

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

2

ROČNÍK 22 (L)
PRAHA
ÚNOR 1977
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚLSTVÍ

Řídí redakční rada:

Prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc. (předseda), prof. MVDr. Koloman Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., doc. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Emanuel Král, MVDr. Jaromír Lát, CSc., doc. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Jiří Srna, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc.
Za vedení časopisu odpovídá prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc.

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,
Praha 1977

■
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—.

■
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издает Чехословацкая сельскохозяйственная академия — Институт научно-технической информации по сельскому хозяйству. 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. Published by the Czechoslovak Academy of Agriculture — Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

■
Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben von der Tschechoslowakischen landwirtschaftlichen Akademie — Institut für wissenschaftlich-technische Information der Landwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion 120 56 Prag 2, Slezská 7.

FREKVENCE HEMÁLNÍCH MÍZNÍCH UZLIN A JEJICH HISTOLOGICKÉ ZMĚNY VE ZDRAVÝCH A LEUKÓZNÍCH STÁDECH SKOTU

B. Hofírek, L. Groch

HOFÍREK, B. — GROCH, L. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Frekvence hemálních mizních uzlin a jejich histologické změny ve zdravých a leukózních stádech skotu* Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 65-74.

Práce se zabývá sledováním frekvence hemálních mizních uzlin a jejich histologickými změnami ve zdravých a leukózních stádech skotu a řeší otázku možného diagnostického využití hemálních mizních uzlin v diagnostice leukózy skotu. Výsledky ukázaly, že zevní palpací zjistitelné hemální mizní uzliny se u krav ve zdravých stájích vyskytly u 16,1 % zvířat, s minimem 9,9 % a maximem 30,3 %. V leukózních stádech u krav s negativním hematologickým nálezem byla zjištěna frekvence hemálních mizních uzlin u 26,2 % zvířat, s minimem 6,5 % a maximem 55,2 %. U krav s pozitivním hematologickým nálezem na leukózu se vyskytly hemální mizní uzliny v 28,5 %, s minimem 11,4 % a maximem 47,8 %. Statistickým vyhodnocením nemohla být potvrzena významná korelace mezi frekvencí hemálních mizních uzlin u zdravých krav a u krav leukózních s pozitivním hematologickým nálezem. Z histopatologických vyšetření hemálních mizních uzlin vyplynulo, že je možno úspěšně použít k diferenciaci reaktivních lymfocytóz, kdy byla zjišťována zmenšení až totální atrofie lymfatických folikulů a výrazná hypermie krevních splavů. U hematologicky pozitivních zvířat na leukózu skotu byly u 72 % vyšetřených hemálních mizních uzlin zjištěny poměrně standardní změny, které spočívaly v nápadné hypertrofii zárodečných folikulů s výraznou aktivací a mitotickou aktivitou buněk zárodečných center. Velmi obdobné reakce byly zjištěny ve skupině krav s dubiálním hematologickým nálezem na leukózu u 26,6 % z vyšetřených hemálních mizních uzlin. Ve skupině krav s negativním hematologickým nálezem, ale pocházejících z leukózní stáje, byly uvedené změny nalezeny u 12,5 % vyšetřených mizních hemálních uzlin. U krav ze zdravých stájí tyto změny v hemálních mizních uzlinách zjištěny nebyly.

skot; diagnostika; hemální mizní uzliny; enzootická leukóza skotu

Vedle pravidelně se vyskytujících mizních uzlin jsou u skotu popisovány ještě hemální mizní uzliny (Trautmann, Fiebiger, 1949; Maximov, Bloom, 1958; Krölling, Grau, 1960; Sisson, Grossman, 1965) lokalizované převážně v krajině krku, v krajině bederní a v hladových jámách. Jedná se většinou o malé útvary o velikosti 5 až 20 mm, jejichž výskyt však není konstantní. Jsou uloženy v podkoží, jejich histologická skladba celkem odpovídá pravidelně se vyskytujícím mizním uzlinám a všeobecně je uznávána jejich lymfopoetická aktivita. Příčina jejich vzniku není však dosud zcela objasněna.

Při leukóze skotu jsou tyto hemální mizní uzliny rovněž postižovány tumorózním bujením (La Bell, Conner, 1964). Zatímco patologické

ko-anatomické a histologické změny u pravidelně se vyskytujících mizních uzlin byly pečlivě studovány velkým počtem autorů (Dohnal, Rademacher, 1967; Bielitz, 1968), u hemálních mizních uzlin jsou literární údaje vcelku velmi sporné, pokud se týče jejich vztahu k leukóze skotu. Na jedné straně La Bell a Conner (1964) referují o výskytu těchto hemálních mizních uzlin u leukózních zvířat s klinickou formou onemocnění a uvádějí, že jsou zpravidla postižovány tumorózním bujením. Hemální mizní uzliny získávali biopsií a po jejich histologickém vyšetření mohli v některých případech diagnostikovat leukózu skotu v časných stádiích, kdy klinický nález byl dosud negativní. Příkladají tedy vyšetřování hemálních mizních uzlin značný diagnostický význam. Na druhé straně Dobberstein a Paarmann, (1934) uvádějí, že hemální mizní uzliny vystupují při leukóze skotu velmi zřetelně, ale zúčastňují se jen zřídka na zvětšení ostatních mizních uzlin.

Z uvedených skutečností je patrné, že úloha hemálních mizních uzlin v patogenezi leukózy skotu není zdaleka objasněna. Obzvlášť není jasný vztah hemálních mizních uzlin k předklinické hematologické formě leukózy skotu a není zhodnocen jejich možný diagnostický význam pro časnou diagnostiku leukózy skotu. To motivovalo náš zájem o tuto problematiku, přičemž jsme zaměřili pozornost především na otázky výskytu hemálních mizních uzlin ve zdravých a leukózních stádech a jejich histologické změny.

MATERIÁL A METODA

Výskyt hemálních mizních uzlin byl sledován u klinicky zdravého skotu v sedmi stájích, celkem u 1074 krav, dále v 11 leukózních stájích celkem s 944 kusy krav s negativním klinickým i hematologickým nálezem a konečně v pěti leukózních stájích s 321 krávou s hematologicky pozitivním nálezem. Výskyt hemálních mizních uzlin byl sledován oboustranně v krajině krku, v krajině beder a v obou hladových jámách. Celkem tedy bylo manuální palpací vyšetřeno 2339 krav.

Histologicky byly vyšetřeny hemální mizní uzliny ze 126 krav (získané jednak chirurgickým zákrokem, jednak po porážce zvířat na jatkách). Takto získané hemální mizní uzliny byly zpracovány běžnou technikou a obarveny hematoxilin-eosinem. Výsledky histologického vyšetření hemálních mizních uzlin byly vyhodnoceny skupinově podle těchto kritérií:

- a) hemální uzliny klinicky zdravých krav (13 případů),
- b) hemální uzliny krav z leukózních stájí s negativním klinickým i hematologickým nálezem (24 případy),
- c) hemální mizní uzliny krav z leukózních stájí s pozitivním hematologickým nálezem (25 případů),
- d) hemální mizní uzliny krav z leukózních stájí s dubiálním hematologickým nálezem (19 případů),
- e) hemální mizní uzliny krav s reaktivní lymfocytózou neleukózního původu (45 případů).

VÝSLEDKY

Výsledky sledování frekvence hemálních mizních uzlin v definovaných stádech skotu byly statisticky vyhodnoceny T-testem a jsou zachyceny v tab. I až IV. Studium frekvence hemálních uzlin u zdravých (obr. 1) a leukózních zvířat ukázalo značnou variabilitu v jejich výskytu. V ně-

I. Frekvence hemálních mizních uzlin u krav ve zdravých stájích — The occurrence rate of haemal lymph nodes in cows in disease-free stables

Stádo, plemeno	Počet vyšetřených zvířat	Zvířata s uzlinami		Zvířata s více uzlinami	
		počet	%	počet	%
1. český strakatý skot	94	12	12,7	5	0,53
2. český strakatý skot	132	12	9,9	4	3,03
3. černý nížinný skot	91	10	10,9	2	2,19
4. dánský červený skot	158	48	30,3	15	9,40
5. dánský červený skot	328	37	11,2	19	5,70
6. smíšená stáj	131	24	18,3	14	10,60
7. smíšená stáj	140	30	21,4	19	13,50
Celkem	1074	173	16,1	78	7,26

II. Frekvence hemálních mizních uzlin v leukózních stájích u krav s negativním hematologickým nálezem — The occurrence rate of haemal lymph nodes in cows with a negative haematological picture in stables affected by leucosis

Stádo, plemeno	Počet vyšetřených zvířat	Zvířata s uzlinami		Zvířata s více uzlinami	
		počet	%	počet	%
1. český strakatý skot	200	13	6,5	4	2,0
2. dánský červený skot	92	11	11,9	0	0,0
3. dánský červený skot	69	12	17,3	2	2,8
4. černý nížinný skot	173	36	20,8	8	4,6
5. černý nížinný skot	196	31	15,8	11	5,6
6. slovenský strakatý skot	17	5	29,4	0	0,0
7. dánský červený skot	7	2	28,5	2	28,5
8. český strakatý skot	9	5	55,2	0	0,0
9. kříženci DČ × ČN	66	25	37,8	12	18,1
10. kříženci DČ × ČN	99	34	34,3	13	13,1
11. smíšené stádo	16	5	31,2	3	18,7
Celkem	944	179	26,2	55	5,8

kterých případech zjištěná vyšší frekvence těchto uzlin v leukózních stádech nebyla statisticky významná ve srovnání se stády zdravými. Nemohla být rovněž statisticky potvrzena přímá závislost mezi předklinickou hematologickou formou onemocnění a frekvencí hemálních mizních uzlin.

Histologickým vyšetřením 126 hemálních mizních uzlin bylo zjištěno, že nejstandardnější histologický obraz je ve skupině krav s reaktivní lymfocytózou. Z 45 vyšetřených vzorků byly ve 44 případech (98,6 %) zjiš-

III. Frekvence hemálních mizních uzlin v leukózních stájích u krav s pozitivním hematologickým nálezem — The occurrence rate of haemal lymph nodes in cows with a positive haematological picture in stables affected by leucosis

Stádo, plemeno	Počet vyšetřených zvířat	Zvířata s uzlinami		Zvířata s více uzlinami	
		počet	%	počet	%
1. černý nížinný skot	23	11	47,8	2	8,6
2. červený dánský skot	76	25	32,8	11	14,0
3. červený dánský skot	85	30	35,2	10	11,0
4. červený dánský skot	102	16	15,6	3	2,9
5. černý nížinný skot	35	4	11,4	3	8,8
Celkem	321	86	28,5	29	9,0

IV. Přehled frekvence hemálních mizních uzlin ve zdravých a leukózních stájích — A survey of the occurrence rate of haemal lymph nodes in disease-free stables affected by leucosis

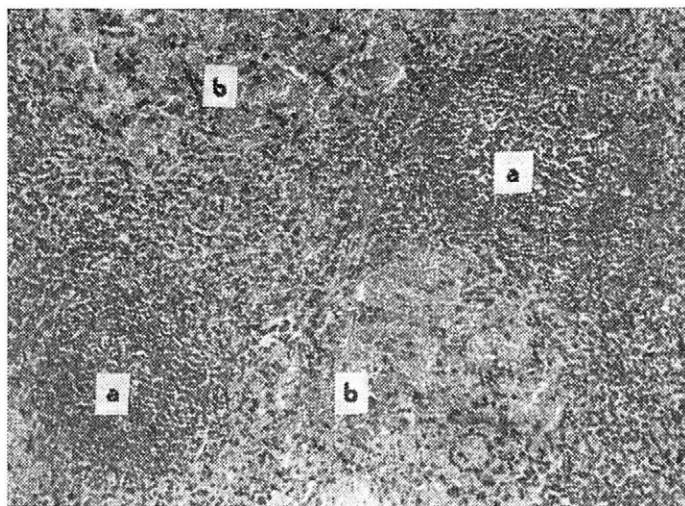
	Počet vyšetřených zvířat	Zvířata s uzlinami		Zvířata s více uzlinami	
		počet	%	počet	%
Krávy ve zdravých stájích	1074	173	16,1	78	7,26
Krávy s hematologicky negativním nálezem v leukózních stájích	944	179	26,2	55	5,80
Krávy s pozitivním hematologickým nálezem v leukózních stájích	321	86	28,5	29	9,00



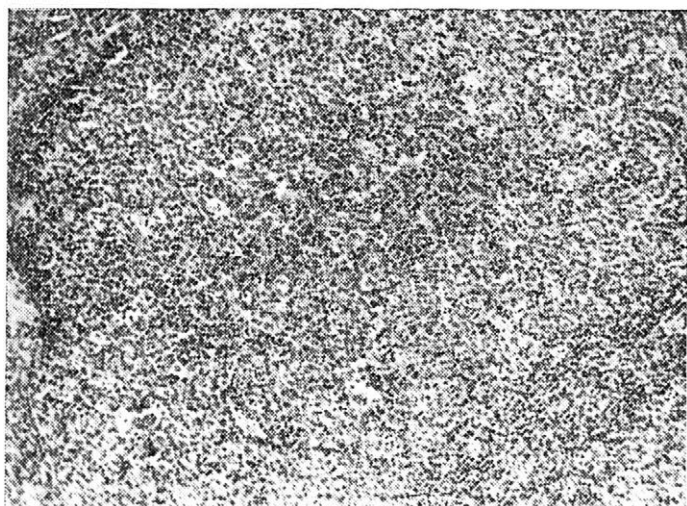
1. Histologický obraz zdravé hemální uzliny skotu — Histological picture of a healthy bovine haemal node
a — lymfatické folikuly, b — krevní splavy, c — vazivový trabekul. HE, obj. 10X, proj. 7X

těny změny natolik charakteristické, že je lze celkem bezpečně využít k diagnostice reaktivních lymfocytóz. Jedná se především o nápadné zmenšení, někdy až o totální atrofii lymfatických folikulů, takže v uzlině zůstávají pouze jejich nevýrazné zbytky. Zárodečná centra buď zcela chybí, nebo jsou velmi nepatrná. Ohraničení folikulů vůči okolní tkáni je velmi nejasné. Úbytek lymfatické tkáně podmiňuje někdy zdánlivé zmnožení podpůrné vazivové tkáně. Dalším velmi charakteristickým doprovodným jevem je intenzivní hyperemie hemální uzliny. Krevní splavy jsou dilatovány a přeplněny erytrocyty, často dochází k difúznímu překrvení lymfatické tkáně v centru uzliny. Nezřídka se nacházejí v krevním řečišti kulatojaderné elementy, popřípadě eosinofilní granulocyty. K diferenciaci reaktivních lymfocytóz lze tedy využít kvalitativního hodnocení podílu lymfatické tkáně a krevních sinů v hemálních uzlinách (obr. 2).

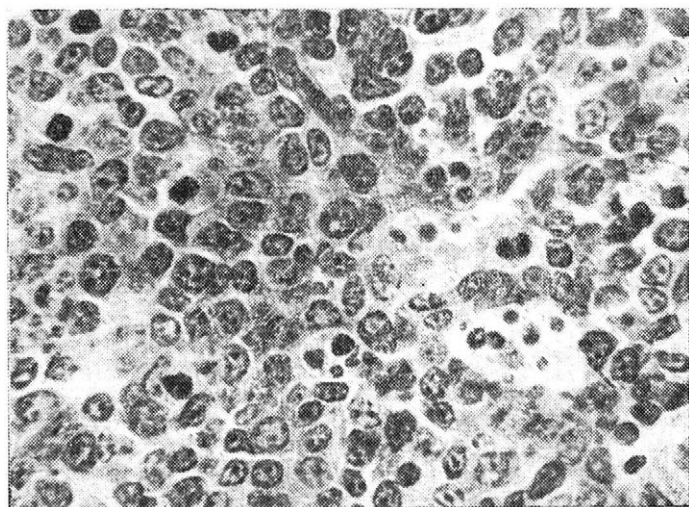
2. Vymizení zárodečných center, zmenšení lymfatických folikulů a výrazné překrvení splavů při reaktivní lymfocytóze — Extinction of embryonal centres, lessening of the size of lymphatic follicles and conspicuous hyperaemia of sinuses in a case of reactive lymphocytosis
a - lymfatické folikuly,
b - krevní splavy. HE, obj. 10X, proj. 7X



Hemálních mizních uzlin krav z leukózních stáji a s pozitivním hematologickým nálezem bylo vyšetřeno 25. U 18 případů (72 %) jsme našli histologický obraz charakterizovaný některými shodnými znaky. Do popředí vystupují nápadně výrazné a velké lymfatické folikuly, které zaujímají většinu objemu uzliny (obr. 3). Hypertrofie folikulů je podmíněna mohutnou aktivací retikulárních elementů a buněk zárodečných center. Tmavá okrajová zóna lymfocytů ve folikulech je často velmi nevýrazná, mnohdy zcela chybí. V některých folikulech lze pozorovat na světlém podkladě nahloučení nediferencovaných buněčných elementů, které mají často nepravidelně formovaná jádra. Výskyt těchto nediferencovaných buněk nelze však považovat za specifický, objevují se také v uzlinách krav jiných skupin. Lze tedy konstatovat, že folikuly jsou tvořeny převážně tkání aktivovaných zárodečných center. Tvar folikulů je velmi nepravidelný, často jednotlivé uzlíčky splývají do větších ploch. Ohraničení folikulů vůči okolí bývá nejasné. Pozornost zasluhuje intenzivní mitotická aktivita v zárodečných centrech, kdy často v jednom zorném poli můžeme nalézt řadu mitotických figur (obr. 4). Při srovnání velikosti folikulů u zdravých kusů a u zvířat s pozitivním hematologickým nálezem (obr. 1 a 3) můžeme



3. Pozitivní leukóza skotu. Zvětšený lymfatický folikul je tvořen nevydiferencovanými buněčnými elementy — Positive bovine leucosis. Enlarged lymphatic follicle consisting of non-differentiated cellular elements
HE, obj. 10X, proj. 7X



4. Detail z obrazu č. 3. Bohatá mitotická aktivita ve folikulu — A detail of Fig. 3. Vigorous mitotic activity in the follicle
HE, obj. 60X, proj. 7X

zjistit, že u postižených kusů dochází k několikanásobnému zvětšení plochy folikulů. V krevních cévách často zjistíme buněčné elementy. Intersticiální tkáň bývá nezdávka infiltrována eosinofilními granulocyty. Tyto reakce nelze však dávat do souvislosti s pozitivním hematologickým nálezem, neboť je můžeme zjišťovat i u kusů zdravých, respektive s dubiózním hematologickým nálezem. U ostatních hemálních uzlin této skupiny byl histologický obraz hemálních uzlin velmi nejednotný.

Ve skupině krav s dubiózním hematologickým nálezem bylo hodnoceno 19 vzorků hemálních mízních uzlin. Z toho počtu byl v pěti případech (26,6 %) zjištěn obdobný nález jako u zvířat s pozitivním hematologickým nálezem, tj. hypertrofie zárodečných center lymfatických folikulů s bohatou mitotickou činností. U ostatních kusů se histologický nález přibližoval obrazu hemálních uzlin zdravých zvířat, kromě dvou kusů,

u kterých byly zjištěny změny odpovídající nálezům při reaktivní lymfocytóze.

U krav z leukózní stáje bez hematologického nálezu (celkem 24 kusy) byly ve třech případech (12,5 %) zjištěny výrazné reakce folikulů, obdobně jako u krav s pozitivním hematologickým nálezem.

