

8/16

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

8

ROČNÍK 20 (XLVIII)
PRAHA
SRPEN 1975
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

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 Václavičková

© 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 обзор-
ы, 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.

POUŽITÍ IMUNOFLUORESCENČNÍ TECHNIKY K RUTINNÍ DIAGNOSTICE STREPTOKOKŮ SKUPINY B

V. Kubín, R. Handl, L. Staroščík, K. Semotán, J. Machovský, J. Franěk

Ústav experimentální medicíny ČSAV, Praha

Státní veterinární ústav, Olomouc

Státní veterinární ústav, Plzeň

Bioveta, Ivanovice na Hané

KUBÍN V., HANDL R., STAROŠČÍK L., SEMOTÁN K., MACHOVSKÝ J., FRANĚK J. Použití imunofluorescenční techniky k rutinní diagnostice streptokoků skupiny B. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 447-454, 1975.

Prověřili jsme použití imunofluorescenční techniky k rutinnímu vyšetřování vzorků mléka na kontaminaci streptokoky skupiny B (*Str. agalactiae*). Konjugáty byly připraveny ze séra králíků imunizovaných polyvalentní vakcínou, obsahující antigeny všech šesti typů *Str. agalactiae*. Nespecifické reakce konjugátů s některými kmeny streptokoků skupiny C byly redukovány jednostupňovou inhibicí vytitrovaným roztokem séra neimunizovaných zdravých králíků, použitým jako ředidlo lyofilizovaných konjugátů. Za předpokladu, že výrobní podnik dodrží kvalitu konjugátů, jsou výsledky imunofluorescenčního vyšetření vzorků mléka na kontaminaci *Str. agalactiae* srovnatelné s výsledky kultivačního postupu. Metodu lze doporučit zejména v závěrečných vyšetřeních ozdravovaných stád s určitou nadějí na odkrytí kultivačně neprokázaných pozitivních krav. Kromě popsanych indikací je imunofluorescence použitelná jako plnohodnotná náhrada kultivačního vyšetření v případech havarijních situací.

skot; mastitida; *Streptococcus agalactiae*; imunofluorescence; diagnostika; princip; metodika

Imunofluorescenční technika je založena na reakci antigenů, většinou korpuskulární povahy, s korespondujícími protilátkami značenými fluorochromy, tj. barvivy s aktivní fotochemickou reakcí, která je stimulována určitou délkou paprsků ultrafialové části spektra.

U každého bakteriálního druhu se složitější antigenní strukturou dochází k imunofluorescenční reakci s jiným typem antigenu podle jeho lokalizace, fyzikální povahy, chemické struktury a řady dalších známých i dosud neobjevených faktorů.

U streptokoků skupiny A reaguje s fluoreskujícími protilátkami skupinová C substance polysacharidové povahy. Naproti tomu streptokoky skupiny B reagují typovou antigenní frakcí. Skupinová substance lokalizovaná ve stěnách streptokoků není schopna u skupiny B s fluoreskujícími protilátkami reagovat.

Imunofluorescenční diagnostika streptokoků skupiny B je proto založena na průkazu typových antigenů. Identifikace některého z typových antigenů – Ia, Ib, II, III (Lancefieldová, 1934, 1938) a R, X (Pattison aj., 1955) dovoluje dedukcí usuzovat na příslušnost kmene ke skupině B pro zcela charakteristickou povahu jmenovaných antigenů pro *Str.*

agalactiae až na drobné a zcela přesně vymezené výjimky (antigen R u jiných skupin streptokoků). Přímé určení skupinového antigenu streptokoků skupiny B fluoreskujícími protilátkami není možné (Kubín aj., 1968).

K diagnostice lze použít monovalentní typové konjugáty; potom je ovšem nutné každý vzorek, respektive kmen, vyšetřovat šestkrát. Tato technika přináší výhody v tom smyslu, že kmen je zařaditelný do skupiny B a kromě toho je současně typově určen. Z praktického hlediska rutinní diagnostiky je tento postup časově zcela neúnosný a zbytečný. Jeho použití by mělo význam ve zvláštních, epizootologicky indikovaných případech, eventuálně v souvislosti s vývojem vakcíny (Lancefieldová, Freimer, 1966, Norcross, Stark, 1969).

Druhá možnost je použití polyvalentního konjugátu obsahujícího partiální zastoupení typů; tento konjugát sice nedává možnost pohotově určit typy, ale ke stanovení diagnózy *Str. agalactiae* stačí pouze jedna barvicí operace.

Ve své práci jsme prověřili v podmínkách rutinní diagnostiky polyvalentní konjugáty připravené Biovetou, Ivanovice na Hané, ve spolupráci s SVÚ Olomouc a dodané jako nultá výrobní šarže v komerčním balení.

MATERIÁL A METODA

Polyvalentní konjugáty byly vyrobeny smícháním vakcín připravených z jednotlivých typových kmenů v určitých poměrech. Smíšená vakcína byla použita k výrobě polyvalentního typového séra. Toto sérum bylo zpracováno obvyklou technikou. Konjugace fluoresceinizothiocyanátem byla provedena v takových poměrech bílkoviny a fluorochromu, které zaručují vysokou intenzitu fluorescence a současně úzkou specifitu pro homologní antigeny.

Konjugáty přesto reagovaly nespecificky s některými kmeny skupiny C, zejména druhu *Str. dysgalactiae*. Podrobnější analýzou se ukázalo, že to jsou kmeny, které mají silnou tendenci reagovat s kontrolním konjugátem, připraveným z normálního séra neimunizovaných králíků. Tyto nespecifické reakce byly spolehlivě odstraněny použitím jednostupňové inhibiční techniky, přičemž jako nativní složka systému bylo zařazeno ředěné sérum normálních zdravých neimunizovaných králíků. Toto sérum bylo ve vytitrovaném zředění dodáno k lyofilizovaným konjugátům jako pufované ředidlo.

Konjugáty v lyofilizovaném stavu, uchovávané v chladnu, mají expirační dobu, kterou lze obecně stanovit v měsících až rocích. Po naředění se nejlépe osvědčilo skladování konjugátů v teplotě 4 °C. Při této teplotě si konjugáty drží svoji aktivitu po dobu 14 až 21 dnů.

TECHNIKA VYŠETŘOVÁNÍ

Vzorky mléka byly odebrány a zaslány do laboratoře konvenčním způsobem. Po 24hodinovém pomnožení v termostatu při teplotě 37 °C byly přeočkovány do bujónu s obsahem 1 % glukózy, eventuálně do bujónu, který netlumí růst streptokoků a který podporuje tvorbu antigenní struktury (Todd, Hewith, 1932, Mitscherlich, 1965).

Při přeočkovávání je výhodné vsunovat a vysunovat kličku po stěnách zkumavky s mlékem a proniknout až ke dnu zkumavky, protože streptokoky skupiny B rostou nejvíce podél stěn zkumavek.

Bujóny byly inkubovány aerobně v teplotě 37 °C po dobu 24 hodiny. Jako výchozí materiál pro přípravu preparátů bylo použito jednak inkubované mléko, jednak bujónová kultura. Preparáty byly připraveny z resuspendovaných sedimentů získaných centrifugací a přímo z bujónové či mléčné kultury. Na sklíčko byly preparáty lokalizovány tak, že středy preparátů byly vzdáleny 10 mm od sebe. Na jedno sklíčko jsme umístili čtyři preparáty v jedné řadě (čtvrtové vzorky jedné krávy), nebo osm preparátů ve dvou řadách (čtvrtové vzorky dvou krav). Při roztírání preparátů jsme použili podloženou šablonu.

Po zaschnutí v pokojové teplotě byly preparáty fixovány v kyvetách čerstvým metylalkoholem 10 až 15 minut. Po ukončení fixace a usušení na vzduchu byly preparáty barveny naředěným konjugátem tak, že na každé políčko preparátu byla kápnuta jedna až dvě kapky konjugátu. Doba expozice ve vlhké komůrce byla 20 až 30 minut v teplotě 37 °C.

Následovalo důkladné opírání mírným proudem fyziologického roztoku, pufovaného na hodnotu pH 7,2, po dobu asi deseti minut a krátké oprání vodou.

Příprava pufovaného fyziologického roztoku:

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$	51,60 g
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 1 \text{ H}_2\text{O}$	7,75 g
NaCl	15,20 g
H_2O dest.	5000,00 ml

Po rozplnění se sterilizuje párou. Bližší podrobnosti o těchto roztocích byly uveřejněny dříve (K u b í n, 1968).

V případě, že nelze preparáty ihned prohlížet, doporučuje se uchovávat je v lednici.

Při mikroskopickém vyhodnocování preparátů jsme používali imerzní objektiv a nefluoreskující imerzní olej za běžného seřízení luminiscenčního mikroskopu. Za nejvhodnější kombinaci excitačních filtrů pokládáme u mikroskopu řady ML následující soustavu: SS — 15 — 2; BS — 8 — 2; S3S — 7 — 2. Jako ochranný filtr používáme filtr označený v revolverovém systému číslem 2.

VÝSLEDKY

SROVNÁNÍ TECHNIK PŘÍPRAVY PREPARÁTŮ

Ke srovnání čtyř postupů přípravy preparátů jsme použili sestavu 100 vzorků. Pomnožení v bujónu bylo co do citlivosti záhytu prakticky srovnatelné s kultivací. Naproti tomu počet pozitivních vzorků prokázaných při přípravě preparátů z inkubovaného mléka byl zřetelně menší.

U preparátů z inkubovaného mléka, a to jak ze sedimentu, tak přímo z mléka, byla zjištěna naprostá shoda výsledků. Po bujónovém pomnožení se šest vzorků shodovalo oběma metodami. U dvou vzorků byly výsledky vyšetření sedimentu a přímým nátěrem rozdílné (tab. I).

I. Různá technika zpracování vzorků mléka pro imunofluorescenční vyšetření

Reakce	Mléko		Bujón		Kultivace
	přímo	sediment	přímo	sediment	
Pozitivní shoda	2	2	6	6	6
Pozitivní neshoda	—	—	1	1	—
Negativní shoda	98	98	92	92	94
Negativní neshoda	—	—	1	1	—
Pozitivní celkem	2	2	7	7	6
Negativní celkem	98	98	93	93	94
Celkem vyšetřeno	100	100	100	100	100

PROVĚŘENÍ IMUNOFLUORESCENČNÍ TECHNIKY V PRAXI

Rutinní použití imunofluorescenční techniky jsme prověřili v sedmi akcích na třech SVÚ (Olomouc, Plzeň, Hradec Králové). Celkem jsme vyšetřili 900 vzorků paralelně fluoreskujícími protilátkami a běžnou kultivační technikou s použitím Edwardsovy půdy a CAMP testu.

Shodné výsledky jsme získali u 825 vzorků, a to u 137 vzorků pozitivních a u 688 vzorků negativních. Kultivačně pozitivních a imunofluorescenčně negativních bylo 28 vzorků a opačně – kultivačně negativních a imunofluorescenčně pozitivních – bylo 47 vzorků. Odlišné výsledky jsme tedy zjistili u 75 vzorků (tab. II).

II. Srovnání kultivačního a imunofluorescenčního vyšetření mléka

SVÚ	Počet akcí	Počet vzorků	Shodné		Odlišné	
			+	—	K + FP—	K— FP+
Olomouc	4	600	84	488	15	13
Hradec Králové	1	100	35	36	11	18
Plzeň	2	200	18	164	2	16
Celkem	7	900	137	688	28	47
			825		75	

K + FP— = kultivačně pozitivní, imunofluorescenčně negativní

K— FP+ = kultivačně negativní, imunofluorescenčně pozitivní

PŘIPOMÍNKY K TECHNICE

Při rozpouštění lyofilizovaných konjugátů je výhodné, i když to není podmínka, nechat konjugát několik minut před použitím při teplotě 4 °C. Tím se lépe rozpouštějí i pomalu rozpustné lyofilizáty.

Fixační účinnost metylalkoholu klesá jeho stárnutím. Proto se nedoporučuje metylalkohol vícekrát opakovaně používat. Destilace metylalkoholu, doporučovaná Albrechtem (1963), se v našich podmínkách ukázala jako zbytečná. Mimo metylalkohol lze použít i jiné fixační prostředky. Podle našich zkušeností se však metylalkohol jeví jako nejvýhodnější.

Podložní sklička čistíme lázni v etylalkoholu s 1 % benzinu; v této lázni sklička před použitím skladujeme libovolnou dobu. Před přípravou preparátů je do sucha otřeme. Preparace sklíček jiným prostředkem je pro popisované účely zcela zbytečná a nepřináší zkvalitnění výsledků. Montáž preparátů do pufrovaného glycerinu je výhodná zejména pro mikrofotografii (Mrenová, Albrecht, 1966). Pro běžné rutinní účely je zatěžující a bezúčelná. Sklička se mohou označovat řadou způsobů. Přípravujeme-li preparáty na podložené šabloně a je-li mezi nimi fixní vzdálenost (např. 1 cm), není nutné je na skličku označovat. Při prohlížení mikroskopem je zastavujeme podle nonia stolku mikroskopu s naprostou přesností. Zcela spolehlivá lokalizace preparátu je zaručena.

Pro zjednodušení práce děláme všechny operace, včetně inkubace a promývání, na sklíčkách trvale lokalizovaných na přenosných sánkovitých podstavečkách.

Během reakční doby je bezpodmínečně nutné zabezpečit, aby preparáty nevysychaly. Toto lze dosáhnout dodržением dvou podmínek: 1. aplikovat na preparát dostatečně velkou kapku konjugátu; 2. vytvořit vhodné mikroklimatické podmínky ve vlhké komoře. Protože je reakční doba poměrně krátká, doporučujeme předebrátí vlhké komory v termostatu. Při vložení preparátů do studené komory nedojde během 30 minut ke vzniku žádané teploty v komoře. Tento faktor je tím důležitější, čím kratší reakční dobu systému používáme a čím vyšší teplotu k reakci požadujeme.

DISKUSE

Aplikace imunofluorescenční metody v rutinní diagnostické praxi předpokládá splnění několika základních požadavků.

Je to především možnost stálého komerčního přístupu ke kvalitním vysoce specifickým konjugátům. Tento požadavek je závislý jednak na možnostech a péči výrobního závodu, jednak na povaze prokazovaného antigenu. Je nesporné, že imunofluorescenční technika není obecným univerzálním diagnostickým prostředkem. Proti některým antigenům, zejména virovým, lze vyrobit kvalitní konjugáty jednodušeji než proti složitým antigenům bakteriálních buněk, zvláště tehdy, jestliže se jednotlivé antigenní složky překrývají či jakýmkoliv způsobem blokují. A to je právě případ streptokoků. Příprava konjugátů proti streptokokům skupiny B je mimořádně náročná, zejména vzhledem k tomu, že imunofluorescenční reakce probíhá v oblasti typových antigenů tvořících pouze nepatrnou část antigenní mozaiky, kterou jsou kmeny streptokoků vybaveny.

Výroba konjugátů jednotlivými rutinními diagnostickými laboratořemi je sice v ojedinělých případech možná, ale v širším měřítku téměř neuskutečnitelná. V souvislosti s nutností komerčně získávat konjugáty vystupuje do popředí ekonomická otázka aplikace metody. Podle předběžných kalkulací se zdá, že by náklady na diagnostiku *Str. agalactiae* fluoreskujícími protilátkami odpovídaly přibližně nákladům na kultivační vyšetření.

Druhým požadavkem při práci s fluoreskujícími protilátkami je kvalitní technické vybavení laboratoře, zejména pokud jde o luminiscenční mikroskop. Tyto mikroskopy bývají většinou používány pro práci v malých zvětšeních, kdy jsou nároky na světelný zdroj menší než při použití

silných imerzních objektivů. To znamená, že při diagnostice *Str. agalactiae* více vynikne potřeba častější výměny výbojek a potřeba zvýšené péče o čistotu a technickou způsobilost mikroskopu.

To jsou bezesporu dva nejdůležitější faktory, ovlivňující výsledky. Přitom je ovšem nutné zdůraznit i nutnost určitého zacvičení laboratorního personálu, včetně posuzujícího veterináře. Při použití hotových a výrobcem vytitrovaných konjugátů jsou nároky na laboratorní operace spojené s přípravou a barvením preparátů zcela nepatrné. Ve srovnání s klasickými kultivačními postupy lze konstatovat, že imunofluorescenční metoda klade poněkud větší požadavky na prohlížečícího. Na druhé straně je tato námaha kompenzována možností okamžitého odečtení konečných výsledků.

Použití inkubovaného mléka bez pomnožení v bujónu by silně zjednodušilo vyšetřovací postup. Podle našich výsledků, v souhlase s údaji Mitscherlichovými (1965), to však není možné, protože záchyt *Str. agalactiae* z takto vyšetřených vzorků je signifikantně menší než ostatními popsanými metodami. Protože jsme pozorovali při tomto vyšetřovacím postupu v zorných polích jinak pozitivních vzorků nefluoreskující nebo zcela nepatrně fluoreskující streptokoky, lze konstatovat, že fluorescence streptokoků skupiny B, pomnožených v mléce vlastního vzorku, je čímsi inhibována. Jednou z reálných možností výkladu tohoto jevu je přítomnost přirozených inhibujících protilátek. Tato otázka bude předmětem naší další experimentální práce.

Pokud jde o zařazení imunofluorescenční metody mezi rutinní diagnostické screeningové postupy, domníváme se, že by patrně nebylo výhodné (zejména z hlediska nároků na prohlížení preparátů) používat této metody pro velké série vzorků. Spíše by bylo vhodné uvážit její použití při závěrečném vyšetření ozdravených stád, nebo naopak v případě potřeby rychlé orientace o zamořené stáji.

Další neméně důležitá možnost použití fluoreskujících protilátek v tomto oboru je určitá stálá a pohotová rezerva pro případ, že dojde k havarijním situacím ohrožujícím použití klasických diagnostických postupů.

Z Á V Ě R

1. Výsledky imunofluorescenčního vyšetření vzorků mléka na kontaminaci streptokoky skupiny B jsou prakticky srovnatelné s výsledky kultivačního vyšetření.

2. Určitá část vzorků je kultivačně pozitivní a imunofluorescenčně negativní a obráceně.

3. Pracnost a laboratorní náročnost imunofluorescenční metody není velká. Ve srovnání s kultivací klade poněkud větší nároky na pracovníka (vysokoškolsky vzdělaného) při posuzování.

4. Do značné míry závisí úspěch imunofluorescenčního vyšetření na kvalitě konjugátů, kterou by měl plně zaručit výrobní podnik, v daném případě Bioveta, Ivanovice na Hané.

5. Po stránce ekonomické nebude použití imunofluorescenční metody zatěžující. Tato otázka ovšem souvisí s konečnou kalkulací ceny za konjugáty výrobním podnikem.

6. Metoda je použitelná k rutinnímu vyšetřování vzorků mléka bez ohledu na jejich původ. Lze ji doporučit zejména v závěrečných vyšetřeních ozdravených stád s určitou nadějí na odkrytí kultivačně neprokázaných pozitivních vylučovatelů streptokoků.

Kromě popsaných indikací je imunofluorescence použitelná jako plnohodnotná náhrada kultivačního vyšetření v případech havarijních situací, které se občas při klasických vyšetřovacích metodách mohou přihodit.

7. Imunofluorescenční vyšetření preparátů přímo z pomnoženého mléka, tj. bez mezikultivace v bujónu, prozatím možné není z teoretických i prakticky ověřených důvodů. Této otázce ještě věnujeme experimentální práci.

Literatura

- ALBRECHT, P.: Vizualizácia antigenov metódou fluorescentných protilátok. Praha 1963.
- KUBÍN, V.: Imunofluorescenční určování streptokoků skupiny B. *Medicina veterinaria*, ÚSVÚ Praha, 1968, s. 84-87.
- KUBÍN, V. — FRANĚK, J. — PROCHÁZKA, O.: Use of fluorescent antibodies for the identification of streptococci. II. Determination of *Streptococcus agalactiae* (group B). *J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immun.*, 12, 1968, s. 315-323.
- LANCIEFIELD, R. C.: A serological differentiation of specific type of bovine haemolytic streptococci (group B). *J. exp. Med.*, 59, 1934, s. 441.
- LANCIEFIELD, R. C.: Two serological types of group B haemolytic streptococci with related, but not identical, type — specific substances. *J. exp. Med.*, 67, 1938, s. 25-40.
- LANCIEFIELD, R. C. — FREIMER, E. H.: Type specific polysaccharide antigens of group B streptococci. *J. Hyg., Camb.*, 64, 1966, s. 161-203.
- MITSCHERLICH, E.: Der bakteriologische Nachweis von *Streptococcus agalactiae* in Milchproben. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 72, 1965, s. 297-302.
- MRENOVÁ, M. — ALBRECHT, P.: Stabilization of fluorescence in preparates treated by the fluorescent antibody technique. *Nature*, 212, 1966, s. 1256-1257.
- NORCROSS, N. L. — STARK, D. M.: Role of immunization in mastitis control. *J. Dairy Sci.*, 52, 1969, s. 714-717.
- PATTISON, I. H. — MATTHEWS, P. R. J. — HOWELL, D. G.: The type classification of group - B streptococci, with special reference to bovine strains apparently lacking in type polysaccharide. *J. Path. Bact.*, 69, 1955, s. 51-60.
- TODD, E. W. — HEWITT, H.: A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. *J. Path. Bact.*, 35, 1932, s. 35.

Došlo dne 6. 8. 1973

КУБИН В., ГАНДЛ Р., СТАРОЩИК Л., СЕМОТАН К., МАХОВСКИ Й., ФРАНЕК Й. (Институт экспериментальной медицины ЧСАН, Прага, Государственный институт ветеринарии, Оломоуц, Государственный институт ветеринарии, Пильзень, Биовета, Ивановице на Гане, Чехословакия). Применение иммунофлуоресцентной техники в рутинной диагностике стрептококков группы В. *Vet. Med. (Praha)* 20 (8) : 447-454, 1975.

Иммунофлуоресцентную технику рутинного исследования молочной пробы проверяли на контаминацию стрептококками группы В (*Str. agalactiae*). Конъюгаты изготавливали из сывороток кроликов, иммунизированных поливалентной вакциной, содержащей антигены всех 6 типов *Str. agalactiae*. Неспецифические реакции конъюгатов с некоторыми штаммами стрептококков гр. В были редуцированы с помощью одноступенчатой ингибиции титровальным раствором сыворотки неиммунизированных здоровых кроликов в качестве разбавителя лиофилизированных конъюгатов. Если производственное предприятие соблюдает качество конъюгатов, то данные иммунофлуоресцентного исследования молочной пробы на контаминацию *Str. agalactiae* можно сравнивать с данными приема культивации. Метод можно рекомендовать, главным обр., для заключительных исследований оздоровленных стад

с определенной надеждой на выявление необнаруженных культивацией положительных ко-
ров. Кроме упомянутых случаев иммунофлюоресценцией можно пользоваться и в качестве
полноценного заменителя культивационного исследования в случае аварийных ситуаций.

крупный рогатый скот; мастит; *Streptococcus agalactiae*; иммунофлюоресценция; диа-
гностика; принцип; методика

KUBÍN V., HANDL R., STAROŠČÍK L., SEMOTÁN K., MACHOVSKÝ J., FRANĚK J. (Institute of Experimental Medicine of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha, State Veterinary Institute, Olomouc, State Veterinary Institute, Plzeň, Bioveta, Ivanovice na Hané, Czechoslovakia). *The Use of the Immunofluorescence Method for the Routine Diagnosis of Group B Streptococci*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 447-454, 1975.

