vet. Med. (Praha) 20 (6): 327-337, 1975.

У 100 клинически здоровых свиней, разбитых по 20 голов на 5 категорий (поросята, подвинки от 30 до 40 кг, свиньи от 80 до 100 кг, свиноматки и хряки), мы определяли основные показатели кислотно-щелочного равновесия венозной крови (*v. auricularis externa*). Мы определили pH, pCO₂, общее CO₂, BE, BB, AB особей, групп, совокупности по методу Аструпа (прибор Аструп PHM 71 и BM 2). Результаты мы разработали в виде таблицы и диаграмм, включительно Siggard-Andersen curve nomogram, и вычислили статистическую значимость при $p > 0,05$. У совокупности 100 свиней мы установили средние значения кислотно-щелочного равновесия: pH $7,306 \pm 0,013$, pCO₂ $53,4 \pm 1,6$ мм ртутного столба, общий CO₂ $27,6 \pm 0,5$, избыточная щелочность $-1,0 \pm 0,4$, буферная щелочность $46,2 \pm 0,7$, стандартный бикарбонат $23,5 \pm 0,4$, актуальный бикарбонат $26,0 \pm 0,5$ миллиэквивалента на 1 литр.

кислотно-щелочное равновесие; свиньи; пять весовых категорий; прибор Аструпа

ŠTROS K., KOMÁREK J., JADRNÝ L. (District Veterinary Station, Pardubice, State Veterinary Institute, Pardubice, Department of Clinical Biochemistry of the District Institute of Public Health, Pardubice, Czechoslovakia). *Acid-base Values of Pig Blood*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 327-337, 1975.

The main indices of acid-base balance of venous blood (*v. auricularis externa*) were determined in 100 clinically disease-free pigs divided into categories with 20 animals each (piglets, pigs from 30 to 40 kg, pigs from 80 to 100 kg, sows, and boars). The Astrup method was employed for the determination of pH, pCO₂, total CO₂, BE, BB, AB in individuals, groups, and in the set as a whole. The Astrup PHM 71 and BMS 2 apparatuses were used. The results were summed up in a table and in graphs, including the Siggaard-Andersen curve nomogram. Statistical significance was calculated at $p > 0.05$. The average ABB values were determined in the set of 100 pigs; pH 7.306 ± 0.013 , pCO₂ 53.4 ± 1.6 mmHg, total CO₂ 27.6 ± 0.5 , BE -1.0 ± 0.4 , BB 46.2 ± 0.7 , SB 23.5 ± 0.4 , AB 26.0 ± 0.5 mEq l⁻¹.

acid-base balance; pig; five weight categories; Astrup apparatus

ŠTROS K., KOMÁREK J., JADRNÝ L. (Kreisveterinäreinrichtung, Pardubice; Staatliche Veterinäranstalt, Pardubice; Abteilung für klinische Biochemie des OÜNZ, Pardubice, Tschechoslowakei). *Azidobasische Blutwerte beim Schwein*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 327-337, 1975.

Bei den in fünf Kategorien zu je 20 Stück eingeteilten 100 klinisch gesunden Schweinen (Ferkel, 30—40 kg und 80—100 kg schwere Schweine, Sauen, Eber) untersuchten wir die grundlegenden Kennziffern des azidobasischen Gleichgewichts des venösen Bluts (*v. auricularis externa*). Wir bestimmten folgende Werte: pH, pCO₂, Gesamt-CO₂, BE, BB, SB, AB der Individuen, Gruppen und Gesamtheit, mit Hilfe der Methode nach Astrup (Apparat Astrup PHM 71 und BMS 2). Die Ergebnisse wurden in einer Tabelle und in graphischen Darstellungen einschließlich des Siggaard-Andersenschen Kurvennomogramms zusammengefaßt und die statistische Signifikanz bei $p > 0,05$ berechnet. Bei einer Gesamtheit von 100 Schweinen wurden folgende durchschnittliche ABR-Werte festgestellt: pH $7,306 \pm 0,013$, pCO₂ $53,4 \pm 1,6$ mmHg, Gesamt-CO₂ $27,6 \pm 0,5$, BE $-1,0 \pm 0,4$, BB $46,2 \pm 0,7$, SB $23,5 \pm 0,4$ und AB $26,0 \pm 0,5$ mEq l⁻¹.

azidobasisches Gleichgewicht; Schwein; fünf Gewichtskategorien; Astrupscher Apparat

Adresa autorů:

MVDr. K. Štros, Okresní veterinární zařízení, 530 00 Pardubice

MVDr. J. Komárek, Státní veterinární ústav, 530 00 Pardubice

MVDr. L. Jadrný, Oddělení klinické biochemie OÜNZ, 530 00 Pardubice

Výběr z nových přírůstků

Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI

z úseku veterinární medicína

Uvedené publikace je možno 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 28.577/153

Plodnosť i neplodnosť zwierzat domowych. Cz. 9. Materiały z 12 sesji nauk. sekcji fizjologii i patologii rozrodu Poznań 24.—25. 11. 1972. (Souhrn rus., angl.). Warszawa, PWN 1974. 203 s. obr. tab. Zeszyty problemowe 153. (Plodnost a neplodnost hospodářských zvířat — sborník — Polsko / Veterinární konference — Poznaň — 1972 — sborník)

GRADINARSKI, G.

E 37.125

Povedenieto i visšata nervna dejnost na selskostopanskite životni. Sofija, Zemizdat 1974. 150 s. (Hospodářská zvířata — nervová činnost — vyšší — příručka)

C 11.614/91

Diagnostika, terapija i profilaktika boleznej selskochozjajstvennyh životnyh. Kijev, MSCh SSSR 1973. 145 s. obr. tab. Naučnyje trudy USCHA vyp. 91. T. 1. (Veterinární diagnostika — sborník / Veterinární profylaktika — sborník / Veterinární terapie — sborník — SSSR)

KOSMAČEV, V. K.

E 32.262/807

Selen, vitamin E i drugije biologičeski aktivnyje veščestva v profilaktike nekotoryh zaboľevanij obmena veščestv. Moskva, VNIITEISCH 1974. 36 s. tab. Obzornaja informacija 807. (Látková přeměna živočišná — nemoci — léčení a profylaktika — studijní zprávy — SSSR / Biologicky účinné látky — látková přeměna živočišná — nemoci — léčení a profylaktika — použití — studijní zpráva — SSSR)

LOPAREV, I. V.

D 64.038

Aerozolnyj metod likuvennja tvaryn. Kyjiv, Urožaj 1974. 86 s. tab. obr. (Veterinární profylaktika — aerosoly — použití / Veterinární terapie — aerosoly — použití — USSR)

D 63.999

Bolezni selskochozjajstvennyh životnyh. Kišinev, Štiinca 1973. 152 s. obr. (Veterinární profylaktika — sborník — SSSR)

BOŽKO, H. K.

D 63.666

Orhanizacija protyjepizootyčnych zachodiv. 2. vyd. dopol. i pererob. Kyjiv, Urožaj 1974. 228 s. (Veterinární profylaktika — nemoci nakažlivé — plánování — SSSR — příručka)

VPLYV FYZICKÉHO ZATAŽENIA NA HODNOTY INDEXOV ACIDOBÁZICKEJ HOMEOSTÁZY KRVÍ OŠÍPANÝCH

P. Bartko, A. Michna, M. Chyla, L. Vrzgula

Vysoká škola veterinárska, Košice

BARTKO P., MICHNA A., CHYLA M., VRZGULA L. *Vplyv fyzického zataženia na hodnoty indexov acidobázickej homeostázy krvi ošípaných*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 339-346, 1975.

Bol študovaný vplyv fyzického zataženia — fixácie povrazom pri odbere krvi — na hodnoty indexov acidobázickej homeostázy krvi ošípaných. Bolo zistené, že existujú dva typy ošípaných, rozdielne reagujúcich na fyzické zataženie. Jeden labilný, u ktorého po zatažení dochádza k rýchlemu poklesu pH krvi, a druhý stabilný, u ktorého sa pH krvi nemení. Pokles pH krvi je častejší u mladších vekových kategóriách výkrmových ošípaných a prasničiek. Aplikácia ukladňujúcich prostriedkov do značnej miery znížila výskyt zmien acidobázickej homeostázy krvi.

ošípané; krv; acidobázická homeostáza; tranquilisantia; stres

Vysoká koncentrácia ošípaných a zavádzanie nových veľkovýrobných technológií má za následok zmenu zdravotnej situácie. Do popredia sa dostávajú také zdravotné problémy, ktoré v malochove hrali bezvýznamnú rolu. Sú to hlavne karence, poruchy látkového metabolizmu, poruchy acidobázickej rovnováhy a stresové stavy (Sidor, 1973; Bartko, 1973).

Diagnostika uvedených ochorení je založená na biochemickom vyšetrení biologického materiálu, hlavne krvného séra, na obsah vitamínov, minerálií alebo aj niektorých metabolitov.

Krvné vzorky sa spravidla odoberajú z *vena cava cranialis*, čo predstavuje určitú záťaž a na základe stresovej reakcie môže spôsobiť akútnu zmenu sledovaných indexov, a tak viesť k postaveniu nesprávnej diagnózy (Bartko, 1975).

Stresové stavy sú vážnym problémom veľkochovov ošípaných, a tým príčinou úhynu hlavne jatočných ošípaných, a nepriaznivo ovplyvňujú rentabilitu chovu znižovaním akosti najkvalitnejších mäsových partií — šunky a karé (Judge a i., 1966, 1968; Christian, 1968; Allen a i., 1970; Bickhardt 1970, 1971; Wagner 1972; Patterson a Allen, 1972; Lindberg a i., 1973).

Pri štúdiu acidobázickej homeostázy ošípaných (Bartko, 1974, 1975) sme u určitého percenta ošípaných zisťovali znížené hodnoty aktuálneho pH krvi a zamerali sme preto našu pozornosť na predmetnú metódu.

MATERIÁL A METÓDA

Pokusy boli urobené v rokoch 1973 a 1974 na ošípaných bieleho ušľachtileho plemena v chovoch o kapacite 50 až 500 ošípaných rôznych vekových kategórií. Zoohygienické pomery v chovoch boli dobré. Ošípané boli kŕmené príslušnými kŕmnymi zmesami podľa jednotlivých kategórií v rámci platných noriem.

Krv k biochemickému vyšetreniu bola odoberaná prísne anaerobne z *vena cava cranialis* (Bartko, 1961) do striekačiek z umelej hmoty. Ako antikoagulans bol použitý heparin 100 m. j. na 1 ml krvi. Vzorky krvi boli uchovávané v prenosnom chladiacom boxe a do 3 až 6 hodín boli vyšetrené Astrupovým prístrojom BMS 2 (Astrup a i., 1960; Siggaard-Andersen a i., 1960 a Siggaard-Andersen, 1962), ako o tom bolo referované v predchádzajúcej práci (Bartko a i., 1973).

Pokus č. 1. V pokuse bolo 42 prasniček 10 až 12mesačných. Na základe zisteného aktuálneho pH krvi Astrupovým prístrojom rozdelili sme ošípané do dvoch skupín. Do prvej boli zaradené zvieratá, ktorých aktuálne pH krvi bolo nižšie ako 7,30, do druhej zvieratá s vyšším pH krvi.

Pokus č. 2 bol urobený na ošípaných vo výkrme. 28 kusom bol aplikovaný tranquilizans – Stresnil v dávke 1 ml na 10 kg živej hmotnosti *i. m.*, 23 kusov slúžilo ako kontrola. Krvné vzorky boli odobrané za 15 až 30 minút po aplikácii. Druhá časť ošípaných v tých istých koteroch slúžila ako kontrola.

Pokus č. 3. Podľa zistených hodnôt aktuálneho pH krvi a pH krvi saturovanej dvoma známymi koncentraciami CO_2 previedli sme vyhodnotenie indexov acidobázickej homeostázy krvi u 248 ošípaných rôznych vekových kategórií. Za normálne sme pokladali hodnoty pH krvi 7,30 a vyššie, za znížené všetky hodnoty pod 7,30.

VÝSLEDKY

1. HODNOTY ACIDOBÁZICKÝCH INDEXOV KRVÍ CHOVNÝCH PRASNIČIEK

Pri vyšetrovaní indexov acidobázickej homeostázy krvi prasničiek sme zistili u jedných zvierat normálne, u iných znížené hodnoty aktuálneho pH krvi. U prvej skupiny bolo priemerné pH krvi 7,35 s kolísaním od 7,30 do 7,44. Priemerná hodnota pCO_2 bola 46,3 torrov, baz excessu $-0,47 \text{ mval l}^{-1}$, PB 46,0 mval l^{-1} , SB 23,9 mval l^{-1} , AB 25,2 mval l^{-1} a u tCO_2 26,6 mval l^{-1} . U druhej skupiny bola zistená nižšia priemerná

hodnota pH o 0,14, baz excessu o 5,36 mval l⁻¹, u pufer bazu o 4,4 mval l⁻¹, u štandardného bikarbonátu o 4,2 mval l⁻¹, u aktuálneho bikarbonátu o 2,1 mval l⁻¹ a u tCO₂ o 1,8 mval l⁻¹. Vyššia hodnota bola zistená jedine u pCO₂ o 12,6 torrov (tab. I).

I. Hodnoty acidobazických indexov krvi chovných prasničiek

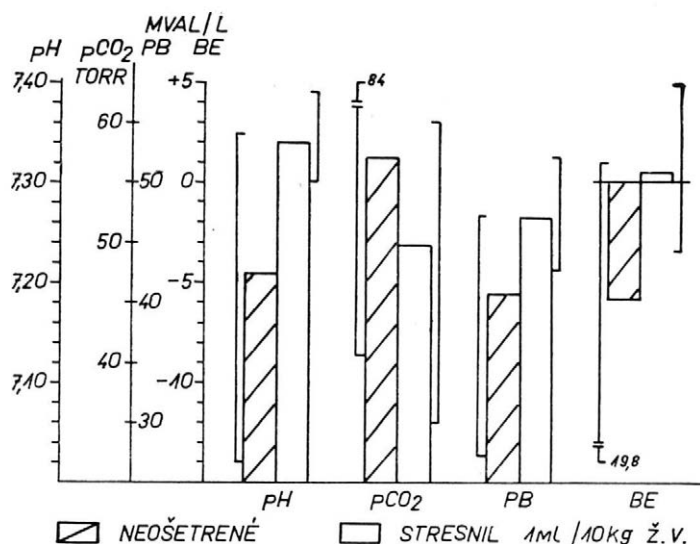
Hodnotený index	Aktuálne pH > 7,30 (n = 22)			Aktuálne pH < 7,30 (n = 2)		
	$\bar{x}$	min.	max.	$\bar{x}$	min.	max.
pH	7,35	7,30	7,44	7,21	7,04	7,28
pCO ₂ torrov	46,3	38,5	59,5	58,9	48,8	64,0
BE mval l ⁻¹	-0,47	-5,9	+3,8	-5,83	-15,0	-0,9
PB mval l ⁻¹	46,0	39,1	53,6	41,6	33,0	47,4
SB mval l ⁻¹	23,9	20,2	27,5	19,7	13,4	23,6
AB mval l ⁻¹	25,2	17,1	30,1	23,1	17,4	29,6
tCO ₂ mval l ⁻¹	26,6	18,0	31,6	24,8	19,4	31,9

2. HODNOTY ACIDOBÁZICKÝCH INDEXOV KRVÍ OŠÍPANÝCH VO VÝKRME, OŠETRENÝCH TRANQUILIZANTOM (STRESNIL) A KONTROL

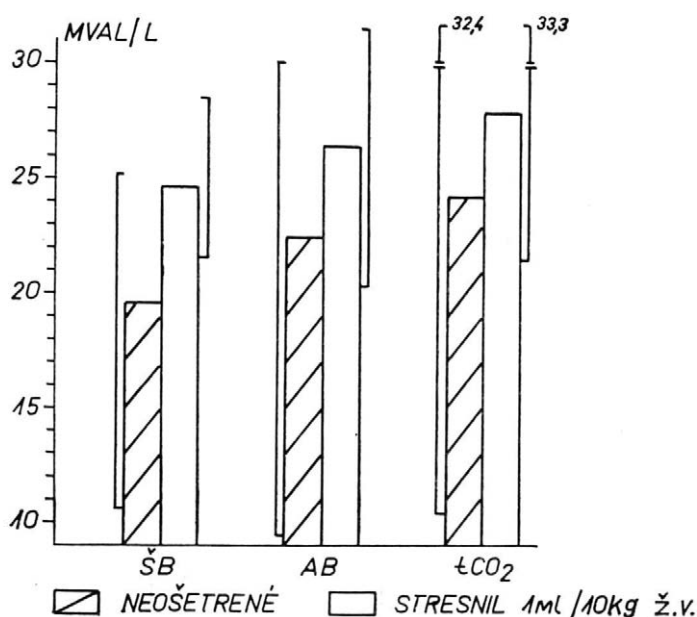
U kontrolných ošípaných (neošetrených tranquilizačným preparátom) sme zistili nižšiu priemernú hodnotu pH krvi o 0,13. Minimálne individuálne pH krvi kontrolných ošípaných bolo 7,02. Nižšie hodnoty boli zistené aj u ostatných sledovaných indexov s výnimkou u pCO₂. Hodnota pCO₂ u kontrolných ošípaných bola o 7,3 torrov vyššia ako u skupiny ošetrenej Stresnilom (tab. II, obr. 1, 2).

II. Hodnoty acidobázických indexov krvi ošípaných vo výkrme

Hodnotený index	Bez ošetrenia (n = 23)			Stresnil 1 ml na 10 kg živej hmotnosti i. m. (n = 28)		
	$\bar{x}$	min.	max.	$\bar{x}$	min.	max.
pH	7,21	7,02	7,35	7,34	7,30	7,39
pCO ₂ torrov	57,2	40,5	84,0	49,9	35,0	60,0
BE mval l ⁻¹	-5,8	-19,8	+1,0	+0,49	-3,5	+4,9
PB mval l ⁻¹	40,8	27,1	47,1	47,0	42,7	52,0
SB mval l ⁻¹	19,6	10,6	25,2	24,7	21,5	28,5
AB mval l ⁻¹	22,5	9,4	30,0	26,4	20,3	31,5
tCO ₂ mval l ⁻¹	24,2	10,4	32,4	27,9	21,4	33,3



1. Hodnoty pH, pCO₂, pufer bazu a baz excessu krvi ošipáných ošetrených Stresnilom a kontrolných

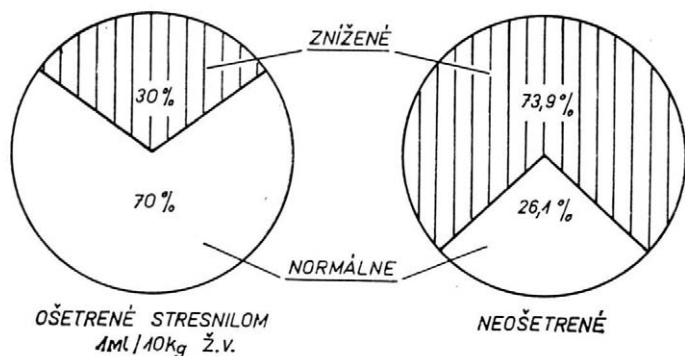


2. Hodnoty štandardného, aktuálneho bikarbonátu a celkového CO₂ krvnej plazmy ošipáných ošetrených Stresnilom a kontrolných

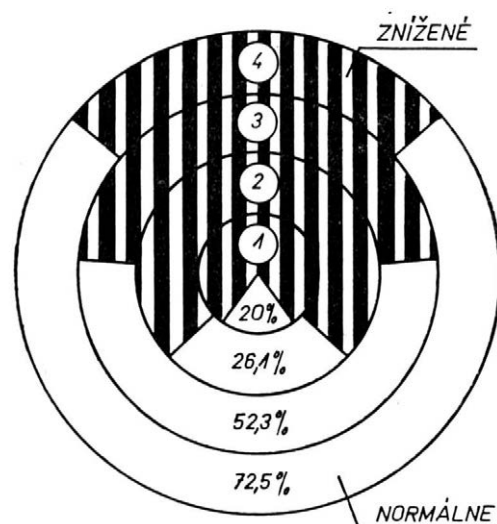
Porovnanie percentuálneho výskytu normálnych a znížených hodnôt pH krvi ošipáných vo výkrme ošetrených Stresnilom a kontrolných je znázornené na obr. 3. Z grafu vyplýva, že aplikácia Stresnilu bola účinná iba v 70 %.