U zdravých krav (obr. 1) nebyly histologickým vyšetřením mízních uzlin v žádném případě zjištěny leukózní změny.

DISKUSE

V současné době se praktická diagnostika leukózy skotu opírá o klinické, hematologické, patologicko-anatomické a histologické vyšetření, přičemž z hlediska časné diagnostiky tohoto onemocnění má prvořadý význam vyšetření hematologické a histologické. Ve smyslu platných směrnic je obzvláště pozitivní histologický nález limitující pro určení ohniska enzootické leukózy skotu. Praxe se často setkává s jistými problémy, kdy pozitivní hematologické nálezy nejsou vždy doprovázeny dostatečně výrazným pozitivním histologickým obrazem (Järplid, 1965; Herzog, 1966; Bielitz, 1968). Z tohoto hlediska má proto hledání nových možností histologického vyšetřování značný praktický význam. Jednou z takových možností je vyšetřování hemálních mízních uzlin, kterým byla až dosud při diagnostice leukózy skotu věnována velmi malá pozornost. Ve své práci jsme se proto zabývali otázkou možného diagnostického využití hemálních mízních uzlin v diagnostice tohoto onemocnění.

Podobně jako jiní autoři (Trautmann, Fiebiger, 1949; Maximov, Bloom, 1958; Krölling, Grau, 1960; Sisson, Grossman, 1965) jsme potvrdili existenci hemálních mízních uzlin u skotu a jejich výskyt především v krajině krku, v krajině bederní a v hladových jámách. Histologickým vyšetřením bylo zjištěno, že jejich skladba celkem odpovídá pravidelně se vyskytujícím mízním uzlinám, což umožňuje závěr o jejich lymfopoetické aktivitě. Toto zjištění jen podtrhlo správnost našeho záměru o prospěšnosti studia hemálních mízních uzlin v průběhu leukózního onemocnění.

Naše výsledky ukázaly, že hemální mízní uzliny se u krav ve zdravých stájích vyskytly u 16,10 % zvířat (výskyt nejméně jedné hemální mízní uzliny) a u 7,26 % zvířat byla zjištěna více než jedna mízní uzlina, nejčastěji dvě, zcela zřídka více. Musíme ovšem konstatovat, že byly zjištěny značné rozdíly v jednotlivých stájích s minimem 9,9 % a maximem 30,3 %.

V leukózních stádech u krav s negativním hematologickým nálezem byla zjištěna frekvence hemálních mízních uzlin u 26,2 % zvířat, s minimem 6,5 % a maximem 55,2 %. Více hemálních mízních uzlin bylo zjištěno u 5,8 % zvířat.

U krav s pozitivním hematologickým nálezem byla zjištěna frekvence hemálních mízních uzlin u 28,5 % zvířat, s minimem 11,4 % a maximem 47,8 %. Více mízních uzlin bylo zjištěno u 9,0 % vyšetřených kusů.

Studium frekvence hemálních mízních uzlin u zdravých a leukózních zvířat ukázalo značnou variabilitu v jejich výskytu. V některých případech zjištěná vyšší frekvence těchto uzlin v leukózních stájích nebyla stati-

stický významná. Nemohla být rovněž statisticky potvrzena interakce mezi předklinickou hematologickou formou leukózy skotu a frekvencí mízních uzlin ve stádech.

Při histologických studiích hemálních mízních uzlin ve vztahu k leukóze skotu jsme zjistili u hematologicky pozitivních zvířat poměrně standardní změny, které spočívaly v nápadné hypertrofii zárodečných folikulů s výraznou aktivací a mitotickou aktivitou buněk zárodečných center. Tyto nálezy byly prokázány u 72,0 % vyšetřených hemálních mízních uzlin od krav s pozitivním hematologickým obrazem. Velmi obdobné reakce byly zjištěny ve skupině krav s dubiozním hematologickým nálezem u 26,6 % hemálních mízních uzlin. Také u 12,5 % hemálních mízních uzlin od krav s negativním hematologickým nálezem, ale pocházejících z leukózních stájí, byly zjištěny obdobné změny. U zdravých krav tyto změny v hemálních mízních uzlinách v žádném případě zjištěny nebyly. Z uvedených histologických vyšetření tedy vyplývá, že hemální mízní uzliny jsou již v předklinickém hematologickém stadiu leukózy skotu postihovány charakteristickými změnami, které je možné diagnosticky využít. Naše výsledky doplňují nálezy La Bella a Connera (1964), kteří prokázali leukózní infiltrace v hemálních mízních uzlinách při tumorózní formě enzootické leukózy skotu. Dále z našich vyšetření hemálních mízních uzlin vyplynulo, že histopatologickou diagnostiku lze úspěšně použít k diferenciaci reaktivních lymfocytóz od vlastních leukózních procesů. Závěrem můžeme tedy vedle jiných orgánů doporučit i vyšetřování hemálních mízních uzlin jako metodickou součást histologické diagnostiky leukózy skotu.

Literatura

- BIELITZ, U.: Morphologisch feststellbare Veränderungen bei Lymphadenose und bei anhaltender Lymphozytose des Rindes. [Diss.] Berlin 1968. 138 s.
- DOBBERSTEIN, J. — PAARMANN, E.: Die sogenannte Lymphadenose des Rindes (Rinderleukose). Z. Infekt. Krank. parasit. Krank. Hyg. Haust., 26, 1934, s. 65-109.
- DOHNAL, V. — RADEMACHER, R.: K problematice patologicko-anatomické a histologické diagnostiky leukózy skotu. In: Sborník referátů z celostátního symposia o leukóze skotu. Pardubice 1967, s. 81-105.
- HERZOG, A.: Morphologische Untersuchungen an Rindern mit für Leukose sprechenden und leukoseverdächtigen Blutbildern. Zentbl. VetMed., A, 13, 1966, s. 573-579.
- JÄRPLID, B.: Studies on the site leucotic and praeleucotic changes in the bovine heart. Pathologia vet., 1, 1964, s. 366-408.
- KRÖLLING, O. — GRAU, H.: Lehrbuch der Histologie und vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere. 10. Auflage, P. Parey, Berlin - Hamburg 1960.
- LaBELL, J. A. — CONNER, G. H.: Hemolymph node involvement in bovine leukemia. J. Am. vet. med. Ass., 145, 1964, s. 1107-1111.
- MAXIMOV, A. D. — BLOOM, J. D.: A textbook of histology. 7th ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia 1958.
- SISSON, S. — GROSSMAN, J. D.: The anatomy of the domestic animal. 4th ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia 1965.
- TRAUTMANN, A. — FIBIGER, J.: Lehrbuch der Histologie und vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere. Verlag P. Parey, Berlin — Hamburg 1949.

Došlo dne 11. 6. 1976

ГОФИРЕК, Б. — ГРОХ, Л. (Ветеринарный институт, Брно): Частота гемальных лимфатических узлов и их гистологические изменения в здоровых и лейкозных стадах крупного рогатого скота. *Vet. Med., Praha*, 22, 1977 (2): 65-74.

В работе рассматривается частота гемальных лимфатических узлов и их гистологические изменения в здоровых и лейкозных стадах у кр. р. скота, решается вопрос возможного использования этих узлов в диагностике лейкоза кр. р. скота. Как показали результаты, определяемые на ощуп, лимф. узлы встречаются у коров в здоровых разведениях в 16,1% животных с минимумом 9,9% и максимумом 30,3%. В лейкозных же стадах у коров с отрицательным гематологическим диагнозом частота гемальных лимф. узлов составила 26,2% животных с минимумом 6,5% и максимумом 55,2%. У коров с положительным гематологическим диагнозом лейкоза гемальные узлы составили 28,5% с минимумом 11,4% и максимумом 47,8%. Статистическая оценка не подтвердила наличия заметной корреляции между частотой гемальных лимф. узлов у здоровых и лейкозных коров с положительным гематологическим диагнозом. Как показало гистопатологическое исследование гемальных лимф. узлов, ими можно успешно пользоваться для дифференциации реактивных лимфоцитов, у которых установлены либо уменьшение либо тотальная атрофия лимфатических фолликулов и отчетливая гиперемия кровяных смывов. У положительных гематологических животных в лейкозе у 72% обследованных гемальных лимф. узлов обнаружены сравнительно стандартные изменения, заключающиеся в заметной гипертрофии зародышевых фолликулов с явной активизацией и митотической активностью клеток зародышевых центров. Весьма подобные реакции установлены в группе коров с подозрительным гематологическим диагнозом лейкоза у 26,6% обследованных гемальных лимф. узлов. В группе коров с отрицательным гематологическим диагнозом, но происходящих из лейкозной фермы, эти изменения обнаружены у 12,5% узлов. У коров из здоровых ферм описанные изменения не установлены.

крупный рогатый скот; гемальные лимфатические узлы; энзоотический лейкоз крупного рогатого скота

HOFÍREK, B. — GROCH, L. (University of Veterinary Medicine, Brno): *The Frequency of Haemal Lymph Nodes and their Histological Changes in Healthy Cattle Herds and in Herds Suffering from Leucosis*. *Vet. Med., Praha*, 22, 1977 (2): 65-74.

A study was conducted to find the frequency of haemal lymph nodes and their histological changes in healthy cattle herds and in herds suffering from leucosis. The possibilities of the diagnostic use of haemal lymph nodes in bovine leucosis diagnosis were treated. The results show that haemal lymph nodes detectable by external palpation occurred with 16.1% of cows in disease-free houses, the minimum being 9.9% and the maximum 30.3%. In herds affected by leucosis, in cows with a negative haematological picture, the haemal lymph nodes were detected in 26.2% of animals, the minimum being 6.5% and the maximum 55.2%. As to the cows with a positive haematological picture resulting from examination for leucosis, haemal lymph nodes occurred in 28.5% of the animals tested, the minimum being 11.4% and the maximum 47.8%. Statistical assessment of the results did not prove any significant correlation between the frequency of haemal lymph nodes in healthy cows and in cows suffering from leucosis and showing a positive haematological picture. It followed from the histopathological examinations of the haemal lymph nodes that these nodes would be an efficient means to be used for the differentiation of reactive lymphocytoses with which the lymphatic follicles were observed to grow much smaller up to total atrophy and the blood sinuses showed considerable hyperaemia. In haematologically positive animals examined for bovine leucosis, changes of comparatively standard character were observed in 72% of the haemal lymph nodes examined, characterized by significant hypertrophy of the embryonal follicles with conspicuous activation and mitotic activity of the cells of embryonal centres. Very similar reactions were observed in the group of cows with a dubious haematological picture on examination for leucosis (in 26% of the haemal lymph nodes examined). In the group of cows giving a negative haematological picture but coming from a house affected by leucosis, the mentioned changes were found in 12.5% of the haemal lymph nodes tested. No such changes in the haemal lymph nodes were found in the cows coming from disease-free houses.

cattle; diagnostics; haemal lymph nodes; enzootic bovine leucosis

HOFÍREK, B. — GROCH, L. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Frequenz hämaler Lymphknoten und ihre histologischen Veränderungen in gesunden und leukosen Rinderherden*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 65-74.

In der Verfassung werden die Frequenz hämaler Lymphknoten und ihre histologische Veränderungen in gesunden und leukosen Rinderherden untersucht und die Frage der möglichen diagnostischen Nutzung hämaler Lymphknoten in der Diagnostik der Rinderleukose gelöst. Die Ergebnisse zeigten, daß bei Kühen in gesunden Anlagen durch äußere Palpation feststellbare hämale Lymphknoten bei 16,1 % der Tiere vorkamen, mit einem Minimum von 9,9 % und einem Maximum von 30,3 %. In leukosen Herden wurde bei Kühen mit einem negativen hämatologischen Befund Frequenz hämaler Lymphknoten bei 26,2 % der Tiere festgestellt, mit einem Minimum von 6,5 % und Maximum von 55,2 %. Bei Kühen mit einem positiven hämatologischen Leukosebefund kamen hämale Lymphknoten in 28,5 % vor, mit einem Minimum von 11,4 % und Maximum von 47,8 %. Durch statistische Bewertung konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Frequenz hämaler Lymphknoten bei gesunden Kühen und bei leukosen Kühen mit einem positiven hämatologischen Befund nicht nachgewiesen werden. Der histopathologischen Untersuchung hämaler Lymphknoten erfolgte, daß diese mit Erfolg für Differenzierung reaktiver Lymphozytosen angewendet werden können, wobei Verminderungen bis totale Atrophie lymphatischer Follikel und eine merkbare Hyperämie der Blutsinus festgestellt wurden. Bei hämatologisch auf Rinderleukose positiven Tieren wurden bei 72 % der untersuchten hämalen Lymphknoten verhältnismäßig standard Veränderungen festgestellt, die sich in auffallender Hypertrophie der Keimfollikel mit einer merkbaren Aktivierung und mitotischen Aktivität der Keimzentrenzellen merkbar machten. Sehr ähnliche Reaktionen wurden in der Gruppe von Kühen mit einem dubiösen hämatologischen Leukosebefund bei 26,6 % der untersuchten hämalen Lymphknoten festgestellt. In der Gruppe der Kühe mit einem negativen hämatologischen Befund, die jedoch aus einer leukosen Anlage stammten, wurden die angeführten Veränderungen bei 12,5 % der untersuchten hämalen Lymphknoten festgestellt. Bei Kühen aus gesunden Anlagen wurden diese Veränderungen in hämalen Lymphknoten nicht festgestellt.

Rind; Diagnostik; hämale Lymphknoten; enzootische Reinderleukose

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Bohumír Hofírek, CSc., MVDr. Ladislav Groch CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

AKTIVITA NĚKTERÝCH ENZYMŮ V KREVŇÍ PLAZMĚ FĚTŮ A KRAV VE TŘETÍM TRIMESTRU GRAVIDITY

J. Surynek, F. Tomšík

SURYNEK, J. — TOMŠÍK, F. (Vysoká škola veterinární Brno): *Aktivita některých enzymů v krevní plazmě fětů a krav ve třetím trimestru gravidity*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 75-80.

V krevní plazmě bovinních fětů a krav ($n = 2 \times 15$) ve třetím trimestru gravidity byla stanovena aktivita L-aspartát: 2-oxoglutarátaminotransferázy, EC. 2.6.1.1. (GOT), L-alanin: 2-oxoglutarátaminotransferázy, EC. 2.6.1.2. (GPT), L-laktát: NAD oxidoreduktázy, EC. 1.1.1.27 (LDH) a monoester kyseliny ortofosforečné fosfohydrolázy, EC. 3.1.3.1. (fosfatázy alkalické). Věk krav byl dva a půl až sedm roků, plemeno české strakaté. Plody byly vybaveny císařským řezem při lokálním znecitlivění. Krevní plazma fětů vykazovala vysoce signifikantně nižší aktivitu obou transamináz a laktátdehydrogenázy než plazma jejich matek ($P < 0,01$). Nízká hladina uvedených enzymů je dokladem fyziologické nezralosti. Aktivita alkalické fosfatázy byla vysoce významně vyšší u fětů ($P < 0,01$). Tento jev je nepochybně spjat s růstem a zráním skeletu. Průměrné hodnoty u fětů byly: GOT $0,74 \pm 0,39$, GPT $0,48 \pm 0,23$, LDH $33,7 \pm 5,3$, alkalická fosfatáza $10,90 \pm 3,89 \mu\text{mol ml}^{-1}$ za hod. při teplotě 37°C . Průměrné hodnoty u matek činily: GOT $1,37 \pm 0,42$, GPT $0,86 \pm 0,36$, LDH $53,7 \pm 9,9$ a alkalická fosfatáza $4,23 \pm 2,61 \mu\text{mol ml}^{-1}$ za hod. při teplotě 37°C . Výsledky považujeme za orientační, poněvadž ke sledování enzymových aktivit byl využit materiál sloužící k výrobě bovinního fetálního séra a zdravotní stav krav nebyl podrobně vyšetřen.

transaminázy; laktátdehydrogenáza; fosfatáza alkalická; krev; skot; fétus

Z normálních fyziologických faktorů ovlivňujících aktivitu enzymů v krevní plazmě lze uvést věk, pohlaví, plemennou příslušnost, snad i výživu apod. (Surynek aj., 1975). Ve vývojových fázích fétu, u novorozenců a v dalším období po narození mohou být u některých enzymů poměry různé, zvláště při předpokládané zvýšené permeabilitě buněčných membrán v prvním údobí života (Homolka, 1972).

Studium enzymových aktivit a biochemických procesů v souvislosti s ontogenezou přináší nové poznatky o vývoji fyziologických funkcí. Specifické enzymy jsou v prvních dnech intrauterinního vývoje rozloženy v embryu difúzně, teprve s pokračující diferenciací orgánů se enzymy začínají separovat do odpovídajících oblastí. Vzhledem k tomu, že při narození a po určitou dobu po narození nejsou ještě všechny orgány funkčně ani morfologicky zcela vyvinuty, není enzymová mozaika jedince shodná s dospělým organismem (Richterich, 1958).

Cílem naší práce bylo zjistit, jak se liší aktivita některých enzymů v plazmě bovinního fétu v posledním trimestru intrauterinního života od

aktivity u jejich matek. Byly stanoveny aktivity těchto enzymů krevní plazmy: GOT (L-aspartát: 2-oxoglutarátaminotransferáza; E. C. 2.6.1.1.), GPT (L-alanin: 2-oxoglutarátaminotransferáza; EC. 2.6.1.2), laktátdehydrogenáza (LDH; L-laktát: NAD oxidoreduktáza; EC 1.1.1.27) a alkalická fosfatáza (AF; monoester kyseliny ortofosforečné fosfohydroláza; EC. 3.1.3.1).