The authors tested the use of the immunofluorescence technique for the routine examination of milk samples for the contamination with group B streptococci (*Str. agalactiae*). The conjugates were prepared from rabbit sera; the rabbits were immunized by a polyvalent vaccine containing the antigens of all six types of *Str. agalactiae*. The non-specific reactions of conjugates with some streptococcus strains of group C were reduced by a single-stage inhibition with a titrated solution of the serum of non-immunized healthy rabbits, used as a diluent of lyophilized conjugates. If the producer enterprise maintains the quality of conjugates, the results of the immunofluorescence examination of milk samples for *Str. agalactiae* contamination are comparable with the results of the cultivation procedure. The method can be recommended mainly for the final examinations of sanitized herds where it may reveal positive cows which were not detected by the cultivation method. Besides the described indications, immunofluorescence can be used as an equal-value method to replace the cultivation procedure in the cases of emergency situations.

cattle; mastitis; *Streptococcus agalactiae*; immunofluorescence; diagnosis; principle; method

KUBÍN V., HANDL R., STAROŠČÍK L., SEMOTÁN K., MACHOVSKÝ J., FRANĚK J. (Institut der experimentellen Medizin der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha; Staatliche Veterinäranstalt, Olomouc; Staatliche Veterinäranstalt, Plzeň; Bioveta, Ivanovice na Hané, Tschechoslowakei). *Benutzung der Immunofluoreszenztechnik zur routinierten Diagnostik von Streptokokken der B Gruppe*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 447-454, 1975.

Wir überprüften die Applikationsmöglichkeit der Immunofluoreszenztechnik bei der routinemäßigen Untersuchung von Milchproben auf die Kontamination mit Streptokokken der B Gruppe (*Str. agalactiae*). Die Konjugate wurden hergestellt aus Seren von mit der Antigene aller sechs *Str. agalactiae*-Typen enthaltenden polyvalenten Vakzine immunisierten Kaninchen. Die nichtspezifischen Reaktionen der Konjugate mit einigen Streptokokkenstämmen der C Gruppe wurden mit einer einstufigen Inhibition mit titrierter Lösung des als Verdünnungsmittel für die lyophilisierten Konjugate benutzten Serums nichtimmunisierter gesunder Kaninchen reduziert. Unter der Voraussetzung der Einhaltung der Qualität der Konjugate seitens des Erzeugerbetriebs sind die Ergebnisse der Immunofluoreszenzuntersuchung der Milchproben auf *Streptococcus agalactiae*-Kontamination mit den Ergebnissen der Kultivierung vergleichbar. Die angeführte Methode kann man insbesondere bei den abschließenden Untersuchungen der gesunden Herden mit einer bestimmte Hoffnung auf Enthüllung von positiven Kühen, die mit Hilfe der Kultivationsmethode nicht ermittelt wurden, empfehlen. Außer den beschriebenen Indikationen ist die Immunofluoreszenzmethode auch als vollwertiger Ersatz der Kultivationsmethode in Fällen einer Havariesituation anwendbar.

Rind; Mastitis; *Streptococcus agalactiae*; Immunofluoreszenz; Diagnostik; Prinzip; Methodik

Adresa autorů:

MUDr. V. Kubín, CSc., MUDr. J. Franěk, CSc., Ústav experimentální medicíny ČSAV, U nemocnice 2, 120 08 Praha 2

MVDr. R. Handl, Státní veterinární ústav, 770 00 Olomouc

MVDr. J. Machovský, Státní veterinární ústav, 300 00 Plzeň

CITLIVOSŤ KMEŇOV *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NA ANTIBIOTIKÁ V SSR ZA R. 1974

B. Havelka

Ústredný štátny veterinárny ústav, Bratislava

HAVELKA B. Citlivosť kmeňov *Streptococcus agalactiae* a *Staphylococcus aureus* na antibiotiká v SSR za r. 1974. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 455-461, 1975.

V r. 1974 sa v štátnych veterinárnych ústavoch v SSR zisťovala citlivosť 4420 kmeňov *Streptococcus agalactiae* a 1056 kmeňov *Staphylococcus aureus* na osem druhov antibiotík. Kmene sa izolovali zo vzoriek mlieka dojníc so zápalom mliečnej žľazy. Z kmeňov *Streptococcus agalactiae* bolo citlivých na ampicilín 100,00 %, erytromycín 99,23 %, oxytetracyklín 98,70 %, bacitracín 93,02 %, chloramfenikol 90,77 %, penicilín 41,97 %, neomycín 12,39 % a streptomycín 9,73 %. Z kmeňov *Staphylococcus aureus* bolo citlivých na chloramfenikol 98,68 %, ampicilín 98,50 %, erytromycín 97,92 %, oxytetracyklín 94,98 %, neomycín 93,85 %, bacitracín 92,67 %, streptomycín 87,50 % a penicilín 46,24 %. V súvislosti s používaním antibiotík pri liečení mastitíd dojníc sa diskutuje o dosiahnutých výsledkoch.

Streptococcus agalactiae; *Staphylococcus aureus*; citlivosť na antibiotiká; mastitidy dojníc

Pri liečení dojníc so zápalom mliečnej žľazy sa vo veľkej miere používajú antibiotiká. U bakteriálnych zárodkov, spôsobujúcich zápal mliečnej žľazy, sa preto zisťuje ich citlivosť na antibiotiká. K tomu sa vo štátnych veterinárnych ústavoch v SSR najčastejšie používajú testovacie disky s penicilínom, streptomycínom, chloramfenikolom, neomycínom a oxytetracyklínom, v menšej miere i rôzne ďalšie antibiotiká.

Z bakteriálnych zárodkov, ktoré sa u nás podieľajú na vzniku mastitíd dojníc, sú to najmä *Streptococcus agalactiae* (*Str. agal.*) a *Staphylococcus aureus* (*St. aureus*) 89,40 % (Havelka, 1975). Zvyšných 10,60 % pripadá na viaceré ďalšie druhy baktérií.

V tejto práci uvádzame prehľad o citlivosti dvoch najčastejších bakteriálnych pôvodcov mastitíd dojníc v SSR — *Str. agal.* a *St. aureus* — najmä na tie antibiotiká, ktoré sa u nás najviac používajú na terapiu zápalov vemena.

MATERIÁL A METÓDY

V r. 1974 sa v Ústrednom štátnom veterinárnom ústave v Bratislave a v štátnych veterinárnych ústavoch v Nitre, Žiline, Zvolene, Košiciach, Prešove a Michalovciach zisťovala citlivosť u 4420 kmeňov *Str. agal.*

a 1056 kmeňov *St. aureus* na antibiotiká. Kmene sa izolovali v bakteriologických oddeleniach uvedených ústavov zo vzoriek mlieka dojnic.

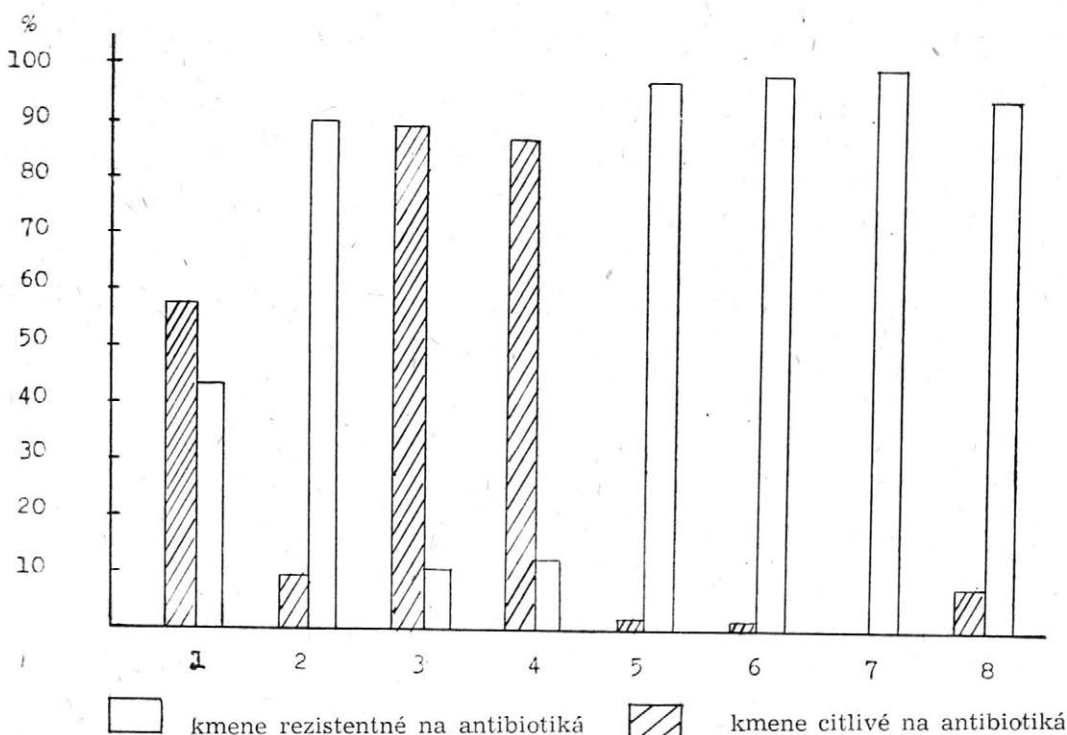
Citlivosť kmeňov na antibiotiká sa určovala platňovým difúznym testom (Laboratórne vyšetровacie metodiky ÚŠVÚ, 1972). Používali sa československé disky (Lachema) s nasledovným obsahom antibiotík: penicilín 10 j., chloramfenikol 30 mcg, streptomycín 30 mcg, neomycín 30 mcg, oxytetracyklín 30 mcg, ampicilín 20 mcg, erytromycín 10 mcg, bacitracín 10 j.

Citlivosť kmeňov na antibiotiká sa hodnotila podľa priemeru inhibičnej zóny, udávanej v mililitroch.

Citlivosť na penicilín, chloramfenikol, streptomycín, neomycín a oxytetracyklín sa zistovala u všetkých kmeňov. Citlivosť na erytromycín sa zistovala u 1551 kmeňov *Str. agal.* a 768 kmeňov *St. aureus*, na ampicilín u 1003 kmeňov *Str. agal.* a 266 kmeňov *St. aureus* a na bacitracín u 2134 kmeňov *Str. agal.* a 327 kmeňov *St. aureus*.

VÝSLEDKY

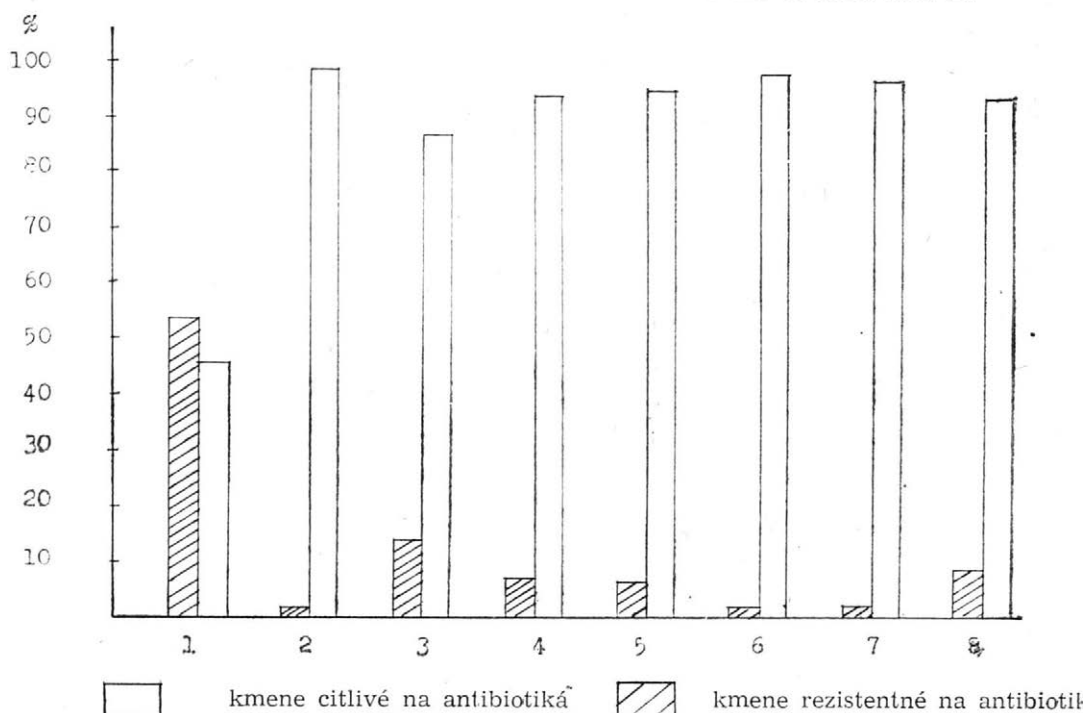
Určenie citlivosti kmeňov *Str. agal.* na antibiotiká uvádza obr. 1.



1. Citlivosť kmeňov *Streptococcus agalactiae* na antibiotiká

1 — penicilín, 2 — chloramfenikol, 3 — streptomycín, 4 — neomycín, 5 — oxytetracyklín, 6 — erytromycín, 7 — ampicilín, 8 — bacitracín

Určenie citlivosti kmeňov *St. aureus* na antibiotiká uvádza obr. 2.



2. Citlivosť kmeňov *Staphylococcus aureus* na antibiotiká

1 — penicilín, 2 — chloramfenikol, 3 — streptomycín, 4 — neomycín, 5 — oxytetracyklín, 6 — erytromycín, 7 — ampicilín, 8 — bacitracín

Na určenie citlivosti sa vybrali štyri antibiotiká so stredným spektrom účinku (penicilín, streptomycín, erytromycín a bacitracín) a štyri antibiotiká so širokým spektrom účinku.

V zásade je spektrum účinku vybraných antibiotík nasledovné:
 penicilín a erytromycín — grampozitívne a niektoré gramnegatívne baktérie;
 chloramfenikol a oxytetracyklín — grampozitívne i gramnegatívne baktérie;
 streptomycín — gramnegatívne baktérie, slabšie aj na grampozitívne;
 neomycín — gramnegatívne baktérie, stafykokoky, menej streptokoky;
 ampicilín — gramnegatívne baktérie a mnohé grampozitívne baktérie;
 bacitracín — grampozitívne baktérie a neisérie.

DISKUSIA

V súčasnosti sa u nás dojnice s mastitídami liečia väčšinou v laktačnom období, v menšom počte prípadov počas státia nasucho. Podľa Koubu (1975) v ČSR v prvom polroku 1974 sa liečilo 22,02 % dojníc

so zápalom vemena v laktácii a 7,55 dojníc počas státia nasucho. V niektorých štátoch všetky dojnice v chove preventívne ošetrujú antibiotikami, alebo všetky dojnice s mastitídami liečia práve v období státia nasucho (Dodd a Jackson, 1971, Schalm a i., 1971, Gedek, 1972 a i.).

Až na ojedinelé prípady sa u nás k liečeniu používajú liečivá tuzemské.

Pri bakteriologickom vyšetrovaní vzoriek mlieka sa u nás citlivosť na antibiotiká zisťuje takmer u všetkých izolovaných kmeňov bakteriálnych zárodkov spôsobujúcich zápal mliečnej žľazy. V zásade sa vo všetkých ústavoch pritom používa jednotná metodika.

Stafylokoky rezistentné na penicilín strácajú s pomerne vysokou frekvenciou schopnosť produkovať enzým penicilinázu, ktorá inaktivuje penicilín. Preto je rezistencia stafylokokov na penicilín nestabilná (Krčmery a i., 1974). Stafylokoky sa v tejto práci zo známych dôvodov nerozlišovali na penicilináza negatívne a pozitívne, na čo treba brať zreteľ pri posudzovaní výsledkov určovania ich citlivosti.

Obvykle len dojnice s akútnymi mastitídami sa antibiotikami liečia okamžite, bez zisťovania citlivosti ich pôvodcov. Akútnych mastitíd je však podstatne menej ako ostatných foriem zápalu vemena, ktoré sa majú antibiotikami liečiť až po zistení citlivosti ich bakteriálnych pôvodcov. Tak podľa Kouba (1975) z 1 194 815 dojníc v socialistickom sektore v ČSR pripadlo 24,85 % dojníc so zápalom mliečnej žľazy, alebo s prostým nálezom zárodkov v mlieku. Dojníc s akútnym zápalom mliečnej žľazy sa zistilo 50 526 (4,22 %), s chronickým zápalom 53 526 (4,48 %), s prostým nálezom zárodkov v mlieku 38 252 (3,20 %) a zvyšok pripadal na dojnice so skrytým zápalom vemena.

Pri sledovaní etiológie mastitíd dojníc v SSR za r. 1967 až 1971 pripadlo zo všetkých bakteriálnych pôvodcov zápalov vemena viac ako 90 % na *Str. agal.* a *St. aureus* (Havelka, 1973). Tieto dva druhy bakteriálnych zárodkov tvorili prevažnú časť pôvodcov mastitíd i v ČSR (Král a i., 1973, Kouba, 1975). Podľa Wilsona (1971) sú streptokoky a stafylokoky zodpovedné za 95 % infekcií u subklinických mastitíd. Preto treba z hľadiska zisťovania citlivosti bakteriálnych pôvodcov mastitíd na antibiotiká týmto dvom druhom venovať najväčšiu pozornosť.

K liečeniu dojníc so zápalom mliečnej žľazy sa u nás najčastejšie používajú antibiotiká a z nich najmä penicilín, streptomycín, neomycín, chloramfenikol a oxytetracyklín v rôznych liekových formách, jednotlivo i v kombináciách (Ševčík a i., 1969, Reichel a i., 1973). Preto sa kmene testovali predovšetkým na tieto antibiotiká.

Poradie antibiotík, na ktoré bolo najviac testovaných kmeňov *Str. agal.* citlivých, je nasledovné:

1. ampicilín – 100 % kmeňov; 2. erytromycín – 99,23 % kmeňov; 3. oxytetracyklín – 98,70 % kmeňov; 4. bacitracín – 93,02 % kmeňov; 5. chloramfenikol – 90,77 % kmeňov; 6. penicilín – 41,97 % kmeňov; 7. neomycín – 12,39 % kmeňov; 8. streptomycín – 9,73 % kmeňov.

Z piatich antibiotík najčastejšie používaných k liečbe dojníc s mastitídami bolo najviac kmeňov citlivých na oxytetracyklín a chloramfenikol. Skutočnosť, že najviac kmeňov bolo rezistentných na penicilín, neomycín a streptomycín, sa javí nepriaznivo z hľadiska ich liečebného efektu. Podľa

Patočku a i. (1970) sú streptokoky na antibiotiká dobre citlivé. Na ďalšie štyri antibiotiká bolo citlivých 75,65 až 100,0 % testovaných kmeňov *Str. agal*.

Poradie antibiotík, na ktoré bolo najviac testovaných kmeňov *St. aureus* citlivých, je nasledovné:

1. chloramfenikol – 98,68 % kmeňov;
2. ampicilín – 98,50 % kmeňov;
3. erytromycín – 97,92 % kmeňov;
4. oxytetracyklín – 94,98 % kmeňov;
5. neomycín – 93,85 % kmeňov;
6. bacitracín – 92,67 % kmeňov;
7. streptomycín – 87,50 % kmeňov;
8. penicilín – 46,24 % kmeňov.

Pri porovnaní s citlivosťou kmeňov *Str. agal*. sa poradie antibiotík u kmeňov *St. aureus* podstatne zmenilo. Okrem penicilínu bolo 79,54 až 98,68 % kmeňov *St. aureus* citlivých na všetky ostatné antibiotiká. Podľa Patočku a i. (1970) stafylokoky sú primárne citlivé na väčšinu antibiotík. V dôsledku masívneho používania antibiotík sa zvyšuje počet kmeňov rezistentných. Vo výskyte rezistentných kmeňov sa vyskytujú regionálne rozdiely.

Podľa Krčméryho a i. (1974) patria stafylokoky – v súvislosti s ich rezistenciou proti antibiotikám – k vôbec najvariabilnejším mikroorganizmom. Je to nesporne spôsobené bohatosťou ich antigénnej skladby a enzymatického vybavenia. Veľká prispôbovivosť stafylokokovej bunky ku zmenám vonkajšieho prostredia, a teda i vplyvu antibiotík spôsobuje, že u *St. aureus* býva výskyt jednotlivých typov rezistencie veľmi rozmanitý. Stafylokoky majú mimoriadnu schopnosť adaptovať sa na antibiotiká pomocou fenoménu rezistencie s dedičnou kontinuitou. Napr. stafylokoky rezistentné na penicilín strácajú s pomerne vysokou frekvenciou schopnosť produkovať penicilinázu a spätná mutácia sa u nich už nevyskytuje.

Prešetrované kmene *St. aureus* vykazovali v celkovom priemere vyššiu percentuálnu citlivosť na antibiotiká ako kmene *Str. agalactiae*.

Na zisťovanie citlivosti streptokokov a stafylokokov, izolovaných z mlieka dojníc s mastitidami, na antibiotiká sa zamerali i Afanasjev a Mozigis (1970). Kmene preukázali nasledovnú citlivosť k antibiotikám:

patogénne streptokoky – erytromycín 71,61 %, neomycín 67,38 %, penicilín 45,99 %, levomycetín 25,67 %, tetracyklín 16,04 %, streptomycín 10,70 % kmeňov;

patogénne stafylokoky – erytromycín 64,54 %, neomycín 65,17 %, penicilín 39,33 %, levomycetín 35,90 %, tetracyklín 14,61 %, streptomycín 8,99 % kmeňov. Citlivosť týchto kmeňov na niektoré antibiotiká bola podobná, na iné odlišná od citlivosti našich kmeňov.

V tejto práci predkladame výsledky určovania citlivosti kmeňov *Str. agal*. a *St. aureus* na osem druhov antibiotík, zistené v r. 1974 na štátnych veterinárnych ústavoch v SSR. Výsledky môžu poskytnúť podkladový materiál aj za účelom zamerania vývoja a výroby rôznych liekových foriem antibiotík na liečenie mastitíd dojníc u nás.

Podakovanie: Autor ďakuje pracovníkom bakteriologických oddelení ŠVÚ v Nitre, Zvolene, Žiline, Košiciach, Prešove a Michalovciach za podkladový materiál.

Literatúra

- AFANASEV, I. — MOZGIS, V.: Čuvstvitelnosť patogennej mikroflóry mastitov korov k antibiotikám. TLGA, Elgava, 30, 1970, s. 210-215.
- DODD, F. H. — JACKSON, E. R.: The control of bovine mastitis. NIRD, Shinfield 1971.
- GEDEK, W.: Die Staphylokokken — Mastitis bei Haustieren. Jena, VEB G. Fischer Verlag 1972.
- HAVELKA, B.: Etiológia mastitíd hovädzieho dobytku na Slovensku za r. 1967—1971. Vet. Med. (Praha), 18, 1973, č. 3, s. 135-138.
- HAVELKA, B.: Etiológia mastitíd dojnic na Slovensku za r. 1972—1974. Vet. Med. (Praha) 20, 1975, č. 8, s. 477-481.
- KOUBA, V.: Situace v mastitidách dojnic v ČSR. Veterinářství, 25, 1975, č. 2, s. 53-56.
- KRČMĚRY, V. — VÝMOLA, F. — VACEK, V.: Rezistencia na antibiotiká v teórii a klinickej praxi. Bratislava, Osveta 1974.
- PATOČKA, F. aj.: Lékařská mikrobiologie. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1970.
- REICHEL, F. — ŠEVČÍK, B. — ŠEVČÍKOVÁ, E. — STRAKOVÁ, J.: Uplatnění péňových přípravků v tlakových obalech při léčbě mastitid. Vet. Med. (Praha), 18, 1973, č. 3, s. 145-152.
- SCHALM, O. W. — CARROLL, E. J. — JAIN, N. C.: Bovine mastitis. Philadelphia, Lea and Febiger 1971.
- ŠEVČÍK, B. — DVORÁK, M. — PLÍŠEK, K.: Pomoc farmaceutického průmyslu při omezování mastitid skotu. Veterinářství, 19, 1969, č. 2, s. 88-90.
- WILSON, C. D.: Mastitis control. Agriculture, 18, 1971, s. 208-214.
- , —: Laboratorní vyšetřovací metody. USVÚ, Praha 1972.