3. HODNOTY AKTUÁLNEHO pH KRVI RÔZNYCH KATEGÓRIÍ OŠÍPANÝCH

Previedli sme percentuálny rozpočet rozloženia hodnôt aktuálneho pH krvi rôznych kategórií ošípaných. Analýza ukázala, že čím boli ošípané mladšie, tým vyššie percento hodnôt pH krvi sa nachádzalo pod úrovňou 7,30, ako to vyplýva z obr. 4.



3. Hodnoty pH krvi ošípaných vo výkrme



1.	PREDVÝKRM	30ks
2.	VÝKRM	23ks
3.	PRASNIČKY 40 - 42 MES.	42ks
4.	PRASNICE 2 - 5 ROČNÉ	153ks

4. Hodnoty pH krvi ošípaných pri odbere z v. cava cranialis

DISKUSIA

Testovanie vnútorného prostredia organizmu tak, ako to doporučuje Bartko (1973, 1974) a Sidor (1973), naráža na celý rad problémov organizačného, ale aj technického rázu.

Prvým predpokladom je správny odber dostatočného množstva biologického materiálu, v našom prípade krvi. Pre terénnu prax najvhodnejšou metódou sa ukazuje byť prísne anaerobný odber krvi z vena cava cranialis, čo sa nezaobíde bez ťažkostí s fixáciou ošípaných, ktoré spravidla fixujeme vyviazaním za horný pysk povrazom o zábradlie koterca. Nevýhodou tejto metódy je, že ošípaná sa bráni, kladie značný odpor, často-krát u nej dochádza k výskytu apnoickej pauzy alebo k sťaženej výmene plynov. Fixácia za horný pysk je zvlášť problematická u mladých ošípaných do jedného roka, u ktorých nie sú dostatočne

narastené *dentes canini*, smyčka povrazu sklzáva a ošipané sa uvoľňujú z fixácie. Takto treba ošipané chytať dva až trikrát, čo ich značne znemohuje, pôsobí ako stresor na organizmus a má za následok zmenu aktuálneho pH krvi. V niektorých prípadoch pokleslo pH krvi až na 7,02, čo je podľa Wintersa a i. (1969) hodnota, pri ktorej sa už môže dostať smrť zvierata.

Nami vyšetrované ošipané možno zdeliť do dvoch skupín. Do prvej skupiny patria ošipané s normálnymi hodnotami indexov acidobázickej homeostázy i napriek tomu, že pri odbere krvných vzoriek bola použitá tá istá metóda ako u druhej skupiny. Ošipané druhej skupiny ukázali sa byť veľmi labilné a už sebamenešie zaťaženie vo forme fixácie vyvolalo u nich pokles aktuálneho pH krvi. O podobných dvoch typoch ošipáných referuje Klaus (1957) pri štúdiu obsahu železa v krvnom sére prasníc a Sidor (1973) pri štúdiu stresových stavov u ošipáných. Na základe štúdia obsahu 17-OHCS (hydroxykortikosteroidov), glukózy, mastných kyselín a horčika rozoznáva Sidor (1973) slabý a silno reagujúci typ ošipáných. Ten istý autor pokladá štúdium príčin a následkov stresových stavov u ošipáných za jednu z kľúčových otázok moderného chovu ošipáných.

Súhlasne s hore uvedeným bude z hľadiska testovania vnútorného prostredia organizmu, správnej interpretácie zistených hodnôt a zavádzania profylaktických opatrení treba túto problematiku podrobne preštudovať na modelových pokusoch.

Štúdium problematiky je dôležité aj z hľadiska ďalšieho zdarného rozvoja chovu ošipáných. Z literatúry je známe, že na stres sú veľmi vnímavé ošipané plemien landrase a pietrain, teda tie plemená, ktorými hodláme krížiť naše biele prasa. Pre ďalší chov by sa mali vyberať iba ošipané odolné voči stresu (silno reagujúce podľa Sidora, 1973). Zdá sa, že posúdenie aktuálneho pH krvi po určitom stabilnom zaťažení organizmu by mohlo byť použité ako pomerne spoľahlivé kritérium stres-predispozície, alebo rezistencie.

Zmeny aktuálneho pH krvi ošipáných, spôsobené stresovým stavom pri manipulácii, možno úspešne, nie však úplne eliminovať aplikáciou ukludňujúcich prostriedkov. V našom prípade sa osvedčila aplikácia Stresnilu a súhlasne s Fitkom (1974) možno doporučiť aplikáciu tranquilizačných prostriedkov pred zamýšľaným stresovým zaťažením organizmu, zvlášť u výkrmových ošipáných a mladého plemenného materiálu.

Literatúra

- ALLEN, W. M. — BERRETT, S. — HARDING, J. D. J. — PATTERSON, D. S. P.: Experimentally induced acute stress syndrome in Pietrain pigs. *Vet. Rec.*, 87, 1970, s. 64-69.
- ASTRUP, P. — JORGENSEN, K. — SIGGAARD-ANDERSEN, O. — ENGEL, K.: The acid-base metabolism. A new approach. *Lancet*, 1960, č. 1, s. 1035-1039.
- BARTKO, P.: Príspevok k odberu krvi u ošipáných. *Vet. Čas.*, 1961, č. 10, s. 392-396.
- BARTKO, P.: Súčasný stav nenákazlivých chorôb, ich vplyv na ekonomiku a metódy prevencie vo výrobe. Zborník ref. z odbornej konferencie „Realizácia programu rozvoja chovu ošipáných na Slovensku.“ ÚVTI, Nitra, 1973, s. 105-115.
- BARTKO, P.: Stav a perspektívy veterinárnej starostlivosti vo veľkochovoch ošipáných v SSR. *Veterinářství*, 24, 1974, s. 215-216.

- BARTKO, P.: Ročná dynamika indexov acidobázickej homeostázy krvi prasníc. *Folia vet.* (Košice), 1975 — v tlači.
- BICKHARDT, K.: Beziehung zwischen Enzymaktivitäten und Metabolitgehalten im Blut vor und nach körperlicher Belastung sowie der Wässrigkeit des Fleisches bei Schweinen. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 77, 1970, s. 535-538.
- BICKHARDT, K.: Muscle metabolism and enzyme patterns in Landrace strains with different meat quality. *Proc. 2nd int. Symp. „Condition Meat Quality Pigs“*, Zeist, Pudoc, Wageningen, March 22-24, 1971, s. 36-42.
- FITKO, R.: Problémy stresu v chove zvierat. Prednáška v rámci návštevy Polfa, Bratislava 1974.
- CHRISTIAN, L. L.: A review of the role of genetics in animal stress susceptibility and meat quality. Department of Animal Science, Iowa State University, Ames, 1968, s. 91-111.
- JUDGE, M. D. — MARTIN, T. G. — OUTHOUSE, J. B.: Prediction of carcass composition of ewe and wether lambs from carcass weights and measurements. *J. Anim. Sci.*, 25, 1966, s. 92-95.
- JUDGE, M. D. — FORREST, J. C. — SINK, J. D. — BRISKEY, E. J.: Endocrine related stress response and muscle properties of swine. *J. Anim. Sci.*, 27, 1968, s. 1247-1253.
- KLAUS, H.: Der Serumeisenspiegel gesunder Schweine. *Arch. exp. Vet. Med.*, 1957, č. 11, s. 539-543.
- LINDBERG, P. — LENNEK, N. — BLEMGREN, L.: The influence of physical training on the pH of skeletal muscle in pigs. *Acta vet. scand.*, 14, 1973, s. 359-365.
- PATTERSON, D. S. P. — ALLEN, W. M.: Biochemical aspects of some muscle disorders. *Br. vet. J.*, 128, 1972, s. 101-111.
- SIDOR, V.: Prepracovanie syntézy biologických a etiologických faktorov podmienujúcich vysokú úžitkovosť ošípaných v podmienkach priemyselnej veľkovýroby. Zborník referátov z odbornej konferencie „Realizácia programu rozvoja chovu ošípaných na Slovensku“. ÚVTI, Nitra, 1973, s. 32-46.
- SIGGAARD-ANDERSEN, O. — ENGEL, K. — JORGENSEN, K. — ASTRUP, P.: A micromethod for determination of pH carbon dioxide tension, base excess and standard bicarbonate in capillary blood. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 12, 1960, s. 172-176.
- SIGGAARD-ANDERSEN, O.: The pH log CO₂ blood acid base nomogram revised. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 14, 1962, s. 598-607.
- WAGNER, A. J.: Das Stress-Syndrom beim Schwein. *VetMed. Nachr.*, 1972, č. 2, s. 68-77.
- WINTERS, R. W. — ENGEL, K. — DELL, R. B.: Acid-base physiology in medicine. Radiometer, Copenhagen 1969.

Došlo dne 31. 10. 1974

БАРТКО П., МИХНА А., ХИЛА М., ВРЗГУЛА Л. (Ветеринарный институт, Кошице, Чехословакия). Влияние физической нагрузки на значение индексов кислотно-щелочного гомеостаза крови свиней. *Vet. Med. (Praha)* 20 (6): 339-346, 1975.

Изучалось влияние физической нагрузки — фиксации веревкой при взятии крови — на значения индексов кислотно-щелочного гомеостаза крови свиней. Было установлено, что существуют два типа свиней, по-разному реагирующих на физическую нагрузку. Первый лабильный, когда после нагрузки быстро понижается рН крови, второй стабильный, когда рН крови не меняется. Понижение рН крови чаще наблюдается у более молодых возрастных категорий откармливаемых свиней и свиноматок. Применение успокаивающих средств значительно понижает появление изменений кислотно-щелочного гомеостаза крови.

свиньи; кровь; кислотно-щелочной гомеостаз; успокаивающие средства; стресс

BARTKO P., MICHNA A., CHYLA M., VRZGULA L. (University School of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). *The Effect of Physical Stress on the Values of the Indexes of the Acid-base Homeostasis of the Blood of Pigs*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 339-346, 1975.

Investigated was the effect of physical stress — fixation with a cord at the collection of blood — on the values of the indexes of the acid-base homeostasis of the blood of pigs. It was found out that there existed two types of pigs reacting differently to physical stress. One is a labile type in which, after the stress, there occurs a rapid decrease of the pH of the blood, and the second is a stable type, in which the pH of the blood does not change. The decreasing of the pH in blood is more frequent in younger age categories of fattening pigs and gilts. Application of tranquilizers decreased, to a considerable extent, the occurrence of changes of the acid-base homeostasis of blood.

pigs; blood; acid-base homeostasis; tranquillization; stress

BARTKO P., MICHNA A., CHYLA M., VRZGULA L. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice, Tschechoslowakei). *Einfluß einer physischen Belastung auf die Indexwerte der azidobasischen Homöostase des Schweinebluts*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 339-346, 1975.

Es wurde der Einfluß einer physischen Belastung — Fixierung mit Strick bei der Blutentnahme — auf die Indexwerte der azidobasischen Homöostase des Schweinebluts studiert. Es wurde festgestellt, daß zwei auf physische Belastung unterschiedlich reagierende Typen von Schweinen existieren. Der erste Typ ist labil, bei dem der pH-Wert im Blut schnell absinkt, während sich beim zweiten, stabilen Typ, der pH-Wert im Blut nicht verändert. Die Verringerung des pH-Wertes im Blut ist häufiger bei den jüngeren Alterskategorien von Mastschweinen und Jungsauen. Die Applikation von Beruhigungsmitteln verringerte in bedeutendem Ausmaß das Vorkommen von Veränderungen des azidobasischen Homöostase des Bluts.

Schweine; Blut; azidobasische Homöostase; Tranquilisantia; Stress

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Bartko, CSc., MVDr. A. Michna, MVDr. M. Chyla, prof. MVDr. L. Vrzgula, CSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 71, 041 81 Košice

ŠTÚDIUM ENZYMATICKEJ AKTIVITY SÉROVEJ CYSTÍNAMÍNOPEPTIDÁZY ČLOVEKA A ZVIERAT V ZÁVISLOSTI OD pH PROSTREDIA

B. Molnárová, O. Sova

Ústav experimentálnej biológie SAV, Košice

MOLNÁROVÁ B., SOVA O. *Štúdium enzymatickej aktivity sérovej cystínamínopeptidázy človeka a zvierat v závislosti od pH prostredia*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 347-353, 1975.

Autori sledovali dynamiku štiepenia syntetického chromogénneho substrátu (S-benzyl-L-cystein-p-nitroanilid), špecifického pre sérovú cystínamínopeptidázu, v závislosti od širokej škály pH v rozmedzí 2,5 až 8,0 enzymatickým systémom séra gravidných žien a vybraných zvierat (ovca, krava, potkan) v porovnaní s negravidnými kontrolami. Pri posudzovaní tvaru kriviek enzymatickej aktivity enzymatického systému séra žien a zvierat v závislosti od pH konštatovali autori v sérach gravidných žien charakteristický zvonovitý priebeh krivky na rozdiel od séra zvierat, kde v prípade kráv aktivita cystínamínopeptidázy vykazuje dvojvrcholový priebeh pri pH 3,5 až 4,0 a 6,5 až 7,0 a ostatné sledované druhy vykazujú nepravidelnosti s náznakom druhého vrcholu. Z výsledkov experimentu vyplýva, že zásadným rozdielom medzi gravidnými a kontrolnými zvieratami nie je celkový vzostup cystínamínopeptidázy, ale posun výskytu, alebo vzostup enzymatickej aktivity pri tom-ktorom pH. Najvyššie hladiny cystínamínopeptidázy boli zistené v krvných sérach potkanov, nižšie u oviec a kráv.

S-benzyl-L-cystein-p-nitroanilid; dynamika štiepenia; závislosť od pH prostredia; enzymatický systém séra gravidných žien; enzymatický systém séra zvierat

Aj keď je v súčasnosti mechanizmus pôsobenia a funkcia cystínamínopeptidázy u ľudí dostatočne známa (Sjöholm, 1964; Sjöholm a Yman, 1966; Page a i., 1961; Ryden a Sjöholm, 1962; Melander, 1965; Yman, 1970), jej funkcia v sére gravidných zvierat nie je definitívne objasnená. U žien v priebehu gravidity hladina aminopeptidáz nachádzajúcich sa v krvnom sére, vyznačujúcich sa širokou substrátovou špecifitou, výrazne štiepiacich syntetické chromogénne substráty-deriváty leucínu a cystínu značne stúpa (Yman, 1970).

Niektorí autori, ktorí skúmali hladinu leucínaminopeptidázy v sérach gravidných kráv a súk zistili, že na rozdiel od sér gravidných žien sa aktivita typu leucínaminopeptidázy v týchto sérach nezvyšuje, a tak na základe viacerých zistení (Lettow a Jaeger, 1963, 1965; Semm, 1958, 1961; Wikhaus, 1954; Šlesinger, 1967a, b) prevláda názor, že oxytocináza (cystínamínopeptidáza) je špecifická ako mladší fylogenetický systém, pôsobiaci v priebehu gravidity len u primátov a človeka.

Vzhľadom na doteraz jestvujúcu nejednotnosť pri posudzovaní aminopeptidázovej aktivity v sérach zvierat v dôsledku používania rôznych substrátov rozhodli sme sa preskúmať dynamiku štiepenia totožného chromogénneho substrátu špecifického pre cystinamínopetidázu, derivátu cysteínu v závislosti od širokej škály pH prostredia enzymatickým systémom krvného séra gravidných žien a vybraných zvierat v porovnaní s negravidnými kontrolami, a zistiť, či existuje na tejto úrovni porovnateľná zhoda medzi nimi.

MATERIÁL A METÓDY

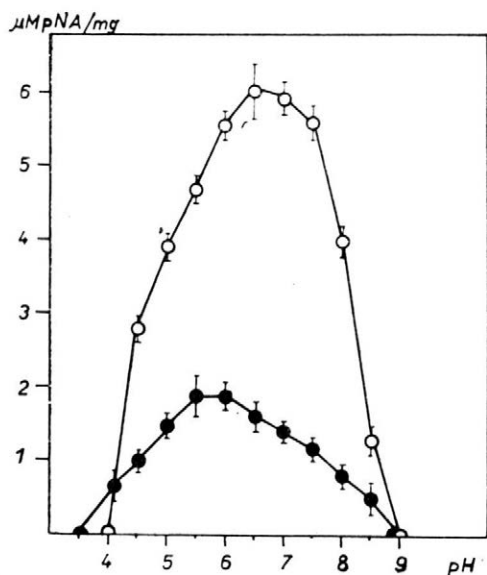
Pri sledovaní zmeny aktivity sérového enzymatického systému štiepiaceho S-benzyl-L-cystein-p-nitroanilid v závislosti od pH prostredia v sérach gravidných žien a vybraných zvierat sme k pokusom použili séra dvadsiatich gravidných žien, dvadsiat' sér gravidných oviec plemena slovenské merino a séra dvadsiatich gravidných potkanov kmeňa Wistar. Všetci jedinci boli vo vysokom stupni gravidity. Ako kontroly sme použili v každom prípade desať vzoriek sér negravidných jedincov z každej skupiny.

Krv sme získali venepunkciou z *vena cubiti* (v prípade žien), resp. z *vena jugularis* (u kráv a oviec). V prípade potkanov sme krv odoberali po dekapitácii v éterovej narkóze. Sérum sme získali po hodinovom stáaní krve pri izbovej teplote odstredovaním pri 3000 g min.^{-1} a 0°C počas 15 minút. K analýzam boli použité len číre, nehemolyzované séra.

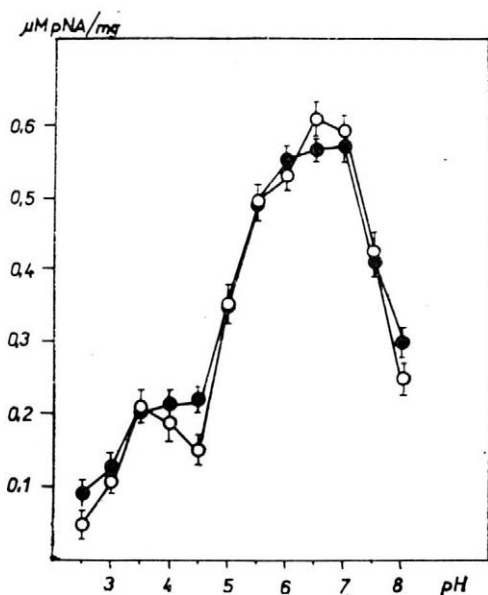
Ako chromogénny substrát sme použili 0,01 M roztok S-benzyl-L-cystein-para-nitroanilidu. Inkubačná zmes obsahovala 0,2 ml séra, 0,3 ml substrátu a 2,5 ml Britton-Robinsonovho univerzálneho pufru v rozsahu pH 2,5 až 8,0 (S ý k o r a a Z á t k a, 1967). Inkubáciu sme uskutočňovali dve hodiny pri 37°C a potom sme ju prerušili prídáním 0,5 ml 1 N HCl. Množstvo odštiepeného p-nitroanilidu sme stanovovali oproti slepej skúške (zmes totožná s inkubačnou, ale reakcia ihneď blokováná prídáním 1 N HCl) spektrofotometrom Spektrom 203 pri 405 nm. Celkové bielkoviny krvného séra sme stanovovali metódou T u p p y h o a W i n t e r s b e r g e r a (1960) fotometrovaním stonásobe zriedeného séra v 0,1 N HCl pri 280 nm oproti štandardným roztokom sérumalbumínu v 0,1 N HCl. Všetky namerané hodnoty sme vzájomne porovnávali na základe prepočtu špecifickej aktivity, vyjadrenej množstvom odštiepeného p-nitroanilidu jedným miligramom bielkovín nachádzajúcich sa v krvnom sére.