MATERIÁL A METODA

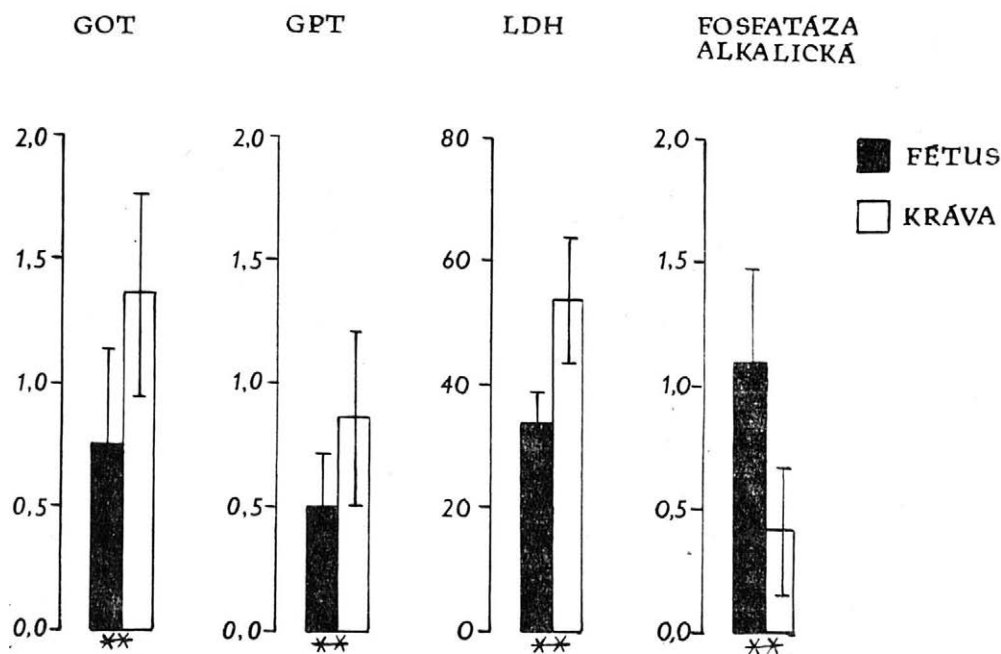
Enzymy v krevní plazmě byly vyšetřeny u 15 krav českého strakatého plemene ve třetím trimestru gravidity (2 krávy v 8. měsíci a 13 krav v 9. měsíci gravidity), jejichž plody sloužily pro získání fetálního bovinního séra. Plody byly vybaveny císařským řezem metodou popsanou Tomšíkem aj. (1973). Zvířata byla před zákrokem podrobena 24hodinové hladovce. Krevní vzorky byly odebírány od fétů z *v. jugularis* ještě dříve než bylo přikročeno k exsanguinaci, od krav rovněž z *v. jugularis* před operačním zásahem, aby byl vyloučen případný vliv chirurgického zákroku (Tkáč, Orság, 1974). Krávy pocházely z různých zemědělských podniků, jejich věk byl 2,5 až 7 roků, jejich průměrná hmotnost činila 543,57 kg. U fétů bylo zastoupeno obojí pohlaví ($n_{\text{♂}} = 10$; $n_{\text{♀}} = 5$), jejich průměrná hmotnost po exsanguinaci činila 31,93 kg. Pokusy se dělaly vždy v dopoledních hodinách. Plazma byla získána centrifugací, jako protisrážlivé činidlo byl používán heparin. Aktivity GOT, GPT a alkalické fosfatáty v plazmě byly stanoveny fotometricky Bio-Testem firmy Lachema Brno, aktivita LDH fotometricky testem Sevac-LDH firmy Imuna, n. p., Šarišské Michaľany. Hodnoty u všech enzymů jsou uváděny v $\mu\text{mol ml}^{-1}$ za 1 hodinu při teplotě 37°C . Rozdíly v hladinách mezi matkami a jejich fety byly statisticky hodnoceny testem podle Duncana. Zdravotní stav krav nebyl sledován.

VÝSLEDKY

Výsledky jsou znázorněny graficky a tabelárně (obr. 1, tab. I). Hodnotu aktivit enzymů uvádíme v $\mu\text{mol ml}^{-1}$ za hod.; nedělaly se přepočty na enzymové jednotky U/l, poněvadž tato jednotka bude postupně nahrazena jednotkou katal, jejíž zkratkou a symbolem je kat (Homolka, 1973). Z výsledků je zřejmé, že krevní plazma fétů vykazuje u všech

I. Průměrné hodnoty aktivit enzymů v krevní plazmě fétů a jejich matek. Hodnoty jsou uvedeny v $\mu\text{mol ml}^{-1}$ za hodinu při 37°C — Average values of enzyme activities in the blood plasma of foetuses and their mothers. The values are presented in $\mu\text{mol ml}^{-1}$ per hour at 37°C

	GOT	GPT	LDH	Fosfatáza alkalická
Fétus	$0,74 \pm 0,39$	$0,48 \pm 0,23$	$33,7 \pm 5,3$	$10,90 \pm 3,89$
Kráva	$1,37 \pm 0,42$	$0,86 \pm 0,36$	$53,7 \pm 9,9$	$4,23 \pm 2,61$



1. Aktivita enzymů v krevní plazmě fétů a jejich matek ve třetím trimestru gravidity — Enzyme activity in the blood plasma of fetuses and their mothers in the third trimester of gravidity

Směrodatné odchylky jsou vyznačeny svislými úsečkami; hodnoty jsou uvedeny v $\mu\text{mol ml}^{-1}$ za hodinu při teplotě 37°C — Rozdíly jsou vysoce signifikantní (**, $P < 0,01$)

enzymů, s výjimkou alkalické fosfatázy, nižší aktivitu než krevní plazma jejich matek. Všechny uvedené rozdíly jsou vysoce signifikantní ($P < 0,01$). Aktivita alkalické fosfatázy je vysoce významně vyšší ($P < 0,01$) u fétů než u matek.

DISKUSE

Dosud jsme se na našem pracovišti zabývali vývojem aktivit uvedených enzymů v krevní plazmě telat v postnatálním údobí (Surynek, 1965, 1968; Surynek aj., 1975). U všech enzymů byly zjištěny změny podmíněné věkem. Proto se domníváme, že výsledky tohoto sdělení vhodně doplní naše dřívější výsledky a přispějí k dosud sporým poznatkům o vztahu matka — mládě.

Aktivita GOT, GPT a LDH v krevní plazmě byla statisticky významně vyšší u matek než u fétů. Nižší hladina sledovaných enzymů v krevní plazmě, zjišťovaná námi (Surynek, 1965, 1968) i jinými autory Kolb, 1962; Cornelius aj., 1959; Maděrová aj., 1963) u telat v prvních týdnech po narození, má tedy počátek již v intrauterinním životě. I kdyby existovala předpokládaná zvýšená permeabilita buněčných membrán u fétů a novorozenců, nenabývala by takového stupně, aby docházelo k prostupu bílkovin, anebo zde sehrává roli nižší koncentrační

gradient. Lze připustit představu, že nízká aktivita enzymů v plazmě souvisí s jejich nízkou koncentrací v buňkách fétu.

Na rozdíl od aktivity GOT, GPT a LDH byla aktivita alkalické fosfatázy v krevní plazmě vysoce statisticky vyšší u fétů než u jejich matek ($P < 0,01$). Alkalická fosfatáza je typickým enzymem, který na rozdíl od většiny ostatních enzymů vykazuje vyšší aktivitu v krevní plazmě během intrauterinního vývoje (Richterich, 1958) a během určitého období po narození (Richterich, 1958; Haschen, 1970; Šlesinger, 1970; Surynek aj., 1975). Tento jev je nepochybně spjat s růstem a zráním skeletu. Zvýšená aktivita alkalické fosfatázy u telat v prvních týdnech po narození (Surynek aj., 1975) má také začátek v intrauterinním vývoji fétu.

Aktivita GOT, GPT a LDH matek velmi pravděpodobně není březostí podstatněji ovlivněna. Naměřené hodnoty jsou velmi blízké hodnotám zjištěným na našem pracovišti u nebřezích krav (Surynek aj. 1975). Haschen (1970) uvádí, že u žen gravidita, a většinou ani porod, neovlivňují aktivitu transamináz v krevní plazmě. Aktivita alkalické fosfatázy u krav je poněkud vyšší než námi zjištěné hodnoty u nebřezích krav. Mohlo by se jednat o analogický jev, známý v humánní enzymologii; u ženy dochází v posledním měsíci gravidity ke značnému zvýšení aktivity alkalické fosfatázy, mechanismus prostupu do krevního řečiště není dosud znám (Richterich, 1958).

Vzhledem k tomu, že krev od krav byla odebírána před operačním zásahem a od fétů před exsanguinací, připisujeme zjištěné rozdíly mezi fétem a matkou toliko zvláštnostem podmíněným dvěma věkovými kategoriemi: fétus – dospělě zvíře ve třetím trimestru gravidity.

Výsledky naší práce dokládají, že z hlediska koncentrace některých enzymů nelze považovat fétus ve třetím trimestru intrauterinního života za fyziologicky vyžralý. V souvislosti s našimi výsledky sledování enzymových aktivit u telat (Surynek aj., 1975) trvá tato fyziologická nezralost ještě několik týdnů po narození. Tato skutečnost je podmíněna vývojem orgánů, který pokračuje ještě určitou dobu po narození (Richterich, 1958).

Sledovali jsme materiál určený pro výrobu fétálního bovinního séra. Lze tedy předpokládat, že se mohlo jednat o zvířata z různých důvodů nevhodná k dalšímu chovu a poněvadž jsme nevyšetřovali podrobně i zdravotní stav, je nutné pokládat naše výsledky za orientační.

Literatura

- CORNELIUS, CH. – BISHOP, J. – SWITZER, J. – RHODE, E. A.: Serum and transaminase activities in domestic animals. Repr. f. Cornell Veter., 49 1959, s. 1.
HASCHEN, R. J.: Enzymdiagnostik. Jena, VEB G. Fischer. Verl. 1970. 521 s.
HOMOLKA, J.: Klinický význam stanovení enzymů. Biochem. clin. bohemoslov., 1, 1972, s. 5-14.
HOMOLKA, J.: Nové vyjadřování laboratorních výsledků. Čas. Lék. čes., 112, 1973, s. 526-530.
KOLB, E.: Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. 1. vyd., Jena, VEB G. Fischer Verl. 1962, 942 s.
MADĚROVÁ, V. – NEUMAN, V. – KOZUMPLÍK, F.: Vývoj transaminázové aktivity krevního séra telat v raném postnatálním údobí. Acta univ. agric., fac. veter. (Brno), 11, 1963, s. 187-192.

- RICHTERICH, R.: Enzymopathologie. Enzyme in Klinik und Forschung. 1. vyd. Berlin — Göttingen — Heidelberg, Springer Verl. 1958, 703 s.
- SURYNEK, J.: Postnatální vývoj některých hodnot uhlovodanového a tukového metabolismu, amylázy, GOT, hemoglobinu a hematokritu v krvi telat. [Habilitační práce.] Brno 1965, — Vysoká škola zemědělská. Fakulta veterinární.
- SURYNEK, J.: Razvitije aktivnosti transaminazy ščaveloukusnoj kisloty v krovi teljat v postnatalnyj period razvitiya. Acta univ. agric., fac. veter. (Brno), 37, 1968, s. 199-203.
- SURYNEK, J. — KUČERA, A. — JANŮ, J. — HOJOVCOVÁ, M.: Výzkum enzymatických poruch při trávení u telat. Sledování některých základních ukazatelů bio-medicínského profilu telete v postnatálním údobí. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975. 78 s.
- ŠLESINGER, L.: Vliv pohlaví a stáří na dynamiku hladin anorganického fosforu a aktivitu alkalické fosfatázy v krevním séru telat od narození do stáří dvou roků. Vet. Med., Praha, 15, 1970, s. 179-184.
- TKÁČ, J. — ORSÁG, A.: Aktivita enzymův GOT, GPT, SODH a AF v krvnom sére kôz po cisárskych rezoch. Vet. Med., Praha, 19, 1974, s. 505-509.
- TOMŠÍK, F. — HOLÝ, L. — ČERNÝ, L.: Způsob výroby bovinního fetálního séra a použití „Plating efficiency“ pro testování fetálních sér. In vitro v ČSSR, 1973, č. 2/3, s. 46-48.

Došlo dne 7. 7. 1976

СУРИНЕК, И. — ТОМШИК, Ф. (Ветеринарный институт, Брно): Активность некоторых в кровяной плазме фетов и коров в третьей трети беременности. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 75-80.

В кровяной плазме бычьих фетов и коров ($n = 2 \times 15$) в третьей трети беременности определялась активность Л-аспартат: 2-оксoglutarатаминотрансферазы, EC. 2.6.1.1. (GOT), Л-аланин: 2-оксoglutarатаминотрансферазы, EC. 2.6.1.2 (GPT), Л-лактат: NAD оксидоредуктазы, EC. 1.1.1.27 (LDH) и монофосфат ортофосфорной кислоты фосфогидролазы, EC. 3.1.3.1 (щелочной фосфатазы). Возраст коровы составлял 2,5—7 лет, порода чешская пестрая. Плод вынимался при помощи кесарева сечения при местном обезболивании. Кровяная плазма фетов показывала высокослабо низкую активность обеих трансаминаз и лактатдегидрогеназ по сравнению с плазмой их матерей ($P < 0,01$). Низкий уровень вышеприведенных энзимов является доказательством физиологической неспелости. Активность щелочной фосфатазы была высокослабо выше у фетов ($P < 0,01$). Такое явление, бесспорно, связано с ростом и спелостью скелета. Средние значения у фетов были: GOT $0,74 \pm 0,39$, GPT $0,48 \pm 0,23$, LDH $33,7 \pm 5,3$, щелочная фосфатаза $10,90 \pm 3,89$ $\mu\text{моль/мл}$ в час при температуре 37°C . Средние значения у матерей составляли: GOT $1,37 \pm 0,42$, GPT $0,86 \pm 0,36$, LDH $58,7 \pm 9,9$ и щелочная фосфатаза $4,23 \pm 2,61$ $\mu\text{моль/мл}$ в час при температуре 37°C . Результаты считаются ориентировочными, так как для изучения энзимных активностей брался материал, служащий для производства бычьей фетальной сыворотки, и состояние здоровья коров не было подробно обследовано.

трансаминазы; лактатдегидрогеназа; щелочная фосфатаза; кровь; крупный рогатый скот; фетус

SURYNEK, J. — TOMŠÍK, F. (University of Veterinary Medicine, Brno): Activity of Some Enzymes in the Blood Plasma of Foetuses and Cows in the Third Trimester of Pregnancy. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 75-80.

In the blood plasma of bovine foetuses and cows ($n = 2 \times 15$) in the third trimester of pregnancy we determined the activity of L-aspartate: 2-oxoglutarate amino-transferase, EC. 2.6.1.1. (GOT), L-alanine: 2-oxoglutarate amino-transferase, EC. 2.6.1.2. (GPT), L-lactate: NAD oxidoreductase, EC. 1.1.1.27 (LDH) and monoester of the orthophosphonic phosphohydrolase acid, EC. 3.1.3.1 (alkaline phosphatase). The cows were two and a half to seven years old, of the Bohemian Spotted breed. The foetuses were obtained by Caesarean section with local anaesthesia. The blood plasma of foetus showed a highly significantly lower activity of both transaminases and lactate dehydrogenase than the plasma of their mothers ($P < 0.01$). The

low level of the mentioned enzymes is a proof of the physiological immaturity. The activity of alkaline phosphatase was highly significantly higher than in foetuses ($P < 0.01$). This phenomenon is undoubtedly connected with the growth and development of skeleton. The average values of foetuses were found as follows: GOT 0.74 ± 0.39 , GPT 0.48 ± 0.23 , LDH 33.7 ± 5.3 , alkaline phosphatase $10.90 \pm 3.89 \mu\text{mol ml}^{-1}$ per hour at the temperature of 37°C . The average values found in mothers were as follows: GOT 1.37 ± 0.42 , GPT 0.86 ± 0.36 , LDH 53.7 ± 9.9 , and alkaline phosphatase $4.23 \pm 2.61 \mu\text{mol ml}^{-1}$ per hour at the temperature of 37°C . We take the results obtained for informative because for the examination of enzymatic activities a material which served for the production of bovine foetal serum was used and the health conditions of the cows were not thoroughly studied.

transaminases; lactate dehydrogenase; alkaline phosphatase; blood; cattle; foetus

SURYNEK, J. — TOMŠÍK, F. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Die Aktivität einiger Enzyme im Blutplasma von Föten und Kühen im dritten Trimester der Gravidität*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 75-80.

Im Blutplasma von Rinderföten und Kühen ($n = 2 \times 15$) im dritten Trimester der Gravidität ermittelte man die Aktivität von L-Aspartat: 2-Oxoglutarataminotransferase, EC. 2.6.1.1. (GOT), L-Alanin: 2-Oxoglutarataminotransferase EC. 2.6.1.2. (GPT), L-Laktat: NAD-Oxydoreduktase, EC. 1.1.1.27. (LDH) und Orthophosphorsäuremonoeester-Phosphohydrolase, EC. 3.1.3.1. (der alkalischen Phosphatase). Die Kühen wurden im Alter von zweieinhalb bis sieben Jahren untersucht; sie gehörten der böhmischen Fleckviehrasse an. Die Früchte wurden durch Kaiserschnitt bei der Lokalanästhesie losgemacht. Das Blutplasma von Föten erwies eine hochsignifikant niedrigere Aktivität beider Transaminasen und der Laktatdehydrogenase als das Blutplasma ihrer Mütter ($P < 0.01$). Das niedrige Niveau der angeführten Enzyme ist das Zeugnis der physiologischen Unreife. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase war signifikant höher bei Föten ($P < 0.01$). Diese Erscheinung hängt zweifellos mit dem Wachstum und Reifen des Skeletts zusammen. Die durchschnittlichen Werte von Föten waren wie folgt: GOT 0.74 ± 0.39 , GPT 0.48 ± 0.23 , LDH 33.7 ± 5.3 , alkalische Phosphatase $10.90 \pm 3.89 \mu\text{mol ml}^{-1}$ je Stunde bei der Temperatur von 37°C . Die durchschnittlichen Werte der Mütter waren folgende: GOT 1.37 ± 0.42 , GPT 0.86 ± 0.36 , LDH 53.7 ± 9.9 und alkalische Phosphatase $4.23 \pm 2.61 \mu\text{mol ml}^{-1}$ je Stunde bei der Temperatur von 37°C . Die Ergebnisse kann man für Orientierungsergebnisse halten, weil zur Untersuchung der Enzymeaktivitäten das Material angewendet wurde, das zur Herstellung des Rinderfötalserums dient und der Gesundheitszustand der Kühe nicht eingehend untersucht wurde.

Transaminasen; Laktatdehydrogenase; alkalische Phosphatase; Blut; Rind; Fötus

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Jaroslav Surynek, CSc., MVDr. František Tomšík, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

NÁLEZY MYKOPLAZMAT V EJAKULÁTECH BÝKŮ Z INSEMINAČNÍCH STANIC VÝCHODOČESKÉHO KRAJE

K. Jurmanová, J. Černá, E. Jiránek

JURMANOVÁ, K. — ČERNÁ, J. — JIRÁNEK, E. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno; Státní veterinární ústav, Pardubice): *Nálezy mykoplasmat v ejakulátech býků z inseminačních stanic Východočeského kraje*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 81-90.

Na přítomnost mykoplasmat jsme vyšetřili 202 vzorky nativních ejakulátů, odebraných během jednoho roku od býků z osmi plemenářských stanic a přechovávaných v tekutém dusíku. Izolovali jsme 56 kmenů mykoplasmat, z nichž jsme většinu identifikovali jako *M. bovirgenitalium*, tři kmeny jako *M. bovirhinis* a dva kmeny jako *M. agalactiae* subsp. *bovis*; několik izolátů se nám nepodařilo určit. U 94 vzorků jsme předpokládali přítomnost kmenů *Ureaplasma* sp., neboť jsme zaznamenali výrazné štěpení urey v bakteriologicky sterilním médiu. Jednotlivé plemenářské stanice se od sebe lišily v počtu pozitivních býků, a to od 0 do 100 % vyšetřených zvířat, našli jsme však i rozdíly mezi jednotlivými odběry. Na základě srovnání motility a koncentrace ejakulátů a přítomnosti mykoplasmat jsme poukázali na vztah mezi sníženou kvalitou ejakulátů a jejich kontaminací mykoplasmaty.

kultivace mykoplasmat a ureaplasmat; identifikace epi-imunofluorescencí; snížená kvalita ejakulátů s mykoplasmaty

Nálezy mykoplasmat v souvislosti s poruchami plodnosti jsou otevřenou otázkou již od roku 1947, kdy Edward se spolupracovníky izoloval poprvé tyto nejmenší autotrofně se množící mikroorganismy z genitálního traktu skotu. Tyto izolace podnítily rozsáhlý zájem pracovníků v reprodukci ve všech částech světa (Cottew a Leach, 1969). Další výzkumy vedly především ke zdokonalení a rozšíření původně používaných virologických technik kultivace a identifikace, jimiž se umožnil popis cca 50 druhů mykoplasmat pocházejících ze zvířat. Není však pochyb, že budou nalezeny ještě další druhy, až se objeví vhodnější způsoby zpracování patologického materiálu a přirozenější kultivace *in vitro*, odpovídající úzkému kontaktu mykoplasmat s živočišnou buňkou.