Došlo dne 7. 3. 1975

ГАВЕЛКА Б. (Центральный государственный институт ветеринарии, Братислава, Чехословакия). Чувствительность *Streptococcus agalactiae* и *Staphylococcus aureus* к антибиотикам в СССР за 1974 г. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 455-461, 1975.

В 1974 г. в Государственных институтах ветеринарии СССР определяли чувствительность 4420 штаммов *Str. agalactiae* и 1056 штаммов *St. aureus* к 8 видам антибиотиков. Штаммы изолировали из молочных проб коров, страдающих от воспаления молочной железы. Из штаммов *Str. agalactiae* чувствительны к ампицину 100,00 %, к эритромицину 99,23 %, к окситетрациклину 98,70 %, к бацитрацину 93,02 %, к хлорамфениколу 90,77 %, к пенициллину 41,97 %, к неомицину 12,39 %, к стрептомицину 9,73 %. Из штаммов *St. aureus* чувствительны к хлорамфениколу 98,68 %, к ампицину 98,50 %, к эритромицину 97,92 %, к окситетрациклину 94,98 %, к неомицину 93,85 %, к бацитрацину 92,67 %, к стрептомицину 87,50 %, к пенициллину 46,24 %. В связи с использованием антибиотиков в лечении маститов обсуждаются эти данные.

Streptococcus agalactiae; *Staphylococcus aureus*; чувствительность к антибиотикам; маститы коров

HAVELKA B. (Central State Veterinary Institute, Bratislava, Czechoslovakia). The Sensitivity of *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus* to Antibiotics in the Slovak Socialist Republic in 1974. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 455-461, 1975.

In 1974, the State Veterinary institutes in the Slovak Socialist Republic studied the sensitivity of 4420 strains of *Streptococcus agalactiae* and 1056 strains of *Staphylococcus aureus* to eight antibiotics. The strains were isolated from milk samples obtained from dairy cows suffering from mastitis. 100 per cent of the strains of *Streptococcus agalactiae* was sensitive to ampicillin, 99.23 % to erythromycin, 98.70 % to oxytetracycline, 93.02 % to bacitracin, 90.77 % to chloramphenicol, 41.97 % to penicillin, 12.39 % to neomycin, 9.73 % to streptomycin. As to the strains of *Staphylococcus aureus*, 98.68 were sensitive to chloramphenicol, 98.50 % to ampicillin, 97.92 % to erythromycin, 94.98 % to oxytetracycline, 93.85 % to neomycin, 92.67 % to bacitracin, 87.50 % to streptomycin, and 46.24 % to penicillin. The results are discussed in relation to the use of antibiotics in the treatment of mastitis in dairy cows.

Streptococcus agalactiae; *Staphylococcus aureus*; sensitivity to antibiotics; mastitis in dairy cows

HAVELKA B. (Zentralveterinärinstitut, Bratislava, Tschechoslowakei). *Sensibilität des Streptococcus agalactiae und des Staphylococcus aureus gegen Antibiotika in der SSR im Jahre 1974*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 455-461, 1975.

Im Jahre 1974 wurde in den staatlichen Veterinäranstalten der Slowakischen sozialistischen Republik die Sensibilität von 4420 *Streptococcus-agalactiae*-Stämmen und 1056 *Staphylococcus-aureus*-Stämmen gegen acht Antibiotika-Arten ermittelt. Die Stämme wurden aus Milchproben von an Milchdrüsenentzündung erkrankten Kühen isoliert. Von den *Streptococcus-agalactiae*-Stämmen waren empfindlich auf Ampizillin 100,00 %, auf Erythromycin 99,23 %, auf Oxytetracyclin 98,70 %, auf Bazitrazin 93,02 %, auf Chloramphenicol 90,77 %, auf Penizillin 41,97 %, auf Neomycin 12,39 % und auf Streptomycin 9,73 %. Von den *Staphylococcus-aureus*-Stämmen waren empfindlich auf Chloramphenicol 98,68 %, auf Ampizillin 98,50 %, auf Erythromycin 97,92 %, auf Oxytetracyclin 94,98 %, auf Neomycin 93,85 %, auf Bazitrazin 92,67 %, auf Streptomycin 87,50 % und auf Penizillin 46,24 %. Im Zusammenhang mit der Problematik der Benutzung von Antibiotika bei der Mastitistherapie von Milchkühen werden die erreichten Resultate erörtert.

Streptococcus agalactiae; Staphylococcus aureus; Sensibilität gegen Antibiotika; Mastitiden bei Milchkühen

Adresa autora:

MVDr. B. Havelka, CSc., Ústredný štátny veterinárny ústav, Pri Botanickej záhrade 3, 800 00 Bratislava

Upozorňujeme čtenáře, že v publikaci Studijní informace ÚVTI, ročník 1975, řada Základní vědy v zemědělství, vychází práce ing. J. Kolského

METODY STANOVENÍ KOEFICIENTŮ DĚDIVOSTI U HOSPODÁŘSKÝCH ZVÍŘAT

Nejdůležitějším genetickým parametrem populace je koeficient dědivosti, který má klíčový význam pro techniku selekce. Publikace podává přehled matematicko-statistických metod používaných k jeho odhadu a má sloužit jako praktická pomůcka pro širokou odbornou veřejnost.

První část se zabývá obecnými otázkami a významem koeficientu dědivosti pro plemenářskou práci, druhá část uvádí přehled jednotlivých metod odhadu. Protože existuje mnoho metod odhadu koeficientu dědivosti, byly do publikace zahrnuty pouze nejdůležitější a nejpoužívanější postupy. V závěru je uveden přehled hodnot koeficientů dědivosti znaků u jednotlivých druhů zvířat.

Publikace METODY STANOVENÍ KOEFICIENTU DĚDIVOSTI U HOSPODÁŘSKÝCH ZVÍŘAT lze objednat v odbytovém oddělení Ústavu vědeckotechnických informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena 17,— Kčs.

VLIV NĚKTERÝCH FAKTORŮ NA ELEKTRICKOU VODIVOST SMĚSNÉHO MLÉKA

V. Renda, D. Ryšánek, O. Matoušková

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

RENDÁ V., RYŠÁNEK D., MATOUŠKOVÁ O. *Vliv některých faktorů na elektrickou vodivost směsného mléka*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 463-469, 1975.

Byla zhodnocena metoda stanovení elektrické vodivosti vykupovaného mléka k hygienickému posouzení jeho kvality a k hromadné diagnostice zánětlivých onemocnění mléčné žlázy dojníc. Koeficient variability duplikátů se pohyboval v rozmezí 1,37 až 3,09 %. Při sledování závislosti měření elektrické vodivosti mléka na jeho teplotě bylo zjištěno, že existuje statisticky vysoce průkazná pozitivní korelace mezi oběma veličinami. V rozmezí 30 až 35 °C se korelační koeficienty pohybovaly od 0,951 do 0,996. Během pětihodinové inkubace vzorků při teplotě 25 °C byla dále sledována interference způsobená kyselostí mléka. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn od třetí hodiny inkubace ($P < 0,05$) a statisticky vysoce významný rozdíl od čtvrté hodiny inkubace ($P < 0,01$). Při posuzování diagnostické hodnoty metody měření elektrické vodivosti vykupovaného mléka byla zjištěna pozitivní korelace k obsahu chloridových iontů ($r = 0,69$) a k počtu buněčných elementů mléka ($r = 0,33$).

mastitida; obsah buněk; chloridy; kyselost; teplota

Vedle změn v obsahu buněčných elementů mléka jsou dalším významným diagnostickým prostředkem zánětlivých onemocnění mléčné žlázy změny iontového složení mléka, jak vyplývá z prací Tolleho (1969), Linzella a Peakera (1972), Ingra aj. (1973) a dalších autorů. Je známo, že již v iniciálním stadiu zánětlivého onemocnění mléčné žlázy nastává primárně pokles hladiny laktózy a iontů kalia. Vzhledem k tomu, že je laktóza osmoticky aktivní, dochází k narušení osmotické stability mléka, která se obnovuje zvýšením koncentrace sodíkových a chloridových iontů. Se změnou iontového složení mléka souvisí sekundárně i změna jeho elektrické vodivosti.

Využití měření elektrické vodivosti mléka při stanovení diagnózy mastitid mělo různě velký úspěch. Dobrou diagnostickou hodnotu přisuzovali této metodě McCulloch (1940) a Malcolm aj. (1942). Z hodnocení Jonese (1949) vyplynulo, že uvedená metoda není ve vyhovujícím souladu s obsahem somatických buněk mléka. Autor však upozornil na skutečnost, že vyšetřované vzorky mléka byly před analýzou skladovány při pokojové teplotě po dobu 24 až 48 hodin. Pinkerton a Peters (1958) zjistili u vzorků mléka, které byly odebrány ze

čtvrtí mléčné žlázy se zánětlivou reakcí, hodnoty elektrické vodivosti od 5,95 do 6,86 mho na 1 cm. Někteří autoři, jako např. Postle a Blobel (1965), Little aj. (1968), Knabe (1968), Wolfe aj. (1972) posoudili diagnostickou hodnotu této metody korelací k obsahu somatických buněk mléka, jiní k obsahu tuku mléka (Roy aj., 1972) a k obsahu chloridových iontů mléka (Mukařovský a Novák, 1972).

Hodnoty elektrické vodivosti jednotlivých čtvrtí mléčné žlázy jedné dojnice porovnali další autoři, např. Davis (1947). Linzell a Peaker (1972) zavádějí tzv. kvocient RMQ ke srovnání hodnot elektrické vodivosti čtvrtkových vzorků jedné dojnice. Poměrnou elektrickou vodivost u jedné dojnice vyhodnocuje Wolfe aj. (1972) porovnáním elektrické vodivosti čtvrtí s nejnižší hodnotou se všemi zbývajících. Na tomto principu sestrojili Quayle a Greatrix (1973) přístroj pro detekci patologicky změněného mléka během dojení.

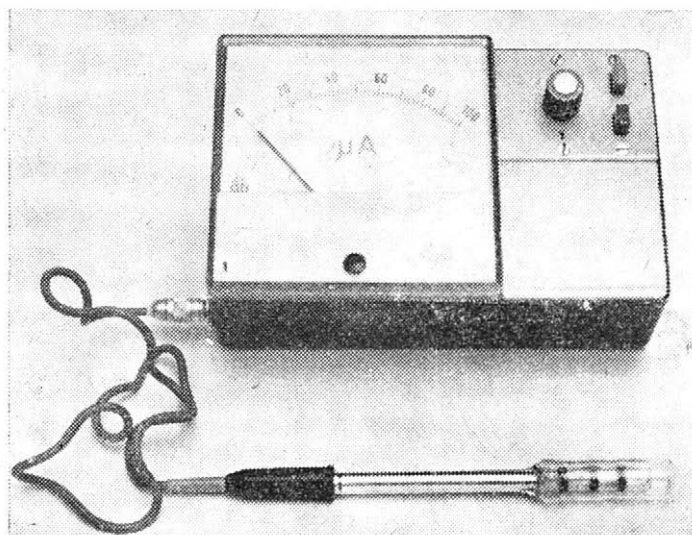
Z literárního přehledu je zřejmé, že se jednotliví autoři nezaměřili na vliv hlavních činitelů, kteří mohou podstatně interferovat hodnoty elektrické vodivosti mléka.

Cílem naší práce bylo zhodnotit metodu stanovení elektrické vodivosti u vykupovaného mléka pro hygienické posouzení jeho kvality a možnosti využití této metody k orientační epizootologické despitaži. Zaměřili jsme se zvláště na reprodukovatelnost metody a na hlavní interferující činitele.

MATERIÁL A METODY

K analýzám jsme použili vzorky odebrané z chladicích nádrží v mléčnicích bezprostředně před svozem mléka. Vzorky jsme laboratorně zpracovali do čtyř hodin po odběru. Jejich teplota se pohybovala v rozmezí 7 až 12 °C.

Laboratorní vyšetření mléka zahrnovalo vedle měření elektrické vodivosti stanovení obsahu chloridů merkurimetrickou metodou podle Voťka (1956), stanovení počtu buněčných elementů mléka přímou



1. Tranzistorový konduktometr (EL-test) podle Mukařovského a Nováka

mikroskopickou metodou a principem vyhodnocení podle Prescottta a Breeda (1910) a způsobem fixace a barvení podle Newboulda a Phippse (1967) a stanovení titrační kyselosti podle ČSN 57 0530. Elektrickou vodivost mléka jsme měřili tranzistorovým konduktometrem (EL-test), navrženým Mukařovským a Novákem v roce 1972 (obr. 1).

Vyšetřované vzorky jsme nejdříve temperovali na 35 °C. Po jejich promíchání jsme přistoupili k vlastnímu měření, po kterém jsme elektrodu dokonale opláchli destilovanou vodou, ohřátou na stejnou teplotu jako vzorky mléka a osušili.

Celkem jsme vyšetřili 305 směsných vzorků.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Reprodukovatelnost metody stanovení elektrické vodivosti jsme zjistili na základě vyšetření šesti vzorků (tab. I). Koeficient variability duplikátů se pohyboval v rozmezí 1,37 až 3,09 %, což svědčí o dobré reprodukovatelnosti metody.

I. Reprodukovatelnost metody stanovení elektrické vodivosti směsného mléka

$\bar{x}$	s	v %
31,83	0,9828	3,09
34,0	0,6325	1,86
42,83	1,1688	2,73
42,33	0,8161	1,93
51,83	0,7523	1,45
54,83	0,7523	1,37

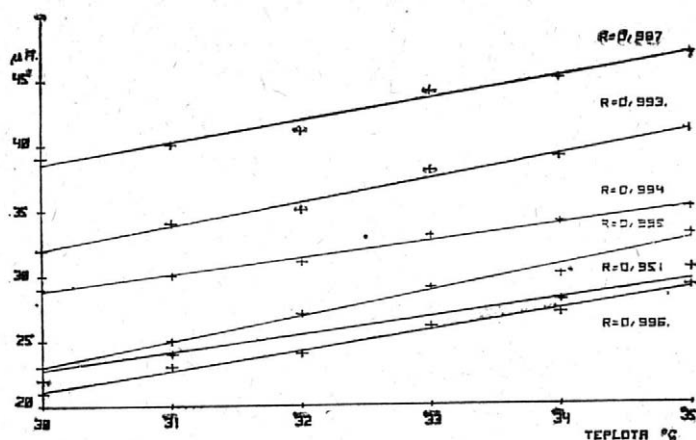
Závislost měření elektrické vodivosti mléka na jeho teplotě jsme studovali na šesti různých vzorcích v rozmezí 30 až 35 °C. Dosažené výsledky dokumentuje obr. 2, ze kterého je zřejmé, že existuje statisticky velmi průkazná pozitivní korelace mezi oběma veličinami. Korelační koeficienty se pohybovaly v rozmezí 0,951 až 0,996. Ze směrnice regresních přímek vyplývá, že již změna teploty mléka o 1 °C znamená změnu hodnoty elektrické vodivosti o 1,26 až 1,92 μA , což představuje 3,6 až 5,9 %.

Z uvedené analýzy vyplývá, že pro vyloučení této významné interference je třeba doporučit buď zavedení teplotní kompenzace konstrukcí přístroje, nebo stanovením korekčních

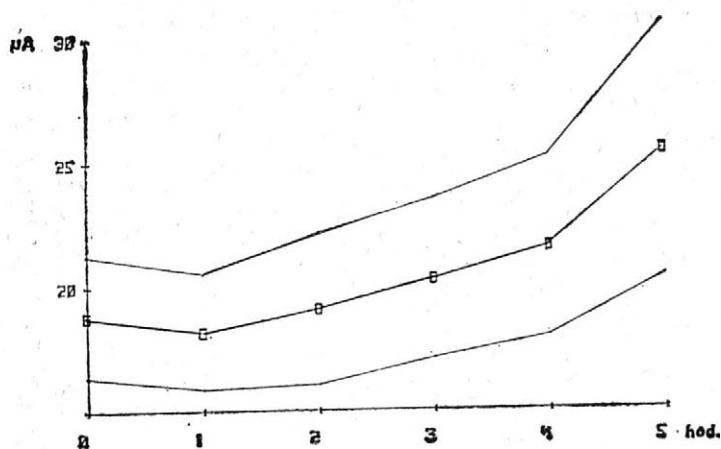
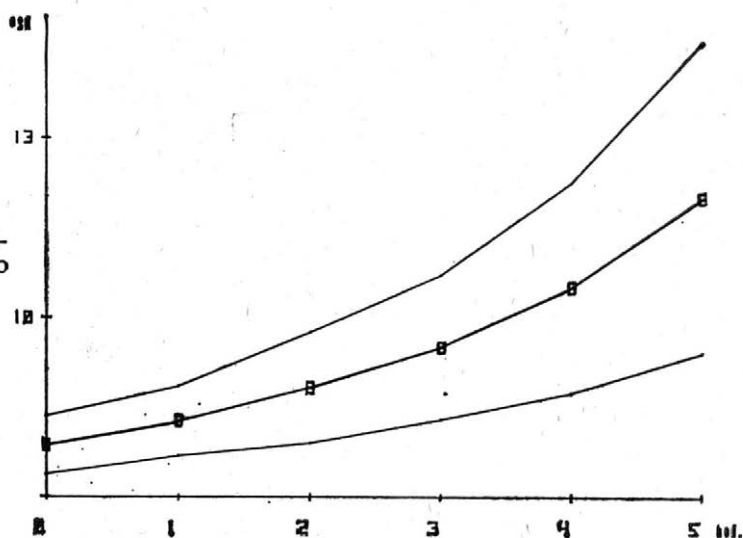
ho faktoru pomocí výpočtu regresního koeficientu na základě velkého souboru měření.

Dále jsme se zaměřili na interferující vliv kyselosti mléka na jeho elektrickou vodivost. Po stanovení titrační kyselosti a elektrické vodivosti mléka u 11 vzorků jsme je inkubovali při teplotě 25 °C po dobu 5 hodin. V hodinových intervalech jsme měřili obě veličiny. Získané výsledky shrnují obr. 3 a 4. Zjistili jsme, že titrační kyselost vzrůstá statisticky významně již po první hodině inkubace ($P < 0,05$), od druhé hodiny statisticky vysoce významně ($P < 0,01$) – (obr. 3).

Obdobný průběh vykazuje i změna elektrické vodivosti mléka, i když je statisticky významná až od třetí hodiny ($P < 0,05$) a statisticky vysoce významná od čtvrté hodiny inkubace ($P < 0,01$) – (obr. 4).



3. Vliv kyselosti směsného mléka na jeho elektrickou vodivost ($\bar{x} \pm s$)



4. Vliv inkubace směsného mléka při teplotě 25°C na jeho elektrickou vodivost ($\bar{x} \pm s$)

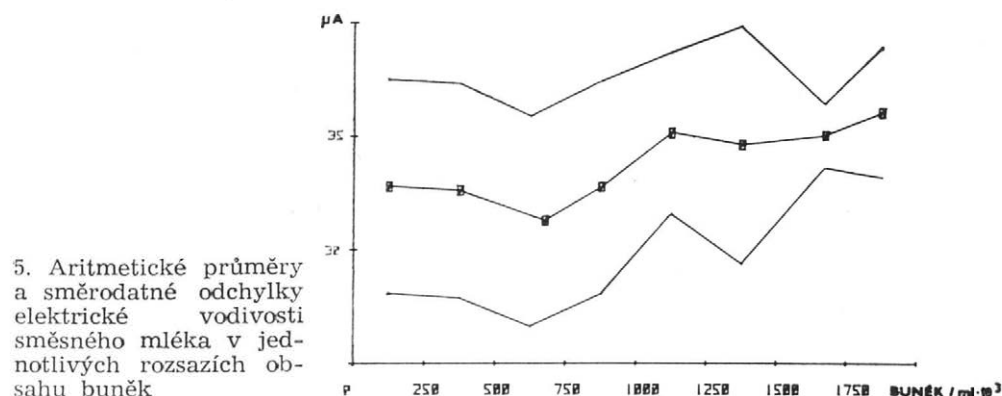
Z uvedených zjištění vyplývá, že při laboratorním měření elektrické vodivosti je nezbytné vyžadovat přepravu vzorků v termoizolačních obalech.

Diagnostickou hodnotu měření elektrické vodivosti směsných vzorků mléka jsme posoudili stanovením vztahů mezi vodivostí a obsahem chloridových iontů a dále mezi vodivostí a počtem buněčných elementů mléka. Zjistili jsme pozitivní korelaci k obsahu chloridových iontů ($r = +0,69$) a k počtu buněčných elementů ($r = +0,33$).

Z literatury jsou známy údaje Postla a Blobela (1965), kteří zjistili u směsných vzorků nízkou korelaci k počtu buněčných elementů ($r = +0,24$). U čtvrtových vzorků stanovil korelační koeficient $r = +0,40$ Little (1968), koeficient $+0,58$ Knabe (1968) a koeficient $+0,48$ Wolfe aj. (1972).

Přesto, že obsah chloridových iontů mléka má pro změny jeho elektrické vodivosti podstatný význam, zjistili jsme pouze jediný literární údaj o vztahu obou veličin. Mukařovský a Novák (1972) uvádějí velmi vysoký korelační koeficient $r = +0,87$.

Abychom mohli posoudit možnost využití metody stanovení elektrické vodivosti pro diagnostické účely na základě vyšetření směsných vzorků vykupovaného mléka, provedli jsme analýzu, kterou dokumentuje graf na obr. 5. Z grafu je zřejmé, že aritmetické průměry hodnot elektrické vodivosti u vzorků s počtem buněčných elementů do 1 mil. v 1 ml mléka se pohybují v rozmezí 31,2 až 32,8 μA , u vzorků s počtem buněk nad 1 mil. v 1 ml v rozmezí 34,6 až 36,0 μA . Dále z grafu vyplývá, že variabilita hodnot elektrické vodivosti u jednotlivých početních rozsahů je značná ($s = \pm 1,4 - 5,2 \mu A$).



Na základě získaných hodnot aritmetických průměrů je reálná možnost využít metody stanovení elektrické vodivosti směsných vzorků vykupovaného mléka k jejich hygienickému posouzení a k hromadné diagnostice zánětlivých onemocnění mléčné žlázy dojníc. Bude však nezbytné tuto metodu zpřesnit, aby se snížila variabilita naměřených hodnot.

Závěrem je možno konstatovat, že metoda elektrické vodivosti vhodně doplní komplex vyšetření, používaný při hygienickém posuzování směsných vzorků vykupovaného mléka, za předpokladu, že se podaří vyloučit vliv interferujících činitelů teplotní kompenzací měření a standardizací odběru a zpracování vzorků.