VÝSLEDKY

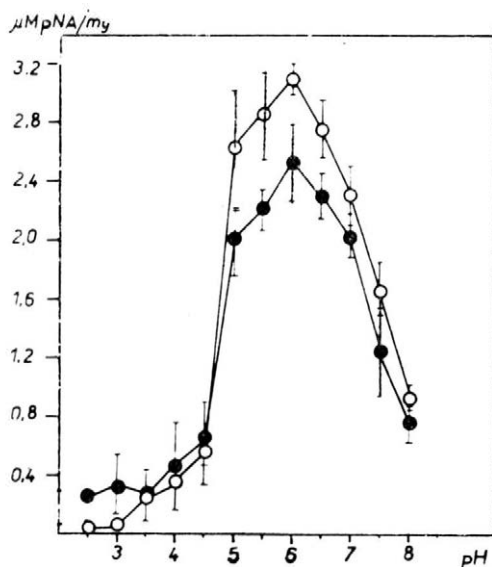
Krivka závislosti enzymatickej aktivity séra gravidných žien (obr. 1) štiepiaceho S-benzyl-L-cystein-p-nitroanilid v závislosti od pH prostredia je v zhode s výsledkami iných autorov (H a n s o n a M a n n s f e l d t, 1971) a vykazuje charakteristický zvonovitý priebeh, z ktorého vyplýva, že enzým je aktívny v rozmedzí pH 4,0 až 8,0 s optimom pri pH 6,0 až 7,0. Najvyšší rozptyl ($\pm$ S. E.) vykazujú hodnoty namerané pri pH 6,0; rozptyl ostatných nepresahuje $\pm 2\%$. Totožný experiment so sérami



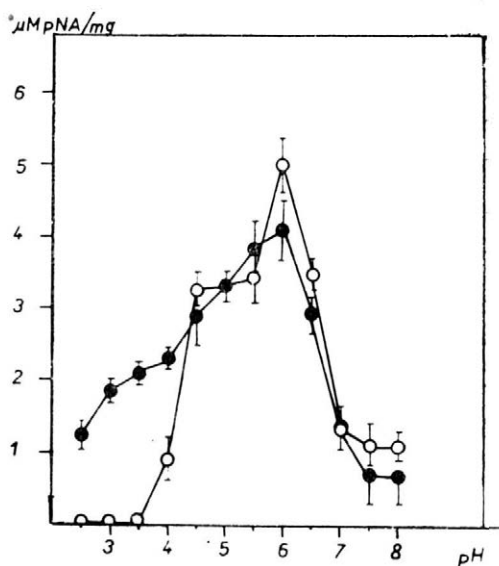
1. Aktivita sérovej cystinaminopeptidázy gravidných (prázdne krúžky) a negravidných (plne krúžky) žien v závislosti od pH v rozsahu 3,0 až 9,0 s vyjadrením rozptylov $v \pm S. E.$



2. Aktivita sérovej cystinaminopeptidázy gravidných (prázdne krúžky) a negravidných (plne krúžky) kráv v závislosti od pH v rozsahu 2,5 až 8,0 s vyjadrením rozptylov $v \pm S. E.$



3. Aktivita sérovej cystinaminopeptidázy gravidných (prázdne krúžky) a negravidných (plne krúžky) oviec v závislosti od pH v rozsahu 2,5 až 8,0 s vyjadrením rozptylov $v \pm S. E.$



4. Aktivita sérovej cystinaminopeptidázy gravidných (prázdne krúžky) a negravidných (plne krúžky) potkanov v závislosti od pH v rozsahu 2,5 až 8,0 s vyjadrením rozptylov $v \pm S. E.$

negravidných žien (obr. 1) vykazuje maximum enzymatickej aktivity pri pH 5,0 až 6,0 a účinnosť v tom istom rozsahu pH.

Obr. 2 prezentuje kolorimetrické stanovenie enzymatickej aktivity sérovej cystinamínopeptidázy gravidných a kontrolných kráv v rozsahu pH 2,5 až 8,0. Krivka enzymatickej aktivity je dvojvrcholová, pri pH 3,5 až 4,5 sú hodnoty vyššie u kontrol, v ostatných častiach sa hodnoty enzymatickej aktivity takmer prekrývajú s výnimkou pH 6,5, kde nedochádza v sérach gravidných kráv k signifikantnému zvýšeniu hladiny enzýmu ($P < 0,02$).

Na obr. 3 je zobrazené kolorimetrické stanovenie enzymatickej aktivity séra oviec v podmienkach podobných ako prv. Maximum enzymatickej aktivity špecifickej pre daný substrát sa v tomto prípade nachádza u kontrol i gravidných zvierat pri pH 6,0 a hladina cystinamínopeptidázy je v sérach kontrol od pH 5,0 do 8,0 priekazne nižšia ($P < 0,05$).

Posledný obr. (4) prezentuje podobný experiment so sérami gravidných i kontrolných potkanov. V tomto prípade krivka vykazuje komplikovanejší priebeh. V prípade negravidných zvierat sú hodnoty aktivity pri pH 2,5 a 4,0 vyššie. Druhé optimum je v prípade gravidných zvierat a kontrol pri pH 6,0.

DISKUSIA

Intaktnosť enzymatickej aktivity sérovej oxytocinázy v priebehu gravidity zvierat opísali viacerí autori (Lettow a Jaeger, 1963; 1965; Šlesinger, 1967a, b) a iní. Títo autori použili pre stanovenie enzymatickej aktivity spomínaného enzýmu syntetické chromogénne substráty leucínu a iných aminokyselín. Napriek tomu, že aminopeptidázy enzymatického systému krvného séra sa vyznačujú širokou substrátovou špecificitou, účinkom navzájom sa prekrývajúcou (Yman, 1970), nepovažujeme nimi použité substráty za dostatočne špecifické pre stanovenie hladiny cystinamínopeptidázy.

Pri porovnaní tvaru kriviek závislosti enzymatickej aktivity enzymatického systému štiepiaceho S-benzyl-L-cystein-p-nitroanilid od pH v sérach žien a zvierat na rozdiel od sér žien, kde krivka vykazuje v súlade so zisteniami iných autorov (Tuppy a Wintersberger, 1960; Hanson a Mannsfeldt, 1971) charakteristický zvonovitý priebeh, vykazuje disociáciu krivky vo dvoch vrchoch v prípade kráv a u iných sledovaných druhov nepravidelnosti s náznamom druhého vrcholu. Zatiaľ čo séra žien štiepia syntetický chromogénny substrát v rozmedzí pH 4,0 až 8,5, séra zvierat vykazujú štiepenie v priemere od pH 3,0 a výsledky pri pH 8,0 naznačujú, že krivka klesá až pri vyšších hodnotách pH. Z uvedeného vyplýva, že zásadným rozdielom medzi gravidnými a kontrolnými zvieratami nie je celkový vzostup hladiny sledovaného enzýmu, ale posun výskytu, alebo vzostup aktivity pri tom-ktorom pH. Z tohto aspektu by snáď bolo možné stanoviť graviditu u skúmaných zvierat, v prípade kráv poklesom enzymatickej aktivity u gravidných zvierat pri pH 3,5 až 4,0 a vzostupom pri pH 6,0; v prípade oviec a potkanov pri pH 6,0 zvýšením hodnôt hladiny enzýmu. Rozhodne možno po-

tvrdiť údaje literatúry (Šlesinger, 1967a, b), že v prípade gravidných zvierat je hladina cystinaminopeptidázy nižšia ako u človeka, ako i to, že v priebehu gravidity nedochádza k podstatným zmenám vo zvýšení aktivity. Tieto údaje by sme snáď mohli doplniť na základe prezentovaných výsledkov v tom zmysle, že počas gravidity môže dôjsť k zmenám vlastností tohto enzymatického systému, ktoré sú zistiteľné posunom optim pH, resp. zmenami charakteristiky závislosti cystinaminopeptidázy od pH prostredia.

Na základe prezentovaných výsledkov nášho experimentu je možné zistiť pokles hodnôt enzymatickej aktivity v sérach skúmaných zvierat v poradí: potkan, ovca a kráva s maximálnymi hodnotami enzymatickej aktivity vyjadrenej množstvom odštiepeného p-nitroanilidu pri optimálnych pH takto: $4,5 \mu\text{M mg}^{-1}$ (potkan), $3,2 \mu\text{M mg}^{-1}$ (ovca) a $0,64 \mu\text{M mg}^{-1}$ (krava). Tieto výsledky sú v úplnom súlade s výsledkami Bartík a Michnovéj (1971), ktorí udávajú pri sledovaní štiepenia l-leucín-p-nitroanilidu sérami zvierat podobné poradie, ibaže skúmali širšie spektrum druhov domácich zvierat. Nagatsu a i. (1968) pri sledovaní hydrolýzy aminokyselinových derivátov beta-naftylamidu sérami rôznych živočíšnych druhov zistili, že relatívna rýchlosť hydrolýzy i hladina enzýmov sú u cicavcov navzájom podobné. Šlesinger (1967a, b) tak tiež udáva veľmi nízke aktivity leucinaminopeptidázy u kráv, ako sme to v hladinách cystinaminopeptidázy pozorovali i my. Hanson a Mannsfeldt (1971) uvádzajú, že hladina cystinaminopeptidázy v sére gravidných potkanov, sledovaná štiepením syntetického chromogénneho substrátu S-benzyl-L-cystein-p-nitroanilidu a S-benzyl-L-cystein-beta-naftylamidu, je v sérach gravidných potkanov približne rovnaká ako v sérach negravidných žien. Tieto výsledky zodpovedajú aj našim s výnimkou pH 6,0, kde je v prípade gravidných potkanov pozorované vyššie kvantitatívne zastúpenie hladiny cystinaminopeptidázy.

Na základe našich výsledkov (Sova, Molnárová, 1972, 1975; Sova, 1973) zastávame názor, že cystinaminopeptidáza prítomná v sérach zvierat zrejme plní určitú funkciu, aj keď sa prejavuje kvantitatívne odlišne ako u žien; kvalitatívne zmeny si môžu byť navzájom podobné.

Literatúra

- BARTÍK, M. — MICHNOVÁ, E.: Arylamidázová aktivita v krvných sérach domácich zvierat. Vet. Med. (Praha), 16, 1971, č. 7, s. 449-456.
- HANSON, H. — MANNSFELDT, H. G.: Zur Aktivitätsbestimmung der Serum-Oxytocinase des menschlichen Schwangerenserums unter Verwendung chromogener Substrate. Nova Acta Leopold., 36, 1971, s. 9-20.
- LETTOW, E. — JAEGER, CH.: Die Leucin-Amino-peptidase Aktivität im Serum klinisch gesunder Hunde. Tierärztl. Umsch., 18, 1963, s. 294-296.
- LETTOW, E. — JAEGER, CH.: Bestimmung der Leucin-Amino-peptidase-Aktivität im Serum trächtiger Hündinnen. Zentbl. VetMed., 1965, č. 12, s. 388-394.
- MELANDER, S.: Plasma oxytocinase activity. Acta endocr., Copenh., 96, 1965, s. 18-88.
- PAGE, E. W. — TITUS, M. A. — MOHUN, G.: The origin and distribution of oxytocinase. Am. J. Obstet. Gynec., 81, 1961, s. 1090-1095.
- RYDEN, G. — SJÖHOLM, I.: Assay of oxytocin by rat mammary gland *in vitro*. Br. J. Pharmac., 19, 1962, s. 136-140.
- SEMM, K.: Die Bildungstätte der Serum-Oxytocinase. Arch. Gynäk., 191, 1958, s. 57-64.
- SEMM, K.: Oxytocin, -v- R. Caldeyro-Barcia, H. Heller (Eds.), Pergamon Press, London.

- SJÖHOLM, I.: Enzymatic Inactivation of Oxytocin. *Acta chem. scand.*, 18, 1964, s. 889-898.
- SJÖHOLM, I. — YMAN, L.: Electrophoretic studies on oxytocinase (cystine aminopeptidase). *Acta Pharm. Suec.*, 1966, č. 3, s. 389-396.
- SOVA, O.: Study of oxytocinase (cystine-aminopeptidase) heterogeneity by isoelectric focusing. *Physiologia bohemoslov.*, 22, 1973, s. 435-502.
- SOVA, O. — MOLNÁROVÁ, B.: Changes in the serum activity of the enzyme system degrading s-benzyl-L-cystein-p-nitroanilide and oxytocin during pregnancy. *Physiologia bohemoslov.*, 21, 1972, č. 243-249.
- SOVA, O. — MOLNÁROVÁ, B.: Study of cystine-aminopeptidase heterogeneity in the serum of animals by isoelectric focusing. *Physiologia bohemoslov.*, 24, 1975 — v tlači.
- SÝKORA, V. — ZÁTKA, V.: Příruční tabulky pro chemiky. SNTL. Praha 1967.
- SLESINGER, L.: Aktivita leuciaminopeptidázy u březích krav a fen. *Vet. Med. (Praha)*, 12, 1967a, č. 5, s. 269-272.
- SLESINGER, L.: Vliv gravidity na aktivitu některých enzymů (GOT, GPT, LAP, HLD, LDH, MDH) a bilirubínu u krav a novorozených telat. *Vet. Med. (Praha)*, 12, 1967b, č. 2, s. 101-106.
- TUPPY, H. — WINTERSBERGER, E.: Reinigung und Eigenschaften der Serum-Oxytocinase. *Mh. Chem.*, 91, 1960, s. 1002-1011.
- WIKHAUS, B.: Oxytocinase-Bestimmung bei Kühen unter Berücksichtigung der Bedeutung des Hormones bei Milchenleerung und Geburtsauslösung. [Vet. Med. Diss.] München 1954.
- YMAN, L.: Studies on human serum aminopeptidases. *Acta Pharm. Suec.*, 1970, č. 7, s. 75-86.

Došlo dne 5. 7. 1974

MOLNÁROVÁ B., SOVA O. (Institut experimentální biologie SAN, Košice, Československo). *Studium fermentní aktivity sывороточной цистинаминопептидазы člověka a zvířat v závislosti od pH prostředí.* *Vet. Med. (Praha)* 20 (6) : 347-353, 1975.

Autoři studovali dynamiku štěpení syntetického chromogenního substrátu (S-benzyl-L-cystein-p-nitroanilid), specifického pro sывороточnou cистинаминопептидазу, v závislosti od široké škály pH v rozsahu 2,5–8,0 fermentní systémem sыворотky těhotných žen a vybraných zvířat (ovce, krava a pasuk) v srovnání s netěhotnými kontrolami. Při hodnocení tvaru křivek fermentní aktivity fermentní systémy žen a zvířat v závislosti od pH autoři v sыворотkách těhotných žen zjistili charakteristický koléčkovitý průběh křivky v odlišnosti od sыворотek těhotných, kde u krav aktivita cистинаминопептидаzy charakterna dvouvrcholným průběhem křivky při pH 3,5–4,0 a 6,5–7,0, a ostatní pozorované typy mají nesymetrický průběh křivky s náznakem na druhou vrchol. Z výsledků experimentu vyplývá, že principální odlišnou vlastností mezi těhotnými a kontrolními zvířaty je obecný posun cистинаминопептидаzy, a posun objevení, či posun fermentní aktivity při odpovídajícím pH. Nejvyšší úrovně cистинаминопептидаzy byly zjištěny v sыворотkách krve pasuk, nižší u ovcí a krav.

S-benzyl-L-cystein-p-nitroanilid; dynamika štěpení; závislost od pH; fermentní systém sыворотky těhotných žen; fermentní systém sыворотky zvířat

MOLNÁROVÁ B., SOVA O. (Institute of Experimental Biology of the Slovak Academy of Sciences, Košice, Czechoslovakia). *Study of the Enzymatic Activity of Human and Animal Serum Cystine Aminopeptidase Dependence on the pH of the Medium.* *Vet. Med. (Praha)* 20 (6) : 347-353, 1975.

The authors studied the splitting dynamics of the synthetic chromogenic substrate (S-benzyl-L-cystein-p-nitroanilide) specific of serum cystine aminopeptidase, depending on a wide range of pH (from 2.5 to 8.0) by means of an enzymatic serum system of pregnant women and selected animals (sheep, cows, sewer-rats), compared with non-pregnant controls. Examining the form of the enzymatic activity curves of the enzymatic system of women's and animal serum in dependence on pH, the authors

revealed a characteristic bell-shaped course of the curve in the serum of pregnant women, as distinct from the sera of animals; the activity of cystine aminopeptidase in cows shows a two-peak course at pH from 3.5 to 4.0 and at pH from 6.5 to 7.0 while other animal species show irregularities with signs of the second peak. It follows from the results of the experiment that the main difference between pregnant and control animals is not the general increase of cystine aminopeptidase but a shift of the occurrence, or an increase of enzymatic activity at the given pH. The highest levels of cystine aminopeptidase were found in the blood sera of sewer-rats and lower in sheep and cows.

S-benzyl-L-cysteine-p-nitroanilide; splitting dynamics; dependence on pH; enzymatic activity of pregnant women's serum; enzymatic activity of animal serum

MOLNÁROVÁ B., SOVA O. (Anstalt für experimentelle Biologie der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Košice, Tschechoslowakei). *Untersuchungen über die enzymatische Aktivität der Serum-Zystinaminopeptidase des Menschen und der Tiere in Abhängigkeit vom pH-Wert des Milieus*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 347-353, 1975.

Die Autoren untersuchten die Dynamik der Zersetzung des synthetischen chromogenen Substrats (S-benzyl-L-Zystein-p-Nitroanilid), das für die Serum-Zystinaminopeptidase spezifisch ist, in Abhängigkeit von der breiten pH-Skala in den Grenzen von 2,5 bis 8,0 unter Benutzung des enzymatischen Systems des Serums gravid Frauen und ausgesuchter Tiere (Schaf, Kuh und Ratte) im Vergleich zu nicht-graviden Kontrollen. Bei Bewertung von Kurvenform der Aktivität des Serumenzym-systems bei Frauen und Tieren in Abhängigkeit vom pH-Wert konstatierten die Autoren in Seren gravid Frauen einen charakteristischen glockenförmigen Verlauf der Kurve zum Unterschied von den Tierseren, wo bei Kühen die Zystinaminopeptidase-Aktivität einen zweigipfligen Verlauf bei pH 3,5 bis 4,0 und 6,5 bis 7,0 aufweist, während bei den übrigen untersuchten Tierarten Unregelmäßigkeiten mit Anzeichen eines zweiten Gipfels vorgetroffen wurden. Aus den Versuchsergebnissen geht hervor, daß der grundsätzliche Unterschied zwischen den graviden und den Kontrolltieren nicht in einer Gesamtzunahme der Zystinaminopeptidase, sondern in der Erhöhung der enzymatischen Aktivität bei Veränderung des pH-Wertes besteht. Die höchsten Niveaus der Zystinaminopeptidase wurden in Blutseren von Ratten, niedrigere bei Schafen und Kühen festgestellt.

S-benzyl-L-Zystein-p-Nitroamilid; Dynamik der Zersetzung; Abhängigkeit von pH; Serumenzymssystem gravid Frauen; Serumenzymssystem der Tiere

Adresa autorů:

RNDr. B. Molnárová, MUDr. O. Sova, Ústav experimentálnej biologie SAV, 040 00 Košice

Výběr z nových přírůstků

Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI

z úseku veterinární medicína

Uvedené publikace je možno 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.

E 37.034

Profilaktika i mery boľby s boleznjami ovec. Tezisy dokladov na naučnom soveščanii (Machačkala, 12—14 ijunja 1973 g.) Moskva, Min. seľsko-go chozjajstva SSSR 1973. 184 s. (Machač Kala — konference o profilaktice a léčení ovcí — 1973 — sborník)

D 63.887

Tierproduktion — Grundlagen. Berlin, VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag 1974. 202 s. obr. tab. (Hospodářská zvířata — ochrana — nemoci — příručka / Chování zvířat — příručka / Chov hospodářských zvířat — hygiena — příručka)

D 63.811

Dovidnyk osnovykh zoohihieničnykh i veterynarnosanitarnykh normatyviv budivnytva ta ekspluatacijі tvarynnykykh prymiščēn. 2 pererob. i dopol. vyd. Kyjiv, Urožaj 1974. 276 s. obr. tab. (Chov hospodářských zvířat — hygiena — veterinární předpisy — příručka)

BODUROV, N. — BINEV, K.

E 37.198

Veterinarna fizioprofilaktika i fizioterapija. Sofija, Zemizdat 1974. 264 s. 39 obr. (Veterinární terapie — fyzikální — příručka)

ROSENBERGER, G.

D 63.870

Kliniczne badanie bydła. Warszawa, PWRiL 1974. 280 s. obr. (Veterinární diagnostika — skot — příručka)

KOLESOV, A. M. — KRAŠENNIKOV, P. N. — TARASOV, I. I. D 63.738
Vnutrennije nezaraznyje bolezni seľskochozjajstvennykh životnykh. Moskva, Kolos 1974. 519 s. obr. tab. gr. (Nemoci vnitřní — hospodářská zvířata — příručka)

D 63.765

Lejkoz krupnogo rogatogo skota. Riga, Zinatne 1974. 174 s. obr. tab. (Skot — nemoci — leukóza — příručka)

LALLA, H. J.

E 32.333/818

Die Glukosedauertropfinfusion bei gesunden und acetonämischen Kühen. Inaug. Diss. d. Freien Universität Berlin. Berlin, Klinik für Klauentierkrankheiten und Fortpflanzungskunde 1973. 43 s. obr. tab. (Krávy — nemoci — acetonémie — glukóza — infúze — vliv — výzkum — NSR — disertační práce)

OVĚŘENÍ ÚČINNOSTI LYOFILIZOVANÉ BEZBUNĚČNÉ VAKCÍNY PROTI MARKOVĚ NEMOCI V TERÉNNÍCH PODMÍNKÁCH

A. Kožušníková, V. Benda, Š. Kalafa, K. Pribáň, J. Zezulák

Okresní veterinární zařízení, Praha - východ

Ústav experimentální biologie a genetiky ČSAV, Praha

Ústřední státní veterinární ústav, Praha

KOŽUŠNÍKOVÁ A., BENDA V., KALAF A Š., PRIBÁŇ K., ZEŽULÁK J. *Ověření účinnosti lyofilizované bezbuněčné vakcíny proti Markově nemoci v terénních podmínkách.* Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 355-362, 1975.