V současné době doporučila komise mykoplasmatologů při světové organizaci FAO/WHO (1974, 1974a) věnovat zvýšenou pozornost podílu mykoplasmat na neplodnosti skotu, přičemž svou zprávu podložila dobře dokumentovanými případy spontánních a experimentálních vezikulitid a salpingitid se dvěma patogenními druhy, a to *Mycoplasma bovirgenitalium* (Blom a Ernø, 1967; Ernø a Blom, 1972; Al-Aubaidi, 1970) a *M. agalactiae* subsp. *bovis* (La Faunce, 1972). Také nálezy ureaplasmat v genitálním traktu lidí a zvířat (Kundsin a Driscoll,

1971; Horn aj., 1973, Taylor-Robinson a Furr, 1973) nabyly nového významu ve světle pokusu Stalheima aj. (1976), kteří prokázali *in vitro* patogenitu těchto kmenů pro řasinkový epitel vejcovodu krav. V této souvislosti Stalheim a jiní pracovníci (Onoviran aj., 1975, Truscott aj., 1975) upozorňují na přítomnost mykoplazmat v ejakulátech, které se používají k umělé inseminaci krav a doporučují jejich eliminaci. Proto jsme zaměřili pozornost na sledování přítomnosti mykoplazmat v ejakulátech býků odchovávaných v některých plemenářských stanicích v naší republice a výsledky našeho šetření jsou obsahem této práce.

MATERIÁL A METODY

KULTIVAČNÍ MÉDIA

Pro izolaci mykoplazmat jsme používali modifikované Hayflickovo médium (Hayflick, 1965) skládající se ze 70 ml bujónu z hovězích srdcí, obsahujícího 1 % Bacto-peptonu a 0,5 % chloridu sodného, 20 ml koňského séra, 10 ml 25 % extraktu z čerstvých kvasnic, 1,26 ml roztoku octanu tálného a penicilin G v koncentraci 200 až 1000 m. j. v 1 ml. Toto základní médium bylo použito buď pro přípravu pevné půdy přidáním agaru kvalitu Difco Special Agar-Noble, nebo Oxoid Ionagar No 2 tak, aby výsledná koncentrace byla 1 %, anebo půd tekutých pro předběžnou biochemickou identifikaci, a to přidáním 1 ml 20 % roztoku acidobazického indikátoru fenolové červeně, a dále glukózy nebo argininu do výsledné koncentrace 1 %. Médium s glukózou mělo pH upraveno na 7,2 sterilním NaOH a médium s argininem na 6,4 kyselinou solnou.

Pro záchyt a pasážování agens štěpícího ureu jsme používali tekutou kultivační půdu obsahující opět jako základ bujón z hovězích srdcí, doplněný 15 % nativního koňského séra, 10 % kvasničního extraktu, 0,002 % fenolové červeně a 0,1 % urey. Obsah penicilinu se pohyboval od 200 do 1000 m. j. v 1 ml v závislosti na síle bakteriální kontaminace.

Podrobné předpisy na přípravu kultivačních médií pro mykoplazmata, jakož i zásady kultivace a identifikace jsou uvedeny ve Veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodikách (1975). Výrobu kultivačních médií pro mykoplazmata zařadila do svého programu Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané.

POSTUP ISOLACE MYKOPLAZMAT Z EJAKULÁTŮ

Ejakuláty, uložené v pejetách v tekutém dusíku, jsme po rozmrazení přenesli do 2 ml bujónu z hovězích srdcí. Vzniklou suspenzi jsme inkubovali po 1 hod. při 37 °C za občasného třepání a po této době jsme Pasteurovou pipetou naočkovali celý povrch agarové půdy v Petriho misce o $\varnothing$ cca 6 cm, u části vyšetřovaných vzorků jsme současně očkovali dvě zkumavky se 2 ml tekutých médií, s glukózou a argininem. Všechny vzorky jsme inokulovali do tekutých půd s ureou. V tekutých médiích jsme sledovali změnu barevného indikátoru od prvního do pátého dne inkubace. Při změně indikátoru média s ureou jsme odebrali vzorek, který jsme titrovali v čerstvé ureové půdě do titru 10^{-3} a současně naočkovali bakteriologický krevní agar pro stanovení případné bakteriální kontaminace. Při změně indikátoru médií s glukózou a argininem jsme vyočkovali vzorek na agarovou půdu, kterou jsme inkubovali pět dnů. Když se v tekutých médiích po šesti dnech inkubace nezměnil indikátor, vyočkovali jsme vzorek kontrolně na agarové půdy. Změnu indikátoru jsme stanovili na základě srovnání naočkovaných médií s kontrolními nenaočkovanými médií, inkubovanými po celou dobu za týchž podmínek.

Za pozitivní izolace jsme pokládali nález typických dvouzónových kolonií na agarovém médiu, ať již po přímém vyočkování ze ředěného ejakulátu, nebo po předběžné kultivaci v tekuté půdě s glukózou nebo argininem. U agens štěpících ureu jsme pokládali za pozitivní záchyt výraznou změnu indikátoru ureové půdy, negativní nález na bakteriologickém krevním agaru a další pasážovatelnost v ureových médiích. Tyto kmeny jsme zařadili předběžně pod označení *Ureaplasma* sp.

IDENTIFIKACE ISOLÁTŮ

Podle výsledků kultivace v tekutých médiích byly izoláty předběžně zařazeny do skupin kmenů štěpících ureu, glukózu, popřípadě arginin. Izoláty byly klonovány a identifikovány antiséry osmi bovinních druhů, a to: *M. bovirhinalium*, *M. agalactiae* subsp. *bovis*, *M. bovirhinalis*, *Acholeplasma laidlawii*, *A. modicum*, *M. arginini*, *M. alkalescens*, *M. sp. skup. 7*, podle postupů popsanych ve Veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodikách (1975).

Test nepřímé epi-imunofluorescence byl použit pro identifikaci kolonií vyrostlých na pevných půdách, a to buď po přímém nátěru zředěného ejakulátu, nebo po předběžné kultivaci v tekutém médiu. Identifikovali jsme osmi antiséry bovinních druhů. Všechna antiséra však mohla být použita u vzorků s dostatečným počtem kolonií. Při identifikaci bylo postupováno podle Rosendala a Blacka (1972), jejichž modifikovanou metodu jsme popsali dříve (Jurmanová aj., 1975). V principu se pracovalo s bločky agaru různých tvarů s dobře vyvinutými koloniemi, na které se nanášela antiséra. Po inkubaci se bločky promyly a byl nanášen konjugát proti králičímu séru. Po opětovném promytí se reakce posoudila ve fluorescenčním mikroskopu. Výrobu králičích antisér proti některým druhům bovinních mykoplazmat, popřípadě konjugovaných antisér pro přímou imunofluorescenci, má zařazenou ve svém programu Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané.

STANOVENÍ KVALITY EJAKULÁTŮ

Při odběru ejakulátů byla stanovena koncentrace a motilita spermií běžným způsobem.

VÝSLEDKY

IDENTIFIKACE ISOLÁTŮ

V období jednoho roku jsme vyšetřili na přítomnost mykoplazmat 202 vzorky nativních ejakulátů od býků z osmi plemenářských stanic (tab. I). Celkem jsme našli 56 kmenů mykoplazmat, které tvořily na pevné půdě typické dvouzónové kolonie, a dále 94 kmeny, které štěpily ureu v bakteriologicky sterilním tekutém médiu.

Kmeny štěpící ureu jsme zařadili předběžně pod označení *Ureaplasma sp.* a vybrali jsme jeden referenční kmen, který jsme pod označením Čs. sbírky mikroorganismů v Brně CCM M-80 odeslali k sérologickému určení dr. R. N. Courlayovi do Anglie (Institute for Research on Animal Diseases, Compton).

Z 56 kmenů mykoplazmat jsme testem růstové inhibice a nepřímou epi-imunofluorescencí zařadili většinu izolátů do druhu *M. bovirhinalium*, pouze tři do druhu *M. bovirhinalis* a dva do druhu *M. agalactiae* subsp. *bovis*. Část izolátů jsme neurčili z toho důvodu, že buď nebyl dostatek kolonií pro použití více druhů antisér, anebo se při klonování nepodařilo izolát dále pasážovat.

SROVNÁNÍ ISOLAČNÍCH TECHNIK

U 100 vzorků jsme srovnali počet izolovaných kmenů mykoplazmat ze ředěných nativních ejakulátů, očkovaných nejprve do tekutých médií a následovně vyočkovaných na agarové půdy, s počtem záchytů z přímého očkování zředěných ejakulátů na agarové půdy. U 100 tekutých médií s glukózou a argininem jsme sledovali změnu barevného indikátoru. U argininových půd jsme nezaznamenali změnu indikátoru ani v jediném případě, u glukózových médií v pěti případech. Po vyočkování vzorků

I. Izolace mykoplazmat z ejakulátů býků z osmi plemenářských stanic — Isolation of mycoplasmas from the ejaculates of bulls coming from eight breeding stations

Datum odběru	Lokalita	Počet vzorků celkem	Počet vzorků s pozitivním nálezem na:	
			mykoplazmata	ureu
21. 5. 1974	VI.	10	9 (90 %)	9 (90 %)
8. 4. 1974	Ne.	12	6 (50 %)	12 (100 %)
9. 4. 1974	Ne.	19	12 (63 %)	17 (90 %)
22. 4. 1974	Ne.	9	1 (11 %)	2 (22 %)
22. 5. 1974	Ne.	10	7 (70 %)	7 (70 %)
2. 7. 1974	Ma.	16	6 (37 %)	8 (50 %)
26. 6. 1974	Mn.	9	0 (0 %)	1 (11 %)
28. 8. 1974	Mn.	9	2 (22 %)	1 (11 %)
12. 11. 1974	Mn.	9	2 (22 %)	1 (11 %)
24. 4. 1974	Po.	11	4 (36 %)	7 (64 %)
25. 10. 1974	Po.	16	0 (0 %)	6 (38 %)
25. 10. 1974	Po. II.	10	1 (10 %)	5 (50 %)
20. 11. 1974	Po.	10	3 (30 %)	0 (0 %)
4. 12. 1974	Po.	9	0 (0 %)	2 (22 %)
2. 7. 1974	N. D.	5	1 (20 %)	3 (60 %)
15. 10. 1974	Tu.	17	1 (6 %)	11 (65 %)
7. 6. 1974	Pot.	21	1 (5 %)	2 (10 %)
Celkem	8	202	56 (31 %)	94 (51 %)

tekutých půd buď po změně indikátoru do pěti dnů, nebo kontrolně po pěti dnech kultivace na agarová média, jsme našli typické dvouzónové kolonie v 16 případech. Při odečtení výsledků kultivace po přímém očkovaní agarových médií jsme našli kolonie v 28 případech.

SLEDOVÁNÍ VZTAHU KVALITY EJAKULÁTŮ A JEJICH KONTAMINACE MYKOPLAZMATY

Jednotlivé plemenářské stanice se velmi lišily v počtu býků, jejichž ejakuláty byly kontaminovány mykoplazmaty, a to od 0 do 100 % pozitivních zvířat (tab. I). Rozdíly jsme našli i mezi jednotlivými odběry. U 75 ejakulátů jsme zjistili parametry kvality stanovené při odběru ejakulátů (tab. II, III). U 44 vzorků ejakulátů pozitivních na mykoplazmata jsme našli v šesti případech, tj. ve 13 %, koncentraci nižší než 0,7 a ve 12 % případech, tj. v 27 %, motilitu nižší než 70 %. U 31 ejakulátu bez mykoplazmat byla koncentrace nižší než 0,7 nalezena v jednom případě (3 %) a motilita nižší než 70 % ve dvou případech (6 %) (tab. IV).

DISKUSE

Problém přítomnosti mykoplazmat v ejakulátech je třeba hodnotit ze dvou hledisek. Jednak mohou onemocnět inseminované krávy (Hirt aj., 1966; Stalheim aj., 1976), jednak je předpoklad onemocnění

II. Koncentrace a motilita ejakulátů býků s mykoplazmaty — Concentration and motility of bull ejaculates with mycoplasmas

Pořadové číslo	Označení	Lokalita	Koncentrace	Motilita v %	U	B	PP
1	MO 534	Ne. 22. 4. 1974	0,7	70	0	+	+
2	BO 503	Ne. 9. 4. 1974	0,7	60	+	0	+
3	LB 115	Ne. 9. 4. 1974	0,7	70	+	0	+
4	LB 103	Ne. 9. 4. 1974	0,4	50	+	0	+
5	ŠA 153	Ne. 9. 4. 1974	0,5	50	+	0	+
6	MO 508	Ne. 9. 4. 1974	0,4	50	+	0	+
7	EP 51	Ne. 9. 4. 1974	0,5	80	+	0	+
8	EB 151	Ne. 9. 4. 1974	0,8	50	+	0	+
9	AM 219	Ne. 9. 4. 1974	1,7	40	0	0	+
10	ULK 78	Ne. 9. 4. 1974	1,0	50	+	0	+
11	ULK 109	Ne. 9. 4. 1974	0,7	50	+	0	+
12	LM 195	Ne. 9. 4. 1974	0,8	60	+	+	+
13	LM 89	Ne. 9. 4. 1974	0,5	50	+	0	+
14	Haj 18	Ma. 25. 6. 1974	2,0	80	+	0	+
15	Fz 52	Ma. 25. 6. 1974	1,1	80	0	0	+
16	Šj 90	Ma. 25. 6. 1974	2,0	70	+	0	0
17	Csp 70	Ma. 25. 6. 1974	1,6	70	+	0	+
18	Csm 161	Ma. 25. 6. 1974	1,6	80	0	0	+
19	AM 00839	Vi. 27. 5. 1974	0,2	70	+	0	+
20	RED 35063	Vi. 27. 5. 1974	1,5	80	+	0	+
21	AM 21087	Vi. 27. 5. 1974	1,3	60	+	0	+
22	NON 00303	Vi. 27. 5. 1974	1,2	70	+	0	+
23	AM 00140	Vi. 27. 5. 1974	1,3	70	+	0	+
24	MG 37002	Vi. 27. 5. 1974	1,5	80	+	0	+
25	NED 21860	Vi. 27. 5. 1974	1,2	70	+	+	+
26	NON 0924M	Vi. 27. 5. 1974	1,3	80	+	+	+
27	Lm 110	N. D. 1. 7. 1974	1,8	80	+	0	+
28	Ša 272	N. D. 25. 9. 1974	1,0	70	+	+	+
29	Pfa 88	N. D. 25. 9. 1974	1,4	80	+	+	+
30	Roa 5	N. D. 25. 9. 1974	1,9	80	+	+	0
31	Pfa 101	N. D. 25. 9. 1974	1,7	80	+	0	+
32	Lm 133	N. D. 25. 9. 1974	0,1	70	0	0	+
33	ULK 56	Tu. 15. 10. 1974	1,3	80	+	0	0
34	Csm 120	Tu. 15. 10. 1974	2,0	70	+	+	0
35	Ulk 55	Tu. 15. 10. 1974	1,4	70	+	0	0
36	Pfa 91	Mn. 25. 6. 1974	1,1	70	+	+	0
37	Ša 256	Mn. 25. 6. 1974	1,4	80	+	+	0
38	Lm 132	Mn. 12. 11. 1974	2,0	70	+	+	0
39	Šj 71	Mn. 12. 11. 1974	1,4	80	0	0	+
40	Csp 54 (2skok)	Mn. 12. 11. 1974	1,0	80	+	0	0
41	Lc 65	Po. 19. 11. 1974	1,2	30	+	0	0
42	Ag 74	Po. 19. 11. 1974	1,3	80	0	0	+
43	Fm 101	Po. 19. 11. 1974	0,8	50	0	0	+
44	Pfa 120	Po. 19. 11. 1974	2,0	80	0	0	+

Vysvětlivky: U — kmeny štěpící ureu (*Ureaplasma* sp.); B — bakteriální kontaminace;
PP — typické kolonie mykoplazmat na pevné půdě

genitálního traktu býka. Patogeneze onemocnění genitálního traktu býků, i když již byla studována v řadě prací, které shrnují Fabricant (1973) a Ernø (1974), je sotva pochopena; neboť není jasné, jak se býci přirozeně infikují. I když je výskyt mykoplazmat ve vnějších genitálních hojný (Onoviran aj., 1975), nepředpokládá Ernø (1974) přestup z prepuciální dutiny za možný. Zdá se mu pravděpodobné, že mykoplazmata se do vezikulárních žláz mohou dostat proudem krve pravdě-

III. Koncentrace a motilita spermií v ejakulátech býků bez mykoplazmat — Concentration and spermatozoon motility of bull ejaculates without mycoplasmas

Pořadové číslo	Označení	Lokalita	Koncentrace	Motilita v %
1	ŠA 224	Ne. 22. 4. 1974	0,8	60
2	LB 151	Pot. 7. 5. 1974	2,0	90
3	BO 582	Pot. 7. 5. 1974	1,3	80
4	ROA 3	Pot. 7. 5. 1974	1,4	90
5	MR 219	Pot. 7. 5. 1974	1,0	90
6	PF 57	Pot. 7. 5. 1974	0,8	90
7	ROA 9	Pot. 7. 5. 1974	0,8	90
8	BO 577	Pot. 7. 5. 1974	1,4	90
9	ULK 132	Pot. 7. 5. 1974	1,3	90
10	MR 163	Pot. 7. 5. 1974	0,5	80
11	ROA 14	Pot. 7. 5. 1974	1,5	90
12	BO 579	Pot. 7. 5. 1974	0,7	90
13	MOF 72	Pot. 7. 5. 1974	1,4	90
14	ULK 122	Pot. 7. 5. 1974	1,4	80
15	AM 278	Pot. 7. 5. 1974	1,4	80
16	FU 51	Pot. 7. 5. 1974	1,5	80
17	RED 10380	VI. 27. 5. 1974	1,2	60
18	PFA 96	N. D. 1. 7. 1974	1,7	80
19	LM 133	N. D. 1. 7. 1974	1,2	80
20	PY 380	N. D. 25. 9. 1974	1,2	80
21	LM 76	N. D. 25. 9. 1974	1,3	70
22	PFA 96	N. D. 25. 9. 1974	1,5	75
23	LB 149	Mn. 12. 11. 1974	1,0	70
24	ŠA 257	Mn. 12. 11. 1974	1,7	80
25	CSP 54	Mn. 12. 11. 1974	1,2	80
26	PMK 99	Po. 19. 11. 1974	0,9	80
27	PMK 100	Po. 19. 11. 1974	1,7	90
28	JUN 292	Po. 19. 11. 1974	1,1	70
29	BOK 133	Po. 19. 11. 1974	1,4	80
30	AM 250	Po. 19. 11. 1974	1,7	80
31	EB 151	Tu. 15. 10. 1974	1,3	70

IV. Vztah mezi přítomností mykoplazmat a koncentrací a motilitou spermií — The relationship between the presence of mycoplasmas and the motility of spermatozoa

Izolace mykoplazmat	Počet vzorků	Koncentrace 0,7	Motilita 70 %
Pozitivní	44	6 (13 %)	12 (27 %)
Negativní	31	1 (3 %)	2 (6 %)

podobně z respiračního, popřípadě alimentárního traktu. Tuto teorii podporujeme vlastními izolacemi mykoplazmat z varlat 100 % vyšetřovaných býčků s respiračním syndromem, při současném nálezů téhož druhu mykoplazmat v respiračním traktu (Jurmanová aj., 1975a).