Literatura

- DAVIS, J. G.: The rapid abnormality indicator. *Dairy Ind.*, 12, 1947, s. 35-41.
- HOMOLKA, J.: Klinické a biochemické vyšetřovací metody s použitím mikro- a ultramikroanalýzy. Praha, SZN 1969. 440 s.
- INGR, I. — PLEVA, J. — RYŠÁNEK, D. — JANKOVÁ, B. — RENDA, V.: Změny chemického složení kravského mléka využitelné v diagnostice subklinických mastitid. *Vet. Med. (Praha)*, 18, 1973, č. 3, s. 153-164.
- JONES, G. E.: A statistical examination of conductivity values for aseptically drawn milk samples. *Proc. Soc. Appl. Bact.*, 1949, č. 1, s. 29-33.
- KNABE, P.: Vergleichende Untersuchungen des quantitativen Zellgehaltes und der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit normaler und veränderter Milch. [Diss.] Leipzig 1968. 115 s.
- LINZELL, J. L. — PEAKER, M.: Day-to-day variations in milk composition in the goat and cow subclinical mastitis. *Br. vet. J.*, 128, 1972, s. 284-295.
- LITTLE, T. W. aj.: Electrical conductivity and leucocyte counts of bovine milk. *Vet. Rec.*, 82, 1968, s. 431-433.
- MALCOLM, J. F. — KING, C. W. — CAMPBELL, M. M.: The value of the cell count and the electrical conductivity of milk as criteria of bovine mastitis. *Proc. Agric. Bact. (Abstracts)*, 1942, s. 30-34.
- MC CULLOCH, E. G.: The early detection of bovine mastitis by an electrometric method. *J. Milk Fd Technol.*, 1940, č. 3, s. 314-319.
- MUKAŘOVSKÝ, L. — NOVÁK, A.: Osobní sdělení, 1972.
- NEWBOULD, F. H. S. — PHIPPS, L. W.: An Improved Technique for Counting Leucocytes in Milk by the Direct Microscopic Method. *Can. J. comp. Med.*, 31, 1967, s. 65-69.
- PINKERTON, F. — PETERS, I. I.: Conductivity percent lactose and freezing point of milk. *J. Dairy Sci.*, 41, 1958, s. 392-397.
- POSTLE, D. S. — BLOBEL, H.: Studies on bulk milk screening procedures for mastitis. *Am. J. vet. Res.*, 26, 1965, s. 90-96.
- PRESCOTT, S. C. — BREED, R. S.: The determination of the number of body cells in milk by a direct method. *J. inf. Dis.*, 7, 1970, s. 632-640.
- QUAYLE, J. C. — GREATRIX, G. R.: Improvement in methods and apparatus for the detection of mastitis in milk animals. *Brit. Pat.* 1314327.
- ROY, N. K. aj.: Electrical conductance of milk from buffalo and cattle of Indian origin. 1. Correlation with fat and SNF. *Milchwissenschaft*, 27, 1972, s. 634-637.
- TOLLE, A.: Neue Wertmaßstäbe zur Beurteilung biochemischer Veränderungen der Rohmilch. *Milchwissenschaft*, 24, 1969, s. 457-465.
- WOLFE, R. R. aj.: A method for electronic detection of bovine mastitis. *Trans. ASAE, St. Joseph, Mich.*, 15, 1972, s. 500-503.

Došlo dne 28. 3. 1975

RENDA V., RIŠÁNEK D., MATOUŠKOVÁ O. (Naучно-исследовательский институт Брно, Чехословакия). Влияние некоторых факторов на электропроводимость смешанного молока. *Vet. Med. (Praha)* 20 (8) : 463-469, 1975.

Метод определения электропроводимости покупаемого молока испытывали с точки зр. оценки его качества и массовой диагностики воспалительных заболеваний молочной железы у коров. Коэффициент изменчивости дубликатов находился в пределах 1,37—3,09 %. Изучение зависимости измерения электропроводимости молока от его температуры показало, что существует высокодостоверная положительная корреляция между обеими величинами. В пределах от 30 до 35 °C коэффициенты корреляции составляют от 0,951 до 0,996. В течение 5-часовой инкубации пробы при 25 °C определяли интерференцию, данную кислотностью молока. Статистически значимая разница установлена, начиная с 3-го часа инкубации ($P < 0,05$), а высокосignальная разница — начиная с 4-го часа инкубации ($P < 0,01$). Оценка диагностического качества метода измерения электропроводимости покупаемого молока показала положительную корреляцию к содержанию хлоридных ионов ($r = 0,69$) и к количеству клеточных элементов молока ($r = 0,33$).

мастит; содержание клеток; хлориды; кислотность; температура

RENDÁ V., RYŠÁNEK D., MATOUŠKOVÁ O. (Veterinary Research Institute, Brno, Czechoslovakia). *The Effect of Some Factors on the Electric Conductivity of Mixed Milk*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 463-469, 1975.

The authors evaluated the method of the determination of the electric conductivity of purchased milk for the estimation of the hygienic aspects of milk quality and for mass diagnosis of the inflammatory diseases of dairy cow mammary glands. The variability coefficient of duplicates varied from 1.37 to 3.09 %. The study of the dependence of milk conductivity measurement on milk temperature revealed a statistically highly significant positive correlation between the values of these two factors. In the temperature range from 30 °C to 35 °C the coefficients of correlation ranged from 0.951 to 0.996. Furthermore, interference caused by milk acidity was examined during a five-day incubation of samples at 25 °C. A statistically significant difference was observed from the third hour of incubation ($P < 0.05$) and a statistically highly significant difference from the fourth hour of incubation ($P < 0.01$). The evaluation of the diagnostic value of the method of the measurement of electric conductivity in purchased milk revealed a positive correlation to the content of chloride ions ($r = 0.69$) and to the number of the cellular elements of milk ($r = 0.33$). mastitis; content of cells; chlorides; acidity; temperature

RENDÁ V., RYŠÁNEK D., MATOUŠKOVÁ O. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). *Einfluß einiger Faktoren auf die elektrische Leitfähigkeit gemischter Milch*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 463-469, 1975.

Es wurde die Methode der Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit der in die Molkereien eingelieferten Milch zum Zwecke der hygienischen Beurteilung der Qualität der Milch sowie zur massenweisen Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen der Milchdrüse bei Kühen bewertet. Der Variabilitätskoeffizient der Duplikate bewegte sich in den Grenzen von 1,37 bis 3,09 %. Bei Untersuchungen der Abhängigkeit der Messung der elektrischen Leitfähigkeit der Milch von deren Temperatur wurde festgestellt, daß zwischen beiden Größen eine statistisch hochsignifikante positive Korrelation existiert. In den Temperaturgrenzen von 30 bis 35 °C bewegten sich die Korrelationskoeffizienten von 0,951 bis 0,996. Während einer fünfstündigen Inkubation der Proben bei 25 °C wurde die durch Azidität der Milch verursachte Interferenz verfolgt. Ab dritte Inkubationsstunde wurde ein statistisch signifikanter Unterschied ($P < 0,05$) und ab vierte Inkubationsstunde ein statistisch hochsignifikanter Unterschied ($P < 0,01$) festgestellt. Bei Beurteilung des diagnostischen Wertes der Methode der Messung der elektrischen Leitfähigkeit der angelieferten Milch wurde eine positive Korrelation zum Chloridgehalt ($r = 0,69$) und zur Anzahl von Zellelementen der Milch ($r = 0,33$) festgestellt.

Mastitis; Zellgehalt; Chloride; Azidität; Temperatur

Adresa autorů:

MVDr. V. Renda, MVDr. D. Ryšánek, MVDr. O. Matoušková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno - Medlánky

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

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

D 54.997/19

19 congreso mundial da medicina veterinaria y zootecnica. 19 world veterinary congress. Mexico, n. vl. Vol. 1. 1971. 397 s. tab., Vol. 2. 1971. 408-813 s. tab., Vol. 3. 1971. 822-1236 s. tab., Vol. 4. 1971. 1246-1450 s. tab. obr. (Mexico — mezinárodní veterinární a zootechnická konference — 19. /1971/ — sborníky)

D 63.891

Memorias de la II Jornada nacional de ciencias veterinaria. Habana, n. vl. (1975). 450 s. obr. tab. (Havana — veterinární konference — 2. /1966/ — sborníky)

D 63.451

Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. 3. überarb. Aufl. Jena, VEB G. Fischer. Teil 1. (1974) 571 s. 130 obr. 160 tab.; Teil 2. (1974) S. 580-1131. 216 obr. 114 tab. (Fyziologie hospodářských zvířat — příručky)

D 64.397

Novosti vav fiziologijata na selskostopanskite životni. Sofija, Zemizdat 1975. 273 s. 43 obr. 13 tab. (Fyziologie hospodářských zvířat — příručky)

KONSTANTINOV, G. Chr. — DOBRIJANOV, D. St. D 64.013
Citogenetika na selskostopanskite životni. Sofija, Zemizdat 1974. 223 s. 76 obr. 26 tab. (Cytogenetika — hospodářská zvířata — příručky)

GANOVSKI, Chr. C. D 64.006
Fiziologični osnovi na chraneneto pri preživnite životni. Sofija, Zemizdat 1974. 227 s. 44 obr. 155 tab. (Přezvýkavci — výživa a krmení — fyziologické otázky — příručky)

IWARSSON, K. D 61.429/188
On the iodine content of milk and the goitrogenic properties of rapeseed meal fed to cattle. Stockholm, Royal veterinary coll. 1973. 26 s. (Dojnice — krmení — řepková moučka — štítná žláza — vztahy — výzkum — Švédsko / Jód — mléko — obsah — výzkum — Švédsko)

BERGNER, H. — KETZ, H. A. D 64.109
Verdauung, Resorption, Intermediärstoffwechsel bei landwirtschaftlichen Nutztieren. Berlin, VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag 1969. 399 s. obr. tab. (Hospodářská zvířata — trávicí ústrojí — látková přeměna — příručky)

FÁGOVÁ TYPIZÁCIA KMEŇOV STAPHYLOCOCCUS AUREUS, POCHÁDZAJÚCICH ZO STAFYLOKOKOVÝCH MASTITÍD DOJNÍC

B. Havelka, Z. Hausmannová, O. Borsuková

Ústredný štátny veterinárny ústav, Bratislava

Krajská hygienická stanica, Bratislava

Okresné veterinárne laboratórium, Senec

HAVELKA B., HAUSMANNOVÁ Z., BORSUKOVÁ O. *Fágová typizácia kmeňov Staphylococcus aureus, pochádzajúcich zo stafylokokových mastitíd dojnic.* Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 471-476, 1975.

Zo 62 kmeňov *Staphylococcus aureus*, izolovaných zo vzoriek mlieka dojnic so stafylokokovou mastitídou z piatich poľnohospodárskych podnikov Západoslovenského kraja, bolo 68 % typovaných bakteriofágmi. U 42 typizovaných kmeňov sa zistilo spolu 17 rôznych fágových obrazov, pričom v jednotlivých poľnohospodárskych podnikoch kolísala počet fágových obrazov od jedného do ôsmi. Vo všetkých poľnohospodárskych podnikoch sa zistil a dominoval fágový obraz 42D. Z typizovaných kmeňov bolo možné 76 % zaradiť len do jednej fágovej skupiny a 24 % do skupiny „M“ (= *miscellaneous*). Z 32 typizovaných kmeňov patrilo 56,3 % do IV. fágovej skupiny, 25 % do III. skupiny, 12,5 % do I. skupiny a 6,2 % do II. skupiny.

Staphylococcus aureus; mastitídy dojnic; fágová typizácia

Pri epizootologickom štúdiu o príčinách výskytu mastitíd dojnic v piatich poľnohospodárskych podnikoch v Západoslovenskom kraji zamerali sme sa aj na bakteriofágovú typizáciu plazmakoaguláza pozitívnych kmeňov stafylokokov, izolovaných z mlieka týchto dojnic.

Cieľom tejto práce bolo získať prehľad o podieli jednotlivých fágových obrazov a fágových skupín kmeňov *Staphylococcus aureus* pri výskyte mastitíd dojnic v sledovaných poľnohospodárskych podnikoch.

MATERIÁL A METÓDY

I. Fágy medzinárodnej základnej sady pre typizovanie kmeňov *Staphylococcus aureus* „humánneho“ pôvodu (Riesche, 1973)

Skupina	Fágy
I	29, 52, 52A, 79, 80
II	3A, 3C, 55, 71
III	6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84, 85
IV	42D
Nepridelené	81, 187

Zo vzoriek mlieka dojnic sme v Ústrednom štátnom veterinárnom ústave v Bratislave v r. 1973 izolovali 62 kmeňov plazmakoaguláza pozitívnych stafylokokov. Vzorky mlieka pochádzali z jednorázového prešetrenia dojnic v piatich poľnohospodárskych podnikoch s tradičnou technológiou zo Západoslovenského kraja (tri jednotné roľnícke družstvá, jeden štátny majetok, jeden štátny plemenársky ústav). K izolácii kmeňov a k získaniu čistej kultúry sa používal mäsopeptónový agar s 5 % baranej krvi. Agar

sa pripravoval podľa Zborníku veterinárnych predpisov (1962). Kmene sa typizovali na Krajskej hygienickej stanici v Bratislave metódou podľa Williamsa a Ripponovej (Raška a i., 1958). Kmene sa typizovali v titroch RTD a iba kmene, ktoré boli necitlivé, sa typizovali v titroch 1000 RTD. Kmene sa vyhodnocovali podľa základnej medzinárodnej sady fágov (tab. I).

Do skupiny „M“ (= *miscellaneous*) sme zaradili kmene s fágovým obrazom zmiešaným z dvoch alebo viacerých skupín.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Sledované poľnohospodárske podniky sa nachádzali v spádovej oblasti Ústredného štátneho veterinárneho ústavu na území v okruhu menšom ako 60 km. Chovateľské podmienky, úroveň hygieny, spôsob výživy, ošetrovania a dojenja zvierat boli približne rovnaké a len na priemernej úrovni.

Počet typizovateľných a netypizovateľných kmeňov *Staphylococcus aureus* v sledovaných poľnohospodárskych podnikoch uvádzame v tab. II.

II. Počet typizovateľných a netypizovateľných kmeňov *Staphylococcus aureus* v jednotlivých poľnohospodárskych podnikoch

Poľnohospodársky podnik	Počet kmeňov	Kmene			
		typizovateľné		netypizovateľné	
		počet	%	počet	%
JRD S.	23	14	61	9	39
JRD U.	15	8	53	7	47
JRD B.	5	4	80	1	20
ŠM D. K.	11	8	73	3	27
ŠPÚ K.	8	8	100	0	0
Spolu	62	42	68	20	32

I so zreteľom na menšie čísla v počte typizovateľných kmeňov stafylokokov boli v jednotlivých poľnohospodárskych podnikoch veľké rozdiely. Počet netypizovateľných kmeňov bol v rámci celého súboru značne vysoký.

Prehľad o zistených fágových obrazoch kmeňov *Staphylococcus aureus* v jednotlivých poľnohospodárskych podnikoch uvádzame v tab. III.

Početnosť jednotlivých fágových obrazov u sledovaných poľnohospodárskych podnikov bola rôzna. U JRD S. sa zistilo osemkrát viacej fágových obrazov, ako u ŠM D. K.

Dominantné postavenie však mal fágový obraz 42D, ktorý sa vyskytoval vo všetkých poľnohospodárskych podnikoch a tvoril 43 % fágových obrazov všetkých kmeňov stafylokokov. Dominantnosť tohto fágového obrazu u stafylokokových mastitíd uvádzajú i Coles a Eisenstark (1959), George a i. (1962), Gedek (1972), Schalm a i. (1971), Matějovská (1973), Rische (1973) a i. Kmene stafylokokov s týmto fágovým obrazom sa len zriedkavo nachádzajú u človeka (Rische, 1973). Ostatné fágové obrazy sme našli v podstatne menšom počte prípadov.

III. Prehľad o výskyte fágových obrazov kmeňov *Staphylococcus aureus* v jednotlivých poľnohospodárskych podnikoch

Poľnohospodársky podnik	Fágový obraz	Počet kmeňov	Počet fágových obrazov
JRD S.	52/52A	1	8
	29/52/52A	1	
	29/52/52A/79/80	1	
	3A/55	2	
	54	1	
	54/77	1	
	42D	6	
	52/80/55	1	
JRD U.	29/52A/80	1	5
	84	2	
	83A	1	
	53/75/77/83A/84/85	2	
	42D	2	
JRD B.	54/83A	1	3
	42D	2	
	52/79/54	1	
ŠM D. K.	42D	8	1
ŠPÚ K.	29/52/52A/3C/55/42E/54/84/85	3	3
	3A/55/6/42E/47/54/75/77/42D	3	
	29/52/52A/3A/55/42E/47/54/75/77	2	

V ŠPÚ K. sa nevyskytoval ani jeden kmeň *Staphylococcus aureus*, ktorý by bolo možné zaradiť iba do jednej fágovej skupiny. Naproti tomu okrem dvoch kmeňov všetky ostatné bolo možné zaradiť do jednej fágovej skupiny. Počet kmeňov stafylokokov, ktoré sme zaradili do jednej fágovej skupiny ako i do skupiny „M“, uvádzame v tab. IV.

Počet kmeňov stafylokokov patriacich k jednotlivým fágovým skupinám v sledovaných poľnohospodárskych podnikoch uvádzame v tab. V.

Počet fágových skupín, do ktorých bolo možné zaradiť kmene stafylokokov, bol v jednotlivých poľnohospodárskych podnikoch rôzny. Pokiaľ

IV. Prehľad o počte kmeňov *Staphylococcus aureus* zaradených len do jednej fágovej skupiny a do skupiny „M“

Poľnohospodársky podnik	Počet kmeňov	Počet kmeňov zaradených do			
		jednej fágovej skupiny	%	skupiny „M“	%
JRD S.	14	13	93	1	7
JRD U.	8	8	100	0	0
JRD B.	5	4	80	1	20
ŠM D. K.	8	8	100	0	0
ŠPÚ K.	8	0	0	8	100
Spolu	42	32	76	10	24

„M“ — miscellaneous, tj. skupina, do ktorej sme zaradili kmene s fágovým obrazom zmiešaným z dvoch alebo viacerých skupín

kmene stafylokokov z JRD S. sme zaradili do štyroch fágových skupín a do skupiny „M“, všetky kmene zo ŠM D. K. patrili len do jednej skupiny.

Z 32 kmeňov stafylokokov pochádzajúcich zo všetkých piatich poľnohospodárskych podnikov patrilo 56,3 % do IV. fágovej skupiny, 25 % do III. skupiny, 12,5 % do I. skupiny a 6,2 % do II. skupiny. Ďalších 10 kmeňov patrilo do skupiny „M“. Podľa údajov Quariniho a Milcha (1974) patrilo zo 160 kmeňov *Staphylococcus aureus* do IV. fágovej skupiny až 58,6 % a podľa výsledkov Archangelského a Stepanova (1966) to bolo 70,6 %.

V. Počet kmeňov *Staphylococcus aureus* z jednotlivých fágových skupín v sledovaných poľnohospodárskych podnikoch

Poľnohospodársky podnik	Kmene s fágovým obrazom			
	len z jednej skupiny		z dvoch alebo viacerých skupín	
	fágová skupina	počet kmeňov	skupina „M“	počet kmeňov
JRD S.	I	3	I + II	1
	II	2		
	III	2		
	IV	6		
	I	1		
JRD Ú.	III	5	0	0
	IV	2		
JRD B.	III	1	I + III	1
	IV	2		
ŠM D. K.	IV	8	0	0
ŠPÚ K.	0	0	I + II + III	5
			II + III + IV	3
Spolu	I	4	I + II	1
	II	2	I + III	1
	III	8	I + II + III	5
	IV	18	II + III + IV	3

Pri bakteriofágovej typizácii kmeňov stafylokokov sme zistili 17 rôznych fágových obrazov. 76 % typizovateľných kmeňov sme mohli zaradiť len do jednej fágovej skupiny, ostatné kmene do skupiny „M“.

K typizácii kmeňov stafylokokov sa používala medzinárodná základná sada „humánných“ fágov. V typizácii týchto kmeňov bude treba však pokračovať, nakoľko sa zistilo, že kmene stafylokokov, izolované z niektorých druhov zvierat, boli necitlivé proti testovacím fágom tejto medzinárodnej základnej sady. Preto sa postupne vypracovali základné sady pre „bovinné“, „ovčie“, „psie“, „morčacie“ fágy a fágy „plazmakoaguláza negatívnych stafylokokov“. Okrem základných fágov sa používa ešte celý rad prídavných fágov (Rische, 1973).

Stafylokoky bovinného pôvodu sú len do určitej miery typizovateľné sadou humánných fágov. Podľa Rischeho (1973) v priemere tretina až polovica stafylokokov bovinného pôvodu je typizovateľná humánnymi fágmami. Zistil sa pritom rozdiel i v typizovateľnosti medzi jednotlivými fágo-

vými skupinami. Najviac typizovateľných kmeňov bolo s fágovým obrazom 42D a z III. fágovej skupiny. Quarini a Milch (1974) otypizovali zo 160 kmeňov stafylokokov, izolovaných z mlieka dojnic s mastitídou, humánnymi fágmi 14 %, bovinými fágmi 70 % a 15 % kmeňov nemohli otypizovať ani humánnymi, ani bovinými fágmi. I viacerí ďalší autori poukazujú na rozdiely vo vlastnostiach a typovateľnosti stafylokokov humánneho a boviného pôvodu (Coles a Eisenstark, 1959, George a i., 1962, Gedek, 1972, Schalm a i., 1971 a i.). Preto aj výsledky v tejto práci, dosiahnuté typizovaním stafylokokov sadou humánnych fágov, treba posudzovať i z tohto aspektu.

V tejto práci sa predkladá súbornejší prehľad o výskyte fágových obrazov a skupín kmeňov *Staphylococcus aureus* izolovaných z mlieka dojnic so zápalom vena, pochádzajúcich z piatich poľnohospodárskych podnikov Západoslovenského kraja, typizovaných základnou medzinárodnou sadou humánnych fágov.

Literatúra

- COLES, E. H. — EISENSTARK, A.: Staphylococcic phages. II. The use of human typing phages and adapted human typing phages in typing of *Staphylococcus aureus* of animal origin. Am. J. vet. Res., 20, 1959, s. 835.
- GEDEK, W.: Die Staphylokokken-Mastitis bei Haustieren. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1972.
- GEORGE, C. C. — RUSSELL, K. E. — WILSON, J. B.: Characteristics of *Staphylococci* from bovine milk. J. infect. Dis., 110, 1962, s. 75.
- MATĚJOVSKÁ, V.: Typizace stafylokoků nalézáných u dojců a jejich ošetřovatelek. Epizootologie, 1973, č. 1, s. 32-45.
- QUARINI, L. — MILCH, H.: Tögy-pathogen staphylococcusok tipizálása. Magyar. Állatorv. Lap., 29, 1974, s. 201-203.
- RAŠKA, K. aj.: Mikrobiologické vyšetřovací metody. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1958.
- RISCHE, H.: Lysotypie und andere spezielle epidemiologische Laboratoriumsmethoden. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1973, s. 467-545.
- SCHALM, O. W. — CARROLL, E. J. — JAIN, N. C.: Bovine Mastitis. Philadelphia, Lea and Febiger 1971.
- , Sborník veterinárních předpisů. Praha, MZLVH 1962.