Ochranný účinek bezbuněčné lyofilizované vakcíny proti Markově nemoci („Keramvac“-Pfizer), připravené z krocaního herpetického viru (kmen FC 126), byl v terénních podmínkách srovnán se ztrátami ve skupině nevakcinovaných kuřat. V uvedených podmínkách dosahovala vakcína pouze 50,86 % účinnosti. O možných příčinách sníženého efektu vakcinace se diskutuje na základě patomorfologických a virologických nálezů svědčících mj. o zvýšeném výskytu symptomů klasické formy Markovy nemoci ve sledované populaci.

krocaní herpetický virus; Markova nemoc — patomorfologické změny; virologické a sérologické vyšetření; oční forma

Markova nemoc (MD) je dnes převážně ve své akutní formě značně rozšířená a působí v drůbežářské velkovýrobě vážné ekonomické ztráty, odhadované v USA na 200 miliónů dolarů ročně. Rovněž v Československu výskyt akutní MD od roku 1968, kdy byla u nás popsána poprvé (Haladej a Hraběta, 1968), výrazně vzrostl. Např. v ZVK Xaverov byla MD v r. 1968 diagnostikována veterinární službou u 27,21 % uhynulých zvířat z rozmnožovacích chovů a odchovů, o čtyři roky později však již u 52,99 % případů (Kožušníková, 1973). Za jedinou účinnou metodu prevence MD lze v současné době považovat vakcinaci živými očkovacími látkami. Jejich vývoj se ubíral prakticky dvěma směry. Churchill aj. (1969) úspěšně použili k vakcinaci herpetický virus vyvolávající MD (MDHV), který četnými pasážemi v tkáňové kultuře (TK) ztratil svoji virulenci. Naopak Okazaki aj. (1970) připravili vakcínu z krocaního herpetického viru (HVT) (Kavamura aj., 1969), který je sice s MDHV úzce antigenně příbuzný, ale apatogenní jak pro původního hostitele, tak pro kuře (Witter aj., 1970). Tento typ heterologní vakcíny je dnes široce používán ve všech zemích s vyspělým drůbežnictvím jak v buněčné vázané formě, kdy je HVT asociován nejčastěji s kuřecím embryonálním fibroblastem (CEF), tak jako bezbuněčná vakcína s volným HVT (Calnek aj., 1970). Výhodou posledního typu je možnost lyofilizace, takže vakcínu není nutné uchovávat při nízkých teplotách jako vakcínu buněčnou. Mechanismus ochranného účinku vakcinace dosud není zcela objasněn. Víme pouze, že u většiny vakcinova-

ných zvířat nedojde ke vzniku charakteristických lymfómů, ač jsou infikovaná virulentním MDHV. Efektivnost vakcinace se obvykle pohybuje mezi 70 až 90 % a je ovlivněna řadou faktorů: epizootologickou situací, individuální vnímavostí k MD, stářím při vakcinaci, dávkou a způsobem aplikace vakcíny apod.

Vakcinace proti MD se v uplynulých dvou letech rozšířila i v našich velkochovech a výsledky získané s očkovacími látkami zahraniční (Hraběta a Pribáň, 1972) i domácí produkce (Salaš aj., 1972) odpovídají mezinárodním parametrům. Na rozdíl od těchto prací sledujících účinnost buněčných vakcín s vázaným HVT věnovali jsme pozornost efektivnosti moderní bezbuněčné lyofilizované vakcíny s volným HVT, která v Československu dosud není běžně používána.

MATERIÁL A METODY

Vakcína: Byla použita živá lyofilizovaná bezbuněčná vakcína připravená z HVT- kmen FC 126*), který byl množen na CEF. Vakcína byla aplikována *im.* jednodenním kuřatům v množství 0,2 ml. V této dávce je deklarován minimální obsah 2000 plakotvorných jednotek (PFU). Při manipulaci byly dodržovány pokyny výrobce.

Kuřata: 15 375 jednodenních kuřat linie LB Ideál, jejichž rodiče nebyli vakcinováni proti MD, bylo rozděleno na pokusnou skupinu (7835 ks) a kontrolní skupinu (7540 ks). Zvířata v pokusné skupině byla v prvním dnu života vakcinována a spolu s kontrolou umístěna společně v hale pro odchov drůbežárny stát. statku Ř. V dalších dvou halách drůbežárny vzdálených 15 m bylo umístěno užitkové hejno. Kuřata byla ustájena na hluboké podestýlce v ústředně vytápěné hale, zpočátku byly používány i elektrické kvočny. Krmilo se automaticky pásovými krmítky až do stáří 98 dnů krmnou směsí K a až do konce pokusu, tj. 165 dnů, směsí KZK. Obě směsi obsahují kokcidiostatikum. Napáječky byly kloboukového typu. Před osazením byla hala podle předpisů dezinfikována a prostředí bylo asanováno. Během pokusu byla průběžně zajišťována obvyklá veterinární prevence, doplněná podáním Erytromycinu k profylaxi mykoplazmózy, a fortifikace krmiva vitamíny. Zdravotní stav kuřat byl pravidelně kontrolován do 165. dne věku.

Patologické vyšetření: Většina uhynulých zvířat z obou skupin byla patomorfologicky vyšetřena. Ve věku od 14 do 119 dnů byl pak sledován vývoj změn typických pro MD histologicky jak v orgánech vakcinovaných (40 ks), tak kontrolních zvířat (50 ks).

Sérologické a virologické vyšetření: Ve stáří 107 a 137 dnů bylo vyšetřeno několik zvířat z obou skupin (asi 0,1 % celkového počtu) na přítomnost specifických protilátek metodou agaroprecipitace (AGP). Provedení testu bylo popsáno jinde (Benda a Hložánek, 1974). Stejná zvířata byla rovněž použita jako zdroj k reizolaci HVT a získání MDHV v TK. CKC a CEF byly připravovány podle standardních metodik (Hložánek a Sovová, 1968; Benda a Hložánek, 1974) a infikovány buď slezinnými buňkami (skupina ve stáří 107 dnů), nebo

*) „Keramvac“ Pfizer, USA

ledvinnými buňkami (skupina ve stáří 137 dnů). Příprava inokulace i postupy související s infekcí TK se shodují s dříve uvedenými údaji (B e n d a a H l o Ź á n e k, 1974).

VÝSLEDKY

I. Výsledky terénního pokusu s lyofilizovanou vakcínou proti MD

Skupina	Zastaveno kusů	Celkový úhyn %	MD % ^{a)}	Oční forma ^{b)} %	Celkové ztráty %	Celkové ^{c)} ztráty MD %
Vakcino- vaná	7835	5,80	0,61	2,70	8,50	3,31
Nevakci- novaná	7540	7,10	1,44	5,50	12,60	6,94

^{a)} — MD zjištěna patologicko-anatomicky

^{b)} — zvířata vyřazená pro výskyt oční formy MD

^{c)} — součet a + b

Přehled o výsledcích pokusu, o ztrátách způsobených MD i ztrátách celkových podává tab. I. Přehled mortality a některé příčiny úhynů zjištěné patologicko-anatomickým vyšetřením se zvláštní pozorností k MD jsou uvedeny v tab. II. První patologicko-anatomicky diagnostikované případy MD se objevily v kontrolní skupině ve 12., v pokusné skupině ve 13. týdnu života. Úhyny kuřat byly až do této doby v obou skupinách shodně působeny převážně onemocněními neinfekčního rázu či úrazy (dna, ka-

II. Přehled mortality v průběhu pokusu s lyofilizovanou vakcínou proti MD

Skupina	Uhynulo kusů			Pitváno kusů	Kokcidióza kusů	MD kusů
	1. — 77. den	78. — 165. den	1. — 165. den			
Vakcino- vaná	302/0 ^a	150/48	452/48	348	2	48
Nevakci- novaná	229/0	304/109	533/109	467	83	109

^a — počet uhynulých/počet pitvaných s patologicko-anatomicky zjištěnou MD

nibalismus, nízká biologická hodnota kuřat, infekce žloutkového vāčku, ojedinělé záněty horních cest dýchacích). V druhém období pokusu, tj. od 12. týdne se zdravotní stav hejna počal měnit. V obou skupinách se objevili klinické příznaky MD s charakteristickým patologicko-anatomickým nálezem. Výrazně horší byla situace v kontrolní skupině, kde se ve větší míře než u vakcinovaných objevila oční forma MD, doprovázená kachektizací postižených kuřat, která bylo nutno průběžně vyřazovat. Chronická kokcidióza se vyskytla jen v kontrolní skupině (tab. II) Sečteme-li úhyny, u nichž byla MD diagnostikována sekčně, s počtem kuřat

vyřazených pro onemocnění oční formou MD v obou skupinách a srovnáme je s počtem zastavených, docházíme k hodnotám vyjadřujícím ztráty způsobené MD u vakcinovaných zvířat (3,31 %) a ve skupině kontrolní (6,94 %) (tab I).

Účinnost vakcíny vypočteme, dělíme-li stonásobek rozdílu mezi ztrátami na MD v kontrolní a ztrátami ve vakcinované skupině počtem ztrát v kontrolní skupině (Meulemans aj., 1971). V podmínkách námi popsaného pokusu vykazovala použitá bezbuněčná lyofilizovaná vakcína proti MD 50,86 % ochranný účinek.

Histologické vyšetření, které bylo prováděno v krátkých časových intervalech (do 10 dní), umožňovalo sledovat distribuci a dynamiku vývoje pro MD adekvátních morfologických změn v obou skupinách kuřat. Jak ve skupině vakcinované, tak ve skupině kontrolní se už od 14. dne, kdy byla provedena první histologická vyšetření, nacházely proliferace lymfocytů v periferní lymforetikulární tkáni, nejpravidelněji v plicích a žláznatém žaludku. V játrech se často zjišťovaly shluky buněk lymfoidního vzhledu, pocházející zjevně z Kupfferových buněk, které se ostře distancovaly od parenchymu. Osud uvedených proliferátů byl různý. U jedněch se celulizace zmenšovala až zanikala bez reziduí, nebo zůstávala zvýšená fibrotizace. U druhých k původním buňkám přibývaly malé, okrouhlé lymfoidní elementy se silně bazofilním jádrem. Ty se začaly současně objevovat i ve slezině, Fabriciově burze a vaječníku, méně často v jiných orgánech. Proliferace této buněčné skladby nepřesahovala do 67 až 78 dní mikroskopické rozměry. V průběhu tohoto období i později bylo pozorováno přibývání dalších typů buněk, histiocytů, retikulocytů a fibroblastů, které měnily svůj vzhled. Hlavním znakem cytologické skladby v tomto stadiu byl pleomorfismus, destruktivní vztah k okolí a intenzivní růstový potenciál. Vývoj tumorů v tomto stadiu proto probíhal velmi rychle, takže od 78. dne byly zjišťovány tumory už makroskopických velikostí.

Při porovnávání nálezů mezi oběma skupinami bylo zjišťováno, že u části vakcinovaných kuřat se tumory vyvíjely analogicky jako u nevakcinovaných. U ostatních vakcinovaných kuřat byl pozorován opožděný nástup buněčného pleomorfismu a menší růstová aktivita.

U kuřat do věku 78 dní s klinickými nervovými příznaky a bez makroskopických tumorů jsme v mozku nacházeli rozvláknění stěny kapilár a výraznější kribrózu v jejich okolí. Lymfoidní buňky v malém množství byly přítomné jen v ojedinělých případech, pravidelně situované v medii, zřídka v adventicii. Glie bývala intaktní. Nervy disponovaly málo početnými lymfoidními buňkami uloženými v okolí endoneurálních kapilár, v jejich blízkosti a mezi neurity. Pravidelné byly disproporce ve změnách mezi vnitřními orgány a nervovým systémem. Rozvinutým tumorům ve vnitřních orgánech odpovídaly nepatrné změny nebo negativní nálezy v mozku a ischiadickém nervu.

Sérologické vyšetření metodou AGP prokázalo přítomnost specifických protilátek 107. den života u 83 % vyšetřených, ve 137. dnu u všech vyšetřených zvířat.

Virologické vyšetření mělo především za cíl reizolovat HVT z vakcinovaných zvířat. Tento záměr se nezdařil v žádném z indivi-

duálních či směsných vzorků odebraných u kuřat z pokusné skupiny 107. a 137. den.

Z týchž vakcinovaných kuřat, stejně jako z kuřat kontrolních bez ohledu na manifestaci MD, bylo možné ve většině případů detekovat na TK CKC plaky převážně malého, z části i (137. den) středního typu, charakteristické pro MDHV (Biggs a Milne, 1972). Tento nález svědčí o rozšíření původce MD v obou skupinách.

DISKUSE

Celosvětové rozšíření a vzrůstající obliba bezbuněčných vakcín s volným HVT je podmíněna především méně náročnou manipulací ve srovnání s formou buněčnou, která vyžaduje skladování v hluboce zmraženém stavu. Jak buněčně vázaný, tak volný HVT je však při pokojové teplotě velmi rychle inaktivován, a tedy oba typy vakcín vyžadují bezprostředně před aplikací i během výroby velmi šetrnou manipulaci. Tak např. Kaleta a Siegmann (1972) upozornili, že 75 % jimi vyšetřovaných bezbuněčných vakcín s volným HVT zdaleka neobsahuje výrobce deklarovaný počet PFU v dávce. Existovala-li již dříve určitá empiricky zdůvodněná nedůvěra k tomuto typu vakcín, pak byla posílena nálezy o specifickém inaktivačním účinku mateřských HVT-protilátek na volný HVT u vakcinovaných kuřat (Calnek a Smith, 1972, Eidson aj., 1973).

Námi získané údaje svědčí o abnormálně nízkém, pouze 50 % ochranném účinku vakcinace, který nesnese srovnání s výsledky vakcinačních pokusů jak s bezbuněčnou vakcínou (Eidson aj., 1971), tak s tuzemskou buněčnou očkovací látkou (Sala aj., 1972), jejichž účinnost obvykle převyšuje 90 %. Neúspěch v reizolaci HVT z vakcinovaných kuřat je sice zajímavý, ale vzhledem k malému počtu vyšetřených zvířat i období odběru vzorků až v závěru pokusu neprůkazný a liší se i od všech ostatních zjištěných hodnot. Vyloučíme-li možnost závady přímo v očkovací látce, jejíž účinnost výrobce garantuje, je nutné si všimnout blíže ostatních výsledků. Jak v pokusné, tak kontrolní skupině byly ztráty na akutní formu MD s viscerálním nálezem minimální, víme-li, že často dosahují až 40 % i více (Hughes, 1967). Naopak výskyt oční formy, která je jedním ze symptomů klasické MD, je neobvykle vysoký ve srovnání s literárními údaji (Vogel aj., 1970). Relativně opožděný je i výskyt MD s maximem nálezů až v poslední třetině pokusu. Jak z vakcinovaných, tak nevakcinovaných zvířat bez ohledu na klinickou manifestaci MD se podařilo izolovat MDHV vyvolávající v TK tvorbu plaků dvou typů. Střední plaky, které byly v menšině, jsou považovány za typické pro virulentní kmeny MDHV akutní formy, výjimečně je tvoří i kmeny klasické formy MD. Převážně při izolaci zjištěné malé plaky charakterizují apatogenní kmeny MDHV, ojediněle pak opět MDHV klasické formy (Biggs a Milne, 1972). Je zřejmé, že se zvířata setkala pravděpodobně se směsí kmenů MDHV různé virulence, které vyvolaly více či méně se překrývající obraz akutní i výrazně převažující klasické formy MD a do určité míry mohly působit i imunizačně (Chou a Kenzy, 1973). Opomenout však nelze ani možnost vyšší geneticky podmíněné odolnosti

k MD, protože rezistentní drůbež reaguje i na kontakt s „akutním“ kmenem MDHV především nervovými příznaky (Payne, 1972). Poznatky získané histologickým vyšetřením orgánů, v kterých lze nejčastěji diagnostikovat pro MD patognostické změny, ukazují, že k infekci MDHV dochází nejčastěji aerogenní cestou či prostřednictvím zažívacího traktu. Výskyt mikroskopických a později makroskopických změn v parenchymatózních orgánech a časná, již od 14. dne zjistitelná lymfocytární proliferace v plicích a žláznatém žaludku je ve shodě s dynamikou výskytu virových antigenů v orgánech MDHV infikovaných kuřat (Adldinger a Calnek, 1973). Zjištěné disproporce mezi viscerálními a neutrálními změnami lze interpretovat rovněž z hlediska nálezu nejméně dvou kmenů MDHV s odlišnou virulencí ve vyšetřované populaci. Stejně jako mechanismus účinku vakcíny, není lépe objasněn ani vznik lymfómů či spontánní regrese změn zjištěná u části vakcinovaných kuřat histologicky. Výrazně nižší výskyt chronické kokcidiózy ve vakcinované skupině lze považovat za nepřímý vliv vakcinace. MD totiž potlačuje imunitní obranu organismu (Kenzy aj., 1970).

Purchase aj. (1972) rovněž pozorovali snížený, jen 50–60% účinek jinak zcela spolehlivé vakcíny proti MD, když výskyt MD v kontrolní skupině byl nižší než 8 %. Domníváme se, že zcela objektivní podmínky pro ověření vakcíny poskytuje jen prostředí kontaminované vysoce virulentním kmenem MDHV akutní formy. Na základě získaných výsledků lze uvažovat i o nižším ochranném účinku vakcíny proti klasické formě MD, či smíšené formě onemocnění s převahou nervových, tedy i očních symptomů. Vyžaduje tedy dostatečně efektivní vakcinace proti MD vedle pečlivého prověření kvality očkovací látky i podrobnou znalost nákazové situace a dalších faktorů, které mohou výsledek této preventivní akce ovlivnit.

Literatura

- ADLDINGER, H. K. — CALNEK, B. W.: Pathogenesis of Marek's disease: Early distribution of virus and viral antigens in infected chickens. *J. natn. Cancer Inst.*, 50, 1973, s. 1287-1297.
- BENDA, V. — HLOŽÁNEK, I.: Srovnání efektivnosti izolace viru Markovy nemoci z lymfocytů a slezinových buněk kuřat. *Vet. Med. (Praha)*, 19, 1974, č. 2-3, s. 135-140.
- BIGGS, P. M. — MILNE, B. S.: Biological properties of a number of Marek's disease viruses isolates. In: BIGGS, P. M. — DE THÉ, G. — PAYNE, L. N.: *Oncogenesis and herpesviruses*. Lyon, 1972, s. 88-94.
- CALNEK, B. W. — HITCHNER, S. B. — ADLDINGER, H. K.: Lyophilization of cellfree Marek's disease herpesvirus and herpesvirus from turkeys. *Appl. Microbiol.*, 20, 1971, s. 723-726.
- CALNEK, B. W. — SMITH, M. W.: Vaccination against Marek's disease with cell-free turkey herpesvirus: Interference with maternal antibody. *Avian Dis.*, 16, 1972, s. 954-957.
- EIDSON, C. S. — ANDERSON, D. P. — KLEVEN, S. H. — BROWN, J.: Field trials of vaccines for Marek's disease. *Avian Dis.*, 15, 1971, s. 312-322.
- EIDSON, C. S. — KLEVEN, S. H. — ANDERSON, D. P.: Efficacy of cell-free and cell-associated herpesvirus of turkeys vaccines in progeny from vaccinated parental flocks. *Am. J. vet. Res.*, 34, 1973, s. 869-872.
- HALADEJ, Š., HRABĚTA, P.: Příspěvek k výskytu akutní Markovy choroby v našich chovech. *Veterinářství*, 18, 1968, s. 113-114.
- HLOŽÁNEK, I. — SOVOVÁ, V.: Příprava bezleukóзовého hejna drůbeže — RIF test. *Vet. Med. (Praha)*, 13, 1968, č. 8-9, s. 489-500.