Naše nálezy – především kmenů druhu *M. bovis genitalium* v ejakulátech našich býků – jsou v souladu s výsledky jiných pracovníků (Fabricant, 1973; Ernø, 1974). Ernø (1975) našel dále v ejakulátech také dva kmeny druhu *M. bovirhinis* a 13 kmenů dvou druhů acholeplazmat. V této své práci poukazuje na výhody testu epi-imunofluorescence, který jednak umožňuje identifikovat mykoplazmata ve směsi druhů, jednak dává informaci o skutečném výskytu těchto druhů v organismu, neboť využívá primoizolace. Na základě výsledků našich srovnávacích pokusů kultivace na pevných půdách s identifikací epi-imunofluorescencí a kultivace v tekutých půdách s následným vyočkováním na pevné půdy jsme dospěli k témuž názoru a tento postup navrhuje jako nejvhodnější pro terénní vyšetřování ejakulátů.

Ve své předešlé práci (Jurmanová, 1973) jsme izolovali z ejakulátů našich býků vedle druhu *M. bovis genitalium* také druh *M. arginini*, což se nám při tomto sledování nepodařilo. Nález kmenů *M. agalactiae* subsp. *bovis* pokládáme ze velmi významný, neboť jeho patogenita byla prokázána jednak pro genitální trakt krav i býků, dále jako etiologické agens mastitid a pneumonií telat (Fabricant, 1973; Jasper aj., 1966; Thomas aj., 1975). V našich podmínkách jsme tento druh izolovali také z respiračního traktu telat s pneumoniemi (Jurmanová aj., 1975a).

Při kultivaci kmenů, které jsme předběžně zařadili do druhu *Ureaplasma* sp., jsme se setkali s obtížemi při průkazu kolonií na pevných půdách. Tato mykoplazmata, dříve nazývaná také T kmeny, tvoří na agarrech kolonie mnohem menší než klasické druhy mykoplazmat. Jejich kultivace je velmi obtížná, protože vedle značné náročnosti na kvalitu média produkují toxickou látku, kterou si samy zastaví množení (Stallheim aj., 1976).

Při izolacích mykoplazmat od býků z jednotlivých plemenářských stanic jsme našli velké rozdíly v procentu pozitivních zvířat. Obdobné rozdíly v procentu pozitivních býků uvádí i Ernø (1974). Ve 26 insemináčnických střediscích našel pozitivních pouze několik býků, ale ze tří největších středisek bylo pozitivních 30 až 64 % zvířat. Naproti tomu pracovníci, kteří vyšetřovali pouze jednu nebo dvě plemenářské stanice, uvádějí 80 až 100 % pozitivních býků (Albertsen, 1955; Fabricant, 1973).

Náš poukaz na vztah mezi sníženou kvalitou ejakulátů, stanovenou na podkladě hodnocení koncentrace a motility spermií, podpořil do jisté míry práce prokazující patogenitu mykoplazmat pro genitální trakt býků (Blom a Ernø, 1967; Ernø a Blom, 1972; Al-Aubaidi 1970). Parsonson (1970) zjistil, že v přítomnosti mykoplazmat v ejakulátech zůstává morfologie spermií nezměněná, ale že procento mrtvých spermií se zvýšilo u jednoho býka z 10 na 30 % a že životnost spermií u experimentálně infikovaných býků, v jejichž ejakulátech se objevily zánětlivé buňky, nápadně poklesla.

Tato práce je první systematickou studií ejakulátů býků z našich inseminačních stanic. Dosažené výsledky naznačují, že zavedení pravidelných mykoplazmologických vyšetření býků s poruchami spermiogeneze nebo změnou kvality spermatu by vhodně doplnila informace o mikrobiologické a zdravotní situaci v naší reprodukci.

Literatura

- AL-AUBAIDI, J. M.: Bovine mycoplasmas: purification, characterization, classification and pathogenicity. Ph. D. Thesis. Cornell University, Ithaca, N. Y. 1970.
- ALBERTSEN, B. E.: Pleuropneumonia-like organisms in the semen of Danish artificial insemination bulls. Nord. VetMed., 7, 1955, s. 169-201.
- BLOM, E. — ERNØ, H.: Mycoplasmosis: Infections of the genital organs of bulls. Acta vet. scand., 8, 1967, s. 186-188.
- COTTEW, G. — LEACH, R. H.: Mycoplasmas of cattle, sheep and goats. In: The Mycoplasmatales and the L-phase of Bacteria, chap. 19, 1969, Ed. L. Hayflick, New York: Appleton-Century-Crofts.
- EDWARD, D. G. ff. — HANCOCK, J. L. — HIGNETT, S. L.: Isolation of pleuropneumonia-like organisms from the bovine genital tract. Vet. Rec., 59, 1947, s. 329-330.
- ERNØ, H.: Bovine mycoplasmas. Inst. of Med. Microbiology University of Aarhus, 1974.
- ERNØ, H.: Bovine mycoplasmas: Identification of 100 strains isolated from semen of bulls. Acta vet. scand., 16, 1975, s. 321-323.
- ERNØ, H. — BLOM, E.: Mycoplasmosis: Experimental and spontaneous infections of the genital tracts of bulls. Acta vet. scand., 13, 1972, s. 161-174.
- FABRICANT, J.: The pathogenicity of bovine mycoplasmas. Ann. N. Y. Acad. Sci., 225, 1973, s. 369-381.
- FAO/WHO: Report of consultation on comparative mycoplasmatology. Bordeaux 1974.
- FAO/WHO: Programme on comparative mycoplasmatology. Vet. Rec., 95, 1974a, s. 457-461.
- HAYFLICK, L.: Tissue cultures and mycoplasmas. Tex. Rep. Biol. Med., 23, 1965, s. 285-303.
- HIRTH, R. S. — NIELSEN, W. — PLASTRIDGE, W. N.: Bovine salpingoöphoritis produces with semen containing a mycoplasma. Pathologia vet., 3, 1966, s. 616-632.
- HORNE, H. W. — HERTIG, A. T. — KUNDSIN, R. B. — KOSASA, T. S.: Sub-clinical endometrial inflammation and T-mycoplasmas: a possible cause of human reproductive failure. Int. J. Fert., 18, 1973, s. 221-231.
- JASPER, D. E. — JAIN, N. C. — BRAZIL, L. H.: Clinical and laboratory observations in bovine mastitis due to mycoplasma. J. Am. vet. med. Ass., 148, 1966, s. 1017-1029.
- JURMANOVÁ, K.: Mycoplasmas isolated from the genital tract and semen of bulls. In vitro v ČSSR, 2, 1973, s. 70-75.
- JURMANOVÁ, K. — HÁJKOVÁ, M. — KREJČÍ, J. — ČERNÁ, J.: Účast mykoplazmat na respiračních onemocněních telat ve velkokapacitních teletnicích v ČSSR. Vet.Med, Praha, 20, 1975, s. 583-593.
- JURMANOVÁ, K. — HÁJKOVÁ, M. — KREJČÍ, J. — JIRÁNEK, E.: Účast mykoplazmat při hromadných onemocněních skotu. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1975a, 42 s.
- KUNDSIN, R. B. — DRISCOLL, S. G.: The role of mycoplasma in human reproductive failure. Ann. N. Y. Acad. Sci., 174, 1971, s. 794.
- LaFAUNCE, N.: Experimental *Mycoplasma agalactiae* var. *bovis* infection in the bull. M. S. Thesis. Cornell University, Ithaca, N. Y. 1972.
- ONOVIRAN, O. — TRUSCOTT, R. B. — FISH, N. A. — BARKER, C. A. — RUHNKE, H. L.: The recovery of mycoplasmas from the genital tract of bulls in artificial breeding units in Ontario. Can. J. comp. Med., 39, 1975, s. 474-475.

- PARSONSON, I. M.: *Mycoplasma bovis* genitalium-experimental induction of genital disease in bulls. Ph. D. Thesis. Cornell University, Ithaca, N. Y. 1970.
- ROSENDAL, S. — BLACK, F. T.: Direct and indirect immunofluorescence of unfixed mycoplasma colonies. *Acta path microbiol. scand.*, B, 80, 1972, s. 615-622.
- STALHEIM, O. H. — PROCTOR, S. J., — GALLACHER, J. E.: Growth and effect of ureaplasma (T mycoplasma) in bovine oviductal organ cultures. *Infect. Immun.*, 13, 1976, s. 915-925.
- TAYLOR-ROBINSON, D. — FURR, P. M.: The distribution of T-mycoplasmas within and among various animal species. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 225, 1973, s. 108-117.
- THOMAS, L. H. — HOWARD, C. J. — GOURLAY, R. N.: Isolation of *Mycoplasma agalactiae* var. *bovis* from a calf pneumonia outbreak in the south of England. *Vet. Rec.*, 97, 1975, s. 55-56.
- TRUSCOTT, R. B. — ONOVIRAN, O. — RUHNKE, H. L. — FISH, N. A. — BARKER, C. V.: *In vitro* antimicrobial sensitivity of mycoplasmas isolated from the bovine genital tract. *Can. J. comp. Med.*, 39, 1975, s. 416-420.
- : Veterinární laboratorní vyšetřovací metodiky I, ÚSVÚ Praha a ÚSVÚ Bratislava 1975.

Došlo dne 30. 8. 1976

ЮРМАНОВА, К. — ЧЕРНА, Й. — ЙИРАНЕК, Е. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно; Государственный ветеринарный институт, Пардубице): Установление микоплазмы в эякулятах быков из станций по искусственному осеменению Восточночешской области. *Vet. Med.*, Praha, 22, 1977 (2): 81-90.

На наличие микоплазмы нами обследовались 202 пробы нативных эякулятов, отобранных во время одного года от быков из восьми племенных станций и хранимых в жидком азоте. Нами было изолировано 56 штаммов микоплазмы, большинство из которых мы идентифицировали как *M. bovis genitalium*, три штамма как *M. bovirhinis* и два штамма как *M. agalactiae* subsp. *bovis*; несколько изолятов нам не удалось определить. У 94 проб мы предполагали наличие штамма *Ureaplasma* sp., так как нами было установлено явное расщепление уреи в бактериологически стерильной среде. Отдельные племенные станции отличались друг от друга числом положительных быков, т. е. от 0 до 100 % обследованных животных, однако были обнаружены и различия между отдельными пробами. На основе сравнения подвижности и концентрации эякулятов и наличия микоплазмы было доказано отношение между пониженным качеством эякулятов и их концентрацией микоплазмы.

культивация микоплазмы и уреоплазмы; идентификация эпитимнофлюоресценции; пониженное качество эякулятов с микоплазмой

JURMANOVÁ, K. — ČERNÁ, J. — JIRÁNEK, E. (Veterinary Research Institute, Brno; State Veterinary Institute, Pardubice): *Findings of Mycoplasmas in the Ejaculates of Bulls from the Insemination Stations of the East-Bohemian Region*. *Vet. Med.*, Praha, 22, 1977 (2): 81-90.

We examined as to the presence of mycoplasmas 202 samples of native ejaculates which had been collected in the course of one year from bulls of eight breeding stations and kept in liquid nitrogen. We isolated 56 strains of mycoplasmas, the majority of which we identified as *M. bovis genitalium*, three strains as *M. bovirhinis* and two strains as *M. agalactiae* subsp. *bovis*; we did not succeed in identifying some isolates. In 94 samples we assumed the presence of *Ureaplasma* sp. strains as we recorded a significant fission of urea in bacteriologically sterile medium. The individual breeding stations differed from one another in the number of positive bulls, from 0 to 100 % of the examined animals; we found, however, some differences between the individual collections, too. On the basis of the comparison of motility and concentration of the ejaculates of the presence of mycoplasmas we drew attention to the relationship between the reduced quality of ejaculates and their contamination through mycoplasmas.

cultivation of mycoplasmas and ureaplasmas; identification through epi-immunofluorescence; reduced quality of ejaculates with mycoplasmas

JURMANOVÁ, K. — ČERNÁ, J. — JIRÁNEK, E. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno; Veterinärmedizinische Staatsanstalt, Pardubice): *Befunde von Mykoplasmen in den Ejakulaten der Bullen aus den Besamungsstationen des Ostböhmischen Bezirkes*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 81-90.

202 Proben der Nativejakulate wurden auf das Vorhandensein von Mykoplasmen untersucht; diese Ejakulate wurden im Verlauf eines Jahres von Bullen aus acht Tierzuchtstationen entnommen und im flüssigen Stickstoff aufbewahrt. Man isolierte 56 Stämme von Mykoplasmen, von denen die meisten als *M. bovis genitalium*, drei Stämme als *M. bovirhinis* und zwei Stämme als *M. agalactiae* subsp. *bovis* identifiziert wurden; einige Isolate konnten von uns nicht bestimmt werden. Bei 94 Proben setzten wir das Vorhandensein der Stämme von *Ureaplasma* sp. voraus, weil eine signifikante Ureaspaltung im bakteriologisch sterilen Medium festgestellt wurde. Die einzelnen Tierzuchtstationen wichen untereinander in der Anzahl der positiven Bullen ob und zwar von 0 bis zu 100 % der untersuchten Tiere, aber es wurden auch Unterschiede unter einzelnen Entnahmen festgestellt. Aufgrund des Vergleiches der Motilität und Konzentration von Ejakulaten und des Vorhandenseins von Mykoplasmen haben wir auf die Beziehung zwischen der herabgesetzten Qualität der Ejakulate und ihrer Kontamination durch Mykoplasmen hingewiesen.

Kultivierung von Mykoplasmen und Ureaplasmen; Identifizierung durch Epi-Immunofluoreszenz; herabgesetzte Qualität der Ejakulate und Mykoplasmen

Adresa autorů:

RNDr. Květa Jurmanová, CSc., MVDr. Jitka Černá, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno - Medlánky

MVDr. E. Jiránek, Státní veterinární ústav, 530 00 Pardubice

LÉČEBNÁ ÚČINNOST SNÍŽENÝCH DÁVEK NEOMYCINU, FURAZOLIDONU A JEJICH KOMBINACE PŘI PRŮJMECH TELAT

J. Habrda, M. Malíková, J. Bartoš

HABRDA, J. — MALÍKOVÁ, M. — BARTOŠ, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Léčebná účinnost snížených dávek neomycinu, furazolidonu a jejich kombinace při průjmech telat.* Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2): 91-98.

V chovech s vysokou morbiditou a mortalitou novorozených telat byly v léčbě gastroenteritid použity snížené dávky neomycinu, furazolidonu a jejich kombinace. Bylo shledáno, že kombinovaná terapie není při daných dávkách při této indikaci výhodnější ani z hlediska léčebného efektu, ani z hlediska ekonomického. Kombinací 0,15 g neomycinu s 0,06 g furazolidonu, podávanou dvakrát denně *per os*, bylo vyléčeno 98,3 % z 236 telat, jednotlivými složkami při shodném dávkování bylo uzdraveno 98,5 % ze 195 telat, resp. 97 % z 202 telat. Obdobně kombinací 0,25 g neomycinu s 0,15 g furazolidonu, podávanou dvakrát denně *per os*, bylo vyléčeno 97,8 % ze 178 telat a terapeutický efekt jednotlivých složek při totožném dávkování byl 98,8 % resp. 99,4 %. Klinická účinnost kombinace neomycinu s furazolidonem nebyla prokázána ani při několikanásobném snížení dávek.

mláďata; gastroenteritida; kombinované přípravky; *Escherichia coli*; rezistence; ekonomika léčby

O použití kombinací neomycinu s nitrofurany (především furazolidonem) a výsledcích s nimi jsme referovali již v řadě prací, ve kterých je uvedena i rozsáhlá literatura k této otázce (Lebduška aj., 1966, 1970; Poláková, Lebduška, 1967; Poláková aj., 1971). Ve všech těchto pokusech se ukazovala kombinace 0,75 g neomycinu a 0,3 g furazolidonu podávaná dvakrát až třikrát denně jako velmi účinný lék, se kterým bylo dosaženo lepších výsledků než s furazolidonem, neomycinem, event. jinými prostředky. Pokusy ovšem nebyly srovnávací.

O účelnosti kombinace 0,75 g neomycinu a 0,3 g furazolidonu proti jednotlivým složkám užitým samostatně v léčbě pojednává práce Polákové a Bartoše (1974), která při porovnání léčiv ve stejných chovech a období prokázala nevýznamnost kombinace v daných dávkách při dané indikaci. Protože však v pokusech *in vitro* byl prokázán v některých koncentracích synergismus obou složek při působení na *E. coli* (Poláková aj., 1971), rozhodli jsme se snížit původní dávky v naději, že tento synergický účinek popsany *in vitro* prokážeme i v klinických pokusech *in vivo*. Výsledky tohoto experimentu popisuje tato práce.

MATERIÁL A METODY

Klinické pokusy jsme dělali ve třech obdobích v 18 chovech okresů Hodonín, Uherské Hradiště, Senica n. Myjavou, Nové Zámky, Topolčany, Levica a Banská Bystrica celkem na 1181 telatech. Ve všech zemědělských závodech byla nadprůměrná morbidita a mortalita telat do 14 dní věku.

V období od 31. 12. 1971 do 5. 1. 1973 byly ve 13 chovech 633 telatům podávány tyto léky:

1. kombinace 0,15 g neomycinu s 0,06 g furazolidonu,
2. neomycin 0,15 g,
3. furazolidon 0,06 g.

V období od 16. 9. 1973 do 5. 11. 1974 byly v 9 chovech na 513 telatech zkoušeny léky ve složení:

1. kombinace 0,25 g neomycinu s 0,15 g furazolidonu,
2. neomycin 0,25 g,
3. furazolidon 0,15 g.

Od 4. 5. do 2. 9. 1973 byly na 35 telatech testovány v jednom chovu dvě kombinace neomycinu s furazolidonem:

1. kombinace 0,75 g neomycinu s 0,3 g furazolidonu,
2. kombinace 0,15 g neomycinu s 0,06 g furazolidonu.