Došlo dne 22. 10. 1974

ГАВЕЛКА Б., ГАУСМАНОВА З., БОРСУКОВА О. (Центральный государственный ветеринарный институт, Братислава, Областной санпункт, Братислава, Районная ветеринарная лаборатория, Сенец, Чехословакия). Фаговая типизация штаммов *Staphylococcus aureus*, происходящих из стафилококковых маститов дойных коров. Vet. Med. (Praha) 20 (8): 471-476, 1975.

Из 62 штаммов *Staphylococcus aureus*, изолированных из образцов молока дойных коров, больных маститом, из пяти сельскохозяйственных предприятий Западнословацкой области, 68 % было типизировано бактериофагами. У 42 типизированных штаммов было установлено в общем 17 разных фаговых картин, причем у отдельных сельскохозяйственных предприятий число фаговых картин колеблется от 1 до 8. Во всех сельскохозяйственных предприятиях была установлена и доминирована фаговая картина 42Д. Из типизированных штаммов 76 % можно было включить только в одну фаговую группу и 24 % в группу «М» (= *miscellaneous*). Из 32 типизированных штаммов 56,3 % приходилось на IV фаговую группу, 25 % в III, 12,5 в I и 6,2 % во II группу.

Staphylococcus aureus; мастит дойных коров; фаговая типизация

HAVELKA B., HAUSMANNOVÁ Z., BORSUKOVÁ O. (Central State Veterinary Institute, Bratislava, District Hygienical Station, Bratislava, District Veterinary Laboratory, Senec, Czechoslovakia). *Phage Typification of Strains of Staphylococcus aureus Coming from Staphylococcic Mastitis of Dairy-cows*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 471-476, 1975.

Of 62 strains of *Staphylococcus aureus*, isolated from milk samples of dairy-cows with staphylococcic mastitis from five agricultural enterprises, 68 p. c. could be typified as bacteriophages. In 42 typified strains, altogether 17 different phage pictures were found, in which case, in the different agricultural enterprises, the number of phage picture fluctuated between 1 and 8. Phage picture 42 D was found and dominated in all the agricultural enterprises. Of the typified strains, 76 % could be ranked only into one phage group and 24 % in the „M“ group (= *miscellaneous*). Of 32 typified strains, 56.3 % belonged to phage group IV, 25 % to group III, 12.5 % to group I, and 6.2 % to group II.

Staphylococcus aureus; mastitis of dairy-cows; phage typification

HAVELKA B., HAUSMANNOVÁ Z., BORSUKOVÁ O. (Staatliches Zentralveterinärinstitut, Bratislava; Hygienische Bezirksstation, Bratislava; Kreisveterinärlaboratorium, Senec, Tschechoslowakei). *Phagen-Typisierung der von Staphylokokken-Mastitiden bei Milchkühen stammenden Staphylococcus-aureus-Stämme*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 471-476, 1975.

Von den aus Milchproben von mit Staphylokokken-Mastitiden befallenen Milchkühen in fünf landwirtschaftlichen Betrieben des westslowakischen Bezirks isolierten 62 *Staphylococcus-aureus*-Stämmen waren 68 % mit Bakteriophagen typisierbar. Bei 42 typisierten Stämmen wurden insgesamt 17 verschiedene Phagenbilder festgestellt, wobei in den einzelnen landwirtschaftlichen Betrieben die Anzahl der Phagengebilde von 1 bis 8 schwankte. In allen landwirtschaftlichen Betrieben wurde das Phagengebilde 42D festgestellt und dominierte. Von den typisierten Stämmen konnten nur 76 % in nur eine Phagengruppe eingereiht werden, während 24 % auf die Gruppe M (= *miscellaneous*) entfielen. Von den 32 typisierten Stämmen gehörten 56,3 % der IV. Phagengruppe, 25 % der III. Gruppe, 12,5 % der I. Gruppe und 6,2 % der II. Gruppe an.

Staphylococcus aureus; Mastitiden bei Milchkühen; Phagen-Typisierung

Adresa autorů:

MVDr. B. Havelka, CSc., Ústredný štátny veterinárny ústav, Pri Botanickej záhrade 3, 800 00 Bratislava

MVDr. Z. Hausmannová, Krajská hygienická stanica, 800 00 Bratislava

MVDr. O. Borsuková, Okresné veterinárne laboratórium, 903 01 Senec

B. Havelka

Ústredný štátny veterinárny ústav, Bratislava

HAVELKA B. *Etiológia mastitíd dojníc na Slovensku za r. 1972—1974*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 477-481, 1975.

V r. 1972—1974 sa vo veterinárnych ústavoch na Slovensku bakteriologicky vyšetrilo 178 853 vzoriek mlieka, pochádzajúcich od 72 454 dojníc. Vyšetřilo sa v priemere ročne o 61 % vzoriek viac ako v r. 1967 až 1971. U 22,32 % dojníc sa v mlieku našli bakteriálne zárodky, spôsobujúce zápal mliečnej žľazy. Išlo o: *Streptococcus agalactiae* — 15,77 %, *Staphylococcus aureus* — 4,19 %, ostatné streptokoky — 1,49 %, *E. coli* — 0,18 %, *Klebsiella* sp. — 0,23 %, *Corynebacterium pyogenes* — 0,20 %, iné zárodky — 0,26 %. Počet dojníc s nálezom bakteriálnych zárodkov v mlieku bol o 1,47 % vyšší ako v období 1967—1971. Počet nálezov *Streptococcus agalactiae* bol o 3,29 % vyšší a počet nálezov *Staphylococcus pyogenes* — 0,20 %, iné zárodky — 0,26 %. Počet dojníc s nálezom bakteriálnych zárodkov v mlieku bol o 1,47 % vyšší ako v období 1967—1971. Počet nálezov *Streptococcus agalactiae* bol o 3,29 % vyšší a počet nálezov *Staphylococcus aureus* o 1,15 % nižší ako v období 1967—1971. Vyšší počet nálezov bakteriálnych pôvodcov mastitíd dojníc v mlieku zapríčinilo predovšetkým zvýšenie nálezov *Streptococcus agalactiae*.

mastitídy dojníc; *Streptococcus agalactiae*; *Staphylococcus aureus*; ostatné streptokoky; *Klebsiella* sp.; *E. coli*; *Corynebacterium pyogenes*; iné zárodky

V práci sa uvádza rozbor výskytu bakteriálnych pôvodcov mastitíd dojníc na Slovensku za obdobie r. 1972 až 1974, urobený na základe výsledkov laboratórneho vyšetřenia vzoriek mlieka vo veterinárnych ústavoch. Článok nadväzuje na predchádzajúci s tým istým zameraním za obdobie r. 1967 až 1971 (H a v e l k a, 1973).

MATERIÁL A METÓDY

V Ústrednom štátnom veterinárnom ústave v Bratislave a v Štátnych veterinárnych ústavoch v Nitre, Zvolene, Žiline, Košiciach, Prešove a v Michalovciach sa v r. 1972 až 1974 vyšetrilo 178 853 vzoriek mlieka pochádzajúcich od 72 454 kráv. Vzorky odoberali pracovníci veterinárnej služby pri rannom dojení, alebo najmenej tri hodiny po dojení, pri zachovávaní zásad aseptického práce. Išlo o vzorky z plemenárskych, chovateľských a úžitkových hospodárstiev. Odoberali sa prevažne štvrťkové vzorky mlieka. Približne polovica vzoriek pochádzala od dojníc s pozitívnym NK-testom.

V laboratóriách sa vzorky bakteriologicky vyšetrovali jednotnou metódikou. V zásade sa pritom postupovalo tak, že sa mlieko kultivovalo na mäsopeptónový živný agar s 5 % baranej krvi, potom sa vzorky mlieka vložili do termostatu pri teplote 37 °C do druhého dňa a opäť sa očkovali na Edwardsov agar. Živné pôdy sa odčítali po 24- a 48-hodinovej inkubácii pri teplote 37 °C. Živné pôdy sa pripravovali a bakteriálne kmene sa identifikovali podľa Zborníka veterinárnych predpisov (1962), Laboratorných vyšetrovacích metódik ÚŠVÚ (1972), Raška a i. (1958), s prihliadnutím na ďalšiu odbornú literatúru.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Počet vyšetrených vzoriek mlieka a dojníc, ako aj počet dojníc s nálezom bakteriálnych pôvodcov mastitíd v mlieku v období r. 1972 až 1974 sa uvádza v tab. I.

I. Výsledky bakteriologického vyšetrenia vzoriek mlieka a dojníc v r. 1972–1974

Rok	Počet vyšetrených		Bakteriologický nález v mlieku	
	vzoriek mlieka	dojníc	dojníc	t. j. percent z počtu prešetrených
1972	49 917	23 096	5 115	22,14
1973	47 561	19 998	4 944	23,72
1974	81 052	29 360	6 116	20,83
Spolu	178 853	72 454	16 175	22,32

II. Podiel jednotlivých bakteriálnych pôvodcov mastitíd dojníc v r. 1972–1974

		Druhy (rody) bakteriálnych zárodkov						
		<i>Str. agal.</i>	<i>St. aureus</i>	ostatné streptokoky	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella</i> sp.	<i>Coryn. pyog.</i>	iné
1972	A	3664	937	304	53	92	30	35
	B	15,86	4,06	1,32	0,23	0,40	0,12	0,15
1973	A	3366	1048	330	37	34	54	75
	B	16,84	5,24	1,65	0,18	0,17	0,27	0,37
1974	A	4393	1050	451	40	39	64	79
	B	14,96	3,58	1,54	0,13	0,13	0,22	0,27
Spolu	A	11423	3035	1085	130	165	148	189
	B	15,77	4,19	1,49	0,18	0,23	0,20	0,26
	C	70,64	18,76	6,71	0,80	1,02	0,91	1,16

A = počet dojníc

B = v percentách z vyšetrených dojníc

C = v percentách z dojníc s bakteriologickým nálezom v mlieku

Podiel jednotlivých bakteriálnych pôvodcov mastitíd dojníc v období r. 1972 až 1974 sa uvádza v tab. II.

Medzi ostatné streptokoky sa počítali streptokoky sérologických skupín C, G, L, N, E atď. podľa Lancefieldovej. Medzi iné sa zaraďovali bakteriálne zárodky, ktoré sa izolovali obvykle v čistej kultúre z mlieka dojníc s pozitívnym NK-testom. Išlo napr. o *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp. a i.

Počty bakteriologicky vyšetrených vzoriek mlieka vo veterinárnych ústavoch na Slovensku sa podstatne zvýšili. Pokiaľ v r. 1967 až 1971 sa priemerne ročne vyšetrilo 36 700 vzoriek mlieka, v tomto období sa vyšetrilo už 59 600 vzoriek, tj. o 61 % viac. Pritom v r. 1967 sa vyšetrilo vo veterinárnych ústavoch na Slovensku 30 004 vzoriek a v r. 1974 už 81 052.

Počet dojníc s nálezom bakteriálnych pôvodcov mastitíd v mlieku bol v priemere o 1,47 % vyšší ako priemer za obdobie r. 1967 až 1971. Rozdiel medzi najnižším počtom dojníc s nálezom bakteriálnych pôvodcov mastitíd v mlieku (18,83 % v r. 1967) a najvyšším počtom (24,7 % v r. 1973) bol 5,89 % a vykazoval stále mierne vzostupný trend. Tieto rozdiely mohli byť zapríčinené, okrem vplyvu podmienok v poľnohospodárskych podnikoch, do určitej miery i zavedením citlivejších laboratórnych metódik v r. 1971 až 1972. Z výsledkov vyplýva, že v priebehu posledných ôsmich rokov sa situácia s výskytom dojníc s nálezom bakteriálnych pôvodcov mastitíd v mlieku na Slovensku podstatnejšie nezmenila, vykazuje však mierne stúpajúcu tendenciu.

Tak ako v období r. 1967 až 1971 (Havelka, 1973), i v tomto období sa najčastejšie zistili kmene *Streptococcus agalactiae* (ďalej *Str. agal.*) a *Staphylococcus aureus* (ďalej *St. aureus*). Tieto dva druhy tvorili v priemere za sledované obdobie 89,40 % všetkých druhov bakteriálnych zárodkov. Streptokoky a stafylokoky spolu sa podieľali na 96,11 % všetkých bakteriálnych nálezov. Je preto treba týmto druhom bakteriálnych zárodkov venovať najväčšiu pozornosť i z hľadiska prevencie a tlmenia mastitíd dojníc.

Podľa Kráľa a i. (1973) sa vyšetrením 365 351 dojníc v ČSSR v r. 1965 až 1968 zistilo 16,8 % dojníc s nálezom bakteriálnych pôvodcov mastitíd v mlieku, z toho *Str. agal.* v mlieku 9,0 % dojníc, *St. aureus* u 3,3 %, ostatné streptokoky u 2,8 %, *E. coli* u 0,6 %, *Corynebacterium pyogenes* u 0,21 % a iné zárodky u 0,99 %. Streptokoky a stafylokoky tvorili 84 % bakteriálnych zárodkov.

Podiel *Str. agal.* bol v priemere za sledované obdobie o 3,29 % vyšší ako v r. 1967 až 1971. Naproti tomu podiel *St. aureus* bol za rovnaké obdobie o 1,15 % nižší. To poukazuje na dôležitý moment v dynamike vývoja mastitíd u nás, tj., že mierne sa stále zvyšujúca tendencia ich výskytu je zapríčinená predovšetkým zvýšeným výskytom *Str. agal.* Potvrdzuje to ďalej i názor, že v chovoch, v ktorých sa nerobia dostatočne účinné opatrenia proti vzniku a šíreniu mastitíd, častejšie sa vyskytuje *Str. agal.* ako *St. aureus* a iné druhy bakteriálnych zárodkov. Miera výskytu *Str. agal.* a *St. aureus*, ako aj iných bakteriálnych pôvodcov mastitíd dojníc, je v rôznych štátoch rozličná (Heidrich a Renk, 1963, Glawischneig a i., 1968, Wilson, 1971, Gedek, 1972, Quarini a Milch, 1974 a i.).

E. coli, *Klebsiella* sp., *Corynebacterium pyogenes* a iné bakteriálne zárodky tvorili len 3,89 % nálezov bakteriálnych pôvodcov mastitíd v mlieku. Pri porovnaní s obdobím r. 1967 až 1971 nenastali vo výskyte týchto bakteriálnych zárodkov podstatnejšie zmeny.

Podakovanie: Autor ďakuje pracovníkom bakteriologických oddelení ŠVÚ v Nitre, Zvolene, Žiline, Košiciach, Prešove a Michalovciach za podkladový materiál k tejto práci.

Literatúra

GEDEK, W.: Die Staphylokokken-Mastitis bei Haustieren. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1972.

GLAWISCHNIG, E. — ENAMI, M. — NEUMEISTER, E.: Die Staphylokokken Mastitiden in Österreich. Wien. tierärztl. Mschr., 55, 1968, s. 792-797.

HAVELKA, B.: Etiológia mastitíd hovädzieho dobytku na Slovensku za r. 1967—1971. Vet. Med. (Praha), 18, 1973, č. 3, s. 135-138.

HEIDRICH, H. J. — RENK, W.: Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren. Berlin und Hamburg, Paul Parey 1963.

KRÁL, J. — BAŠTÁŘ, M. — BENDA, I. — TLUSTÝ, A. — KRÁL, P. — ŠKARDOVÁ, O.: Zhodnocení laboratorní diagnostiky dojníc v Československu v letech 1965 až 1968. Vet. Med. (Praha), 18, 1973, č. 3, s. 127-133.

RAŠKA, K. aj.: Mikrobiologické vyšetřovací metody. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1958.

QUARINI, L. — MILCH, H.: Tögy-pathogen staphylococcusok tipizálása. Magy Állatorv. Lap., 29, 1974, s. 201-203.

WILSON, C. D.: Mastitis Control. Agriculture, 18, 1971, s. 208-214.

—, Laboratorní vyšetřovací metodiky ÚSVÚ. Praha 1972.

—, Sborník veterinárních předpisů. Praha, MZLVH 1962.

Došlo dne 7. 3. 1975

ГАВЕЛКА Б. (Центральный государственный институт ветеринарии, Братислава, Чехословакия). Этиология маститов коров в Словакии за 1972—1974 гг. Vet. Med. (Praha) 20 (8): 477-481, 1975.

В 1972—1974 гг. в ветеринарных институтах Словакии провели бактериологическое исследование 178 853 молочных проб, происходящих от 72 454 коров. В среднем исследовано на 61 % больше пробы, чем в 1967—1971 гг. В молоке 22,32 % коров обнаружены бактериальные зародыши, вызывающие воспаление молочной железы: *Streptococcus agalactiae* — 15,77 %, *Staphylococcus aureus* — 4,19, остальные стрептококки — 1,49 %, *E. coli* — 0,18 %, *Klebsiella* sp. — 0,23 %, *Corynebacterium pyogenes* — 0,20 %, остальные зародыши — 0,26 %. Количество коров с бактериальными зародышами в молоке на 1,47 % больше, чем в 1967—1971 гг. Количество *Str. agalactiae* на 3,29 % больше, а *St. aureus* на 1,15 % меньше, чем в период 1967—1971 гг. Рост бактериальных возбудителей маститов вызван, главным обр., ростом *Str. agalactiae*.

маститы коров; *Streptococcus agalactiae*; *Staphylococcus aureus*; остальные стрептококки; *Klebsiella* sp.; *E. coli*; *Corynebacterium pyogenes*; остальные зародыши

HAVELKA B. (Central State Veterinary Institute, Bratislava, Czechoslovakia). *The Etiology of Dairy Cow Mastitis in Slovakia for the Years 1972—1974*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 477-481, -975.

In the period from 1972 to 1974, veterinary institutes in Slovakia performed bacteriological examinations in 178 853 milk samples coming from 72 454 dairy cows. On an annual average, the number of examined samples was higher by 61 % than in 1967—1971. Germs responsible for the inflammation of the mammary gland were found in the milk of 22.32 % of the dairy cows. The following bacterial germs were represented: *Streptococcus agalactiae* — 15.77 %, *Staphylococcus aureus* — 4.19 %, other streptococci — 1.49 %, *E. coli* — 0.18 %, *Klebsiella* sp. — 0.23 %, *Corynebacterium pyogenes* — 0.20 %, other germs — 0.26 %. The number of dairy cows having bacterial germs in their milk was found higher by 1.47 % than in 1967—1971. The number of the findings of *Streptococcus agalactiae* was higher by 3.29 % and that of *Staphylococcus aureus* by 1.15 % than in the period from 1967 to 1971. The higher number of the findings of the bacterial causative agents responsible for mastitis was due, in particular, to the increased number of the findings of *Streptococcus agalactiae* in milk.

dairy cow mastitis; *Streptococcus agalactiae*; *Staphylococcus aureus*; other streptococci; *Klebsiella* sp.; *E. coli*; *Corynebacterium pyogenes*; other germs

HAVELKA B. (Staatliches Zentralveterinärinstitut, Bratislava, Tschechoslovakei). *Ätiologie der Mastitiden bei Milchkühen in der Slowakei in den Jahren 1972 bis 1974*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 477-481, 1975.

In den Jahren 1972 bis 1974 wurden in den slowakischen Veterinäranstalten insgesamt 178 853 Milchproben von 72 454 Milchkühen bakteriologisch untersucht. In dieser Zeitperiode wurden durchschnittlich jährlich um 61 % mehr Milchproben als in der Periode 1967 bis 1971 untersucht. Bei 22,32 % der Milchkühe wurden in der Milch Bakterien vorgetroffen, die Milcheuterentzündungen verursachen. Es handelte sich um *Streptococcus agalactiae* — 15,77 %, *Staphylococcus aureus* — 4,19 %, andere Streptokokken — 1,49 %, *E. coli* — 0,18 %, *Klebsiella* sp. — 0,23 %, *Corynebacterium pyogenes* — 0,20 % und andere Erreger — 0,26 %. Die Anzahl von Milchkühen mit Befunden von Erregern in der Milch war um 1,47 % höher als in der Periode 1967 bis 1971. Die Anzahl der Befunde von *Streptococcus agalactiae* war um 3,29 % höher und die Anzahl von *Staphylococcus-aureus*-Befunden war um 1,15 % niedriger als in der Zeitperiode 1967 bis 1971. Die höhere Anzahl von Befunden bakterieller Erreger von Mastitiden bei Milchkühen in der Milch ist vor allem auf eine Erhöhung der Anzahl von *Streptococcus-agalactiae*-Befunden zurückzuführen.

Mastitiden bei Milchkühen; *Streptococcus agalactiae*; *Staphylococcus aureus*; andere Streptokokken; *Klebsiella* sp.; *E. coli*; *Corynebacterium pyogenes*; andere Erreger

Adresa autora:

MVDr. B. Havelka, CSc., Ústredný štátny veterinárny ústav, Pri Botanickej záhrade 3, 800 00 Bratislava

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

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

NOZDRIN, N. T. — MYSIK, A. T. E 37.445
Obmen veščestv i energii u svinej. Moskva, Kolos 1975. 239 s. 78 tab.
 (Prase — látková přeměna — příručky / Prase — výživa — energie — příručky)

ONDERSCHKE, K. D 63.847/3
Untersuchungen über die Vitamin-A-Versorgung landwirtschaftlicher Nutztiere. Berlin, Paul Parey 1973. 62 s. 8 obr. 34 tab. Fortschritte in der Tierphysiologie und Tierernährung 3. (Vitamin A — krevní sérum — obsah — stanovení — hospodářská zvířata — výzkum — NSR)

PERSSON, J. D 64.230
Studies on plasma calcium regulation in ruminants. Stockholm, Royal veterinary college 1975. 33 s. 3 obr. (Přezvýkavci — krevní plazma — vápník — výzkum / Látková přeměna — vápník — přezvýkavci — výzkum — Švédsko)

HARRY, K. P. E 32.497/733
Untersuchungen zur Bestimmung des Kalziumgehaltes im Blutserum und im Harn des Rindes mit Hilfe von Schnelltesten. Inaug.-Diss. der Techn. Hochschule Hannover. Hannover, Klinik f. Rinderkrankheiten 1973. 66 s. 12 tab. (Skot — látková přeměna — vápník — výzkum / Skot — krevní sérum — vápník — obsah — stanovení — metoda EDTA — test — výzkum — NSR — disertační práce)

D 63.550/3
Metodičeskoje ukazanie po issledovaniju lipidnogo obmena i sel'skochoz-jajstvennych životnych. 3. vyp. Borovsk, Vsesojuz. nauč.-issled. institut fiziologii, biochimii i pitaniija sel. životnych 1973 (Látková přeměna živočišná — lipidy — hospodářská zvířata — výzkum — metody — sborníky — SSSR)

POPOVICI, D. Gh. D 63.313
Fiziologia productiei de lapte. Bucuresti, Agro-silvica 1964. obr. tab. (Mléčná žláza — anatomie a histologie — příručky / Mléko — sekrece — fyziologie a biochemie — příručky)

GRACEV, I. I. — GALANCEV, V. P. D 63.749
Fiziologia laktacii sel'skochoz-jajstvennych životnych. Moskva, Kolos 1974. 278 s. obr. tab. (Mléčná žláza — fyziologie — příručky / Laktace — fyziologie — příručky)

AKTIVITA LAKTÁTDEHYDROGENÁZY V MLIEČNOM SÉRE DOJNÍC V SÚVISE S POZITIVITOU MASTITIS TESTU – NK

J. Kováč, I. Beseda

Štátny veterinárny ústav, Zvolen

Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, pracovisko Ivanka pri Dunaji

KOVÁČ J., BESEDA I. Aktivita laktátdehydrogenázy v mliečnom sére dojníc v súvise s pozitivitou Mastitis testu-NK. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 483-487, 1975.