- HRABĚTA, P. — PŘIBÁŇ, K.: Provozní ověření vakcinace proti Markově chorobě v podmínkách intenzivního chovu. *Veterinářství*, 22, 1972, s. 258-260.
- HUGHES, W. F.: Die Mareksche Krankheit. *Dtsch. Geflügelwirtschaft*, 19, 1967, s. 937-938.
- CHO, B. R. — KENZY, S. G.: Dual infection with acute and mild strains of Marek's disease herpesvirus. *Avian Dis.*, 17, 1973, s. 390-395.
- CHURCHILL, A. E. — CHUBB, R. C. — BAXENDALE, W.: The attenuation with loss of oncogenicity of the herpes-type virus of Marek's disease (strain HPRS-16) on passage in cell culture. *J. gen. Virol.*, 1969, č. 4, s. 557-563.
- KALETA, E. F. — SIEGMANN, O.: Titration des Putenherpesvirus in Vaccinen zum Schutze gegen Mareksche Geflügellähme. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 79, 1972, s. 428-430.
- KAWAMURA, H. — KING, D. J. JR.: A herpesvirus isolated from kidney cells of normal turkeys. *Avian Dis.*, 13, 1969, s. 853-863.
- KENZY, S. G. — LONG, P. L. — BIGGS, P. M.: Relationship between Marek's disease and coccidiosis. *Vet. Rec.*, 86, 1970, s. 100-104.
- KOŽUŠNÍKOVÁ, A.: Terenní ověření vakcinace proti Markově nemoci vakcínou „Keramvac“ v užítkovém chovu. [Atestační práce.] Praha 1973.
- MEULEMANS, G. — HALEN, O. — SCHYNS, P. — BRUYNOOGHE, D.: Field trials with an attenuated Marek's disease vaccine. *Vet. Rec.*, 89, 1971, s. 325-329.
- OKAZAKI, K. — PURCHASE, H. G. — BURMESTER, B. R.: Protection against Marek's disease by vaccination with a herpesvirus of turkeys. *Avian Dis.*, 14, 1970, s. 413-429.
- PAYNE, L. N.: Pathogenesis of Marek's disease: A review. In: BIGGS, P. — DE THÉ, G. — PAYNE, L. N.: *Oncogenesis and herpesviruses*. Lyon, 1972, s. 21-37.
- SALAJ, J. — ČASNOCHA, E. — SÝKORA, V. — BITTARA, J. — KOUDELA, J. — ŠARMÍR, I. — VALENTOVÍČ, G.: Terenní pokusy s vakcínou proti Markově chorobe. *Imunoprofylaxia*, 1972, č. 3, s. 9-12.
- VOGEL, K. — KOKLES, R. — BEYER, J. — GRUSS, M. L. — HANTSCH, H. — SCHMIDT, U. — WERNER, O.: Untersuchungen über die Mareksche Krankheit des Huhnes. 1. Mitteilung. *Arch. exp. VetMed.*, 24, 1970, s. 525-538.
- WITTER, R. L. — NAZERIAN, K. — PURCHASE, H. G. — BURGYONE, G. H.: Isolation from turkeys of a cell-associated herpesvirus antigenically related to Marek's disease virus. *Am. J. vet. Res.*, 31, 1970, s. 525-538.

Došlo dne 27. 6. 1974

KOŽUŠNÍKOVÁ A., BENDA A., KALAFÁ Š., PŘIBÁŇ K., ZEŽULÁK J. (Rajónní veterinární punkt, Praha-Vostok, Institut experimentální biologie a genetiky, Československá Akademie Nauk, Praha, Státní veterinární ústav, Praha, Československo). Testování účinnosti bezbuněčné lyofilizované vakcíny proti nemoci Mareka v poliích podmínkách. *Vet. Med. (Praha)* 20 (6) : 355-362, 1975.

Štitná účinnost lyofilizované vakcíny proti nemoci Mareka („Keramvac“ — Pfizer), připravované z bezbuněčného viru herpesu indyka (štam FC 126), srovnávali s ztrátami ptáků v skupině nepřivívaných kurů. Okázalo se, že vakcína účinná jen na 50,86 % v poliích podmínkách. Příčiny snížené účinnosti vakcinace diskutují v ohledu na patomorfologické a virologické šetření, svědčující, mezu tím, o zvýšeném výskytu příznaků klasické formy nemoci Mareka u šetřené populace.

virus herpesu indyka; nemoc Mareka; patomorfologické změny; virologické a serologické šetření; oční forma

KOŽUŠNÍKOVÁ A., BENDA V., KALAFÁ Š., PŘIBÁŇ K., ZEŽULÁK J. (District Veterinary Station, Praha-East, Institute of Experimental Biology and Genetics, Czechoslovak Academy of Sciences, Praha, Central State Veterinary Institute, Praha, Czechoslovakia). *Testing the Protective Effect of Cell-free Lyophilized Vaccine against Marek's Disease in Field Trials*. *Vet. Med. (Praha)* 20 (6) : 355-362, 1975.

The protective effect of a lyophilized vaccine against Marek's disease („Keramvac“ — Pfizer), prepared from a cell-free turkey's herpesvirus (strain FC 126), was compared in field trials with losses in the group of non-vaccinated chickens. Under the

indicated conditions, the vaccine had only a 50.86 % effectiveness. The possible causes of the reduced vaccination effect are discussed with regard to the pathomorphological and virological findings suggesting, among others, an increased incidence of the symptoms of the classical form of Marek's disease in the population investigated.

herpesvirus of turkey; Marek's disease; pathomorphological changes; virological and serological examination; ocular form

KOŽUŠNÍKOVÁ A., BENDA V., KALAFÁ Š., PRIBÁŇ Z., ZEŽULÁK J. (Kreis-veterinäreinrichtung, Praha-Ost, Institut für experimentelle Biologie und Genetik, Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaften, Praha, Staatlicher Zentralveterinäranstalt, Praha, Tschechoslowakei). *Untersuchung der Wirksamkeit der zellfreien lyophilisierten Vakzine gegen Marekschen Krankheit in Feldbeständen*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 355-362, 1975.

Verglichen in Feldbeständen mit den Tierverlusten in der Gruppe nicht geimpfter Hühner, ist die lyophilisierte Vakzine gegen Mareksche Krankheit („Keramvac“ — Pfizer), eine Präparation aus zellfreiem Putenherpesvirus (Stamm FC 126), nur zu 50.86 % wirksam. Die Ursachen des verminderten Impfungseffektes werden diskutiert mit Rücksicht auf die pathomorphologischen und virologischen Befunde, welche, unter anderem, auf das erhöhte Vorkommen von Symptomen der klassischen Form der Marekschen Krankheit in der untersuchten Population hinweisen.

Putenherpesvirus; Mareksche Krankheit; pathomorphologische Veränderungen; virologische und serologische Untersuchungen; okuläre Form

Adresa autorů:

MVDr. A. Kožušníková, MVDr. K. Pribáň, MVDr. J. Zezulák, Okresní veterinární zařízení, Praha-východ, Náměstí republiky 3, 110 00 Praha 1,

MVDr. V. Benda, Ústav experimentální biologie a genetiky ČSAV, Flemingovo nám. 2, 160 00 Praha 6,

MVDr. Š. Kalafa, Ústřední státní veterinární ústav, Na vinici 156, 160 00 Praha-Lysoleje

PRŮKAZ PROTILÁTEK PROTI VZTEKLINĚ METODOU NEPŘÍMÉ IMUNOFLUORESCENCE

E. Jiran, M. Závora

Národní referenční laboratoř pro vzteklinu při Státním veterinárním ústavu,
Vratislavice nad Nisou

JIRAN E., ZÁVORA M. *Průkaz protilátek proti vzteklině metodou nepřímé imunofluorescence.* Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 363-371, 1975.

Je popsána metoda nepřímé imunofluorescence (test IFRA) pro průkaz postvakcinačních protilátek proti vzteklině. Na modelu křeččího imunního séra jsme sledovali reprodukovatelnost testu a na imunizovaných králíciích virem Flury-LEP jsme sledovali kvantitativně dynamiku tvorby protilátek. Orientačně byl test použit i pro průkaz postvakcinačních protilátek proti vzteklině u psů. Propracovanou metodiku lze doporučit jako doplňující a orientační test pro hodnocení imunogenních vlastností vakcín proti vzteklině.

vzteklina; metoda nepřímé imunofluorescence (IFRA); průkaz postvakcinačních protilátek u vakcíny FLURY-LEP

Průkaz protilátek je u infekčních chorob součástí hodnocení účinku aktivní imunizace nebo proběhlé infekce a imunního stavu organismu vůbec. Zejména u virových chorob je používána řada metodik: sérologické reakce jako reakce vazby komplementu, hemaglutinačně-inhibičního testu apod. Značný význam má neutralizační test.

Rovněž u vztekliny se používá k průkazu protilátek řada testů, avšak nejčastěji je ve specializovaných laboratořích používán test neutralizační. Základní modifikace neutralizačního testu u vztekliny používá bílých myšek a adaptovaného virulentního viru vztekliny. Tento test je používán v rozsáhlých studiích ve veterinární a humánní medicíně při testování různých druhů očkovacích látek pro aktivní imunizaci (např. Brown aj., 1967; Cabasso aj., 1965; Kalmar a Tadmor, 1963; Sikes a Larghi, 1967 a mnoho dalších).

Neutralizační test je rovněž používán v imunologickém studiu při sledování antigenní odlišnosti nově izolovaných kmenů viru vztekliny (např. Sodja aj., 1971). Neutralizační test za použití tkáňových kultur je popisován jak s kmeny viru vztekliny, které vytvářejí cytopatický efekt (např. Hronovský aj., 1966), tak i s virovými kmeny, které buněčné kultury morfologicky nemění.

V druhém případě se neutralizační efekt protilátek prokazuje imunofluorescencí; průkaz antigenu viru vztekliny v buňkách se zdaří již za 70 hodin po infekci v kontrolních kulturách, zatímco v kulturách po aplikaci směsi virus-sérum se fluorescenční průkaz virového antigenu nezdaří (např. King aj., 1965).

Další metoda pro průkaz protilátek proti vzteklině používá imuno-fluorescence (IFRA). Konjugovanými antiglobulínovými protilátkami se prokazují specifické antirabické protilátky po jejich vazbě na antigen. Tento test je popisován řadou autorů jako velmi citlivá reakce (např. Nairn, 1968). Úspěšné použití metody nepřímé imuno-fluorescence (IFRA) pro průkaz protilátek proti vzteklině popsali Thomas aj. (1963). Peck (1966), který tuto orientační test dále propracoval, pokládá jej za rychlý a ekonomicky výhodný pro průkaz antirabických protilátek u lidí. Selimov aj. (1966) rovněž použili a popsali metodu nepřímé imuno-fluorescence pro titraci protilátek proti vzteklině. Mosely aj. (1968) prokazovali nepřímým imuno-fluorescenčním testem postvakcinační protilátky u psů při sledování imunogenní aktivity viru Flury-LEP.

Z citovaných prací je zřejmé, že nepřímý imuno-fluorescenční test se v některých laboratorích používá jako rychlá a pracovně výhodná metoda pro průkaz specifických protilátek proti vzteklině. To byl důvod, proč i naše pracoviště přistoupilo k experimentálnímu ověření této metody.

MATERIAL A METODY

VIRUS

Z virových kmenů vztekliny jsme používali pro imuno-fluorescenční testy záchyty viru vztekliny z terénních případů onemocnění lišek a psů. Virové kmeny byly označeny: L-138/71/14; L-2593/71; L-2618/71; L-2668/71; L-2680/71; L-2684/71; L-2753/71; L-3035/71.

Virové kmeny jsme pasážovali na bílých myškách po *i. c.* infekci mozkovou suspenzí virů; titry se pohybovaly v rozmezí $10^5 - 10^6$ MLD₅₀ na 0,03 ml (50 % letální dávky pro bílé myšky po *i. c.* infekci).

Při výběru kmenů jsme se zaměřili především na takové, které vytvářely charakteristický obraz v imuno-fluorescenci, vyznačený zvláště velikým množstvím velikých útvarů – plaků, agregátů virového antigenu v CNS myšek („Babes-Negri body-like“ útvary). Virový materiál jsme uchovávali zmražený při -20°C , resp. -35°C .

Pro imunizační pokusy jsme použili virus Flury-LEP, pasážovaný na kuřecích embryích, uchovávaných v lyofilizovaném stavu při 4°C (komerční vakcína proti vzteklině pro psy Flury-LEP z Biovety, Ivanovice n. H.).

SÉRA

Séra do testu jsme získali po imunizaci pokusných zvířat – zlatých křečků, králíků a psů. Zlatým křečkům jsme intraperitoneálně aplikovali opakovaně modifikovaný virus Flury-LEP a dále virulentní virus; králíky jsme imunizovali jednorázově dávkou 1,0 ml viru Flury-LEP *i. m.*

Séra psů pocházela z pokusu kontroly imunizačních vlastností vakcín z kmene Flury-LEP v rámci vývojových studií pracoviště Biovety, Ivanovice n. H. Dvojice sér odebrané v intervalu 30 dnů (popř. třetí odběr za 100 dnů) byly po vyhodnocení na obsah neutralizačních protilátek lyofilizovány a dále uchovány při 4°C do vyhodnocení v testu IFRA.

Krev jsme králíkům odebírali z *v. saphena* nebo srdeční punkcí. Nechali jsme ji srazit a získaná séra jsme po centrifugaci 15 min. (2000 obr. za minutu) inaktivovali po dobu 30 minut při teplotě 56 °C.

Nativní séra jsme uchovávali zmražená při -20 °C.

METODA NEPŘÍMÉ IMUNOFLUORESCENCE (IFRA)

Pro důkaz protilátek proti vzteklině jsme propracovali metodický postup IFRA pomocí křeččích a králíčích sér za použití značených protilátek (fluoresceinisothiocyanát-FITC) proti příslušným druhovým globulínům (protikřeččí-SwaHa a protikrálíčí-SwarR: obchodní preparáty ÚSOL-Praha).

Pro detekci protilátek proti vzteklině u psů jsme používali značené králíčí protilátky proti psím globulínům, připravené v Biovetě Ivanovice n. H. (dr. Semotán).

Pro snížení nespecifických reakcí jsme séra vysycovali orgánovými prášky (jaterní po acetonové extrakci) a jako ředidlo do testu jsme používali 20% suspenzi normálních myších mozků. Jako vzteklinový antigen nám sloužily otiskové preparáty mozků bílých myší, infikovaných vhodnými virovými kmeny. Preparáty zhotovené na podložních sklíčkách jsme fixovali plamenem.

Vlastní postup testu IFRA: Na fixované preparáty viru vztekliny jsme nanášeli postupná dvojnásobná ředění testovaných sér. Na každé ředění jsme používali dvě sklíčka se dvěma preparáty (4 pozorování). Následovala inkubace 30 minut při 30 °C ve vlhké komůrce, důkladné oplachování 2 × 10 minut ve fosfátovém pufru. Po opláchnutí se navrstvil příslušný konjugát proti použitým protilátkám. Po další inkubaci 30 minut při 30 °C ve vlhké komůrce se znovu oplachovalo 2 × 10 minut ve fosfátovém pufru a po konečném opláchnutí v destilované vodě a osušení na vdychu při pokojové teplotě se preparáty montovaly pufrovým glycerínem pod krycí sklíčka.

Preparáty jsme prohlíželi fluorescenčním mikroskopem sovětské výroby ML-2 s rtuťovou výbojkou DRŠ-250 imerzním objektivem. Protilátky v testu IFRA jsme hodnotili podle obrazu specifické fluorescence a její intenzity a jako titr testovaného vzorku séra jsme označovali to ředění, ve kterém došlo nejméně u dvou či více preparátů (více než 50 %) k pozitivní reakci. Ke každému testu IFRA jsme zastavovali příslušné kontroly – negativní preparáty, preparáty pozitivní pouze s konjugátem, pozitivní kontrolní preparáty se známým antisérem a kontrolní pozitivní preparáty v přímém testu FRA.

NEUTRALIZAČNÍ TEST (M NT)

Pro M NT jsme používali bílých myšek, testované sérum jsme titrovali v řadě dvojnásobných ředění, virulentní virus vztekliny pro neutralizaci obsahoval 200 MLD₅₀ viru. Myškám jsme aplikovali směs virus-sérum po 0,03 ml *i. c.* (po 4–5 myškách na jedno ředění) a ke každému testu jsme zastavovali kontrolní titraci pracovní dávky viru. Myšky jsme sledovali po dobu 14 dnů a titr séra jsme hodnotili na ND₅₀ podle Reeda a Muencha.

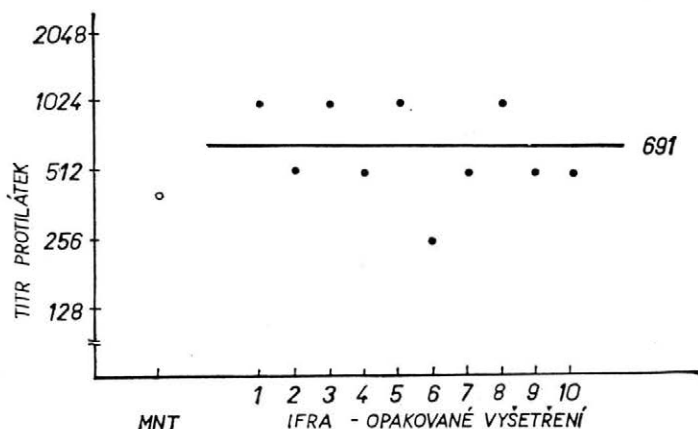
Používali jsme bílé myšky Swiss-albino z vlastního chovu a zlaté křečky rovněž z vlastního chovu. Dále jsme použili morčata (vícebarevná) a králíky (čínčila velká) z chovu VELAZ – Praha. Imunizační pokusy na psech byly prováděny v rámci vývojových prací Biovety, Ivanovice n. H. a do testů jsme získali již lyofilizované vzorky sér se známými hodnotami neutralizačních protilátek.

VÝSLEDKY

I. HODNOCENÍ PROTILÁTEK PROTI VZTEKLINĚ METODOU NEPŘÍMÉ IMUNOFLUORESCENCE (IFRA)

Ověření metody nepřímé imunofluorescence u vztekliny a zastavení testu pro kvantitativní průkaz protilátek jsme provedli pomocí imunního křeččího séra, označeného 1/71. V základních pokusech jsme byli nuceni řešit problematiku snížení nespecifické fluorescence, která nám zakrývala zpočátku sledované specifické reakce v testu. Především šlo o sledování vlivu inaktivace sér a vysycování sér na úbytek nespecifické fluorescence v preparátech. Ani dodatečné vysycování antisér orgánovými prášky ani inaktivace sér podstatně neovlivňuje kvantitativně nebo kvalitativně přítomnost nespecifických vazebných míst v preparátech.

Hlavní obrat pro možnost použití IFRA pro hodnocení protilátek proti vzteklině nastal změnou používaných kmenů viru vztekliny v preparátech z myších mozků. Jakmile jsme virové kmeny s obrazem drobných fluoreskujících agregátů viru v mozkové tkáni nahradili za takové, které vytvářely převážně obraz s fluorescencí značně velikých agregátů, dala se specifická a nespecifická fluorescence bezpečně od sebe odlišit. V této otázce vidíme proto základní předpoklad pro úspěšné použití testu IFRA v hodnocení antirabických protilátek. Na modelu křeččího antiséra jsme v opakovaných testech určili rozptyl hodnot stejného séra a reprodukovatelnost testu. Možnost kvantitativního hodnocení antiséra je do určité míry vázaná na zapracované laboratorní pracovníky a je ovlivněna subjektiv-



1. Opakovaný test IFRA s křeččím imunním sérem 1/71

ním hodnocením brilance fluorescence, ale v zásadě je možná a spolehlivost v odečtu kolísá v rozmezí přibližně jednoho až dvou ředění (obr. 1).

Jak je vidět z obr. 1, mají titry séra v testu IFRA poněkud vyšší hodnoty proti ND_{50} , získanému s virulentním virem na bílých myškách a 200 LD_{50} viru. Průměrná hodnota séra v testu IFRA je 1:691. Pro přesné a statistické výpočty nepokládáme výsledky testu za dostačující a máme za to, že ani vlastní test není v této modifikaci vhodný k podrobnějším statistickým výpočtům.

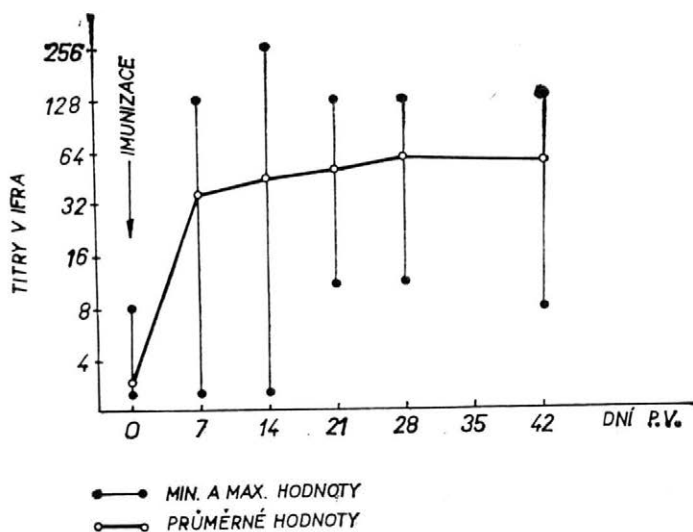
Hodnocení titrů antirabických protilátek by bylo možné i výpočtem podle Reeda-Muencha, ale se zřetelem na časté dubiozní výsledky (zejména ve vyšších a hraničních hodnotách séra) a dále vlastním využitím testu v laboratorní práci jsme volili způsob určení titrů séra v tom ředění, kdy více než polovina preparátů byla pozitivní (50–100 %).