Ve čtyřech chovech byly prověřeny obě trojice léků, v jednom chovu (JZD Vracov) byly použity všechny léky. Uvedené dávky byly podávány dvakrát denně *per os* ihned po zjištění průjmu a chovatelům jsme doporučili aplikovat ještě dvě až tři dávky po klinickém uzdravení. V každém chovu jsme testovali léky současně, aby podmínky ovlivňující průběh průjemových onemocnění u telat (krmení krav, ošetřování telat, klima atd.) byly pokud možno shodné. Za recidivu jsme považovali návrat průjmu do čtyř dnů po uzdravení. Při úhynu jsme z hodnocení vylučovali případy, u nichž pitvou byla zjištěna těžší bronchopneumonie nebo omfaloflebitida a průjem bylo možné považovat jen za průvodní příznak. U pitvaných telat jsme vyšetřovali mikrobiologicky orgány a obsah střev. Z celkového počtu 28 telat (uhynulá + výtěry) jsme izolovali 55 kmenů *E. coli*. Kmeny *E. coli* jsme zařazovali podle biochemických a kultivačních vlastností (Sedlák a Rische, 1961). Zjišťovali jsme citlivost kmenů na antibiotika a chemoterapeutika pomocí Senzitivity Disc Lachema. Sérotypy izolovaných kmenů *E. coli* jsme určovali pomalou zkušavkovou aglutinací pomocí sér patogenních sérotypů vyráběných MVDr. et RNDr. E. Salajkou, CSc., z VÚVL a Biovetou, n. p., v Ivanovicích na Hané, metodou podle návrhu výrobce. V chovech, v nichž jsme pracovali, jsme zjistili výskyt patogenních sérotypů, které Salajka (1968), Salajka a Štěpánek (1971) a jiní autoři označují jako patogenní: ŠM Čáčov 0 101, 0 78, 0 8, 0 15; JZD Uherský Ostroh 0 101; JRD Podkonice 0 2, 0 101; JZD Hroznová Lhota 0 8; JZD Javorník 0 9; JZD Dambořice 0 101, 0 9, 0 78; JRD Bešeňov 0 15; JZD Polešovice 0 101, 0 9, 0 117, 0 15, 0 8; JZD Vracov 0 101, 0 8, 0 15; JRD Dvory nad Žitavou 0 101, 0 78; SS Březolupy 0 78; SS Uherský Brod, hosp. Nový Dvůr 0 101, 0 9, 0 15, 0 115, 0 117; JRD Holíč 0 101, 0 78, 0 115, 0 8, 0 15. V pěti zbývajících chovech (JRD Senica, ŠM Senica — hosp. Sotina, JRD Mikula, JRD Jacovce a JZD Ostrožská Nová Ves) nebyly patogenní sérotypy identifikovány.

Statistickou významnost jsme hodnotili χ^2 testem (Roth aj., 1962).

VÝSLEDKY

POROVNÁNÍ LÉČEBNÉ ÚČINNOSTI KOMBINACÍ SE SAMOSTATNĚ POUŽITÝMI SLOŽKAMI (tab. I)

Z celkového výsledku je patrné, že kombinace neomycinu s furazolidonem při obou použitých způsobech dozování neměla prokazatelně lepší účinnost než její jednotlivé složky použité samostatně. V jednom případě byla dokonce kombinace signifikantně méně účinná než furazolidon, ale pouze při nejnižší hladině statistické významnosti (tab. I). Obecně lze říci, že rozdíly v počtech vyléčených a uhynulých telat u všech šesti léků byly

velmi malé, vesměs statisticky neprůkazné. Rovněž v jednotlivých chovech byly sice určité odchylky od průměru, podmíněné nepochybně především variabilitou podmínek, ale průkazné rozdíly v terapeutické účinnosti byly i v rámci těchto menších skupin pokusných zvířat výjimkou; v drtivé většině chovů byl léčebný efekt všech prostředků stejný nebo jen nepatrně rozdílný (tab. I). Při dvou zvolených způsobech dávkování nebylo pořadí účinnosti jednotlivých léků stejné. Tento rozdíl je však dán variabilitou pokusných chovů a podmínek v období pokusů a nikoli výší aplikovaných dávek. Rovněž v souborech chovů s výskytem a bez výskytu patogenických sérotypů nebylo dosaženo významných rozdílů v léčebném efektu.

POROVNÁNÍ LÉČEBNÉ ÚČINNOSTI DVOU KOMBINACÍ NEOMYCINU S FURAZOLIDONEM (tab. II)

Překvapivě vysoký terapeutický efekt kombinace neomycinu (0,15 g) s furazolidonem (0,06 g) ve srovnání s léčebnou účinností stejné kombinace v pětinasobně vyšších dávkách (Poláková a Bartoš, 1974) vedl autory k nutnosti porovnat obě kombinace ve stejném chovu (tab. II). Obě kombinace vyléčily bez ohledu na délku léčby 100 % telat, v hodnocení šestidenní léčby nebyl statisticky významný rozdíl, i když kombinace s obsahem nižších dávek použitých komponent vyléčila číselně více. V rychlosti vyléčení nebyl téměř rozdíl.

NÁRŮST REZISTENCE KMENŮ *E. COLI* K NEOMYCINU A FURAZOLIDONU

Ze šesti telat léčených kombinací bylo 88,9 % kmenů *E. coli* rezistentních k neomycinu a pouze 11,1 % k furazolidonu. Z jedenácti telat léčených furazolidonem bylo zjištěno 48,3 % kmenů rezistentních k neomycinu a 10,3 % k furazolidonu. Z jedenácti telat, jimž byl terapeuticky aplikován neomycin, bylo prokázáno 94,1 % kmenů rezistentních k tomuto antibiotiku, zatímco rezistenci k furazolidonu vykazalo jen 17,6 % kmenů. Z uvedených výsledků je naprosto patrné, že rezistence k furazolidonu narůstá nepoměrně pomaleji.

EKONOMICKÉ ZHODNOCENÍ LÉČBY

Podrobný ekonomický rozbor léčby (tab. III) nemá obecnou platnost, protože zjištěné procentuální rozdíly v úhynech, event. nutných porážkách, jsou statisticky nevýznamné. Z tohoto aspektu je tedy nejvýhodnější použití nejlevnějšího léku – furazolidonu.

Zajímavé je porovnání ceny léčby dvou kombinací neomycinu s furazolidonem. Jedna dávka kombinace 0,75 g neomycinu s 0,3 g furazolidonu stojí 5,60 Kčs, denní dávka 11,20 Kčs. Kombinace 0,15 g neomycinu s 0,6 g furazolidonu je téměř pětinasobně lacinější – 1,16, resp. 2,32 Kčs. Přitom dosažený terapeutický efekt byl u obou kombinací téměř shodný.

DISKUSE

Účelnost kombinace neomycinu s furazolidonem při kolibacilózách novorozných telat byla přezkoušena Polákovou a Bartošem (1974) při použití dvoj- a trojnásobně, resp. pětinasobně vyššího dávkování.

I. Porovnání léčebné účinnosti neomycinu (N), furazolidonu (F) a jejich kombinace
 peutic effectiveness of neomycin (N), furazolidon (F) and their combination

Lék a dávka	Počet chovů	Počet telat	Nástup onemocnění v průměru za dny po narození	% vyléčených telat
N 0,15 g F 0,06 g	13	236	5,7 (1–14)	98,3 (75,0–100)
N 0,15 g	13	195	5,3 (0–14)	98,5 (75,0–100)
F 0,06 g	13	202	5,4 (0–14)	97,0 (66,7–100)
N 0,25 g F 0,15 g	9	178	3,6 (0–13)	97,8+) (87,5–100)
N 0,25 g	9	160	3,5 (1–13)	98,8 (90,0–100)
F 0,15 g	9	175	3,8 (1–13)	99,4+) (93,8–100)

Vysvětlivky: +) významné při $P = 0,1$

Autoři prokázali nevýhodnost kombinace v dané dávce při dané indikaci; kombinace vyléčila číselně více než její jednotlivé složky (99,1 %, resp. 98,2 % proti 96,8 % a 95,5 %), ale rozdíl v účinnosti kombinace a neomycinu byl statisticky nevýznamný. Námi popsané výsledky jsou v podstatě shodné. Snížené dozování kombinace i složek nezvýhodnilo kombinaci. Rozdíly v počtech vyléčených telat při aplikaci vyšších a nižších dávek jsou poměrně malé a v rámci variability pokusných chovů a období zanedbatelné.

Orientačně jsme porovnali obě kombinace v jednom chovu a období, ale prokázaly stejný terapeutický efekt (tab. II). Fakt, že několikanásobné snížení dávky nevyvolalo předpokládané snížení léčebného efektu ani u kombinace, a dokonce ani u samostatně použitých složek, nelze jednoznačně vysvětlit. S největší pravděpodobností je možné předpokládat,

II. Srovnání obou kombinací neomycinu s furazolidonem v JZD Vracov – Comparison of the two combinations of neomycin with furazolidon on the Vracov

Lék	Období	Počet telat	Onemocnělo v den po narození			Vyléčeno během 6 dní	
			Ø	min.	max.	počet	%
Neomycin 0,75 g Furazolidon 0,3 g	4. 5. – 13. 8. 1973	17	6,9	2	11	15	88,2
Neomycin 0,15 g Furazolidon 0,06 g	4. 5. – 2. 9. 1973	18	7,6	3	11	17	94,4

při různém dozování (léky podávány dvakrát denně) — Comparison of the therapeutically administered in different doses (the preparations given twice daily)

Průjem se zastavil průměrně za dny	Recidivy v %	Přechod na jiný lék v %	Nutné porážky v %	Úhyny v %
3,0 (0,5—9,0)	5,5	—	0,4	1,3
3,2 (0,5—9,0)	7,2	0,5	—	1,0
3,2 (0,5—15,0)	4,0	—	—	3,0
2,9 (0,5—7,5)	1,7	—	0,5	1,7
3,0 (0,5—8,5)	1,9	—	0,6	0,6
3,1 (0,5—9,0)	2,9	—	—	0,6

že v popsanych pokusech neslo vesmes o pripady komplikovane septickym prubehem a ze mistne ucinné a málo rozpustné komponenty (neomycin a furazolidon) stacily i v této nizké dávce eliminovat infekci v zaživaci traktu.

V pokusech *in vitro* bylo znovu prokázáno, že nárůst rezistence k furanovým derivátům — reprezentovaným furazolidonem — je podstatně pomalejší než k antibiotiku — neomycinu. Tento výsledek je plně v souladu s našimi dřívějšími pokusy (např. Lebeda a kol., 1973) i s dalšími pracemi: van Ulsen (1972), Loken a kol. (1971), Overgaard (1971), Pohl a kol. (1970) a kol.

Kladem této práce je zjištění, že použité nízké dávky neomycinu i furazolidonu jsou z hlediska ekonomického velmi výhodné ve srovnání s jinými léky (např. s Antirhoinem, Chronicinem, Terapeutanem a kol.).

co-operative farm

Průjem se zastavil za dny			Průjem se zastavil po počtu dávek			Vyléčeno celkem	
Ø	min.	max.	Ø	min.	max.	počet	%
4,3	2	6	8,5	4	12	17	100
4,4	2	6	8,7	4	12	18	100

III. Ekonomické zhodnocení léčby kombinací neomycinu a furazolidonu s jednotlivými složkami (všechny léky podávány dvakrát denně) — Economic evaluation of treatment with the combination of neomycin and furazolidon and with the individual components of the combination (all preparations administered twice daily)

Lék	Cena 1 dávky v Kčs	Náklady na léčbu			Škody vzniklé úhynem ⁺) a nutnými porážkami		Náklady na léčbu a škody v Kčs	Ekonomický efekt kombinace proti složkám v Kčs
		počet telat	dávek	v Kčs	počet telat	v Kčs		
N 150 mg F 60 mg	1,16	236	2176	2524,16	4	24 024,— 10 000,— 2 400,—	26 548,16 12 524,16 4 924,16	
N 150 mg	1,08	195	1976	2134,08	2	12 012,— 5 000,— 1 200,—	14 146,08 7 134,08 3 334,08	— 12 402,08 — 5 390,08 — 1 590,08
F 60 mg	0,08	202	1981	158,48	6	36 036,— 15 000,— 3 600,—	36 194,48 15 158,48 3 758,48	+ 9 646,32 + 2 634,32 — 1 165,68
N 250 mg F 150 mg	1,93	178	1505	2904,65	4	24 024,— 10 000,— 2 400,—	26 928,65 12 904,65 5 304,65	
N 250 mg	1,80	160	1414	2545,20	2	12 012,— 5 000,— 1 200,—	14 557,20 7 545,20 3 745,20	— 12 371,45 — 5 359,45 — 1 559,45
F 150 mg	0,13	175	1595	207,35	1	6 006,— 2 500,— 600,—	6 213,35 2 707,35 807,35	— 20 715,30 — 10 197,30 — 4 497,30

Vysvětlivky: N = neomycin, F = furazolidon

⁺) Ztráta vzniklá úhynem jednoho telete: 6006 Kčs (Markovič, 1967); 2500 Kčs (Kvapil, 1959); 600 Kčs výkupní cena telete o hmotnosti 50 kg kategorie B

Pro zjednodušení jsme hodnotili nutnou porážku a úhyn jako stejnou ekonomickou ztrátu

Přihlédneme-li k pomalejšímu nárůstu rezistence kmenů *E. coli*, jeví se především použití neantibiotického furazolidonu při dané indikaci jako perspektivní.

Literatura

- KVAPIL, O.: Studie o úhynu telat v okrese Žatec z hlediska ekonomického. Veterinářství, 9, 1959, s. 26-29.
- LEBDUŠKA, J. — POLÁKOVÁ, M. — BARTOŠ, J.: Srovnávání účinnosti nejlepších dosavadních a nových prostředků k profylaxi a léčbě gastroenteritid telat. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1966.
- LEBDUŠKA, J. — POLÁKOVÁ, M. — BARTOŠ, J. — MELICHAR, B. — MAŠEK, J. — OPLIŠTIL, M. — DVOŘÁK, M. — PATKA, J. — MATOUŠKOVÁ, O.: Výzkum etiologie, diagnostiky, prevence a léčby infekčních gastroenterálních poruch telat. Význam endotoxinu a histaminu v patogenezi a léčbě gastroenteritid telat. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1970.
- LEBDUŠKA, J. — POLÁKOVÁ, M. — BARTOŠ, J. — HABRDA, J.: Chemoprophylaxe a chemoterapie průjmových onemocnění novorozených telat. Metodiky pro zavádění výsledků výzkumu do praxe (ÚVTI Praha), 1973, č. 5, 84 s.
- LOKEN, K. I. — WAGNER WINONA, L. — HENKE, C. L.: Transmissible drug resistance in enterobacteriaceae isolated from calves given antibiotics. Am. J. vet. Res., 32, 1971, s. 1207-1212.
- MARKOVIČ, P.: Perspektiva průmyslového odchovu telat v ČSSR. Biol. Chem. Výživy, 3, 1967, s. 465-471.
- OVERGOOR, G. H. A.: Voortgezette onderzoekingen met betrekking tot de gevoeligheid van uit praktijkmateriaal geïsoleerde bacteriën t. o. v. de meest gebruikelijke antibiotica en chemotherapeutica. Tijdschr. Diergeneesk., 96, 1971, s. 685-693.
- POHL, P. — THOMAS, J. — ROBAYE, E.: Résistance aux antibiotiques des Escherichia coli pathogènes isolés chez le veau et le porc. Évolution de 1967 à 1970. Annls Méd. vét., 6, 1970, s. 363-371.
- POLÁKOVÁ, M. — BARTOŠ, J.: Účinnost kombinace neomycinu s furazolidonem a jejich složek při gastroenteritidách novorozených telat. Vet. Med., Praha, 19, 1974, s. 39-44.
- POLÁKOVÁ, M. — LEBDUŠKA, J.: Léčba průjmových onemocnění novorozených telat neomycinem a jeho kombinacemi s nitrofurany. Veterinářství 17, 1967, s. 495-499.
- POLÁKOVÁ, M. — LEBDUŠKA, J. — BARTOŠ, J.: Léčba kolibacilóz novorozených telat kombinací neomycinu s furazolidonem. Vet. Med., Praha, 16, 1971, s. 247-254.
- ROTH, Z. — JOSÍFKA, M. — MALÝ, V. — TRČKA, V.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha 1962.
- SALAJKA, E.: Koliinfekce selat z hlediska etiologického. Stud. Inf. ÚVTI. Veterinářství, 1968, č. 1-2, s. 119.
- SALAJKA, E. — ŠTĚPÁNEK, J.: Akutní enterální infekce telat a selat v raném postnatálním období. Vet. Med., Praha, 16, 1971, s. 117-124.
- SEDLÁK, J. — RISCHE, H.: Enterobacteriaceae — Infektionen. Leipzig 1971.
- ULSEN VAN, W.: Coli's, Salmonella's en Antibiotika. Tijdschr. Diergeneesk., 97, 1972, s. 1069-1074.

Došlo dne 19. 10. 1976

ГАБРДА, Й. — МАЛИКОВА, М. — БАРТОШ, Й. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Лечебное действие пониженных доз неомицина, фуразолидона и их комбинации при поносах телят. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2): 91-98.

В разведениях с высокими заболеваемостью и падежом новорожденных телят в ходе лечения гастроэнтерита использовали пониженные дозы неомицина, фуразолидона и их комбинации. Установлено, что комбинированная терапия в данных дозах и индикации не выгоднее ни с терапевтической, ни с экономической точек зрения. Благодаря комбинации 0,15 г неомицина с 0,06 г фуразолидона, вводимой 2 раза в день пер ос, было вылечено 98,3 % из

236 телят, а путем дачи отдельных компонентов в той же дозе — 98,5% из 195 телят или 97% из 202 телят. Также комбинация 0,25 г неомицина с 0,15 г фуразолидона 2 раза в день пер ос вылечили 97,8% из 178 телят, а терапевтический эффект отдельных компонентов в той же дозировке = 98,8% или 99,4%. Клиническая целесообразность комбинации неомицина с фуразолидоном не оправдала себя даже при понижении дозировок в несколько раз.

молодняк; гастроэнтерит; комбинированные препараты; *E. coli*; устойчивость; экономика лечения

HABRDA, L. — MALÍKOVÁ, M. — BARTOŠ, J. (Veterinary Research Institute, Brno): *The Therapeutic Effectiveness of Reduced Doses of Neomycin, Furazolidon, and their Combinations in the Treatment of Diarrhoea in Calves*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) :91-98.

In herds showing high morbidity and mortality rates of new-born calves, reduced doses of neomycin, furazolidon, and their combinations were used in the treatment of gastroenteritis. It was found that the combined therapy was not more effective at such doses with this indication, either from the viewpoint of the therapeutic effect or from the economic viewpoint. The combination of 0.15 g neomycin and 0.06 g furazolidon administered per os twice daily healed 98.3% of 236 calves while the individual components administered in the same doses cured 98.5% of 195 calves and 97% of 202 calves, respectively. Similarly, the combination of 0.25% neomycin and 0.15 g furazolidon, administered twice daily per os, cured 97.8% of 178 calves and the therapeutic effect of separate components administered in the same doses amounted to 98.8% and 99.4%, respectively. The combination of neomycin with furazolidon was not clinically proved even with the use of several times lower doses.

young animals; gastroenteritis; combined preparations; *Escherichia coli*; resistance; economy of therapy

HABRDA, J. — MALÍKOVÁ, M. — BARTOŠ, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Heilwirkung vermindelter Gaben von Neomyzin, Furazolidon und ihrer Kombination gegen Durchfälle bei Kälbern*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 91-98.

In Herden mit hoher Morbidität und Mortalität neugeborener Kälber wurden in der Behandlung von Gastroenteritis verminderte Gaben von Neomyzin, Furazolidon und ihrer Kombination eingesetzt. Es wurde festgestellt, daß kombinierte Therapie bei den gegebenen Gaben bei dieser Indikation weder von der Hinsicht des Heileffekts, noch von der ökonomischen Hinsicht vorteilhafter ist. Mit zweimal täglich per os verabreichten Kombination von 0,15 g Neomyzin und 0,06 g Furazolidon wurden 98,3% von 236 Kälbern geheilt, mit den einzelnen Komponenten bei identischer Dosierung wurden 98,5% von 195, bzw. 97% von 202 Kälbern geheilt. Ähnlich wurden mit zweimal täglich per os verabreichter Kombination von 0,25 g Neomyzin mit 0,15 g Furazolidon 97,8% von 178 Kälbern geheilt und der therapeutische Effekt der einzelnen Komponenten bei identischer Dosierung lag bei 98,8% bzw. 99,4%. Klinische Zweckmäßigkeit der Kombination von Neomyzin mit Furazolidon konnte nicht einmal bei einer mehrfachen Verminderung der Gaben nachgewiesen werden.