Sledovala sa hladina celkovej aktivity laktátdehydrogenázy v mliečnom sére dojníc v súboroch štvrtkových mliek s rôznym stupňom pozitivity Mastitis testu-NK. Zároveň sa vykonalo bakteriologické vyšetrenie na *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* a na koliformné zárodky. Zistilo sa, že so stúpajúcou pozitivitou Mastitis testu-NK sa skoro úmerne zvyšovala hladina celkovej aktivity laktátdehydrogenázy v mliečnom sére. Bakteriologický nález so zvyšujúcou sa pozitivitou Mastitis testu-NK nekoreloval. Na základe dosiahnutých výsledkov sa v diskusii rozoberajú nové pohľady na rôzne ochorenia mliečnej žľazy a na možnosť odhaľovania hlavne latentných štádií týchto ochorení.

mliečne sérum; optický test; hladina laktátdehydrogenázy; bakteriologický nález

Boj proti mastitidám sa stáva súčasťou zdravotnej politiky každého vyspelého štátu. Pri týchto zápalových ochoreniach mliečnej žľazy sa javí viac nebezpečných a alarmujúcich faktorov:

1. zníženie dojivosti, čo má za následok nepriaznivý ekonomický dopad na poľnohospodárske závody;
2. zmenená skladba mlieka, a tým vznikajúce ťažkosti pri jeho technologickom spracovaní;
3. ohrozenie ľudského zdravia niektorými pôvodcami mastitíd.

V predloženej práci sme vychádzali zo skutočností, že pri posudzovaní stupňa poškodenia mliečnej žľazy si treba všímať nielen vonkajšiu odozvu, ktorá sa prejavuje napr. zvýšeným počtom bunečných elementov v mlieku, ale aj stupeň poškodenia samotnej sekrécnej bunky. Jej metabolické poruchy pri poruchách sekrécie možno sledovať na podklade enzymatickom. Pretože laktátdehydrogenáza (ďalej len LDH) je jedným z dôležitých metabolických enzýmov, rozhodli sme sa konfrontovať počet bunečných elementov v mlieku (Mastitis testom-NK) s aktivitou LDH v mliečnom sére.

MATERIÁL A METÓDY

Odobrali sme 100 štvrtkových vzoriek mlieka: 20 s Mastitis testom-NK negatívnym, 20 s Mastitis testom-NK dubióznym, 20 s Mastitis testom-NK slabo pozitívnym, 20 s Mastitis testom-NK stredne pozitívnym a 20 štvrtkových vzoriek mliek s Mastitis testom-NK silne pozitívnym. Stupeň positivity sa určoval podľa kľúča (R y š á n e k, R e n d a, 1970). Štvrtkové vzorky mliek pre bakteriologické vyšetrenie boli asepticky odoberané do vopred vysterylizovaných skúmaviek. Odber sa robil vždy pred raňajším dojením, postupované bolo v tomto poradí: najprv sa odobralo 5 ml mlieka na bakteriologické vyšetrenie, potom 2 ml mlieka do palety na posúdenie Mastitis testu-NK. Podľa stupňa positivity tohto testu sa odobralo po 20 ml mlieka do osobitných mliekoviek, v ktorých sa vzorky mlieka pri teplote 4 °C dopravovali do laboratória k stanoveniu celkovej aktivity LDH. Od začiatku odberu až po prípravu mliečneho séra včítane neuplynulo spravidla viac ako osem hodín.

Mliečne sérum sa pripravovalo tak, že k 8 ml mlieka sa pridala kvapka tekutého syridla a sérum sa vložilo do termostatu na 37 °C. Asi po dvoch hodinách, keď sa sérum začalo oddeľovať od sýreniny, odstredovalo sa 5 minút pri 10 000 ot./min a čisté sérum sa opatrne odpipetovalo.

Vlastné stanovenie celkovej aktivity LDH na princípe reakcie

$$\text{pyrohroznán} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{mliečnan} + \text{NAD}$$

sa prevádzalo Boehringerovým LDH-UV testom spektrofotometricky pri 366 nm metódou optického testu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hellung-Larsen a Andersen (1968) stanovili celkovú aktivitu LDH v mlieku počas laktáčnej periódy u rôznych druhov zvierat: v kolostre morčata 600 IU/l, v mlieku morčata 300 IU/l, v kolostre psa 400 IU/l, takisto v jeho mlieku. Tiež kolostrum a mlieko kráľika mali rovnaké hodnoty celkovej aktivity LDH – 3100 IU/l. Zistili ďalej, že zmeny celkovej aktivity LDH v mlieku a v kolostre si boli úmerné. U kráv celkovú aktivitu LDH v mlieku nestanovili. Z dostupnej literatúry nie sú nám známe údaje o celkovej aktivite LDH v mlieku ani kráv mastitídnych ani zdravých.

Vzhľadom k tomu, že celková aktivita LDH v tkanivách, ako aj v krvných sérach, sa významne mení pri rôznych ochoreniach domácich zvierat v porovnaní s fyziologickým stavom, dalo sa predpokladať, že pri zápalovom ochorení vemena dojníc môže byť pozmenená celková aktivita LDH v mlieku – v porovnaní s celkovou aktivitou LDH mlieka kráv s normálnou laktáciou. Z mnohých literárnych údajov a prác rôznych autorov je známe a dokázané, že celková aktivita LDH sa pri rôznych patologických stavoch mení (muskulárna dystrofia, poškodenie srdcového svalu, poškodenie pečene infekčným alebo toxickým agensom).

Pri orgánových ochoreniach z poškodených buniek nastáva prechod tkáňových enzýmov LDH z chorého organizmu do séra, pričom celková aktivita LDH môže značne stúpnuť.

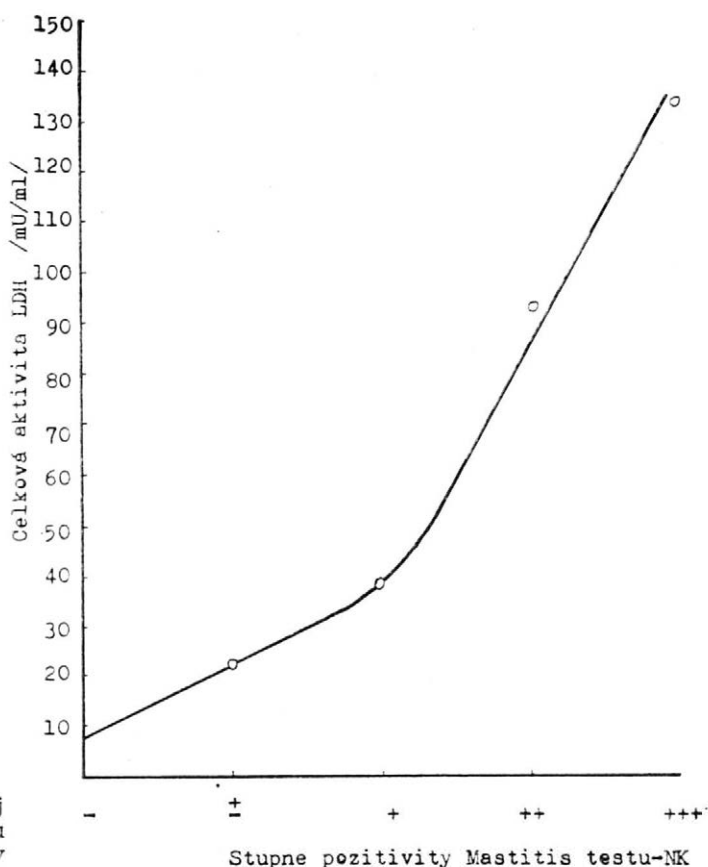
Pri normálnej funkcii mliečnej žľazy, z buniek, ktoré spolupôsobia pri tvorení mlieka za normálnych okolností, nedochádza k nadmernému

penikaniu enzymaticky aktívnych bielkovín do mlieka – teda ani LDH – z čoho vyplýva, že mlieko má v určitých medziach stabilnú hladinu enzymatickej aktivity LDH.

Výsledky našich meraní sú zhrnuté v tab. I a v obr. 1. Pri meraní celkovej aktivity LDH v mlieku dojníc s negatívnym Mastitis testom-NK sa celková aktivita LDH pohybovala v priemere 9,2 IU/l. Najnižšie zistené hodnoty boli 3,2 IU/l, najvyššie 22,5 IU/l. Čo sa týka po-

I. Hodnoty aritmetického priemeru $\bar{x}$, strednej chyby s , strednej chyby priemeru s_x a variačného koeficientu v pri rôznych stupňoch pozitivity Mastitis testu-NK

Mastitis test – NK	$\bar{x}$	s	s_x	v (%)
–	9,2	5,2	1,16	56,8
±	23,5	11,4	2,57	48,7
+	38,5	20,2	4,52	52,8
++	94,0	50,0	11,20	53,8
+++	135,8	82,2	18,35	59,6



1. Závislosť celkovej aktivity LDH v mlieku od stupňa pozitivy Mastitis testu-NK

sudzovania Mastitis testu-NK u negatívnych mliek, reakcia bola jednoznačná a dala sa dobre rozlíšiť od reakcie mlieka s dubióznym Mastitis testom-NK.

Súbor mliek s dubióznym Mastitis testom-NK vykazoval celkovú aktivitu LDH v priemere 23,5 IU/l. V dvoch prípadoch bola celková aktivita LDH znížená na úroveň mliek negatívnych, celkove však bola zvýšená. Posudzovanie dubiózneho Mastitis testu-NK vyžaduje istú rutinu, hlavne čo sa týka jeho odlišenia od testu slabo pozitívneho.

Mlieka slabo pozitívne mali celkovú aktivitu LDH v priemere 38,5 IU/l. Je to rozdiel od dubióznych mliek dosť značný, aj keď dva vzorky zodpovedali svojou aktivitou LDH skôr mlieku dubióznemu. Naopak tri vzorky sa hodnotou celkovej aktivity javili ako stredne pozitívne. Tieto anomálie by bolo možné vysvetliť tým, že Mastitis test-NK nemusí verne odrážať zmeny poškodenia mliečnej žľazy; tiež nie je známe z literárnych údajov, či pri zvýšení celkovej aktivity LDH v krvnom sére z akýchkoľvek príčin sa nezvyšuje súčasne aj aktivita LDH v mlieku, zvlášť ak sa jedná o mastitídu dojnic. Predpokladá sa, že v prípade poškodenia buniek mliečnej žľazy by bol ľahší možný prestup niektorých súčastok krvi do mlieka (napr. chloridy, laktóza, fosfatáza a pod.).

Súbor mliek so stredne pozitívnym Mastitis testom-NK vykazoval priemernú aktivitu LDH 94,0 IU/l. V ojedinelých prípadoch aktivita LDH dosiahla hodnoty 170–200 IU/l. Niektoré vzorky mliek, napriek tomu, že Mastitis test-NK bol stredne pozitívny, vykazovali neúmerne nízku hladinu celkovej aktivity LDH (19,1–28,6 IU/l). Je zrejmé, že v individuálnych prípadoch nie je priama závislosť medzi pozitivitou Mastitis.

Literatúra

HELUNG-LARSEN, P. — ANDERSEN, V.: Lactate dehydrogenase isoenzymes of human lymphocytes cultured with phytohaemagglutinin at different oxygens tensions. *Expl. cell. Res.*, 50, 1968, s. 286–292.

POJER, J. aj.: *Enzymologie jaterních nemocí*. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1968.

RYŠÁNEK, J. — RENDA, V.: *Osobné zdelenie*. Brno, VÚVL 1970.

Došlo dne 11. 12. 1974

КОВАЧ Й., БЕСЕДА И. (Государственный ветеринарный институт, Зволэн, Институт физиологии с/х животных АН Словакии, Иванка при Дунаи, Чехословакия). Активность лактатдегидрогеназы в молочной сыворотке коров в связи с положительностью Маститис теста-НК. *Vet. Med. (Praha)* 20 (8): 483–487, 1975.

Уровень общей активности лактатдегидрогеназы изучали в молочной сыворотке коров из четвертей с разной степенью положительности Маститного теста-НК. В то же время проводили бактериологическое исследование на *Streptococcus agalactiae*, *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis*, *Staphylococcus aureus* и на колиформные зародыши. Как установлено, с растущей положительностью Маститного теста-НК почти соразмерно растет и уровень общей активности лактатдегидрогеназы в молочной сыворотке, а бактериологический диагноз с ней не коррелирует. На основе этих результатов обсуждаются новые аспекты относительно заболеваний молочной железы и возможность выявления главных скрытых стадий этих заболеваний.

молочная сыворотка; оптический тест; уровень лактатдегидрогеназы; бактериологический диагноз

KOVÁČ J., BESEDA I. (State Veterinary Institute, Zvolen, Institute of Animal Physiology of the Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji, Czechoslovakia). *The Activity of Lactate Dehydrogenase in Dairy Cow Milk Serum in Relation to the Positive Response to the Mastitis Test-NK*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 483-487, 1975.

The level of total lactate dehydrogenase activity in dairy cow milk serum was studied in sets of quarter-udder milks showing different degrees of a positive response to Mastitis test-NK. The bacteriological examination for *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, and for coliform germs was performed at the same time. Increasing positiveness of the response to Mastitis test-NK was found to be accompanied by an almost proportionate increase of the total lactate dehydrogenase activity level in milk serum. The bacteriological finding was not correlated with increasing positiveness of the response to Mastitis test-NK. New aspects of various diseases of the mammary gland and the possibility to diagnose mainly the latent stages of these diseases are analysed in a discussion.

milk serum; optical test; lactate dehydrogenase level; bacteriological finding

KOVÁČ J., BESEDA I. (Staatliches Veterinärinstitut, Zvolen; Anstalt für Physiologie landwirtschaftlicher Nutztier der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Ivanka a. d. Donau, Tschechoslowakei). *Aktivität der Laktatdehydrogenase im Milchserum von Kühen im Zusammenhang mit der Positivität des Mastitis-NK-Testes*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 483-487, 1975.

Es wurde das Niveau der Gesamtaktivität der Laktatdehydrogenase im Milchserum von Kühen in Gesamtheiten von Milchmengen aus den einzelnen Eutervierteln mit unterschiedlichem Grad der Positivität des Mastitis-NK-Testes verfolgt. Gleichzeitig wurden bakteriologische Tests auf *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* und auf coliforme Erreger durchgeführt. Es wurde festgestellt, daß sich mit der sich erhöhenden Positivität des Mastitis-NK-Testes fast proportionell das Niveau der Gesamtaktivität der Laktatdehydrogenase im Milchserum erhöhte. Der bakteriologische Befund korrelierte mit der sich erhöhenden Mastitis-NK-Testpositivität nicht. Auf Grund der erlangten Ergebnisse werden in der Diskussion neue Aspekte in bezug auf verschiedene Erkrankungen der Milchdrüse und Möglichkeiten der Enthüllung hauptsächlich latenter Stadien dieser Erkrankungen erörtert.

Milchserum; optischer Test; Laktatdehydrogenasen-Niveau; bakteriologischer Befund

Adresa autorů:

Ing. Ján Kováč, Štátny veterinárny ústav, 960 86 Zvolen

Ing. Imrich Beseda, CSc., SAV - Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Ivanka pri Dunaji, laboratórium Zvolen, 960 86 Zvolen

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 9 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

budou uveřejněny následující články:

- E. Kudláč, K. Bechyně, B. Kapoun: Koncepční schopnost raně připouštěných jalovic českého strakatého a nížinného černostrakatého skotu a jejich kříženců
- E. Kudláč, K. Bechyně, B. Kapoun: Reprodukční výkonnost a mléčná užitkovost krav některých plemen skotu ve vztahu k jejich věku při prvním porodu
- J. Kozumplík: Vliv úrovně hygieny ošetřování plemeníků a techniky odběru semene na počty zárodků v ejakulátu kance
- J. Váradý, K. Boda, J. Tomáš: Vplyv hladiny amínodusíka v bachore na pasáž dusíka do izolovaného bachora oviec
- J. Říha, M. Hradil, O. Svoboda: Ekonomická problematika tlumení virové gastroenteritidy prasat
- J. Rajčáni, J. Matis, B. Styk, M. Bystřická, A. Sabó, L. Hána: Příprava prasačieho IgA a jeho detekcia metódou fluorescenčných protilátok
- J. Zakopal, L. Pour: Influenza koní v ČSSR při epizootii r. 1973
- D. Šimková, K. Boda: Hmotnostné prírastky krýs po injekcii aurothioglukózy

AKTIVITA NĚKTERÝCH SÉROVÝCH ENZYMŮ U TELAT S NUTRIČNÍ SVALOVOU DYSTROFIÍ

J. Kursa

Vysoká škola zemědělská v Praze, provozně ekonomická fakulta, České Budějovice

KURSA J. Aktivita některých sérových enzymů u telat s nutriční svalovou dystrofií. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 489-494, 1975.

Práce uvádí nálezy aktivity aminotransferázy asparagátu (GOT) a alaninu (GPT), laktátdehydrogenázy (LDH), alkalické fosfatázy (AF) a aldolázy (ALD) v krevním séru telat vyšetřovaných v souvislosti s nutriční svalovou dystrofií (NSD) — „white muscle disease“. Opakovaná hromadná nemocnost byla zjišťována v různých zemědělských závodech u telat vykrmovaných mléčnou krmnou směsí, postrádající v receptuře vitamín E. Ve srovnání s klinicky zdravými telaty, která přijímala krmnou směs s vitamínem E, klesla alkalická fosfatáza u telat s klinickou formou NSD ze $32,3 \pm 7,6$ j. K. A. na $15,1 \pm 8,2$ j. K. A. Aktivita ALD, GOT, GPT a LDH se naopak statisticky významně zvýšily. Akutní a subakutní průběh choroby vyvolal vzestup ALD ze $4,2 \pm 1,1 \mu\text{mol}$ ($= 70,0 \pm 17,0$ m. j.) na $9,7 \pm 2,1 \mu\text{mol}$ ($= 163,0 \pm 33,2$ m. j.), GOT z $0,9 \pm 0,5 \mu\text{mol}$ ($= 68,0 \pm 5,8$ m. j.) na $16,7 \pm 11,7 \mu\text{mol}$ ($= 567,0 \pm 40,0$ m. j.), GPT z $0,2 \pm 0,8 \mu\text{mol}$ ($= 5,0 \pm 12,4$ m. j.) na $9,8 \pm 2,8 \mu\text{mol}$ ($= 330,0 \pm 40,4$ m. j.), LDH ze $46,1 \pm 5,4 \mu\text{mol}$ ($= 765,0 \pm 40,0$ m. j.) na $72,7 \pm 24,3 \mu\text{mol}$ ($= 1207,0 \pm 403,0$ m. j.). V chovech postižených NSD vykázala podobné výkyvy aktivity enzymů i telata, u kterých se neprojevovaly klinické příznaky onemocnění. Z pokusů vyplývá, že vyšetřování sérových enzymů přináší průkaz klinických i preklinických forem nutriční svalové dystrofie a že je lze zařadit do profilových testů pro diagnostiku onemocnění u telat. Signifikantní rozdíly u všech telat postižených chovů rovněž prokazují, že onemocněním jsou ohrožena všechna zvířata ve stádě, která jsou krmena deficitní směsí.

telata; výkrm mléčnými náhražkami; nutriční svalová dystrofie; diagnostika; enzymy v krevním séru; vitamín E

V posledních dvaceti letech se vyšetřování enzymatických aktivit stalo běžnou součástí výzkumných prací o nutriční svalové dystrofii (NSD), „choroby bílých svalů“. Tento vývoj těžší ze změn plazmatických enzymů, ke kterým v průběhu svalových onemocnění dochází. Určování jejich aktivit, znamenající podstatné obohacení diagnostických možností NSD, je věnována častá pozornost. V československých podmínkách byly získány konkrétní poznatky při studiu onemocnění u mladého skotu a u telat (Vrzgula aj., 1972; Kurs a, 1969, 1971, 1973, 1974, 1975). Získané zkušenosti vyústily v záměr využít další spontánní případy NSD — tentokrát u telat na mléčném výkrmu — k tomu, abychom objasnili vývoj enzymatických změn a určili jejich diagnostický přínos. Práce uvádí dílčí výsledky výzkumu, který se uskutečňuje za finanční podpory České státní pojišťovny v Českých Budějovicích z prostředků určených k zábraně škod v živočišné výrobě.

MATERIÁL A METODA

Aktivitu enzymů jsme sledovali po dobu výzkumu terénního výskytu NSD u výkrmových telat. Vyšetřovali jsme krevní vzorky tří souborů telat. Podmínky pokusu jsme podrobněji popsali v předchozím sdělení (Kursa a Kroupová, 1974).

Soubor A tvořila telata z jihočeských zemědělských závodů, jedinci s různě vyjádřenými klinickými příznaky NSD, ve věku dva až čtrnáct týdnů. Byla krmena mléčnou krmnou směsí Biosan 20 ve standardním složení podle receptury platné v letech 1969 až 1971. Enzymologicky byli vyšetřováni kliničtí pacienti, kteří onemocněli v různých fázích výkrmu. Počty sledovaných telat jsou uvedeny v tab. I.

Změny aktivity enzymů v krevním séru telat s NSD (soubor A), telat klinicky zdravých (soubor B) a telat z chovů s výskytem NSD (soubor C)

Enzym	Soubor A NSD			Statistická významnost A : B	Soubor B klinicky zdravá			Statistická významnost B : C	Soubor C preklinická forma NSD		
	n	$\bar{x}$	s_x		n	$\bar{x}$	s_x		n	$\bar{x}$	s_x
GOT μmol	55	16,7	11,7	++	24	0,9	0,5	++	62	5,6	7,8
GPT μmol	46	9,8	12,8	++	24	0,2	0,8	++	62	2,1	2,9
AF j. K. A	47	15,1	8,2	++	24	32,3	7,6	++	61	22,0	12,7
ALD μmol	56	9,7	2,1	++	24	4,2	1,1	++	38	8,8	2,7
LDH μmol	39	72,7	24,3	++	24	46,1	5,4	++	31	60,0	17,4

V souboru B byla kontrolní telata, klinicky zdravá, z nutričního pokusu ověřujícího vliv doplňku vitamínu E (Biosan 20 + vitamín E) na zdravotní stav a přírůstky (Kursa aj., 1971). Vyšetřena byla séra 24 kusů. Krev jsme odebírali na konci výkrmu před jatečným vyskladněním, kdy se věk telat pohyboval mezi 13 až 14 týdny.

Do souboru C byla zařazena námatkově vybraná telata bez klinických příznaků, ze stejných chovů a skupin jako jedinci souboru A, u kterých při výskytu onemocnění v chovu nebyly pozorovány klinické projevy choroby. Také věkově odpovídá tato skupina souboru A (stáří 2–14 týdnů, 60 % telat bylo vyšetřováno ve věku 6–14 týdnů). Počet analýz je vyjádřen v tab. I.