II. PRŮKAZ POSTVAKCINAČNÍCH PROTILÁTEK PROTI VZTEKLINĚ METODOU IFRA

Imunogenní aktivita vakcín proti vzteklině se hodnotí protekčním testem a průkazem specifických protilátek. Běžně se používá hodnocení neutralizačních protilátek. V našich pokusech jsme sledovali možnost průkazu postvakcinačních protilátek u pokusných zvířat v testu IFRA. K tomuto účelu jsme volili obchodní vakcínu proti vzteklině Flury-LEP, kterou jsme aplikovali *i. m.* po 1 ml dvěma skupinám po 10 králících. V pravidelných intervalech jsme odebírali králíkům krev a vzorky odebrané z jednoho králíka jsme najednou testovali v IFRA.

Vzhledem k tomu, že do šesti týdnů došlo k několika nespecifickým úhynům, přišla do vlastní hodnocení vždy sada vzorků ze 17 králíků. Výsledky testů IFRA jsou znázorněny v obr. 2.

Na obr. 2 jsou uvedeny průměrné hodnoty protilátek proti vzteklině z testu IFRA z jednotlivých odběrů krve králíků za různou dobu po apli-

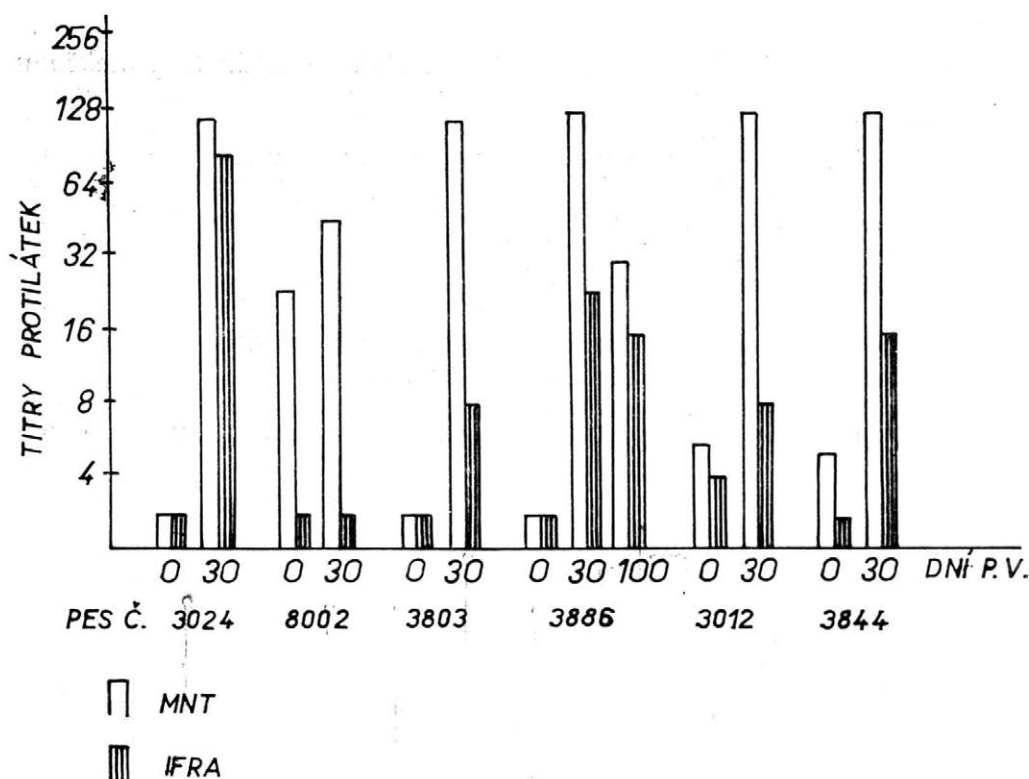


2. Dynamika protilátek proti vzteklině u králíků po imunizaci vakcínou FLURY-LEP, hodnocených v testu IFRA

kaci vakcíny. Dále jsou uvedeny vždy nejvyšší a nejnižší zjištěné hodnoty z jednotlivých odběrů (rozptyl hodnot).

Ze znázorněných výsledků lze shrnout, že po imunizaci králíků obchodní vakcínou proti vzteklině Flury-LEP lze v testu IFRA sledovat dynamiku tvorby protilátek. Nejvyšší průměrný titr jsme získali za 28 dní po aplikaci vakcíny (ojediněle byly získány vysoké titry již za 7, resp. 14 dnů). Již za 21 den lze prokázat signifikantní vzestup protilátek u většiny imunizovaných zvířat.

V orientačním pokuse jsme hodnotili vzorky sér několika psů z odběrů krve před vakcinací a za 30, u jednoho psa i za 100 dnů po imunizaci vakcínou proti vzteklině Flury-LEP. Séra byla vyšetřena v M NT a po době skladování více než jeden rok (séra byla uchována v lyofilizovaném stavu v chladničce při $+4^{\circ}\text{C}$) jsme séra vyhodnotili v testu IFRA. Srovnávací hodnocení protilátek v M NT a v testu IFRA je znázorněno v obr. 3.



3. Hodnocení protilátek proti vzteklině v M NT a v testu IFRA po imunizaci psů vakcínou FLURY-LEP

Jak je z obr. 3 vidět, lze u většiny vzorků sér psů zjistit určitou shodu v průkazu protilátek proti vzteklině mezi hodnotami v M NT a v testu IFRA. Avšak kvantitativní reakce mezi hodnotami z obou testů není zcela jednoznačná. Tuto stránku tohoto orientačního testu nemůžeme přesně hodnotit již vzhledem k časovému odstupu mezi provedením M NT a IFRA, i vzhledem k možné kvalitativní změně sér (lyofilizace, dlouhodobé uchovávání).

K experimentální práci na propracování metody nepřímé imunofluorescence nás vedla zejména rychlost, malá pracnost a ekonomická výhodnost tohoto testu pro stanovení přítomnosti specifických protilátek proti viru vztekliny ve srovnání s dnes užívaným neutralizačním testem. Využívá se specifické vazby protilátek s antigenem viru vztekliny na preparátech s mozky infikovaných myší a indikátorové vazby konjugovaných globulínů proti použitým protilátkám (tzv. „sandwich-test“, test IFRA).

Příprava a odčítání výsledků IFRA probíhá během několika hodin, zatímco např. M NT na vzteklinu se sleduje dva i více týdnů. Rovněž ekonomická stránka je značně výhodná: mimo poměrně velké investice na zakoupení fluorescenčního mikroskopu jsou vlastní provozní náklady u testu velmi malé. Při pokusech na zastavení testu nepřímé fluorescence rabického antigenu (IFRA) jsme použili křeččí imunní sérum, které jsme v řadě opakovaných titrací hodnotili i kvantitativně. Nejúspěšnější metoda testu IFRA je popsána v úseku „materiál a metody“. Reprodukovatelnost a rozptyl testu je znázorněn graficky (obr. 1).

V titracích testovaných protilátek proti vzteklině je možné pozorovat zejména postupné slábnutí brilance specifické fluorescence se stoupajícím ředěním protilátek.

Určení titru protilátek by bylo v zásadě možné i výpočtem podle Reeda a Muencha, obdobně jako v M NT na ND_{50} (50% neutralizační dávka – v testu IFRA např. na $IFRA_{50}$), avšak vzhledem ke zjištěnému rozptylu a vlastnímu použití testu pouze jako doplňující metody pro určení přítomnosti protilátek jsme od tohoto způsobu hodnocení upustili a máme za to, že vyhovuje vyhodnocení hodnot séra na titr určený ředěním s pozitivními výsledky od 50 % do 100 %. Dále se domníváme (souhlasně s autory Thomasem aj., 1963; Peckem, 1968), že pro průkaz protilátek proti vzteklině tímto testem je dostačující forma tzv. „screening-testu“ tzn. určení přítomnosti pouze kvalitativně a jen orientačně např. ve dvou ředěních.

Z dalších faktorů, které limitují široké použití testu IFRA pro průkaz hladiny antirabických protilátek, je častá těžko odstranitelná a rozlišitelná nespecifická fluorescence. Máme za to, že zde je nejdůležitější otázka výběru vhodného testovacího kmene viru vztekliny. Vhodné pro použití v testu IFRA jsou zejména takové kmeny, které vytvářejí při imunofluorescenčním vyšetření obraz s převahou velikých agregátů viru (tzv. útvary „Babes-Negri body like“).

Z hlediska průkazu specifických postvakcinačních protilátek jsme ověřili tuto možnost s vakcínou z kmene Flury-LEP na králících (obr. 2), kdy jsme sledovali rovněž kvantitativně dynamiku protilátek v testu IFRA. Dále jsme hodnotili orientačně postvakcinační protilátky u psů (obr. 3), kdy ve srovnání s M NT lze pozorovat ve většině případů shodný trend protilátek. Tento test však hodnotíme pouze jako orientační sledování a bude nutné ověřit soulad a vztah mezi výsledky protekčních vlastností vakcín a jejich imunogenním účinkem, hodnoceným v M NT, popř. NT za použití tkáňových kultur a hodnoceným testem IFRA.

Literatura

- BROWN, A. L. — DAVIS, E. V. — MERRY, D. L. — BECKENHAUER, W. H.: Comparative potency tests on modified livevirus rabies vaccine produced from Flury high egg-passage virus grown on permanent dog kidney cell live. *Am. J. vet. Res.*, 28, 1967, s. 751-759.
- CABASSO, V. J. — SHARPLESS, G. R. — DOUGLAS, A.: Rabies vaccination of cats with HEP Flury vaccine. *Am. J. vet. Res.*, 26, 1965, s. 33-38.
- CABASSO, V. J. — STEBBINS, M. R. — DOUGLAS, B. A. — SHARPLESS, G. R.: Tissue-culture rabies vaccine (Flury LEP) in dogs. *Am. J. vet. Res.*, 26, 1965a, s. 24-31.
- HRONOVSKÝ, V. — BENDA, R. — ČINTÁL, J.: Propagation of street rabies virus in primary cultures of dog kidney cells. *Acta virol.*, Praha, 10, 1966, s. 181.
- KALMAR, E. — TADMOR, A.: Immunization of cattle against rabies with the Kelev strain vaccine. *Res. vet. Sci.*, 1968, č. 9, s. 424-428.
- KING, D. A. — GROGHAN, D. L. — SHAW, E. L.: A rapid quantitative *in vitro* serum neutralisation test for rabies antibody. *Can. vet. J.*, 1965, č. 6, s. 187-193.
- NAIRN, R. C.: Fluorescent protein tracing. Livingstone, Edinburgh and London 1969.
- MOSELEY, B. L. — MOREHOUSE, L. G. — KINTNER, L. D.: Responses in dogs exposed to attenuated rabies virus. *Am. J. vet. Res.*, 29, 1968, s. 2113-2118.
- PECK, F. B.: The detection of human rabies antibody by the indirect fluorescence test. *Symp. Series imunobiol. standard.*, 1968, č. 1, s. 201-206.
- SELIMOV, M. A. — LEBEDEVA, I. R. — KLJUJEVA, E. V.: Titrování antirabičeských syvorotok s pomocí metoda fluorescujícího antitel. *Ž. Mikrobiol. Epidem. Imunobiol.*, 43, 1966, s. 108-112.
- SIKES, R. K. — LARGHI, O. P.: Purified rabies vaccine: development and comparison of potency and safety with two human rabies vaccines. *J. Immun.*, 99, 1967, s. 545-553.
- SODJA, I. — LÍM, D. — MATOUCH, O.: Isolation of rabies virus from small wild rodents. *J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immun.*, 15, 1971, s. 271-277.
- THOMAS, J. B. — SIKES, R. K. — RICKER, A. S.: Evaluation of indirect fluorescent antibody technique for detection of rabies antibody in human sera. *J. Immun.*, 91, 1963, s. 721-723.

Došlo dne 25. 3. 1974

JIŘAN Ě., ZÁVORA M. (Národní diagnostická laboratorie pro šílenství při Státním ústavu veterinární Vratislavice-nad-Nisou, Československo). *Dokazování antitel proti šílenství metodou kósné imuno fluorescencie.* *Vet. Med. (Praha)* 20 (6) : 363-371, 1975.

Opisán metod kósné imuno fluorescencie (test IFRA) pro dokazování postvakcinačních antitel proti šílenství. Na modelu imunní sыворотки хомяка мы изучали воспроизводимость теста и на имунизированных вирусом Флори-ЛЕП кроликах мы наблюдали в количественном отношении за динамикой образования антител. Ориентировочно этот тест был применен и для доказательства поствакцинационных антител против šílenství у собак. Разработанную методику можно рекомендовать в качестве дополнительного и ориентировочного теста для оценки иммуногенных свойств вакцин против šílenství.

šílenství; metod kósné imuno fluorescencie (IFRA); dokazování postvakcinačních antitel u vakcíny FLORI-LEP

JIRAN E., ZÁVORA M. (National Reference Laboratory for Rabies, State Veterinary Institute, Vratislavice nad Nisou, Czechoslovakia). *Demonstration of Antibodies against Rabies by the Indirect Immunofluorescence Method.* *Vet. Med. (Praha)* 20 (6) : 363-371, 1975.

The paper presents a description of the method of indirect immunofluorescence (IFRA test) for the demonstration of post-vaccination anti-rabies antibodies. The model of immune hamster serum was used to study the reproducibility of the test. The dynamics of antibody formation was quantitatively examined in rabbits im-

munized by the Flury-LEP virus. For brief information, the test was also used for the demonstration of post-vaccination antibodies against rabies in dogs. The method can be recommended as an additional and orientation test for the evaluation of the immunogenic properties of vaccines against rabies.

rabies; indirect immunofluorescence method (IFRA); demonstration of post-vaccination antibodies in the FLURY-LEP vaccine

JIRAN E., ZÁVORA M. (Referenzlaboratorium für Tollwut der staatlichen Veterinäranstalt Bratislava n. Nisou, Tschechoslowakei). *Nachweis von Antikörpern gegen Tollwut mit Hilfe der indirekten Immunofluoreszenzmethode*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 363-371, 1975.

Es wird die indirekte Immunofluoreszenzmethode (IFRA-Test) zum Nachweis von Postvakzinations-Antikörpern gegen Tollwut beschrieben. Am Modell eines Hamster-Immunoserums untersuchten wir die Wiederholbarkeit des Testes und bei den mit dem Flury-LEP-Virus immunisierten Kaninchen verfolgten wir quantitativ die Dynamik der Antikörperbildung. Zu Orientierungszwecken wurde der Test auch als Nachweis von Postvakzinations-Antikörpern gegen die Tollwut bei Hunden benutzt. Die ausgearbeitete Methodik kann als Ergänzungs- und Orientationstest zur Bewertung der immunogenen Eigenschaften von Antitollwut-Vakzinen benutzt werden.

Tollwut; indirekte Immunofluoreszenz- (IFRA-) Methode; Nachweis von Postvakzinations-Antikörpern bei der Flury-LEP-Vakzine

Adresa autorů:

MVDr. E. Jiran, CSc., Okresní veterinární zařízení, 400 00 Ústí n. Labem
MVDr. M. Závora, Okresní veterinární zařízení, 460 00 Liberec

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

Uvedené publikace je možno 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.

BAUMGARTNER, H. D 60.119/19
Eutergesundheitsdienst. Liebefeld-Bern, Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft (1973). S. 3-12. Separatdruck aus „Schriften der Schweizerischen Vereinigung für Tierzucht“ Nr. 39. (Dojnice — vemeno — nemoci — výzkum — Švýcarsko)

D 53.071/3
Bolesti po govedata. III. tom. Bolesti po polovite organi i na mlecnata žleza. Sofija, Zemizdat 1973. 366 s. obr. (Skot — pohlavní ústrojí — nemoci / Dojnice — mléčná žláza — nemoci — příručka)

AUCHARLES, B. C. G. D 38.168/1973/110
Contribution à l'étude de la parésie spastique des bovins. Thèse prés. devant l'Université Paul-Sabatier. Toulouse, École nationale vétérinaire 1973. 93 s. 7 obr. (Skot — nemoci — obrna — spastická — výzkum — Francie — disertační práce)

D 63.871
Choroby świń. Praca zbiorowa pod redakcja prof. dr. Henryka Janowskiego. Warszawa, PWRiL 1974. 875 s. (Prase — nemoci — příručka)

LENDFERS, L. H. H. M. D 63.456
Gavoeligheid van het Nederlandse slachtvarken voor transportvloeden. Wageningen, Centrum voor landbouwpublikaties en landbouwdocumentatie 1974. 109 s. 13 obr. 31 tab. (Stress — prase jatečné — doprava — výzkum — Holandsko)

HEINIG, A. D 37.699/12/2
Die Allergie beim Rind. (Souhrn rus., angl.) Berlin, Inst. f. landw. Information und Dokumentation 1974. 60 s. Fortschrittsberichte f. d. Landwirtschaft und Nahrungsgüterwirtschaft Bd. 12, Hf. 2. 1974. (Alergie — skot — studijní zpráva — NDR)

ORLOV, F. M. D 63.583
Maloizvestnyje zaraznyje bolezni životnych. Moskva, Kolos 1973. 310 s. (Nemoci nakažlivé — hospodářská zvířata — diagnostika a léčení — příručka)

D 63.518
Infekcionnyje bolezni životnych i voprosy prirodnoj očagovosti. Frunze, Ilim 1974. 113 s. tab. (Hospodářská zvířata — nemoci nakažlivé — sborník — Kirg. SSR)

VLIV BÍLKOVINNÉ POTRAVY NA MNOŽENÍ PRVOKA NOSEMA APIS Z.

M. Peroutka

Výzkumný ústav včelařský v Dole, Libčice nad Vltavou

PEROUTKA M. *Vliv bílkovinné potravy na množení prvoka Nosema apis Z.* Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 373-384, 1975.

Počítáním spór prvoka *Nosema apis Z.* v Bürkerově komůrce jsem zjistil u 1495 zaklíckovaných včel, krměných různými zdroji bílkovin a utracených týden po invazi, ze 26 vzorků různých krmiv statisticky významné rozdíly v ovlivnění vývoje prvoka jen u jívového pylu. Rozdíly mezi dalšími krmivy se statisticky průkazněji lišily u včel utracených až za 14 dní od invaze. U 1260 včel vyšetřených za 14 dní po invazi podporovalo ve srovnání s glycidovou potravou rozvoj parazita krmivo se 6 %, 9 % a 12 % čerstvého řepkového pylu, 3 % a 6 % čerstvého i sušeného jívového pylu, 6 % sušené a mražené směsi pylu, pyl uložený v plástech, 7,5 %, 10,0 % a 12,5 % kvasnicové těsto, Arnika a 3 % bakopecton. Ani za 14 dní od invaze nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v ovlivnění schizogonie prvoka *Nosema apis Z.* u včel krměných samotným glycidovým krmivem, těstem se 3 % i 6 % kaseinového hydrolyzátu, 3 % i 6 % kaseinu podle Hammarstena, 3 % sušených celých vajec, 3 % čerstvého řepkového pylu a 3 % i 6 % směsi čerstvého pylu. V práci se diskutuje o možnosti nepřímého působení pylu na schizogonii prostřednictvím sekretu faryngeálních žláz.

pyl; pylové náhražky; nosematóza včel

V současné době je nosematóza nejrozšířenější parazitární onemocnění dospělých včel. S v o b o d a (1970) udává, že je v ČSSR zamořeno prvokem *Nosema apis Z.* 50 % včelstev a ve vrcholném období sezónního výskytu nosematózy lze jen stěží najít včelstva bez spór tohoto parazita.

Doposud nejúčinnějším léčivem, fumagillinem, nemůžeme jen medikamentózní cestou vyloučit onemocnění; proto je nutné hledat zákonitosti rozvoje parazita, jejichž poznáním a využitím bychom trvale omezili jeho vývoj.

Přísně intracelulární způsob života prvoka *Nosema apis Z.* velmi ztěžuje studium jeho bionomie. Proto se většinou jeho požadavky a metabolismus odvozují od metabolismu ostatních protozoí a jen empiricky se hledají prostředky, které by mohly omezit vývojový cyklus parazita a nebyly by toxické pro hostitele.