Jungtiere; Gastroenteritis; kombinierte Mittel; *Escherichia coli*; Resistenz; Ökonomik der Behandlung

Adresa autorů:

MVDr. Jan Habrda, MVDr. Milena Malíková, CSc., MVDr. Jaroslav Bartoš, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno - Medlánky

EXPERIMENTÁLNÍ PARAMPHISTOMATÓZA JEHŇAT

D. Zajíček, M. Márová, W. Zahradníková, B. Ryšavý

ZAJÍČEK, D. — MÁROVÁ, M. — ZAHRADNÍKOVÁ, W. — RYŠAVÝ, B.:
(Ústřední státní veterinární ústav, Praha; Parazitologický ústav ČSAV, Praha):
Experimentální paramphistomatóza jehňat. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 99-
-108.

U čtyř jehňat ve věku tři a půl měsíce, o průměrné hmotnosti 10 kg, byla sledována počáteční duodenální fáze vývoje motolice *Paramphistomum* sp. Každému jehněti bylo zkrmeno 3000 až 3500 adoleskárií (metacerkárií) motolic získaných z plžů dovezených z Egypta. Po dobu devíti týdnů byl zjišťován v krvi počet erytrocytů, leukocytů, obsah hemoglobinu, hodnoty hematokritu, MCV, MCH, MCHC, bílého krevního obrazu, celkového proteinu a jeho frakcí (albumin, α -, β -, γ -globulin), aktivita SGOT, SGPT, alkalické fosfatázy, hladina vápníku, anorganického fosforu, hořčíku a železa. Patogenní působení vyvíjejících se motolic se projevilo poklesem hodnot hemoglobinu, hematokritu, celkového proteinu, albuminu a α -globulinu, aktivity SGPT, hladiny anorganického fosforu a železa a částečně i v počtu erytrocytů, to nejvíce v období mezi 30. až 46. dnem po invazi. Ve stejném období invaze došlo k výrazné lymfocytóze. Mírná anorexie, provázená slabým vodnatým průjmem, proběhla u jehňat v sedmém až desátém dnu p. i.; příznaky se v dalším průběhu invaze neopakovaly.

Paramphistomum sp; hematologie; krevní sérum; proteinémie; aminotransferázy (SGOT, SGPT); alkalická fosfatáza; minerálie v séru (vápník, anorganický fosfor, hořčík, železo)

V počáteční duodenální fázi vývoje paramphistomatózy po invazi dochází k nejzávažnějším klinickým příznakům onemocnění (Artemenko, 1967, 1968; Gluzman, 1969; Sharma, Jain, 1969; Ashizawa aj., 1970; Boray, 1971; Michajlova aj., 1972; Mereminskij, 1974; Romaniuk, 1975; Višnjakov aj., 1975). Po experimentálním zkrmení adoleskárií *Paramphistomum* sp. pocházejících z plžů dovezených z Egypta sledovali jsme u invadovaných jehňat vybrané hodnoty klinického vyšetření po dobu 63 dnů.

MATERIÁL A METODA

K experimentální invazi byla použita čtyři jehňata ve věku tři a půl měsíce, o průměrné hmotnosti 10 kg. Ustájená jehňata byla krmena lučním senem a pšeničným šrotem s přídatkem vitamínů a minerálních složek. Každému z jehňat bylo podáno 3000 až 3500 adoleskárií *Paramphistomum* sp. jednorázově per os, a to buď

na kouscích salátu, na němž se encytovaly, nebo volně rozptýlených ve vodě. K experimentální invazi došlo 12. 4. 1974. Plži byli dovezeni z Egypta koncem února téhož roku a přechováni za laboratorních podmínek.

Po dobu prvních devíti týdnů experimentální invaze jsme odebírali vzorky trusu z rekta a vzorky krve v časných ranních hodinách před krmením z *vena jugularis* v osmi- až desetidenních intervalech (poslední vyšetření bylo v intervalu 14 dnů). Pro parazitologická, hematologická a biochemická vyšetření byly použity metody:

- a) kvantitativní koprologické metody podle Wetzela (1951) a sedimentační metoda;
- b) baničkové metody pro výpočet erytrocytů a leukocytů, diferenciální rozpočet krevních elementů (200) v krevních roztěrech barvených May-Grünwald-Giemsa, množství hemoglobinu metodou podle Sahliho, hematokrit metodou Wintrobou, SOČK (MCV), SHO (MCH) a SHK (MCHC) vypočteny podle platných vzorců; vyšetření bylo prováděno v krvi ošetřené Komplexonem-III;
- c) krevní sérum k biochemickému vyšetření bylo získáno odstředěním v chlazené centrifúze Janetzki – K 60 (30 min při 3000 ot min⁻¹ a teplotě +4 °C);
- d) celkový protein byl stanovován refraktometricky, hodnoty aluminu, α -, β -, a γ -globulinu elektroforézou na papíře s elučním vyhodnocením příslušných hodnot na spektrofotometru Spekol při 530 nm (Hořejší aj., 1964);
- e) aktivita transamináz SGOT (EC 2. 6. 1. 1) a SGPT (EC 2. 6. 1. 1) kolorimetricky podle Reitmana a Frankela v modifikaci podle Bergmayera a Bernta (1962), alkalickou fosfatázu kolorimetricky podle Urbacha a Raabeho (1964);
- f) vápník titrací podle metody Homolky (1971), anorganický fosfor fotometricky na spektrofotometru Spekol při 720 nm (Arbeitsmethoden – Spekol, 1964), hořčík fotometricky Bio-Latesty, železo podle Homolky (1971);
- g) ke statistickému vyhodnocení byl použit párový *t*-test. Výchozí hodnoty jsme porovnávali s dalšími a pokládali jsme je za základní.

VÝSLEDKY

PARAZITOLOGIE

Koprologickými metodami nebyla prokázána vajíčka paramphistomat ani vajíčka gastrointestinálních nematodů a oocyst kokcií po uvedené dobu sledování experimentální invaze. Po porážce jehňat za šest měsíců po invadování byla zjištěna intenzita invaze 631 až 842 motolic lokalizovaných v přední části batoru. Nalezené motolice byly předběžně druhově zařazeny do rodu *Paramphistomum*.

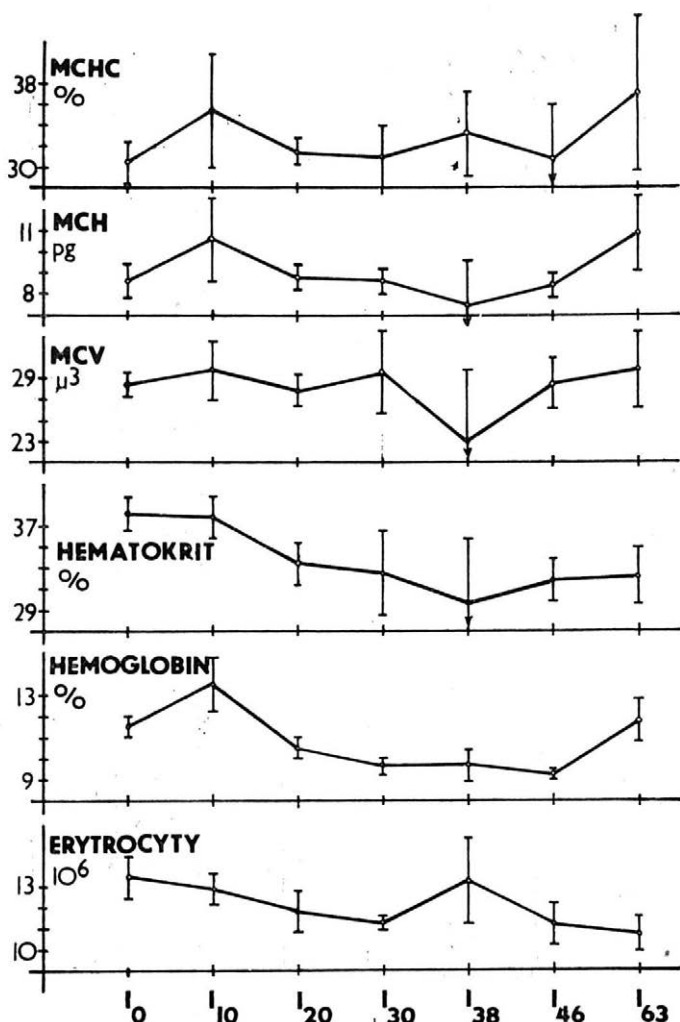
HEMATOLOGIE (obr. 1 a 2)

V počtu erytrocytů, pohybujícím se v počátku sledování při horní hranici udávaného fyziologického rozmezí u zdravých ovcí, byly patrné dva poklesy ke středním hodnotám (30., 40.–63. den), které byly statisticky průkazné proti výchozím hodnotám ($p < 0,05$).

Hladina hemoglobinu po počátečním vzestupu prudce poklesla k minimální hranici udávaného fyziologického rozmezí hodnot u zdravých ovcí počínaje 30. dnem invaze. Tento výrazný pokles ($p < 0,05$) trval až do 46. dne invaze, kdy se hladina vrátila téměř na úroveň výchozích hodnot.

Hodnoty hematokritu sledovaly obdobný pokles od maximálních hodnot udávaného fyziologického rozmezí u zdravých ovcí, přičemž největší statisticky významný pokles ($p < 0,05$) nastoupil 38. den po invazi.

1. Průběh hodnot červeného krevního obrazu a hemoglobinu při invazi — The course of the values of the red blood cell count and haemoglobin during infection

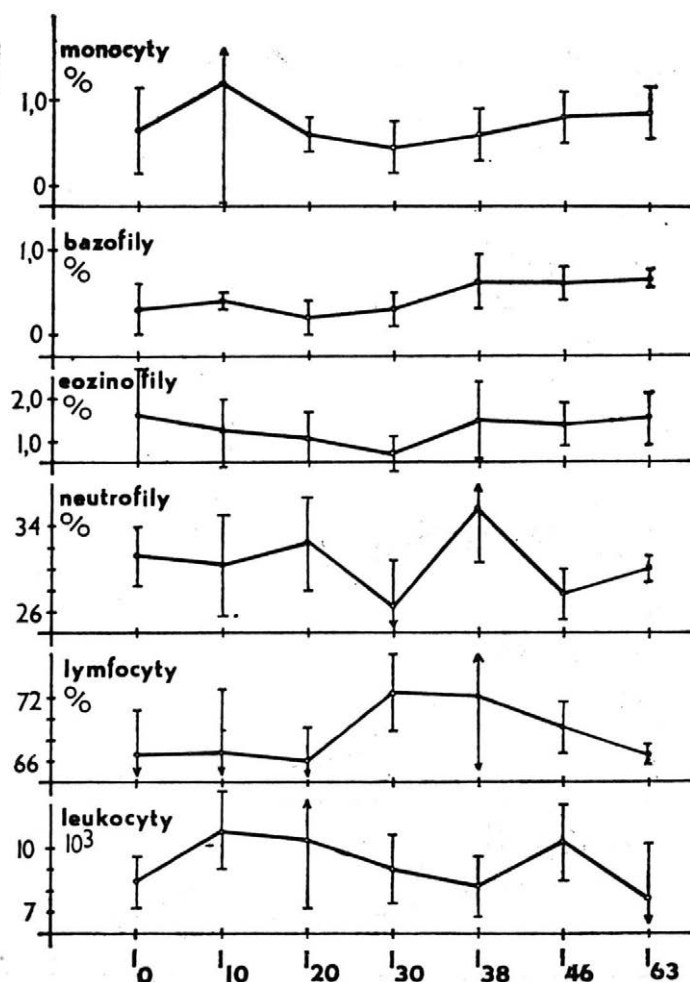


Po něm následovalo vyrovnnání hodnot na úroveň středních hodnot fyziologického rozmezí udávaného u zdravých ovcí.

Hodnoty SOČK (MCV) a SHO (MCH) zaznamenaly největší pokles 38. den po invazi; ani u jedné hodnoty však nebyl statisticky významný. Hodnoty SHK (MCHC) byly značně rozkolísané, přičemž vzestup i pokles nedosahoval statisticky významných odchylek.

V bílém krevním obraze (obr. 2) byly zjištěny rozkolísané hodnoty v počtu leukocytů bez statisticky prokazatelných odchylek. U většiny bílých krevních elementů nebyly prokazatelné statisticky významné výkyvy vyjma lymfocytů, u nichž nastal výrazný vzestup 30. a 38. den ($p < 0,05$) po invazi a u neutrofilů pokles ($p < 0,05$) rovněž 30. den *p. i.*

Celkově se hodnoty hematologického vyšetření pohybovaly v rozmezí fyziologických hodnot udávaných pro zdravé ovce.



2. Průběh hodnot bílého krevního obrazu — The course of the values of the white blood cell count

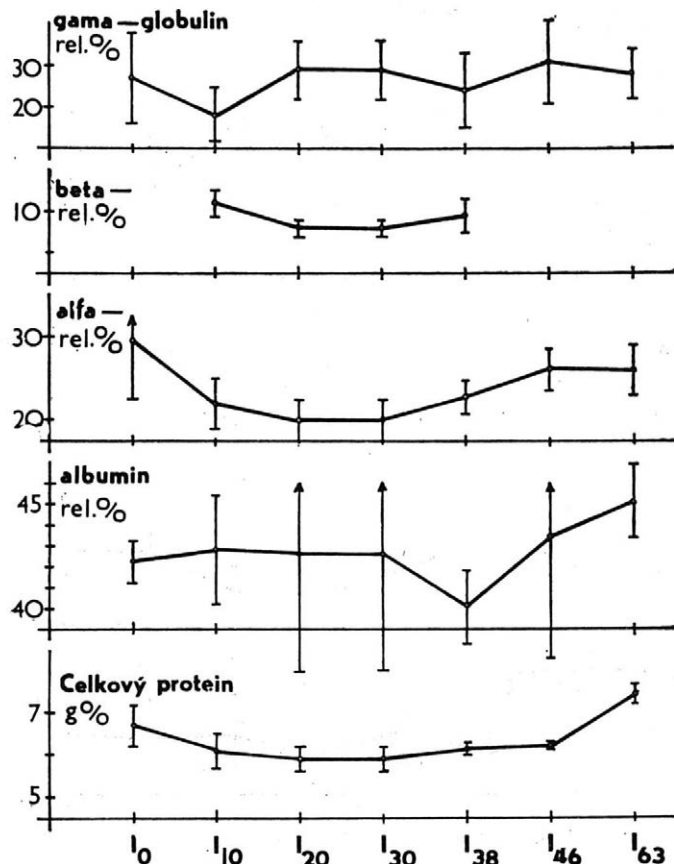
PROTEINEMIE (obr. 3)

V proteinemii došlo k mírnému poklesu celkového proteinu v prvních vyšetřeních (10.–20. den *p. i.*) ke středním hodnotám udávaného fyziologického rozmezí u zdravých ovcí, přičemž ke konci sledování hodnoty překročily výchozí. Albuminová frakce výrazně poklesla 38. den po invazi, pokles však nebyl statisticky významný. α -globulin reagoval na průběh invaze poklesem až do 30. dne *p. i.*, kdy hladina opět začala stoupat, ale nedosáhla již výchozích hodnot. U β -globulinu se neprojevila výrazná reakce na průběh invaze a γ -globulin po mírném, statisticky nevýznamném poklesu 10. dne *p. i.*, se rozkolísaně udržoval na úrovni výchozí hodnoty. Celkově se všechny sledované hodnoty proteinemie udržovaly v hodnotách fyziologického rozmezí udávaného pro zdravé ovce.

ENZYMY (obr. 4)

Aktivita aminotransferáz se projevila výrazně u SGPT, u níž hladina poklesla již desátý den *p. i.* (statisticky významný $p < 0,05$) a na této úrovni se rozkolísaně udržovala po celou dobu sledování. Obdobný pokles

3. Průběh proteinémie
— The course of proteinaemia



aktivity SGOT desátý den nebyl statisticky významný a rovněž se udržoval téměř na stejné úrovni poklesu po celou sledovanou dobu (obr. 4).

Aktivita alkalické fosfatázy probíhala v mírných výkyvech na úrovni výchozích hodnot.

Aktivita sledovaných enzymů nepřekročila udávaná rozmezí fyziologických hodnot u zdravých ovcí.

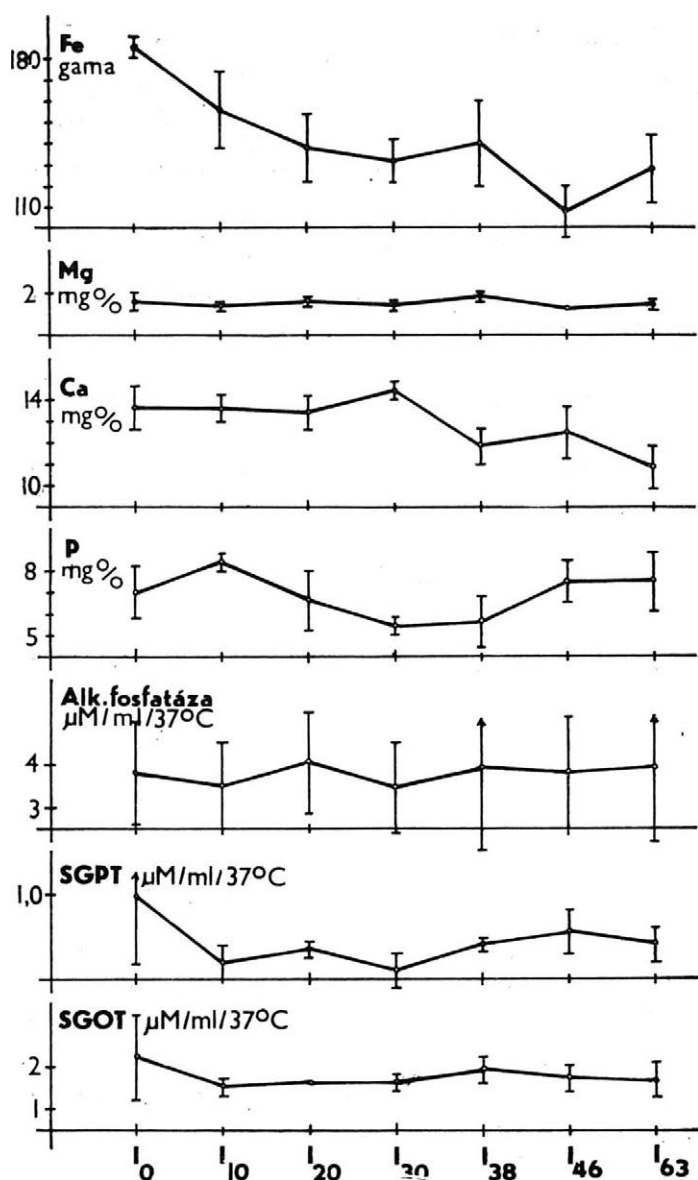
MINERÁLIE (obr. 4)

Z minerální složky krevního séra byly sledovány hodnoty vápníku, anorganického fosforu, hořčíku a železa.

Hladina vápníku výrazně poklesla 38. den *p. i.* ke středním hodnotám fyziologického rozmezí udávaného u zdravých ovcí a setrvala na nich rozkolísaně až do konce sledování. Pokles nebyl statisticky významný.