Aktivitu enzymů aminotransferázy asparagátu (2.6.1.1) – GOT a alaninu (2.6.1.2) – GPT v čerstvém krevním séru jsme vyšetřovali podle modifikované metody Reitmana a Frankela (1957) s použitím standardů Sevac. Při vysokých aktivitách bylo krevní sérum postupně ředěno podle metody navržené Maděrovou a Neumanem (1960). Hodnoty GOT a GPT jsou uváděny v mikromolech pyrohroznanu, resp. oxalacetátu (1 ml séra, 40 °C, 1 hod.). Dehydrogenáza mléčnanu (1.1.1.27), laktátdehydrogenáza – LDH – byla zjišťována metodou podle Ševely a Továrka (Homolka, 1969), fosforylázou monoesterů kyseliny fosforečné (3.1.3.1), alkalická fosfatáza – AF metodou podle Kinga (Homolka, 1956), fruktózo-1,6-difosfát D-glycer-aldehyd-3-fosfátlyáza, aldoláza – ALD – metodou Sibley-Lehninger (Pojer aj., 1968). Hodnoty AF vyjadřujeme v King-Armstrongových jednotkách (j.K.A.), aktivitu ALD v μmolech .

Laboratorní nálezy byly statisticky zhodnoceny běžnými metodami variační statistiky. Statistická významnost rozdílů mezi testovanými skupinami je pro $P < 0,01$ označena ++, pro $P < 0,05$ +.

VÝSLEDKY

Vývoj enzymemie v průběhu NSD u telat na mléčném výkrmu (tab. I) je charakterizován statisticky vysoce významnou elevací GOT, GPT, LDH a ALD. Opačným způsobem reagovala AF, která se statisticky významně snižovala.

Stupně změn u terénních případů klinických forem NSD byly u jednotlivých enzymů odlišné. Individuálně zřejmé rozdíly se odrážejí i v průměrech souborů. Podle statistické významnosti rozdílů sérové aktivity enzymů mezi telaty s klinicky vyjádřeným průběhem choroby a mezi souborem telat klinicky zdravých (soubor B, Biosan 20 + vitamín E) se jevil nejprůkazněji vzestup ALD (t skutečně 12,23) a pokles AF (t 8,48). Přibližně stejně jako GOT (t 6,56) se zvyšovala LDH (t 5,26). Relativně nejnižší, ale statisticky rovněž vysoce signifikantní rozdíl poskytla GPT (t 3,69).

Z nálezů dále vyplývá, že ve srovnání se zvířaty zdravými (soubor B) byly rovněž stanoveny rozdíly ve vzorcích sér telat souboru C (zvířata z chovů s výskytem NSD, bez klinických symptomů). U těchto bezpříznakových forem „choroby bílých svalů“ jsme v reaktivitě enzymů, posuzováno podle statistické významnosti rozdílů mezi souborem B a C, zjistili pořadí: LDH, GOT, ALD, AF a GPT.

DISKUSE

Pokusy byly založeny na známých zkušenostech, že průběh akutních myopatií je provázen dysenzymemiemi. Vznikají změnami ve svalech, poškozených patologickými procesy.

Z nálezů u klinicky zdravých zvířat (soubor B) zaslouží pozornosti relativně nízké hodnoty aminotransferáz, zejména GOT. Jsou významně nižší než zjistili Blincoe a Dye (1958), rovněž Mičan a Bouška (1973) uvádějí u zdravých telat na mléčné krmné směsi vyšší aktivitu GOT a GPT.

Rozdíly v aktivitách sérových enzymů mezi soubory A a C je možné považovat za významné. Shodují se s údaji zahraničních autorů, kteří studovali NSD u mladého skotu a u telat (Oksanen, 1965; Töllerstrud, 1963); van Gils a Zayed, 1966). Jsou rovněž souhlasné s citovanými poznatky, získanými při vyšetřování NSD v ČSSR a ověřují využitelnost předloženého enzymatického vzorce pro podporu klinické diagnózy. Relativně vysoká variabilita enzymatických aktivit u skupin A a C, vyjádřená ve variačním rozpětí, je zřejmě ovlivněna tím, že laboratorní šetření proběhla v různých stádiích nemoci, takže podle stáří a povahy chorobného procesu ve svalech (Kursa aj., 1974) odrážejí různé fáze narůstající, vrcholící, popřípadě klesající enzymemie. I při těchto časových závislostech, které enzymatická diagnostika běžně respektuje, vystupují mezi soubory zřetelné rozdíly, které mají praktický význam.

Z hlediska současné koncepce ochrany chovů pokládáme za přínos, že změny v enzymemii provázejí nejen klinicky manifestní formy NSD, ale že ve stádech postižených „chorobou bílých svalů“ dochází k odchyl-

kám u značných počtů jedinců, kteří jsou dosud bez příznaků. Z výsledků srovnatelných s nálezy Lagaceho aj. (1961), Vrzguly aj. (1972) a potvrzujících naše předchozí zkušenosti lze vyvodit závěry o existenci latentních forem NSD, považovaných za premorfologická stadia onemocnění. Domníváme se, že tento poznatek může přispět k prohloubení i rozšíření biochemických analýz pro včasnou diagnostiku poruch zdravotního stavu skotu ve velkochovech.

Vzestup aktivity ALD a LDH, který zjišťujeme u telat s NSD i u preklinických forem, jsou srovnatelné se závěry Grüna a Reinische (1972). Autoři považují elevaci obou enzymů u telat přijímajících mléčné krmné směsi za důsledek účinku vysokého podílu nenasycených mastných kyselin v dietě, protože zjistili pozitivní korelaci mezi peroxidovým číslem směsi a křivkou enzymemie ALD a LDH.

Stejně jako v průběhu NSD u mladého skotu, došlo i u nemocných telat ke změnám v aktivitě AF. Pokles aktivity enzymu, související pravděpodobně se sníženou činností svalů při omezené lokomoci nemocných pacientů, je cenné vodítko, umožňující vyloučení osteopatií (Vrzgula aj. 1972).

Vyšetřování aktivity některých enzymů v krevním séru telat s NSD ukázala, že reagují na akutně probíhající procesy ve svalech, zejména v jejich úvodních stadiích a že mohou významně přispět k bezpečnější klinické orientaci. Rovněž je možné konstatovat, že složitost otázky praktické interpretace nálezu lze řešit současným stanovením několika enzymů a opakováním zkoušek.

K prohloubení poznatků je třeba, aby další výzkum věnoval pozornost enzymům, jejichž vysoký obsah v kosterní svalovině určuje jejich orgánovou specifitu; je žádoucí sledovat, jak průběh NSD mění aktivitu izoenzymů, a vytvořit tak předpoklady k podrobnějšímu postihnutí dynamiky změn.

Literatura

- BLINCOE, C. — DYE, W. B.: Serum transaminase in white muscle disease. *J. Anim. Sci.*, 17, 1958, s. 224-226.
- GILS, J. H. J. van — ZAYED, I.: Myodegeneration in Frisian beef calves. I. Experimental production of myodegeneration in newborn calves fed on alfa-tocopherol-deficient synthetic milk diet. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 91, 1966, s. 1375-1421.
- GRÜN, E. — REINISCH, P.: Der Einfluss von Aufzuchtpräparaten auf das Verhalten einiger Serumenzymen bei Kälbern. *Arch. Tierernährung*, 22, 1972, s. 323-346.
- HOMOLKA, J.: Chemická diagnostika v dětském věku. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1956.
- HOMOLKA, J.: Klinické biochemické vyšetřovací metody s použitím mikro- a ultramikroanalýzy. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1969.
- KURSA, J.: Nutriční svalová degenerace u mladého skotu v distriktu Šumavy. *Vet. Med. (Praha)*, 14, 1969, č. 10, s. 549-559.
- KURSA, J.: Nutriční svalová degenerace skotu. 1. Terapie Selevitem inj. pro usu vet. Veterinaria Spofa, 13, 1971, s. 99-118.
- KURSA, J.: Nutriční svalová degenerace skotu. 2. Combinat E a Selevit inj. v prevenci chorob u mladého skotu. *Veterinaria Spofa*, 14, 1972, s. 103-117.
- KURSA, J.: Nutriční svalová dystrofie skotu. 5. Aktivita sérových enzymů GOT a GPT v průběhu „choroby bílých svalů“ u mladého skotu. *Veterinaria Spofa*, 15, 1973, s. 457-473.
- KURSA, J.: Klinický a klinicko-laboratorní obraz nutriční svalové dystrofie u telat na mléčném výkrmu. [Dílčí závěrečná zpráva č. 2 v. ú. č. C-11-333-009-02-07.] České Budějovice, VŠZ, PEF 1974.

- KURSA, J.: Nutriční svalová dystrofie u skotu. 6. Aktivita sérových enzymů: alkalické fosfatázy, laktátdehydrogenázy a kreatinfosfokinázy v průběhu „choroby bílých svalů“ u mladého skotu. Veterinaria Spofa, 16, 1975 (v tisku).
- KURSA, J. — TESAŘÍK, L.: Výsledky některých klinicko-laboratorních vyšetření a názory na etiologii nutriční svalové degenerace u telat na mléčném výkrmu. Veterinářství, 21, 1971, s. 122-125.
- KURSA, J. — JANÁK, J. — HLACH, L. — KUČTA, F. — GRUNT, Z.: Výsledky nutričního pokusu s mléčným výkrmem telat krmnou směsí Biosan 20 s doplňkem vitamínu E. Veterinářství, 21, 1971, s. 559-562.
- KURSA, J. — KROUPOVÁ, V.: Změny fragility erytrocytů v průběhu nutriční svalové dystrofie u telat. Vet. Med. (Praha), 19, 1974, č. 8, s. 473-480.
- KURSA, J. — LÁVIČKA, M. — VÍTOVEC, J.: Postmortale Befunde bei der enzootischen Muskeldystrophie des Rindes. Mnthft. Vet. Med., 29, 1974, s. 335-340.
- LAGACE, A. — BELL, D. S. — MAXON, A. L. — POUNDEN, W. D.: Serum transaminase in the blood of lambs given preventive treatment for white muscle disease. Am. J. vet. Res., 22, 1961, s. 686-688.
- MADĚROVÁ, V. — NEUMAN, V.: Transamináza kyseliny glutamové-oxalacetové v krevním séru klinicky zdravých koní. Vet. Med. (Praha), 5, 1960, č. 6, s. 423-432.
- MIČAN, O. — BOUŠKA, J.: Vliv zkrmování enzymaticky hydrolyzované pšeničné mouky v mléčné krmné směsi Telexan na některé biochemické a hematologické ukazatele v krvi telat. Biologizace Chem. Výž. Zvíř., 8, 1973, s. 251-264.
- OKSANEN, H. E.: Studies on nutritional muscular degeneration (NMD) in ruminants. Vammalan Kirjapaino, Vammala 1965.
- POJER, J. — NINGER, E. — ŠEVELA, M. — TOVÁREK, J.: Enzymologie srdečního infarktu. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1968.
- REITMAN, S. — FRANKEL, S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am. J. clin. Path., 28, 1957, s. 56-63.
- TÖLLERSRUD, A. S.: Ernaeringsbetinget muskeldystrofi hos kalv. Nord. VetMed., 15, 1963, s. 543-551.
- VRZGULA, L. — AUGUSTINSKÝ, V. — ŠULÍK, F. — DROBČO, J. — CHYLA, M. — KONRÁD, V.: První hromadný výskyt nutriční svalové degenerace u mladého hovězího dobytka na Slovensku. Veterinářství, 22, 1972, s. 56-60.

Došlo dne 21. 1. 1975

КУРСА Й. (Сельскохозяйственный институт, Чешске Будейовице, Чехословакия). Активность некоторых сывороточных ферментов у телят, страдающих беломышечной болезнью. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 489-494, 1975.

В работе приводятся диагнозы активности аминотрансферазы аспарагата (GOT) и аланина (GPT), лактатдеhydroгеназы (LDH), щелочной фосфатазы (AF) и альдолазы (ALD) в кровяной сыворотке телят, исследованных на беломышечную болезнь (NSD). Повторная массовая заболеваемость установлена в разных с/х предприятиях, где телят откармливают на молочном комбикорме, не содержащем в рецептуре витамина Е. По сравнению с клинически здоровыми телятами, получающими комбикорм с вит. Е, у телят с клинической формой NSD щелочная фосфатаза понижалась с $32,3 \pm 7,6$ ед. К. А. до $15,1 \pm 8,2$ ед. К. А. Активность ALD, GOT, GPT, LDH, наоборот, статистически значимо возросла. Острая и смягченная формы болезни вызывают рост ALD с $4,2 \pm 1,1$ $\mu\text{моль}$ (= $70,0 \pm 17,0$ м. ед.) до $9,7 \pm 2,1$ $\mu\text{моль}$ (= $163,0 \pm 33,2$ м. ед.), GOT с $0,9 \pm 0,5$ $\mu\text{моль}$ (= $68,0 \pm 5,8$ м. ед.) до $16,7 \pm 11,7$ $\mu\text{моль}$ (= $567,0 \pm 40,0$ м. ед.), GPT с $0,2 \pm 0,8$ $\mu\text{моль}$ (= $5,0 \pm 12,4$ м. ед.) до $9,8 \pm 2,8$ $\mu\text{моль}$ (= $330,0 \pm 40,4$ м. ед.), LDH с $46,1 \pm 5,4$ $\mu\text{моль}$ (= $765,0 \pm 40,0$ м. ед.) до $72,7 \pm 24,3$ $\mu\text{моль}$ (= $1207,0 \pm 403,0$ м. ед.). В разведениях, пораженных NSD, подобные отклонения от активности ферментов обнаружены и у телят без клинических признаков заболевания. Опыты показывают, что исследования сывороточных ферментов дают доказательства о клинических и доклинических формах беломышечной болезни, ввиду чего их можно включить в профильные тесты по диагностированию заболеваний у телят. Также значимые различия у всех телят из пораженных разведений показывают, что болезнь угрожает всем животным стада, откармливаемым на дефицитном комбикорме.

телята; откорм на молокозаместителях; беломышечная болезнь; диагностика; ферменты в сыворотке крови; витамин Е

KURSA J. (University of Agriculture, České Budějovice, Czechoslovakia). *The Activity of Some Serum Enzymes in Calves Suffering from White-Muscle Disease*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 489-494, 1975.

The paper described the findings of the activity of aspartate amino transferase (GOT) and alanine amino transferase (GPT), lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (AP), and aldolase in the blood serum of calves examined for white-muscle disease (WMD). Relapsing mass occurrence of the disease was reported from various agricultural enterprises where calves were fed a milk replacer without vitamin E. In comparison with clinically healthy calves fed a feed mixture with vitamin E, calves suffering from the clinical form of WMD showed an alkaline phosphatase level decrease from 32.3 ± 7.6 u. K. A. to 15.1 ± 8.2 u. K. A. On the other hand, the activities of ALD, GOT, GPT, and LDH showed a statistically significant increase. The acute and subacute course of the disease increased enzyme activities as follows: ALD from 4.2 ± 1.1 μmol ($= 70.0 \pm 17.0$ i. u.) to 9.7 ± 2.1 μmol ($= 163.0 \pm 33.2$ i. u.), GOT from 0.9 ± 0.5 μmol ($= 68.0 \pm 5.8$ i. u.) to 16.7 ± 11.7 μmol ($= 567.0 \pm 40.0$ i. u.), GPT from 0.2 ± 0.8 μmol ($= 5.0 \pm 12.4$ i. u.) to 9.8 ± 2.8 μmol ($= 330.0 \pm 40.4$ i. u.), LDH from 46.1 ± 5.4 μmol ($= 765.0 \pm 40.0$ i. u.) to 72.7 ± 24.3 μmol ($= 1,207.0 \pm 403.0$ i. u.). In WMD-affected herds, similar enzyme activity fluctuations were observed even in calves showing no clinical signs of the disease. It follows from the study that the examination of serum enzymes provides a method to demonstrate the clinical and pre-clinical forms of white-muscle disease and that it can be included in the set of tests for the diagnosis of diseases in calves. The significant differences in all calves in the affected herds show that the disease is a danger to all animals in the herd fed a deficient mixture.

calves; milk replacer fattening; white-muscle disease; diagnosis; enzymes in blood serum; vitamin E

KURSA J. (Hochschule für Landwirtschaft, České Budějovice, Tschechoslowakei). *Aktivität einiger Serumenzyme bei Kälbern mit nutritioneller Muskeldystrophie*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 489-494, 1975.

Die Arbeit führt Befunde an über die Aktivität der Aspartat-(GOT)- und Alanin-(GPT)-Aminotransferasen, der Laktatdehydrogenase (LDH), der Alkaliphosphatase (AF) und der Aldolase (ALD) im Blutserum von Kälbern, die im Zusammenhang mit der nutritionellen Muskeldystrophie (NMD) — white muscle disease — untersucht wurden. Eine wiederholte massenweise Morbidität wurde in verschiedenen landwirtschaftlichen Betrieben bei Kälbern festgestellt, die mit einer Milchkümmischung gefüttert wurden, welche Mangel an Vitamin E aufwies. Im Vergleich zu klinisch gesunden Kälbern, denen das Mischfutter verabreicht mit Vitamin E wurde, verringerte sich die Alkaliphosphatase bei Kälbern mit klinischer nutritioneller Muskeldystrophie von $32,3 \pm 7,6$ K.-A.-Einheiten auf $15,1 \pm 8,2$ K.-A.-Einheiten. Die Aktivitäten von ALD, GOT, GPT und LDH erhöhten sich dagegen statistisch signifikant. Der akute und subakute Verlauf der Krankheit verursachte eine Erhöhung der ALD von $4,2 \pm 1,1$ μmol ($= 70,0 \pm 17,0$ I. E.) auf $9,7 \pm 2,1$ μmol ($= 163,0 \pm 33,2$ I. E.), der GOT von $0,9 \pm 0,5$ μmol ($= 68,0 \pm 5,8$ I. E.) auf $16,7 \pm 11,7$ μmol ($= 567,0 \pm 40,0$ I. E.), der GPT von $0,2 \pm 0,8$ μmol ($= 5,0 \pm 12,4$ I. E.) auf $9,8 \pm 2,8$ μmol ($= 330,0 \pm 40,4$ I. E.) und der LDH von $46,1 \pm 5,4$ μmol ($= 765,0 \pm 40,0$ I. E.) auf $72,7 \pm 24,3$ μmol ($= 1207,0 \pm 403,0$ I. E.). In den mit der nutritionellen Muskeldystrophie betroffenen Zuchten wiesen ähnliche Schwankungen der Enzymaktivität auch Kälber auf, bei denen sich keine klinischen Erkrankungssymptome zeigten. Aus den Versuchen geht hervor, daß die Untersuchung der Serumenzyme den Nachweis klinischer und präklinischer Formen der nutritionellen Muskeldystrophie ergibt und daß man ihn in die Profilteste zur Diagnostik der Krankheit bei Kälbern einreihen kann. Die signifikanten Unterschiede bei allen Kälbern der betroffenen Zuchten zeugen davon, daß durch die Krankheit alle Tiere in der Herde gefährdet sind, die mit einem defizientem Mischfutter gefüttert werden.

Kälber; Mast mit Milchersatzfuttermitteln; nutritionelle Muskeldystrophie; Diagnostik; Blutserum-Enzyme; Vitamin E

Adresa autora:

MVDr. J. Kurša, CSc., Vysoká škola zemědělská, provozně ekonomická fakulta, Sinkuleho 5, 370 05 České Budějovice

ELEKTROFORETICKÉ VLASTNOSTI ARYLAMIDÁZ Z NIEKTORÝCH ORGÁNOV HOVÄDZIEHO DOBYTKA

J. Blahovec, A. Šamo

Vysoká škola veterinárska, Košice

BLAHOVEC J., ŠAMO A. *Elektroforetické vlastnosti arylamidáz z niektorých orgánov hovädzieho dobytku*. Vet. Med. (Praha) 20 (8) : 495-500, 1975.

Agarovou elektroforézou sme sledovali homogenitu arylamidázových enzýmov v rozpustných frakciách homogenátov pečene, obličky, srdca, sleziny, mozgu, pankreasu, svalu a v sére. Enzymatickú aktivitu sme stanovovali k chromogénnym substrátom L-leucyl- a L-lyzyl-p-nitroanilidom. Vo všetkých prípadoch sme po elektroforéze našli najmenej dve enzymaticky aktívne zóny s rôznou elektroforetickou mobilitou a nerovnakou aktivitou k oboom použitým substrátom. agarová elektroforéza; tkanivové arylamidázy

Aminopeptidázy hydrolyzujúce chromogénne substráty sú široko rozšírené v rôznych tkanivách a telových tekutinách rozličných druhov zvierat. V našich predchádzajúcich prácach sme sa zaoberali subcelulárnou distribúciou týchto enzýmov (Bartík a Blahovec, 1971), ich zastúpením v rôznych orgánoch sliepok (Blahovec a i., 1971), v hovädzích orgánoch (Bartík a i., 1972) a elektroforetickou heterogenitou arylamidáz krvného séra ošipáných, oviec a hovädzieho dobytku (Šamo a Bartík, 1972). Mnoho ďalších literárnych údajov hovorí o elektroforetických vlastnostiach sérových arylamidáz predovšetkým u ľudí (Kowlessar a i., 1960, Smith a Ruttenburg, 1963), ako aj o rôznych molekulárnych formách týchto enzýmov v niektorých ľudských orgánoch (Beckman a i., 1966, Smith a Ruttenburg, 1966).

Predkladaná práca, nadväzujúc na naše predošlé experimentálne správy, pojednáva o elektroforetických diferentných vlastnostiach týchto enzýmov v niektorých tkanivách hovädzieho dobytku, znalosť čoho je základným predpokladom na usudzovanie zdroja sérových enzýmov pri rôznych poškodeniach vnútorných orgánov.

MATERIÁL A METÓDY

Čerstvé hovädzie orgány a sérum sme získali z piatich kusov klinicky zdravých zvierat z bitútku. V experimentoch sme pracovali s týmito orgánmi: pečeň, obličky, srdce, slezina, mozog, pankreas a sval. Materiál až do spracovania bol uskladnený v ľadničke pri 0-4 °C.

K stanoveniu enzymatickej aktivity jednotlivých frakcií sme použili chromogénne substráty L-leucyl-p-nitroanilid a L-lyzyl-p-nitroanilid o výslednej koncentrácii $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$. Preparáty boli syntetizované ing. Kasafírkom, CSc., z Ústavu pre farmáciu a biochémiu v Prahe. Agar použitý pre elektroforézu bol od fy. Difco Lab. Det. Michigan. Ostatné chemikálie boli tuzemskej výroby o čistote p. a. Pre meranie pH sme používali pH meter (Radiometer) so sklenenou a štandardnou kalomelovou elektródou.

PRÍPRAVA TKANIVOVÝCH EXTRAKTOV

Rovnaké váhové diely každého orgánu z piatich zvierat boli spojené a homogenizované nožovým homogenizátorom v 4násobnom objeme $5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ Tris/HCl pufru o pH 7.1 po dobu 60 s. Supernatantné frakcie sme pripravili centrifugáciou homogenátov pri 106 000 g po dobu 60 minút pri 2°C na preparatívnej ultracentrifúge VAC 60 Janetzki. Extrakty po centrifugácii sme odobrali injekčnou striekačkou a až do použitia skladovali pri -20°C .

KONCENTROVANIE SUPERNATANTNÝCH FRAKCIÍ

Obsah solubilných bielkovín v supernatantných frakciách asi 20percentných homogenátov jednotlivých orgánov sa pohyboval v rozmedzí od 1,5 až 4,0 % (bielkovinný dusík stanovený mikrojeldalizáciou). Aby výsledky elektroforetického delenia boli čo najviac vzájomne porovnateľné, boli jednotlivé vzorky zahustené spôsobom, ktorý popísal Dechary a i. (1969), na výslednú koncentráciu, odpovedajúcu zastúpeniu bielkovín v krvnom sére (okolo 6–7 %). Zahustenie bolo prevádzané použitím Sephadexu G-25, ktorý po absorpcii homogenizačného média bol odstránený v reverzibilnom filtračnom zariadení centrifugáciou pri 150–200 g po dobu 10 až 15 minút.