Při studiu bionomie parazita má důležitou úlohu studium příčin sezónního výskytu onemocnění. Vliv teploty na schizogonii hmyzomorky včelí byl objasněn již před více než třiceti lety (L o t m a r, 1943). Ostatním příčinám, především působení pylu, byla doposud věnována jen malá pozornost, i když je znám přes dvě desetiletí jeho stimulující účinek na

schizogonii parazita (Beutler aj., 1949). Doposud nikdo nesledoval vliv jednodruhových čerstvých i uskladněných pylů a pylových náhražek na vývojový cyklus prvoka *Nosema apis* Z.

Proto cílem této práce bylo zjistit, do jaké výše ovlivňují stupeň nosematózy včelami sebrané jednodruhové pyly a pylové náhražky. Zajímalo nás, zda se se zvyšující koncentrací pylu v krmivu podporuje i množení parazita. Předpokládali jsme, že pyly z jednotlivých druhů rostlin budou i rozdílně působit na schizogonii prvoka *Nosema apis* Z., čímž by se nechala uspokojivě vysvětlit otázka vzestupu nosematózy na jaře a naopak minimální výskyt v podletí, vzdor velkému konzumu pylu v tomto období.

MATERIÁL A METODY

Ke všem pokusům jsem používal včely kraňského plemene z Výzkumného ústavu včelařského v Dole. Ze včelstev jsem odebíral plásty bez včel a pylových zásob, jen se zavíčkovaným plodem. Plásty byly uloženy do termostatu a vyběhlé včely, které neměly přístup k pylu, byly odebírány k pokusům ve stáří 0 až 24 hodiny.

Včely byly chovány v dezinfikovaných klíčkách o rozměrech 8 X 13 X 14 cm. Do jedné klíčky bylo vždy umístěno 100 včel bez matky a plodu. Včely byly od počátku až do konce pokusu krmeny *ad libitum* stejným krmivem předkládaným v krmítku z hliníkové fólie. Po celou dobu pokusu měly včely k dispozici vodu ve skleněných krmítkách.

S každou pokusnou skupinou včel jsem zároveň zakládal i kontrolu, u níž jsem sledoval hynutí včel na zkoušeném krmivu, jejich utracením a vyšetřením zároveň s pokusnými včelami jsem u nich zjišťoval přítomnost spór parazita, abych tak mohl vyloučit nežádoucí invazi včel spórami nosemy ještě na plástu v termostatu.

Včely jsem choval v termostatu při teplotě 30 °C. Abych vyloučil věkovou rezistenci mladých včel, ponechal jsem je čtyři dny v klíčkách a teprve pátý den jsem krmivo odstranil a 100 včelám jsem hromadně podal 3 X 10⁶ spór prvoka *Nosema apis* Z. v 5 ml 50% cukrového roztoku. Tuto jednorázovou invazní dávku jsem podal rovněž v krmítku z hliníkové fólie. Do 16 hodin byl včelami cukrový roztok se spórami spotřebován. V některých případech zůstaly na stěnách krmítka krystalky cukru, proto jsem po této době pro dokonalé přijetí všech spór parazita každé krmítko propláchl 2,5 ml vody. Toto množství bylo do osmi hodin včelami spotřebováno, takže jsem za 24 hodiny od počátku invaze odstranil z klíčky prázdné krmítko z alobalu a nahradil je krmítkem s původním krmivem. Stejným způsobem jsem postupoval u kontrol, u kterých jsem používal jen samotný cukrový roztok. Při invazi jsem postupoval podle metody popsané Furgalou a Maunderem v roce 1961 jen s tím rozdílem, že jsem používal 50% cukrový sirup místo 33% a celkové množství spór jsem podal v 5 ml cukrového sirupu s dodatečným propláchnutím 2,5 ml vody, což se mi při ověřování osvědčilo lépe, než celková dávka 10 ml 33% cukrového roztoku používaná autory.

Spóry nosemy použité v invazi byly hromadně získány pro všechny pokusy rozetřením žaludků uměle invadovaných včel utracených 10 dní

po invazi v době, kdy žaludek obsahuje nejvíce spór parazita (Lotmar, 1939). Získaná suspenze byla přefiltrována přes gázu, centrifugována, supernatant byl odstraněn, sediment byl zředěn vodou a uložen v chladničce při +4 °C, kde si spóry prvoka *Nosema apis* Z. udrží životaschopnost nejméně sedm let (Moffett, Wilson, 1971).

Za sedm dní po invazi, kdy je dokončen vývojový cyklus parazita (Gray aj., 1969), jsem utratil první polovinu včel a za dalších sedm dní zbytek. Déle jsem včely v klíčkách neponechával proto, že v nich po 20. dni od začátku pokusu již začínaly kálet.

Po utracení jsem včelám odstranil zadečky, které jsem zpracovával buď okamžitě, nebo — a to většinou — jsem je pro pozdější zpracování ukládal do chladničky.

Na každý jednotlivý zadeček včely jsem přidal 0,5 ml destilované vody a drtil ho skleněnou tyčkou v kalibrované zkumavce. Po dokonalém rozdrčení zadečku jsem vybral na stěnu zkumavky ze vzniklé suspenze chitin, opláchl ho destilovanou vodou a ze zkumavky odstranil. Vzniklou suspenzi jsem doplnil do 1 ml. U včel utracených dva týdny po invazi jsem pro velké množství spór a zbytky výkalů suspenzi doplnil do 2 ml. Vypreparování jen samotného trávicího traktu včely se mi podobně jako Beutlerové aj. (1949) pro značné porušení stěny žaludku vždy nedařilo, a proto jsem od něho upustil. Množství spór u každé včely jsem počítal v Bürkerově komůrce. Spóry jsem počítal nativní, neobarvené.

Sledovaná bílkovinná krmiva jsem včelám předkládal v těstě, až na pyl uložený v buňkách, který jsem do klíčky vložil ve formě plástového výřezu.

Pyly jsem vždy používal včelami rouskované. Pylové rousky jsem drtil v třecí misce nebo jsem je rozbil v mixeru a teprve takto připravený pyl jsem zapracoval do medocukrového těsta, které jsem hromadně připravil pro všechny pokusy z medu 30 minut povařeného. Do těsta jsem přidával 3 % a 6 % pylu. U řepkového pylu jsem zkoušel 9 % a 12 % koncentraci pylu v krmivu.

Pyl k pokusům jsem používal okamžitě po získání nebo jsem ho před použitím uchovával v mrazicím pultu při teplotě -30 °C. Část rouskovaného řepkového pylu jsem usušil při pokojové teplotě a uložil ho na rok do chladničky. Smíšený pyl byl sušen dva týdny při pokojové teplotě. Jívový pyl byl pak sušen týden v termostatu při 30 °C. Před usušením a po něm byl pyl zvážěn a byla zjištěna ztráta vody, o kterou pak byla snížena navážka pylu k pokusům. Pyl čerstvě uložený v plástu jsem zároveň odebral s rouskovaným pylem od stejných včelstev. Lze tedy předpokládat, že se jednalo o pyl velmi si podobný.

Náhražková bílkovinná krmiva jsem také používal v 3 % a 6 % koncentraci v medocukrovém těstě. Další pylové náhražky, které měly konzistenci těsta, jsem již neupravoval. Ve většině případů jsem pokusy s jednotlivými krmivy dvakrát opakoval.

V pokusech jsem použil i nově vyráběné krmivo Slovenských škrobáren v Trnavě „Arnika“. Krmivo je určeno k jarnímu podnecování včelstev a skládá se z 80 až 85 % cukerného pudru, 5 až 10 % pasteurizovaného medu, 2 až 5 % odtučněného sušeného mléka, 2 až 5 % pekárenského droždí a 5 až 10 % částečně enzymaticky naštěpeného corn-

I. Množství spór prvoka *Nosema apis* Zander zjištěné za týden po invazi

F — tabulkové = 1,51

Po- řadí	Krmivo	Počet pozorování	Průměr*	Směrodatná odchylka	Významné rozdílné průměry — S metoda
1	Čisté glycidy	39	0,01	0,03	12; 13; 14; 15;
2	Těsto se 3 % enzymaticky štěpeného kaseinu	45	0,23	0,42	12; 13; 14; 15;
3	Těsto se 6 % enzymatického kaseinového hydrolyzátu	28	0,02	0,06	12; 13; 15;
4	Těsto se 3 % kaseinu podle Hammarstena	68	0,66	1,05	12; 13; 15;
5	Těsto se 6 % kaseinu podle Hammarstena	41	0,95	1,19	13; 15;
6	Těsto se 3 % čerstvého řepkového pylu	46	0,75	0,79	13; 15;
7	Těsto se 6 % čerstvého řepkového pylu	82	1,30	2,78	13; 15;
8	Těsto s 9 % čerstvého řepkového pylu	43	0,85	1,03	13; 15;
9	Těsto s 12 % čerstvého řepkového pylu	32	0,17	0,19	12; 13; 15;
10	Těsto se 3 % sušeného řepkového pylu	43	0,38	0,69	12; 13; 15;
11	Těsto se 6 % sušeného řepkového pylu	136	0,22	0,53	12; 13; 14; 15;
12	Těsto se 3 % čerstvého jívového pylu	90	2,95	2,81	13;
13	Těsto se 6 % čerstvého jívového pylu	95	5,16	5,55	14;
14	Těsto se 3 % sušeného jívového pylu	88	2,61	2,30	15;
15	Těsto se 6 % sušeného jívového pylu	81	4,89	4,05	
16	Těsto se 3 % smíšeného čerstvého pylu	45	0,11	0,20	12; 13; 14; 15;
17	Těsto se 6 % smíšeného čerstvého pylu	26	0,11	0,29	13; 15;
18	Těsto se 6 % smíšeného sušeného pylu	39	0,27	0,40	12; 13; 15;
19	Těsto se 6 % smíšeného mraženého pylu	31	0,19	0,29	12; 13; 15;
20	Pyl uložený v plástu	43	0,26	0,42	12; 13; 15;
21	7,5% kvasnicové těsto	44	0,57	0,77	13; 15;
22	10% kvasnicové těsto	77	0,78	1,20	12; 13; 15;
23	12,5% kvasnicové těsto	33	0,21	0,65	12; 13; 15;
24	Arnika	103	0,32	0,98	12; 13; 14; 15;
25	3% baktepepton	51	0,30	0,64	12; 13; 14; 15;
26	Těsto se 3 % sušených celých vajec	46	0,11	0,34	12; 13; 14; 15;

* Počet spór na včelu v miliónech

II. Množství spór prvoka *Nosema apis* Zander zjištěné za dva týdny po invazi

F — tabulkové = 1,51

Po- řadí	Krmivo	Počet pozorování	Průměr*	Směrodatná odchylka	Významné rozdílné průměry — S metoda
1	Čisté glycidy	31	0,80	0,94	7;8;9;12;13;14;15;18; 19;20;21;22;23;24;25;
2	Těsto se 3 % enzymatického kaseinového hydrolyzátu	43	12,65	6,51	7; 8; 12; 13; 14; 15; 18; 24; 25;
3	Těsto se 6 % enzymatického kaseinového hydrolyzátu	12	9,29	6,54	7; 8; 12; 13; 14; 15; 18; 25;
4	Těsto se 3 % kaseinu podle Hammarstena	79	15,89	8,93	7;
5	Těsto se 6 % kaseinu podle Hammarstena	68	21,05	9,62	7;
6	Těsto se 3 % čerstvého řepkového pylu	31	12,81	7,20	7; 8; 12; 13; 14; 15; 18; 24; 25;
7	Těsto se 6 % čerstvého řepkového pylu	76	39,51	17,64	10; 11; 13; 15; 16; 26;
8	Těsto s 9 % čerstvého řepkového pylu	37	43,49	13,86	10; 11; 16;
9	Těsto s 12 % čerstvého řepkového pylu	22	34,25	12,68	
10	Těsto se 3 % sušeného řepkového pylu	40	10,91	6,32	12; 13; 14; 15; 18; 22; 24; 25;
11	Těsto se 6 % sušeného řepkového pylu	110	12,45	11,55	12; 13; 14; 15; 18; 22; 24; 25;
12	Těsto se 3 % čerstvého jívového pylu	89	46,38	23,02	16; 22;
13	Těsto se 6 % čerstvého jívového pylu	91	63,07	21,99	16; 20; 22;
14	Těsto se 3 % sušeného jívového pylu	79	52,77	18,98	16; 22;
15	Těsto se 6 % sušeného jívového pylu	66	73,07	19,30	20; 22;
16	Těsto se 3 % smíšeného čerstvého pylu	39	17,05	9,37	18;
17	Těsto se 6 % smíšeného čerstvého pylu	18	15,91	6,70	
18	Těsto se 6 % smíšeného sušeného pylu	44	41,59	14,79	
19	Těsto se 6 % smíšeného mraženého pylu	7	42,09	7,68	
20	Pyl uložený v plástu	22	30,29	17,06	
21	7,5% kvasnicové těsto	33	28,52	10,51	
22	10% kvasnicové těsto	81	29,70	14,86	
23	12,5% kvasnicové těsto	24	31,53	11,44	
24	Arnika	49	37,12	17,51	
25	3% baktopepton	33	43,70	27,34	
26	Těsto se 3 % sušených celých vajec	36	19,69	14,46	

* Počet spór na včelu v miliónech

-steepu. Všechny složky jsou zhomogenizovány do konzistence vláčné pasty.

Získané výsledky jsem seřadil do dvou tabulek a analýzou rozptylu jednoduchého třídění jsem je vyhodnotil, S metodou jsem porovnal účinky každého krmiva na množení prvoka *Nosema apis* Z. se všemi ostatními krmivy. Vztah mezi množstvím spór vzniklých za týden a dva týdny po invazi jsem graficky vyjádřil.

VÝSLEDKY

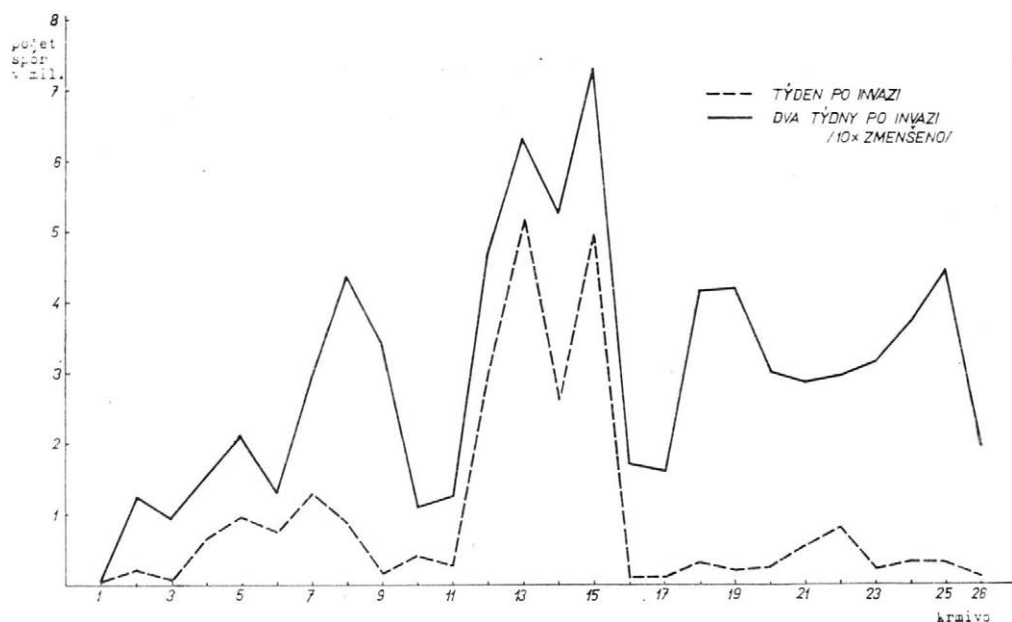
Včely utracené týden po invazi měly nejméně spór parazita — 0,01 miliónu na včelu — v první skupině, krmené jen samotnou glycidovou potravou. Ostatní skupiny včel, kterým byla podávána bílkovinná krmiva v 3 % a 6 % koncentraci (ať již pyl čerstvý a sušený, nebo náhražky pylu), měly mnohem více spór prvoka *Nosema apis* Z., a to až 1,30 miliónu na včelu u skupiny včel krmených těstem se 6 % čerstvého řepkového pylu. Ovšem u všech těchto skupin je zvýšení statisticky nevýznamné. Jediné podstatné a statisticky významné zvýšení počtu spór prvoka *Nosema apis* Z. je u skupin včel krmených jílovým pylem (tab. I).

Skupiny včel krmené těstem se 6 % čerstvého i sušeného jílového pylu se statisticky liší od skupin krmených ostatními krmivy. U včel krmených těstem se 3 % čerstvého i sušeného jílového pylu bylo zvýšení počtu spór statisticky průkazné v porovnání se skupinami včel krmených náhražkami pylu, ale i pylem jiných druhů rostlin. Statisticky průkazně se toto krmivo nelišilo jen od těsta se 6 % kaseinu podle Hammarstena, 7,5 % kvasnicovým těstem, těstem se 3 %, 6 % a 9 % čerstvého řepkového pylu a 6 % smíšeného čerstvého pylu.

Za týden po invazi nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v počtu spór parazita mezi skupinami včel krmenými čerstvým, sušeným a v plástu uloženým smíšeným pylem a taktéž — až na jívový pyl — nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi skupinami včel krmenými pylem ze stejných druhů rostlin, jen s jeho rozdílnou koncentrací. Jedině jívový pyl se vzrůstající koncentrací v krmivu i statisticky významně podporoval rozvoj parazita. Podrobné údaje jsou uvedeny v tab. I.

Až za 14 dní po invazi se podle druhu krmiva zřetelně diferencovalo množství spór u včel. Na rozdíl od včel utracených za týden od invaze se projevíly za druhý týden zřetelnější rozdíly uvnitř skupin s jednodruhovými pyly i pylovými náhražkami. Celkově lze říci, že u jednotlivých skupin zůstal zhruba zachovaný poměr mezi množstvím spór vzniklých za týden a dva týdny po invazi (obr. 1).

U sledovaných krmiv jsem za dva týdny po invazi zjistil, že se statisticky neliší rozdíly v počtu spór prvoka *Nosema apis* Z. u včel krmených samotným glycidovým krmivem (0,80 miliónu spór na včelu) a těstem se 3 % i 6 % kaseinového hydrolyzátu (12,56 a 9,29 mil. spór na včelu), 3 % a 6 % kaseinu podle Hammarstena (15,89 a 21,05), 3 % sušených celých vajec (19,69), ale ani těstem se 3 % čerstvého řepkového pylu (12,81), 3 % i 6 % sušeného řepkového pylu (10,91 a 12,45) a 3 % i 6 % směsí čerstvého pylu (17,05 a 15,91). Statisticky významně na rozvoj hmyzomorky včelí působí těsto se 6 %, 9 % a 12 % čerstvého řepkového pylu (39,51 — 43, 49 — 34,25), všechna krmiva s jívovým pylem



1. Vztah mezi množstvím spór za týden a za dva týdny po invazi

(46,38 – 63,07 – 52,77 – 73,07), těsto se 6 % sušeného a mraženého smíšeného pylu (41,59 – 42,09), pyl uložený v plástech (30,29), všechna kvasnicová těsta (28,52 – 29,70 – 31,53), Arnika (37,12) a 3 % baktepton (43,70).

Po 14 dnech od invaze se již tak mohutně neprojevovalo působení jívového pylu na vývojový cyklus parazita, i když byl nejvyšší počet spór u včel krmených tímto pylem.

U čerstvého řepkového pylu a jívového pylu jsem zjistil, že se počet spór parazita zvyšuje zároveň se vzrůstající koncentrací pylu v krmivu. U řepkového pylu se množství nově vzniklých spór úměrně zvyšuje s jeho koncentrací až do 9 %. Zvýšení z 12,81 miliónu spór na včelu u 3 % těsta a 43,49 miliónu spór na včelu u 9 % těsta je statisticky významné. U těst obsahujících jívový pyl je i po 14 dnech od invaze větší množství spór u skupin včel krmených vyšší koncentrací pylu. Zvýšení je ovšem statisticky neprůkazné.

Řepkový pyl sušený při pokojové teplotě a uložený rok v chladničce podporuje méně množení prvoka *Nosema apis* Z. než pyl čerstvý. Svým vlivem na rozvoj parazita se sušený řepkový pyl neliší od kaseinového hydrolyzátu. Rozdíl mezi 12,45 miliónu spór na včelu u skupiny krmené těstem se 6 % sušeného řepkového pylu a 39,51 miliónu spór na včelu u skupiny krmené těstem se 6 % čerstvého pylu je statisticky průkazný.