AGAROVÁ ELEKTROFORÉZA

Krvné sérum a zahustené supernatantné frakcie homogenátov jednotlivých orgánov sme delili elektroforézou na agare spôsobom popísaným v predchádzajúcej správe (Šamo a Bartík, 1972). Separácia bola prevedená za chladu na platni 1,5 % purifikovaného agaru, pri deliacom napätí 5 V/cm a prúdovej hustote 2 mA/cm. Pre elektroforézu bol použitý Veronal citrátový pufer o pH 7,7 a iónovej sile $5 \cdot 10^{-2}$. Doba elektroforézy bola 2,5 h.

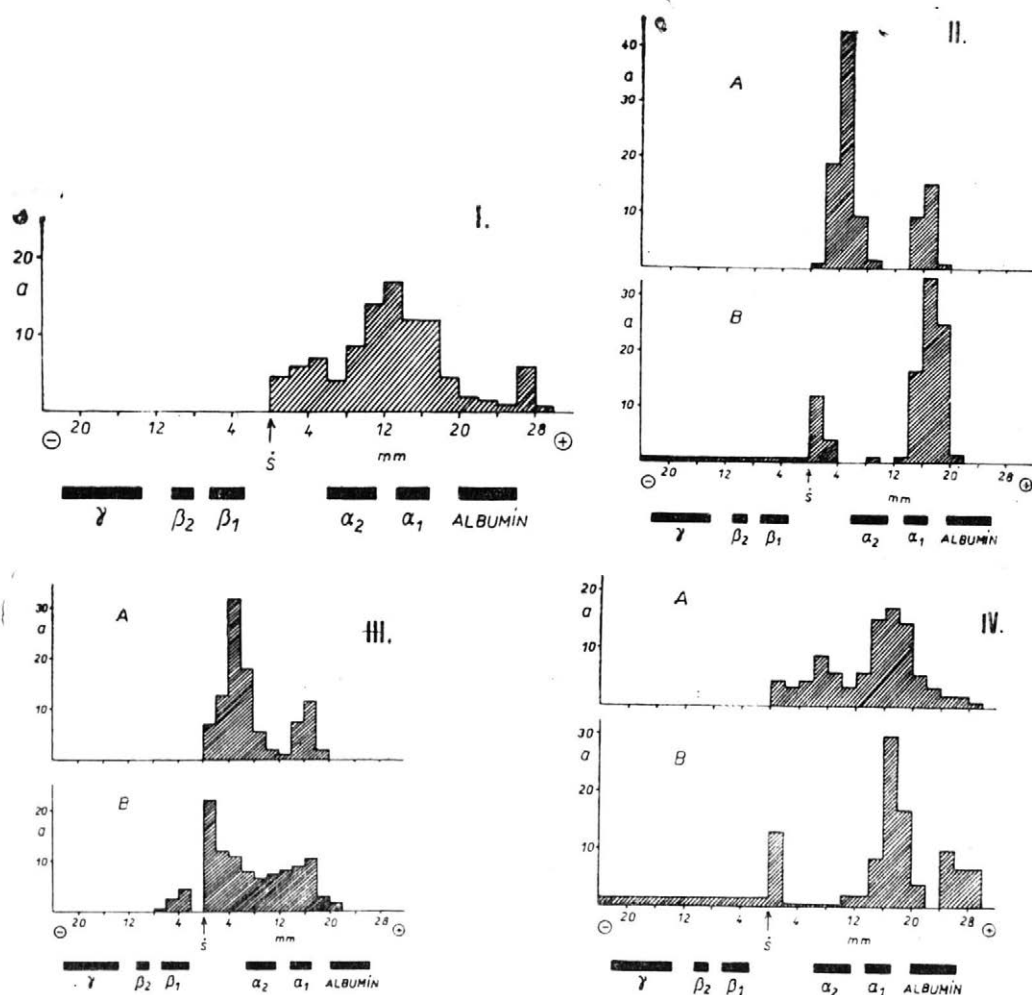
STANOVENIE ARYLAMIDÁZOVEJ AKTIVITY

V predbežných experimentoch sa ukázalo stanovenie enzymatickej aktivity priamo na platničke agaru (Šamo a Bartík, 1972) kopuláciou enzymaticky odštiepeného p-nitroanilínu pomocou Fast Garnet GBC ako neúspešné. Ani „sandwichová“ metóda nedávala žiaduce výsledky, pretože enzymatická zóna bola značne rozmazaná a málo intenzívna. Osvedčil sa nám nasledujúci spôsob stanovenia. Platňa agaru bola po elektroforéze porezaná v priečnom smere na 2 mm tenké pružky, ktoré

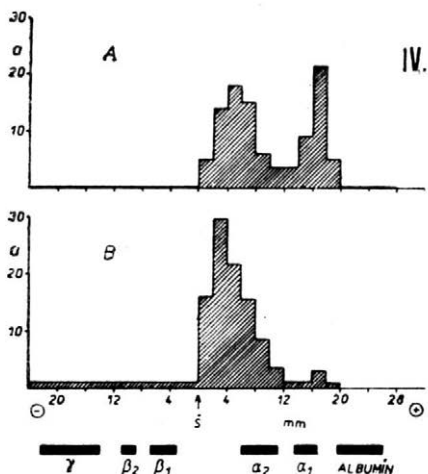
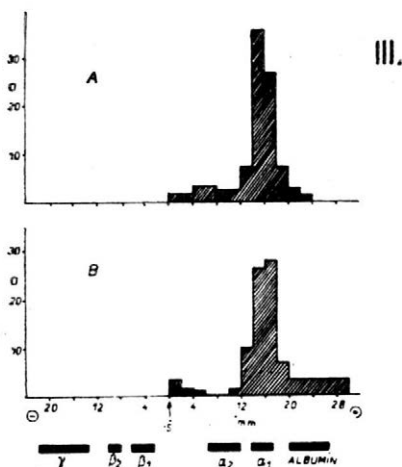
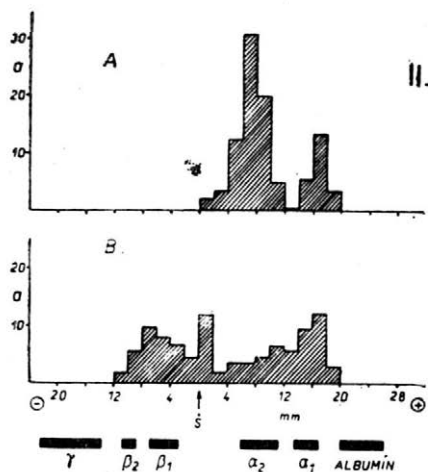
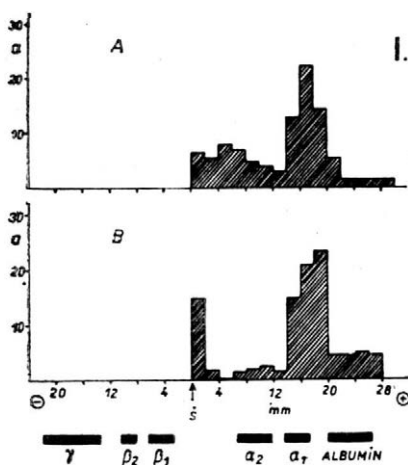
boli prenesené do malých kónických skúmaviek s 0,5 ml 10^{-1} M Tris/HCl pufru o pH 7,1 a 0,1 ml $5 \cdot 10^{-3}$ M substrátu. Po 24hodinovej inkubácii pri 37°C bola extinkcia odčítaná pri 400 nm na spektrálnom kolorimetri Spekol. Tento spôsob stanovenia aktivity umožňuje určiť enzymatickú aktivitu jednotlivých elektroforetických frakcií súčasne k viacerým substrátom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Naše elektroforetické štúdium orgánových a sérových enzýmov agarovou elektroforézou potvrdzuje nálezy iných autorov o polymorfizme enzymatického systému, zúčastňujúceho sa hydrolýzy aminokyselinových de-



1. Elektroforetická separácia arylamidázových enzýmov séra (I) a rozpustných frakcií homogenátov pečene (II), obličky (III) a srdca (IV). Elektroforéza sa robila v agarovom géli pri teplote $2-4^{\circ}\text{C}$ po dobu 150 minút. Enzymatická aktivita k L-lyzyl-p-nitroanilidu (A) a L-leucyl-p-nitroanilidu (B) je vyjadrená v percentách z celkovej aktivity (a). Čiernymi prúžkami je pre porovnanie znázornená lokalita sérových bielkovín. Š — miesto aplikácie vzorky



2. Elektroforetická separácia arylamidázových enzýmov v rozpustných frakciách homogenátov svalu (I), sleziny (II), mozgu (III) a pankreasu (IV). Podmienky delenia a význam jednotlivých symbolov ako u obr. 1

rivátov p-nitroanilínu, alebo β -naftylamínu. Výsledky experimentov predstavujúcich elektroforetické delenie zahustených supernatantných frakcií homogenátov jednotlivých orgánov sú uvedené na obr. 1 a 2.

Písmeno A značí aktivitu stanovenú k L-lyzyl-p-nitroanilidu, B predstavuje aktivitu určenú k L-leucyl-p-nitroanilidu. Pod každým zymogramom je pre porovnanie čiernymi prúžkami vyznačená lokalita sérových bielkovín. U prevažnej väčšiny tkanivových enzýmov sme po elektroforéze našli enzymaticky aktívnu frakciu s mobilitou, ktorá odpovedá α_1 , prípadne začiatku albumínovej frakcie. Enzým putujúci v tejto oblasti predstavoval u pečene a srdca k substrátu L-leucyl-p-nitroanilidu (obr. 1 – II a IV) a u svalu aj k L-lyzyl-p-nitroanilidu (obr. 2 – I) prevažnú časť z celkovej aktivity. V prípade supernatantu mozgu (obr. 2 – III) bola takmer celá aktivita k obom substrátom lokalizovaná v tejto frakcii.

U niektorých orgánov značná časť enzymatickej aktivity zostávala počas elektroforetického delenia vo frakciách s malou pohyblivosťou, pričom mobilita enzýmov hydrolyzujúcich L-leucyl-p-nitroanilid bola menšia ako pohyblivosť enzýmov štiepiacich L-lyzyl-p-nitroanilid (obr. 1 – II, III a obr. 2 – II). Menšia enzymaticky aktívna zóna k substrátu L-leucyl-p-nitroanilidu bola po elektroforéze nájdená v postalbumínovej oblasti u séra (obr. 1 – I) a enzýmov supernatantu srdca (obr. 1 – IV). U obličky malá časť aktivity k tomuto substrátu putovala aj na katódickú stranu (obr. 1 – III).

Literárne údaje týkajúce sa elektroforetických vlastností arylamidáz nachádzame hlavne v súvislosti so štúdiom týchto enzýmov za rôznych patologických stavov (Bartík a Blahovec, 1970, Šamo a Kačmár, 1975, Kačmár a Šamo, 1976). Práce pojednávajúce o enzýmoch prítomných v zdravých orgánoch a v sére väčšinou uvádzajú dve a viacej elektroforetické diferentných lokalít vykazujúcich enzymatickú aktivitu. Napr. Beckman a i. (1966) našli v ľudských tkanivových extraktoch z čreva, placenty, sleziny, srdca, pľúc, pečene a ľadvín po elektroforéze na škrobovom géli najmenej dve enzymaticky aktívne zóny. Podobné výsledky o posledných dvoch orgánoch sú uvádzané aj Rehfeldom a i. (1967) a Boivinom a i. (1970). Po použití tej istej elektroforézy našiel Monis (1965) dve enzymatické frakcie v koži, pečeni, tenkom čreve, prostate a v sére krysy.

Podobne aj z našich výsledkov je zrejmé, že orgánové arylamidázy u hovädzieho dobytku predstavujú heterogénny enzymatický systém, ktorého jednotlivé enzymatické frakcie sa vzájomne líšia rôznou elektroforetickou mobilitou, ako aj nerovnakou aktivitou k použitým substrátom. Môžeme konštatovať, že prevažná časť tkanivových bielkovín s enzymatickou aktivitou u všetkých orgánov putuje po agarovej elektroforéze na anodickú stranu. V niektorých prípadoch sa navyše vyskytuje elektroforetické diferentná, enzymaticky aktívna zóna s pohyblivosťou ku katóde.

Literatúra

- BARTÍK, M. — BLAHOVEC, J.: Enzymatická diagnostika a terapia. VIII. Použitie arylamidázových enzýmov v klinickej diagnostike niektorých chorôb. Veterinářství, 20, 1970, s. 264-269.
- BARTÍK, M. — BLAHOVEC, J.: Arylamidázová aktivita v pečeni a ľadvinách hovädzieho dobytku — rozdelenie aktivity v subcelulárnych frakciách. Vet. Med. (Praha), 16, 1971, č. 2, s. 91-98.
- BARTÍK, M. — ŠLESÁROVÁ, L. — BLAHOVEC, J.: Enzymatická diagnostika a terapia. IX. Arylamidázová aktivita v homogenátoch a v rozpustných bielkovinách niektorých orgánov hovädzieho dobytku. Veterinaria Spofa, 14, 1972, s. 59-72.
- BECKMAN, L. — BJÖRLING, G. — CHRISTODOULOU, C.: Multiple molecular forms of leucine aminopeptidase in man. Acta Genet. Statist. Med., 16, 1966, s. 223-230.
- BLAHOVEC, J. — BLAHOVCOVÁ, K. — BARTÍK, M.: Arylamidázová aktivita v niektorých orgánoch kurčiat. Vet. Med. (Praha), 16, 1971, č. 5, s. 319-327.
- BOIVIN, P. — FAUVERT, R. — HAKIM, J. — DASTUGUE, B. — TROUBE, H.: Formes multiples des bêta-naphtylamidases. „Isoenzymes“ de la „leucine-amino-peptidase“. Pathologie Biol., 18, 1970, s. 287-294.
- DECHARY, J. M. — MASON, A. C. F. — CARNEY, W. B.: Reversible apparatus for concentrating protein solutions by the Sephadex method. Analytical Biochem., 30, 1969, s. 142-143.
- KACHMÁR, P. — ŠAMO, A.: Dynamika zmien aktivity laktátdehydrogenázy, leucyl-arylamidázy a aminotransferázy GOT a GPT v krvnej plazme hydiny po poškodení organizmu kadmíom a tetrachlormetanom. Vet. Med. (Praha), 20, 1976, č. 1, v tlači.

KOWLESSAR, O. D. — HAEFFNER, L. J. — SLEISENGER, M. H.: Localization of leucine aminopeptidase in serum and body fluids by starch gel electrophoresis. J. clin. Invest., 39, 1960, s. 671-675.

MONIS, D.: Izoenzymes of arylamidase in the rat. Nature, 208, 1965, s. 587-588.

REHFELD, N. — PETERS, J. E. — BEIER, L. — HASCHEN, J. R.: Untersuchungen über Aminosäure-arylamidase. I. Verteilung und Isoenzyme der Aminosäure-Arylamidase im menschlichen Organismus. Acta biol. med. germ., 19, 1967, s. 809-818.

SMITH, E. E. — RUTENBURG, A. M.: Electrophoretic behaviour of an aminopeptidase of human tissues and serum. Nature, 197, 1963, s. 800-801.

SMITH, E. E. — RUTENBURG, A. M.: Starch gel electrophoresis of human tissue enzymes with hydrolyse L-leucyl- β -naphthylamide. Science, 152, 1966, s. 1256-1257.

ŠAMO, A. — BARTÍK, M.: Heterogenita arylamidáz štiepiacich L-leucyl-p-nitroanilid v krvných sérach hospodárskych zvierat. Vet. Med. (Praha), 17, 1972, č. 4, s. 243-248.

ŠAMO, A. — KAČMÁR, P.: Zmena aktivity LDH, leucylarylamidázy a ich izoenzymov u ošipáných pri toxickkej hepatitide. Folia vet., Košice, 1975, v tlači.

Došlo dne 26. 3. 1975

ЕЛАГОВЕЦ Й., ШАМО А. (Ветеринарный институт, Кошице, Чехословакия). Электрофоретические свойства ариламидаз в некоторых органах крупного рогатого скота. Vet. Med. (Praha) 20 (8): 495-500, 1975.

С помощью агарового электрофореза изучали гомогенность ариламидазных ферментов в растворимых фракциях гомогенатов печени, почек, сердца, селезенки, мозга, поджелудочной железы и сыворотки. Энзиматическую активность определяли у хромогенных субстратов Л-лейцил- и Л-лизил-п-нитроанилидов. Во всех случаях после электрофореза выявлены минимум 2 энзиматически активные зоны с разной электрофоретической подвижностью и разной активностью по отношению к обоим использованным субстратам.

агаровый электрофорез; тканевые ариламидазы

BLAHOVEC J., ŠAMO A. (University School of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). Electrophoretic Characteristics of Arylamidases from Some Organs of Cattle. Vet. Med. (Praha) 20 (8): 495-500, 1975.

Agar electrophoresis was employed to study the homogeneity of arylamidase enzymes in the soluble fractions of liver, kidney, heart, spleen, brain, pancreas, and muscle homogenates and in serum. Enzymatic activity was determined in relation to the L-leucyl- and L-lysyl-p-nitroanilide chromogenic substrates. In all cases, electrophoresis made it possible to find at least two active zones with different electrophoretic mobility and with different activity in relation to the two substrates used.

agar electrophoresis; tissue arylamidases

BLAHOVEC J., ŠAMO A. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice, Tschechoslowakei). Elektrophoretische Eigenschaften der Arylamidasen aus einigen Organen des Rindes. Vet. Med. (Praha) 20 (8): 495-500, 1975.

Mit Hilfe der Agarelektrophorese untersuchten wir die Homogenität der Arylamidasenenzyme in löslichen Fraktionen der Leber-, Nieren-, Herz-, Milz-, Hirn-, Pankreas- und Muskelhomogenate sowie im Blutserum. Die enzymatische Aktivität bestimmten wir in bezug auf die chromogenen Substrate L-Leucyl- und L-Lyzyl-p-Nitroanilid. In allen Fällen fanden wir nach der Elektrophorese mindestens zwei enzymatisch aktive Zonen mit unterschiedlicher elektrophoretischer Mobilität und ungleicher Aktivität in bezug auf die beiden genannten Substrate vor.

Agarelektrophorese; Gewebeatrylamidasen

Adresa autorů:

Ing. Ján Blahovec, CSc., RNDr. Alexander Šamo, Vysoká škola veterinárska, Komenského 71, 040 01 Košice

Rukopis odevzdán k tisku 12. 6. 1975 — Podepsáno k tisku 13. 11. 1975

Hejliček K.: Úvodník	445
Kubín V., Handl R., Staroščík L., Semotán K., Machovský J., Franěk J.: Použití imunofluorescenční techniky k rutinní diagnostice streptokoků skupiny B	447
Havelka B.: Citlivost kmeňů <i>Streptococcus agalactiae</i> a <i>Staphylococcus aureus</i> na antibiotiká v SSR za r. 1974	455
Renda V., Ryšánek D., Matoušková O.: Vliv některých faktorů na elektrickou vodivost směsného mléka	463
Havelka B., Hausmannová Z., Borsuková O.: Fágová typizácia kmeňů <i>Staphylococcus aureus</i> , pochádzajúcich zo stafylokokových mastitíd dojníc	471
Havelka B.: Etiológia mastitíd dojníc na Slovensku za r. 1972—1974	477
Kováč J., Beseda I.: Aktivita laktátdehydrogenázy v mliečnom sére dojníc v súvisi s pozitivitou mastitis testu-NK	483
Kursa J.: Aktivita některých sérových enzymů u telat s nutriční svalovou dystrofií	489
Blahovec J., Šamo A.: Elektroforetické vlastnosti arylamidáz z niektorých orgánov hovädzieho dobytká	495

СОДЕРЖАНИЕ

Кубин В., Гандл Р., Старошик Л., Семотан К., Маховски Й., Франек Й.: Применение иммунофлуоресцентной техники в рутинной диагностике стрептококков группы В	453
Гавелка Б.: Чувствительность <i>Streptococcus agalactiae</i> и <i>Staphylococcus aureus</i> к антибиотикам в ССР за 1974 г.	460
Ренда В., Ришанек Д., Матоушкова О.: Влияние некоторых факторов на электропроводимость смешанного молока	468
Гавелка Б., Гаусманова З., Борсукова О.: Фаговая типизация штаммов <i>Staphylococcus aureus</i> , происходящих из стафилококковых маститов дойных коров	475
Гавелка Б.: Этиология маститов коров в Словакии за 1972—1974 гг.	480
Ковач Й., Бесед И.: Активность лактатдегидрогеназы в молочной сыворотке коров в связи с положительностью Маститис теста-НК	486
Курса Й.: Активность некоторых сывороточных ферментов у телят, страдающих беломышечной болезнью	493
Благовец Й., Шамо А.: Электрофоретические свойства ариламидаз в некоторых органах крупного рогатого скота	500

CONTENT

Kubín V., Handl R., Staroščík L., Semotán K., Machovský J., Franěk J.: The Use of the Immunofluorescence Method for the Routine Diagnosis of Group B <i>Streptococci</i>	454
Havelka B.: The Sensitivity of <i>Streptococcus agalactiae</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> to Antibiotics in the Slovak Socialist Republic in 1974	460
Renda V., Ryšánek D., Matoušková O.: The Effect of Some Factors on the Electric Conductivity of Mixed Milk	469
Havelka B., Hausmannová Z., Borsuková O.: Phage Typification of Strains of <i>Staphylococcus aureus</i> Coming from Staphylococcic Mastitis of Dairy-cows	476
Havelka B.: The Etiology of Dairy Cow Mastitis in Slovakia for the Years 1972—1974	481
Kováč J., Beseda I.: The Activity of Lactate Dehydrogenase in Dairy Cow Milk Serum in Relation to the Positive Response to the Mastitis Test-NK	487
Kursa J.: The Activity of Some Serum Enzymes in Calves Suffering from White-Muscle Disease	494
Blahovec J., Šamo A.: Electrophoretic Characteristics of Arylamidases from Some Organs of Cattle	500

Kubín V., Handl R., Staroščík L., Semotán K., Machovský J., Franěk J.: Benutznung der Immunofluoreszenztechnik zur routinierten Diagnostik von Streptokokken der B Gruppe	454
Havelka B.: Sensibilität des <i>Streptococcus agalactiae</i> und des <i>Staphylococcus aureus</i> gegen Antibiotika in der SSR im Jahre 1974	461
Renda V., Ryšánek D., Matoušková O.: Einfluß einiger Faktoren auf die elektrische Leitfähigkeit gemischter Milch	469
Havelka B., Hausmannová Z., Borsuková O.: Phagen-Typisierung der von Staphylokokken-Mastitiden bei Milchkühen stammenden <i>Staphylococcus-aureus</i> -Stämme	476
Havelka B.: Ätiologie der Mastitiden bei Milchkühen in der Slowakei in den Jahren 1972 bis 1974	481
Kováč J., Beseda I.: Aktivität der Laktatdehydrogenase im Milchserum von Kühen im Zusammenhang mit der Positivität des Mastitis-NK-Testes	487
Kursa J.: Aktivität einiger Serumenzyme bei Kälbern mit nutritioneller Muskeldystrophie	494
Blahovec J., Šamo A.: Elektrophoretische Eigenschaften der Arylamidasen aus einigen Organen des Rindes	500

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.