Naopak směs pylu sušená jen 14 dní při pokojové teplotě v porovnání s čerstvým pylem nosematózu podporuje a rozdíl je statisticky průkazný. Také jívový pyl sušený v termostatu při 30 °C po dobu sedmi dní zvyšuje u včel proti čerstvému pylu počet spór prvoka *Nosema apis* Z., ovšem zvýšení je statisticky nevýznamné.

Podrobné údaje jsou uvedeny v tab. II.

III. Hynutí včel

Pořadí*	Do týdne po invazi		Do 2 týdnů po invazi	
	pokus	kontrola	pokus	kontrola
1	10	8	18	15
2	4	4	4	10
3	22	35	25	38
4	5	1	9	3
5	1	1	5	3
6	4	5	19	10
7	7	9	12	11
8	7	11	12	11
9	18	13	28	15
10	4	4	6	4
11	25	15	30	15
12	4	2	6	2
13	2	1	4	1
14	5	5	18	17
15	10	3	16	4
16	5	6	9	15
17	24	14	32	19
18	11	9	7	8
19	19	6	43	5
20	7	8	28	23
21	6	1	17	11
22	10	7	10	8
23	16	28	24	40
24	2	2	8	7
25	8	nebyla	12	nebyla
26	4	4	14	13

* Název krmiv je uveden pod stejným pořadím v tab. I a II

V tab. III. je uvedeno hynutí včel způsobené sledovanými krmivy a parazitací prvoka *Nosema apis* Z. Z tab. III. vyplývá, že napadení buněk žaludku parazitem vyvolalo za týden po invazi větší hynutí včel u většiny sledovaných krmiv, ale především u včel krmených těstem se 3 % kaseinu podle Hammarstena, s 12 % čerstvého řepkového pylu, se 6 % sušeného řepkového pylu, se 3 % a 6 % čerstvého jívového pylu, se 6 % sušeného jívového pylu, se 6 % směsi čerstvého i mraženého pylu a 7,5 % kvasnicovým těstem. I po 14 dnech od invaze prvoka *Nosema apis* Z. je vyšší hynutí nemocných včel u stejných krmiv, jako po týdnu od nakažení.

U většiny krmiv je vyšší hynutí nemocných včel zanedbatelné, takže celkový stupeň nosematózy nemůže být zvýšeným hynutím včel podstatně ovlivněn. Výjimkou je jen těsto s 12 % čerstvého řepkového pylu, se 6 % sušeného řepkového pylu a se 6 % směsí čerstvého i mraženého pylu. U skupin včel žijících na těchto krmivech lze předpokládat, že uhynuly nejvíce napadení jedinci, čímž může být zjištěný stupeň onemocnění nižší než ve skutečnosti.

Vyšetřování kontrolních včel bylo negativní. Jen ve třech případech jsem zjistil u kontrolních včel spóry prvoka *Nosema apis* Z. Proto jsem tyto pokusy zrušil a opakoval je se zdravými včelami.

DISKUSE

V pokusech jsem sledoval vliv 26 krmiv na rozvoj prvoka *Nosema apis* Z. Shodně s výsledky práce Beutlerové aj. (1949) jsem prokázal, že pyl v potravě včel podporuje rozvoj parazita *Nosema apis* Z. Ovšem na rozdíl od citovaných autorů jsem nezjistil u včel krmených pylem uloženým v plástech více spór prvoka. Uvedení autoři použili pyl z různých druhů rostlin (volně sebraný pyl z lísky, rouskovaný pyl ze řepky a v plástu uloženou směs pylů), takže rozdílné ovlivnění schizogonie hmyzomorky včelí bylo zřejmě způsobeno jeho nestandardním původem.

Z výsledků pokusů je zřejmé, že jsou významné rozdíly v ovlivnění vývoje parazita mezi pyly z jednotlivých druhů rostlin, ale i mezi stejným pylem, jeho rozdílnou úpravou i koncentrací. Lze tedy předpokládat, že na vývoj prvoka *Nosema apis* Z. bude mít důležitý vliv biologická hodnota pylu, nikoliv jen jeho přítomnost v trávicím traktu včely, která by měla umožnit lepší vymrštění pólového vlákna ze spóry a snažší proniknutí planonta do nitra epitelové buňky.

Ve vlivu bílkovinných pylových náhražek na rozvoj prvoka *Nosema apis* Z. jsem získal odlišné výsledky od výsledků práce Gontarského a Mebsa (1964). Uvedení autoři nezjistili více spór u včel krmených kaseinem podle Hammarstena, peptonem z trypticky štěpeného kaseinu, ani směsí aminokyselin udávaných de Grootem jako esenciální, ve srovnání s čistým glycidovým krmivem. V našich pokusech přijímání kaseinu podle Hammarstena zvýšilo, i když ne statisticky průkazně, počet spór na včelu za 14 dní od invaze na 15,89 miliónu (těsto se 3 % kaseinu podle Hammarstena) a na 21,05 miliónu (těsto se 6 % kaseinu podle Hammarstena) proti 0,80 miliónu spór u včel krmených čistými glycidy. Je zajímavé, že podobné hodnoty jsem získal při krmení včel těstem se 3 % čerstvého řepkového pylu (12,81), se 3 % a 6 % sušeného řepkového pylu i se 3 % a 6 % směsí čerstvého pylu.

Ještě výraznější a statisticky průkazný rozdíl byl při krmení včel 3 % baktopeptonem. Za 14 dní od invaze měly včely krmené glycidy v průměru 0,80 miliónu spór na včelu a skupina včel krmená 3 % baktopeptonem 43,70 miliónu spór. Ovšem po týdnu od invaze nebylo zvýšení spór parazita významné u žádné skupiny pylových náhražek.

Gontarski a Mebs (1964) utratil včely za pět dní po invazi; jak zjistili Gray aj. (1960), není za tuto dobu ještě ukončen vývojový cyklus prvoka *Nosema apis* Z. Ten trvá přibližně sedm dní. Ani Sidorov a Čerkasova (1971) nenašli za pět dní po invazi nově vzniklé

spóry. Zřejmě tento činitel a rozdíl v pokusných včelách se budou značnou měrou podílet na rozdílných výsledcích.

V našich pokusech jsem používal včely staré 0 až 24 hodiny, které neměly přístup k pylovým zásobám. Naopak Gontarski a Mebs (1964) při pokusech s náhražkami pylu používali včely vychycené v úlu. Tyto včely měly zřejmě volný přístup k pylu, a jak zjistili Beutlerová aj. (1949), mají včely krmené pylem, nakažené spórami nosemy a pak krmené jen čistými glycidy více spór parazita, než včely krmené od vylihnutí jen čistými glycidy. Tento činitel může být příčinou poměrně vysokých počtů spór udávaných Gontarskim a Mebem (1964): $7,4 \pm 3,0$ miliónu na včelu za pět dní od invaze u skupiny včel krmených čistými glycidy.

Vliv pylu a jeho náhražek na vývojový cyklus prvoka *Nosema apis* Z. byl sledován dřívějšími autory i námi na zaklíčkových včelách v podmínkách, které se za normální situace ve včelstvu nevyskytují. U včel, které přijímají pyl, se rozvíjejí faryngeální žlázy a sekret, který produkují, nemůže být předáván plodu a samy včely jsou nuceny ho konzumovat. Tento faktor ovšem značně komplikuje vlastní výzkum vlivu čistého pylu i jeho náhražek na rozvoj parazita, a to proto (jak zjistil Ö r ö s i, 1966), že samotný sekret hltanových žláz, přidávaný ke glycidovému krmivu, stimuluje rozvoj prvoka *Nosema apis* Z. Proto v doposud konaných pokusech se kombinoval stimuluji vliv mateří kašičky a pylu na rozvoj parazita. Z dosavadních pokusů také nevyplynulo, zda nemůže být rozvoj prvoka stimulován pylem nepřímo, to znamená, že vlastní složky pylu nepůsobí na schizogonii parazita, ale jen umožní rozvoj faryngeálních žláz, jejichž sekret obsahuje látky, které jsou pro vývoj prvoka *Nosema apis* Z. rozhodující. Tuto druhou možnost podporují výsledky pokusů této práce, z nichž je zřejmé, že čím je jakostnější pyl (jívový), tím více podporuje schizogonii hmyzomorky včelí.

Této teorii nasvědčují i výsledky práce Beutlerové aj. (1949), kteří zjistili, že včely, které nejdříve přijímají pyl a invazi parazita jsou podrobeny až později zároveň se změnou krmiva za výhradně glycidové, mají více spór nosemy, než včely krmené od počátku glycidy. Také známá skutečnost, že včely v podletí konzumují značné množství pylu a nosemové onemocnění se zřídka u nich v tuto dobu vyskytuje, předpokládá i jiné mechanismy, než samotné působení pylu.

Poděkování

Děkuji ing. Z. Havlíčkovi za pomoc při statistickém zpracování výsledků.

Literatura

- BEUTLER, R. — OPFINGER, E. — WAHL, O.: Pollenernährung und Nosemabefall der Honigbiene (*Apis mellifica*). Z. vergl. Physiolog., 32, 1949, s. 383-421.
FURGALA, B. — MAUNDER, M. J.: A simple method of feeding *Nosema apis* inoculum to individual honey bees. Bee World, 42, 1961, č. 10, s. 249-252.
GONTARSKI, H. — MEBS, D.: Eiweißfütterung und Nosemaentwicklung. Z. Bienenforsch., 7, 1964, č. 3, s. 53-62.
GRAY, P. H. — CALI, F. — BRIGGS, J. D.: Intracellular stages in the life cycle of the microsporidian *Nosema apis*. J. Invert. Path., 14, 1969, č. 3, s. 391-394.

LOTMAR, R.: Über den Einfluß der Temperatur auf den Parasiten *Nosema apis*. Beihefte zur Schweiz. Bienenztg., 6, 1943, č. 1, s. 261-284.

MOFFETT, J. O. — WILSON, W. T.: The viability and infectivity of frozen *Nosema* spores. Am. Bee J., 111, 1971, č. 2, s. 55-70.

ÖRÖSI, P.: Die Wirkung des Weiselfuttersaftes auf die *Nosema*-Entwicklung. Z. Bienenforsch., 1969, č. 8, s. 178-180.

SIDOROV, N. G. — ČERKASOVA, A. I.: Vospriimčivost' različnykh porod pčel k nozematózu. Veterinarija, 1971, č. 8, s. 58-60.

SVOBODA, J.: Výzkum účinnosti metod k tlumení nemocí a nákaz včel, ochrana včel. Závěrečná zpráva Výzkumného ústavu včelařského v Dole, 1970, s. 1-20.

Došlo dne 10. 7. 1974

ПЕРОУТКА М. (Научно-исследовательский институт пчеловодства в Доле, Либчице-над-Влт., Чехословакия). Влияние белковой пищи на размножение простейшего *Nosema apis*. Z. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 373-384, 1975.

При подсчете спор простейшего организма *Nosema apis*. Z. в камере Бюркера у 1495 помещенных в клеточки пчел, ликвидированных неделю спустя после инвазии паразита, из 26 образцов разных кормов, были установлены статистически большие различия во влиянии развития простейших только у пыльцы ивы. Различия между отдельными видами кормов были статистически достоверны у ликвидированных пчел только спустя 14 дней после инвазии. У 1260 пчел, как показало исследование, за 14 дней после инвазии по сравнению с глицидным кормом развитие паразита поддерживал корм с 6 %, 9 % и 12 % свежей пыльцы рапса, 3 % и 6 % свежей и сушеной пыльцы ивы, 6 % сушеной и мороженой смеси пыльцы, пыльца, помещенная в медовые соты, 7,5 %, 10 % и 12,5 % дрожжевого теста, Арника и 3 % бактопептона. Даже за 14 дней после инвазии не были установлены достоверные различия во влиянии шизогонии простейших *Nosema apis*. Z. у пчел, кормленных только глицидным кормом, тестом с 3 % и 6 % казеинного гидролизата, 3 % и 6 % казеина по Гаммарстену, 3 % сушеных целых яиц, 3 % свежей пыльцы, рапса и 3 % и 6 % смеси свежей пыльцы. В работе обсуждается возможность косвенного действия пыльцы на шизогонии паразита посредством секрета фарингеальных желез.

пыльца; пыльцевые заменители; носематоз пчел

PEROUTKA M. (Research Institute of Beekeeping, Dol near Libčice n. Vlt., Czechoslovakia). Effect of Proteinous Food on the Multiplication of Protozoon *Nosema apis*. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 373-384, 1975.

By counting the spores of protozoon *Nosema apis* Z. in Bürker's chamber the author was able to find, in 1495 caged bees sacrificed one week after the parasite invasion, from altogether 26 samples of various feeds statistically significant differences of influencing the protozoon development only in willow pollen. The differences between the individual feeds were statistically more significant in bees sacrificed 14 days after the invasion. Examination of 1260 bees 14 days after the invasion demonstrated that, as compared with glycide food, the parasite development was enhanced by a feed consisting of 6, 9, and 12 per cent fresh rape pollen, 3 and 6 per cent of fresh and dried willow pollen, 6 per cent freeze-dried pollen mixture, pollen deposited in honeycombs, 7.5, 10, and 12.5 per cent yeast dough, „Arnika“ and 3 per cent Bacto peptone. Even 14 days after the invasion no statistically significant differences of influencing the schizogony of protozoon *Nosema apis* Z. could be demonstrated in bees fed pure glycide feed, dough with 3 and 6 per cent casein hydrolyzate, 3 and 6 per cent Hammarsten casein, 3 per cent dried whole eggs, 3 per cent rape pollen and 3 and 6 per cent fresh pollen mixtures. In the study the possibility of an indirect effect of pollen on the parasite schizogony through the secrete of the pharyngeal glands is being discussed.

pollen; pollen substitutes; bee nosematosis

PEROUTKA M. (Forschungsinstitut für Bienenzucht, Dol bei Libčice n. Vlt., Tschechoslowakei). *Einfluß der Eiweißernährung auf die Vermehrung der Urtiers Nosema apis* Z. Vet. Med. (Praha) 20 (6) : 373-384, 1975.

Durch das Zählen von Sporen des Urtiers *Nosema apis* Z. in der Bürker-Kammer hat der Autor bei 1495 eingesperrten, mit verschiedenen Eiweißquellen gefütterten und eine Woche nach der Invasion des Parasiten getöteten Bienen aus insgesamt 26 Mustern verschiedener Futter statistisch signifikante Unterschiede der Beeinflussung der Urtierentwicklung nur beim Salweidepollen gefunden. Die Unterschiede unter den einzelnen Futtern zeigten sich als statistisch signifikanter in den erst 14 Tage nach der Invasion getöteten Bienen. Die Untersuchung von 1260 Bienen 14 Tage nach der Invasion bewies, daß — im Vergleich zu dem Glyzidenfutter — ein 6,9 und 12⁰/₀ frischen Rapspollens, 3 und 6⁰/₀ frischen und trocken Salweidepollens, 6⁰/₀ lyophilisierter Pollenmischung, Pollen in Honigwaben, 7,5, 10 und 12,5⁰/₀ Hefeteiges „Arnika“ und 3⁰/₀ Bactopeptons enthaltendes Futter die Parasitenentwicklung förderte. Nicht einmal 14 Tage nach der Invasion konnte man statistisch bedeutsame Unterschiede der Schizogonie-Beeinflussung bei dem Urtier *Nosema apis* Z. bei den, mit reinem Glyzidenfutter, Teig mit 3 und 6⁰/₀ Kaseinhydrolysats, 3 und 6⁰/₀ Kaseins nach Hammersten, 3⁰/₀ getrockneter Volleier, 3⁰/₀ frischen Rapspollens und 3 und 6⁰/₀-iger Frischpollenmischung gefütterten Bienen nachweisen. In der Arbeit werden die Möglichkeiten einer indirekten Wirkung des Pollens auf die Parasitenschizogonie durch das Sekret der pharyngealen Drüsen besprochen.

Pollen; Pollenersatzstoffe; Bienennosematosis

Rukopis odevzdán k tisku 27. 3. 1975 — Podepsáno k tisku 14. 10. 1975

Adresa autora:

MVDr. Miloslav Peroutka, Výzkumný ústav včelařský v Dole, 252 68 p. Libčice nad Vltavou

Sodomková D., Rademacher R., Vaňásek J.: Průkaz glykogenu v leukocytech skotu zdravého a leukózního	315
Kadlec V.: Améby skupiny limax u některých hospodářských a domácích zvířat	321
Štros K., Komárek J., Jadrný L.: Acidobazické hodnoty krve prasete	327
Bartko P., Michna A., Chyla M., Vrzgula L.: Vplyv fyzického zaťaženia na hodnoty indexov acidobázickej homeostázy krvi ošípaných	339
Molnárová B., Sova O.: Štúdium enzymatickej aktivity sérovej cystín-aminopeptidázy človeka a zvierat v závislosti od pH prostredia	347
Kožušníková A., Benda V., Pribáň Z., Zezulák J.: Ověření účinnosti lyofilizované bezbuněčné vakcíny proti Markově nemoci v terénních podmínkách	355
Jiran E., Závora M.: Průkaz protilátek proti vzteklině metodou nepřímé imunofluorescence	363
Peroutka M.: Vliv bílkovinné potravy na množení prvoka <i>Nosema apis</i> Z	373

ОДЕРЖАНИЕ

Содомкова Д., Радемахер Р., Ванясек Я.: Достоверность определения гликогена в лейкоцитах здорового и заболевшего лейкозом крупного рогатого скота	319
Кадлец В.: Амёбы группы лимакс у некоторых сельскохозяйственных и домашних животных	326
Штрос К., Комарек Й., Ядрны Л.: Кислотно-щелочные показатели в крови свиней	336
Бартко П., Михна А., Хила М., Врзгула Л.: Влияние физической нагрузки на значение индексов кислотно-щелочного гомеостаза крови свиней	345
Молнарлова Б., Сова О.: Изучение ферментной активности сывороточной цистинаминопептидазы человека и животных в зависимости от pH среды	352
Кожушников А., Бенда А., Калафа Ш., Прибан К., Зезулак Я.: Тестирование эффективности бесклеточной лиофилизированной вакцины против болезни Марек в полевых условиях	361
Йиран Э., Завора М.: Доказательство антител против бешенства методом косвенной иммунофлуоресценции	370
Пероутка М.: Влияние белковой пищи на размножение простейшего <i>Nosema apis</i> Z	383

CONTENT

Sodomková D., Rademacher R., Vaňásek J.: Glycogen Demonstration in the Leucocytes of Healthy and Leucotic Cattle	319
Kadlec V.: Amoebae of the Limax Group in Some Species of Farm and Domestic Animals	326
Štros K., Komárek J., Jadrný L.: Acid-base Values of Pig Blood	337
Bartko P., Michna A., Chyla M., Vrzgula L.: The Effect of Physical Stress on the Values of the Indexes of the Acid-base Homeostasis of the Blood of Pigs	346
Molnárová B., Sova O.: Study of the Enzymatic Activity of Human and Animal Serum Cystine Aminopeptidase Dependence on the pH of the Medium	352
Kožušníková A., Benda V., Kalafa Š., Pribáň K., Zezulák J.: Testing the Protective Effect of Cell-free Lyophilized Vaccine against Marek's Disease in Field Trials	361
Jiran E., Závora M.: Demonstration of Antibodies against Rabies by the Indirect Immunofluorescence Method	370
Peroutka M.: Effect of Proteinous Food on the Multiplication of Protozoon <i>Nosema apis</i> Z	383

Sodomková D., Rademacher R., Vaňásek J.: Glykogennachweis in Leukozyten des gesunden und leukosen Rindviehs	320
Kadlec V.: Amöben der Gruppe Limax bei einigen Wirtschafts- und Haustieren	326
Štros K., Komárek J., Jadrný L.: Azidobasische Blutwerte beim Schwein	337
Bartko P., Michna A., Chyla M., Vrzgula L.: Einfluß einer physischen Belastung auf die Indexwerte der azidobasischen Homöostase des Schweinebluts	346
Molnárová B., Sova O.: Untersuchungen über die enzymatische Aktivität der Serum-Zystinaminopeptidase des Menschen und der Tiere in Abhängigkeit vom pH-Wert des Milieus	353
Kožušníková A., Benda V., Kalafa Š., Pribáň K., Zezulák J.: Untersuchung der Wirksamkeit der zellfreien lyophilisierten Vakzine gegen Mareksche Krankheit in Feldbeständen	362
Jiran E., Závora M.: Nachweis von Antikörpern gegen Tollwut mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenzmethode	371
Peroutka M.: Einfluß der Eiweißernährung auf die Vermehrung der Urtiers <i>Nosema apis</i> Z.	384

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.