Hodnoty anorganického fosforu po mírném vzestupu 10. den *p. i.* prudce poklesly na nejnižší hodnoty 30. den *p. i.* ($p < 0,05$) proti výchozím hodnotám a v dalších vyšetřeních postupně vystoupily (46. den *p. i.*) na výchozí hodnoty.

Hladina hořčíku nezaznamenala po celou dobu sledování významnější výkyvy.



4. Hladina železa, manganu, vápníku a fosforu a aktivita enzymů v průběhu invaze paramphistomat — The levels of iron, manganese, calcium and phosphorus and activity of enzymes in the course of *Paramphistimum* sp. infection

Hladina železa od začátku vyšetření trvale klesala a nejnižšího a statisticky významného poklesu ($p < 0,05$) dosáhla 46. den *p. i.*, po němž nastal mírný vzestup k výchozím hodnotám.

KLINICKÁ POZOROVÁNÍ

Frekvence tepu, srdeční činnosti a dechu se během sledování neměnila a setrvala na hodnotách udávaných pro zdravé ovce. Jehňata projevila příznaky mírného nechutenství a slabých vodnatých průjmů v období od sedmého do desátého dne *p. i.*, ale tyto příznaky brzy vymizely a trus v celém dalším období sledování byl formovaný.

Z motolic čeledi *Paramphistomatidae* je popisován druh *Paramphistomum microbothrium* Fischöder, jako běžný cizopasník bachoru skotu a ovcí v zemích oblasti Středoziemního moře (Vujič, 1965; Van Strydom, 1971; Višňjakov aj., 1975). S největší pravděpodobností jde i v našem případě o tentýž druh motolic. Předpokládáme, že v duodenální fázi vývoje experimentální invaze se vyvíjelo v organismu jehňat asi 30 % motolic z podaného množství adolescentů proti stavu zjištěnému konečnou helmintologickou pitvou. Tento stav odpovídá obvyklému poměru zachytnosti cizopasníků v organismu hostitele vzhledem k podanému množství invazních stadií, přičemž intenzita invaze dospělců klesá souběžně s délkou invaze.

Období infestace motolic v duodenu se klinicky projevilo v našem případě mírným nechutenstvím a slabým vodnatým průjmem v období od sedmého do desátého dne *p. i.* Boray (1971) pozoroval při invazi jehňat *P. ichikawai* vodnaté průjmy a anorexii po dobu deseti dnů, Horák (1971) zjišťoval pokles chuti k přijímání potravy sedmý až osmý den *p. i.* a komplexní anorexii po dobu 16 až 27 dnů při experimentální invazi *P. microbothrium* u ovcí.

Pokles hodnot červené krevní složky, zejména v počtu erytocyty, hemoglobinu a hematokritu, jsme zjistili mezi 30. až 40. dnem *p. i.* podobně jako Artemenko (1968) a Gluzman, Artemenko (1969) při experimentální invazi *Liorchis scotiae* u telat. Horák (1971) pozoroval vzestup hodnot erytocyty, hemoglobinu a hematokritu v konečných stadiích invaze. V bílé krevní složce došlo ve sledovaném období invaze k výrazné lymfocytóze a poklesu neutrofilů shodně s pozorováním Artemenka (1968). U eosinofilů nedošlo k výrazným změnám, podobně jako to prokázali Anczykowski, Chowaniec (1955, cit. Artemenko, 1968). Horák (1971) uvádí v průběhu konečných stadií invaze vymizení eosinofilů z periferní krve, což může souviset s jejich maximálním nahloučením společně s lymfocyty v místech lokalizace motolic v předžaludcích (Ashizawa aj., 1970).

Změny v proteinemii, provázející mnohé parazitární invaze zejména poklesem plazmového proteinu a jeho frakcí, se projevují i při paramphistomatóze. Butler, Yeoman (1955, cit. Horák, 1971) zjišťovali u invadovaných telat redukci celkového proteinu od 14. dne *p. i.* a pokles byl provázen snížením koncentrace plazmového albuminu až o 65,8 %. Horák (1971) v dalších experimentech prokázal pokles celkového proteinu v prvních 18 dnech invaze a stejně i ve všech jeho frakcích. Naopak Romaniuk (1975) uvádí při invazi skotu *Paramphistomum* sp. vzestup hodnot celkového proteinu v krevním séru při současném poklesu albuminu, vzestup hladiny α - a γ -globulinu a kolísání hodnot β -globulinu. V našem případě se experimentální invaze projevila mírným poklesem celkového proteinu a albuminu v souladu s pozorováním citovaných autorů. Ostatní globulinové frakce nereagovaly výrazně na probíhající invazi.

Aktivita enzymů nebyla prozatím sledována žádnými autory a nemůžeme porovnat dosažené výsledky zejména v období duodenální fáze vývoje motolic.

V minerální složce krevního séra při experimentální invazi paramphistomat pozoroval Le Roux (1930, cit. Horák, 1971) u pěti pokusných ovcí výraznou redukci vápníku a Horák (1971) u šesti ovcí pokles hodnot vápníku z počátečních 10,9 mg% na 7,5 mg% společně se snížením koncentrace albuminu. V našem případě hladina vápníku rovněž mírně poklesla v průběhu experimentální invaze, nedosáhla však krajních hodnot minima.

Počáteční vzestup hodnot anorganického fosforu, následovaný dalším poklesem, bývá projevem akutních parazitárních invazí zejména v zažívacím traktu, jímž se projevuje pravděpodobně zásah parazitů do metabolismu tohoto prvku ve střevním epitelu.

Trvalý pokles hladiny železa, provázející experimentální invazi, lze dát do souvislosti se změnami v červené krevní složce.

Sledované hodnoty klinického vyšetření potvrdily zásah experimentální invaze paramphistomat v období duodenální fáze vývoje do metabolismu pokusných jehňat a prokázaly řadu shodných údajů s autory, kteří se touto problematikou zabývali.

Literatura

- ARTEMENKO, J. G.: Sekrecija abomazalja u teljat eksperimentaľno zaražennych paramfistomatidozom (*Liorchis scotiae*). Mat. konf. vsesojuz. obšč. gelmint. Moskva, časť 1, 1967, s. 26-32.
- ARTEMENKO, J. G.: Kartina kroví pri ostrom paramfistomatidoze molodnjaka krupnogo rogatogo skota. Trudy VIGIS, Tom XIV, 1966, s. 142-145.
- ASHIZAWA, H. — NOSAKA, D. — TATEYAMA, S.: Infestation of the forestomach of goats and sheep with *Paramphistomatidae*. Bull. Fac. Agric., Univ. Miyazaki, 17, 1970, s. 84-95.
- BORAY, J. C.: The pathogenesis of ovine intestinal paramphistomosis due to *Paramphistomum ichikawi*. In: The Pathology of Parasitic Diseases, Purdue Univ. Studies, Lafayette, USA, 1971, s. 209-216.
- GLUZMAN, I. J.: Migracija *Liorchis scotiae* v tele definitivnogo chozjaina. Veterinarija, 1969, č. 2, s. 43-45.
- GLUZMAN, I. J. — ARTEMENKO, J. G.: Eksperimentaľnoje zaraženie teljat *Liorchis scotiae*. Trudy VIGIS, Tom XV, 1969, s. 87-91.
- HOMOLKA, J.: Chemická diagnostika v dětském věku. Stát. zdrav. nakl., Praha 1963.
- HORÁK, I. G.: Paramphistomiasis of domestic ruminants. Adv. Parasit., 9, 1971, s. 33-72.
- MERENINSKIĬ, A. I.: Paramfistomatidoz sredi ovec v lesnych oblastjach Ukrainy (*Liorchis*, *Calicophoron*, *Paramphistomum*). Veterinarija, Kijev, 37, 1974, s. 72-76.
- MEREMINSKIĬ, A. I. — GLUZMAN, I. J. — ARTEMENKO, J. G.: Paramfistomatidoz sredi krupnogo rogatogo skota na Ukraine. Sbor. rabot po gelmint., 1971, s. 217-222.
- MICHAJLOVA, P. — VENKOV, V. — GATEVA, K. — MITEVA, D.: Effect of chronic paramphistomatosis on some properties of the meat and skin of weaned lambs. VetMed. Nauki, Sofia, 9, 1972, s. 65-72.
- ROMANIUK, K.: Zmiany w składzie surowicy krwi bydła w przebiegu inwazji przywr z rodzaju *Paramphistomum* i motylicy wetrobowej. Wiad. parazyt., 21, 1975, s. 419-425.
- SHARMA, D. V. P. — JAIN, S. P.: Reasons for involvement of duodenum in parasitic part of life cycle of „rumen amphistomes“ (*Paramphistomidae*, *Trematoda*). Indian J. Helminth., 21, 1969, s. 177-182.
- VAN STRYDONCK, D.: Contribution à l'étude de l'anatomie, de la morphologie et de la systématique des *Paramphistomatidae africains* (*Plathelminthes: Trematoda*). Mus. Roy. Afr. Cent., Ser. 8, Sci. Zool., 183, 1971, s. 1-56.

VIŠNJAKOV, J. — DIMITROV, D. G. — GEORGIEV, M.: Pathogenesis of *Paramphistomum microbothrium* in experimentally invaded sheep in connection with their growth and productivity. Naučni Trud., Vyš. Vet-med. Inst. Sofia, 23, 1975, s. 577-585.

VUJIČ, B.: Paramfistomoza prežiavara i principi određivanja pripadnosti ovih parazita. Veterinaria, Sarajevo, 14, 1965, s. 471-478.

Došlo dne 10. 6. 1976

ЗАЙИЧЕК, Д. — МАРОВА, М. — ЗАГРАДНИКОВА, В. — РЫШАВЫ, Б. (Центральный государственный ветеринарный институт, Прага; Паразитологический институт ЧСАН, Прага): Экспериментальный парамфистомоз ягнят. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 99-108.

У четырех ягнят в возрасте 3,5 месяца средним весом 10 кг изучалась начальная дуоденальная фаза развития фасциолы *Paramphistomum* sp. Каждый ягненок получал 3000—3500 адолескарий (метацеркарий) фасциол, полученных из слизняков, ввезенных из Египта. В течение девяти недель устанавливалось в крови число эритроцитов, лейкоцитов, содержание гемоглобина, значения гематокрита, MCV, MCH, MCHC, белой картины крови, общего протеина и его фракции (альбумин, α -, β -, γ -глобулин), активность SGOT, SGPT, щелочной фосфатазы, уровень кальция, неорганического фосфора, магния и железа. Патогенное действие развивающихся фасциол проявилось понижением значений гемоглобина, гематокрита, общего протеина, альбумина и α -глобулина, активности SGPT, уровня неорганического фосфора и железа и, частично, также понижением числа эритроцитов, а именно больше всего в период между 30—46 днем после инвазии. В тот же период инвазии резко проявился лимфоцитоз. Небольшая анорексия, сопровождаемая слабым водянистым поносом, протекала у ягнят в 7—10 дне р. i.; признаки в дальнейшем ходе инвазии не повторялись.

Paramphistomum sp.; гематология; сыворотка крови; протеинемия; аминотрансферазы (SGOT, SGPT); щелочная фосфатаза; минеральные вещества в сыворотке (кальций, неорганический фосфор, магний, железо)

ZAJÍČEK, D. — MÁROVÁ, M. — ZAHRAĐNÍKOVÁ, W. — RYŠAVÝ, B. (Central State Veterinary Institute Praha; Parasitological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha): *Experimental Paramphistomatosis of Lambs*. Vet. Med., Praha, 23, 1977 (2) : 99-108.

The beginning duodenal phase of the development of *Paramphistomum* sp. fluke has been examined in four lambs at the age of three and a half months at the average weight of 10 kg. Each lamb was given 3 000 to 3 500 adolascaria (metacercaria) of flukes obtained from snails which had been imported from Egypt. In the course of nine weeks we examined the number of erythrocytes, leucocytes, haemoglobin content, haematocrit values, MCV, MCH, MCHC, white blood count, total serum protein and its fractions (albumin, α -, β - and γ -globulin), activities of SGOT, SGPT and alkaline phosphatase, level of calcium, inorganic phosphorus, magnesium and iron in the blood serum. The pathogenic activity of developing flukes was shown by the decrease of haemoglobin, haematocrit, total serum protein, albumin and α -globulin values, furthermore by the drop of SGPT activity, of inorganic phosphorus and iron level and partially also by the reduction of the erythrocyte number, mostly in the period between the 30th to 46th day post infection. In the same period of infection significant lymphocytiasis occurred. Moderate anorexia accompanied with mild watery diarrhoea was revealed in lambs seven to ten days p. i.; the symptoms did not repeat in the following course of infection.

Paramphistomum sp.; haematology; blood serum; proteinaemia; amino-transferases (SGOT, SGPT); alkaline phosphatase; minerals in blood serum (calcium, inorganic phosphorus, magnesium, iron)

ZAJÍČEK, D. — MÁROVÁ, M. — ZAHRADNÍKOVÁ, W. — RYŠAVÝ, B. (Staatliche Zentralveterinäranstalt, Praha; Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha): *Experimentelle Paramphistomatose der Lämmer*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 99-108.

Bei vier Lämmern im Alter von dreieinhalb Monaten von durchschnittlicher Massigkeit je 10 kg wurde die anfängliche Duodenalphase der Entwicklung des Leberegels *Paramphistomum* sp. untersucht. Jedem Lamm wurden 3000 bis 3500 Adoleskarien (Metazerkarien) der Leberegel verabreicht, die von aus Ägypten eingeführten Schnecken gewonnen wurden. Im Verlauf von neun Wochen ermittelte man im Blut die Anzahl der Erythrozyten, Leukozyten, den Hämoglobingehalt, die Werte von Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC, weißem Blutbild, Gesamtserumprotein und seinen Fraktionen (Albumin, α -, β -, γ -globulin), die Aktivität der SGOT, der SGPT, der alkalischen Phosphatase, das Niveau von Kalzium, anorg. Phosphor, Magnesium und Eisen. Die pathogene Wirkung der sich entwickelnden Leberegel zeigte sich durch den Rückgang der Werte von Hämoglobin, Hämatokrit, Gesamtprotein, Albumin und α -globulin, der SGPT-Aktivität, des Niveaus des anorganischen Phosphors und Eisens und teilweise auch der Anzahl der Erythrozyten und zwar am meisten im Zeitabschnitt zwischen dem 30. und 46. Tag nach dem Befall. Im gleichen Zeitabschnitt des Befalls erschien eine signifikante Lymphozytomatose. Eine mäßige Anorexia, die mit schwachem, wasserreichem Durchfall begleitet wurde, wurde bei den Lämmern am 7. bis 10. Tag *p. i.* verzeichnet; die Symptome wiederholten sich im weiteren Verlauf des Befalls nicht.

Paramphistomum sp.; Hämatologie; Blutserum; Proteinaemia; Aminotransferasen (SGOT, SGPT); alkalische Phosphatase; Mineralium im Serum (Kalzium, anorganischer Phosphor, Magnesium, Eisen)

Adresa autorů:

MVDr. Dalibor Zajíček, CSc., ing. Miloslava Márová, Wendula Zahradníková, Bohumil Ryšavý, Ústřední státní veterinární ústav, Sídliště 156, 165 03 Praha 6 - Lysolaje

AKTIVITY LEUCYLARYLAMIDÁZ A LYZYLARYLAMIDÁZ (AMINOPEPTIDÁZY B) V KRVNOM SÉRE A OBSAH ARGINÍNU V PLAZME OVIEC PO APLIKÁCIÍ TETRACHLÓRMETÁNU

J. Hrivnák, M. Bartík, A. Šamo, V. Šutiak, K. Zwick

HRIVNÁK, J. — BARTÍK, M. — ŠAMO, A. — ŠUTIAK, V. — ZWICK, K. (Vysoká škola veterinárska, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Aktivity leucylarylamidáz a lyzylarylamidáz (aminopeptidázy B) v krvnom sére a obsah arginínu v plazme oviec po aplikácii tetrachlórmetánu*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 109-120.

U siedmich oviec, ktorým bol jednorázove bachorovou sondou aplikovaný tetrachlórmetán v dávke $0,5 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. h., sme sledovali zmeny aktivít leucylarylamidáz (Leu AA), lyzylarylamidáz (aminopeptidázy B) — (Lys AA) v krvnom sére a zmeny koncentrácie arginínu v plazme. Aktivity sérových lyzylarylamidáz a leucylarylamidáz pred aplikáciou CCl_4 (30°C , substráty L-lyzyl-p-nitroanilid, resp. L-leucyl-p-nitroanilid) mali tieto priemerné hodnoty: $3,8 (3,0-5,1) \text{ mU ml}^{-1}$ Lys AA a $5,4 (3,7-7,8) \text{ mU ml}^{-1}$ Leu AA. Aktivity Lys AA a Leu AA po intoxikácii tetrachlórmetánom narastali. Maximálne aktivity sérových Lys AA [$6,2 (4,6-7,8) \text{ mU ml}^{-1}$] sa zistili v 24. hodine a najvyššie hodnoty aktivít sérových Leu AA [$9,9 (6,0-13,3) \text{ mU ml}^{-1}$] boli zaznamenané v 48. hodine po podaní tetrachlórmetánu. Pokles enzýmových aktivít na východiskové hodnoty nastal u Lys AA štvrtý deň a u Leu AA až cca po šiestich dňoch po tetrachlórmetanovej intoxikácii. Ovce, ktoré 21. deň po prvej dávke obdržali ďalšiu dávku tetrachlórmetánu (opäť $0,5 \text{ ml CCl}_4 \text{ kg}^{-1}$ ž. h.), vykazujú najvyššiu aktivitu sérovej Leu AA už v 36. hodine po druhom podaní CCl_4 ; dosiahnutie maximálnej aktivity Lys AA sa po druhej aplikácii CCl_4 časove nezmenilo. Elektroforetickým delením sérových bielkovín v polyakrylamidovom géli sa obdržali u kontrolných aj intoxikovaných zvierat tri frakcie Leu AA. U zvierat, ktoré obdržali CCl_4 , sa výrazne zväčšovala aktivita tretej (najpomalšie putujúcej) frakcie; aktivity prvej a druhej frakcie sa nezmenili. Už vo včasnom štádiu otravy tetrachlórmetánom nastáva výrazný pokles koncentrácie arginínu (Arg) v krvnej plazme; na polovičné hodnoty koncentrácia Arg poklesla asi za dve až tri hodiny a medzi 12. až 30. hodinou po podaní CCl_4 boli v plazme väčšiny oviec zistené už len stopové (nemerateľné) množstvá arginínu. Opätovný vzrast koncentrácie arginínu nastal za 36 až 50 hodín po podaní tetrachlórmetánu. Tetrachlórmetán mizne z krvi a z bachorovej tekutiny cca po dvoch dňoch po jeho aplikácii.

leucylarylamidázy; lyzylarylamidázy; aminopeptidáza B; arylamidázy; otrava tetrachlórmetánom; enzymatická diagnostika

Nadväzujeme na naše predchádzajúce práce o enzýmoch (Michnová 1970; Bartík, Michnová, 1971; Šamo, Bartík, 1972 a Molnárová a i., 1972), v ktorých sme popísali vzrast aktivity sérových leucylarylamidáz (Leu AA) a lyzylarylamidáz (aminopeptidázy B) (Lys AA) po perorálnom podaní tetrachlórmetánu (CCl_4) ovciam. Teraz rozširujeme naše štúdiá v tom zmysle, že po aplikácii tetrachlórmetánu stano-

vujeme nielen aktivity Leu AA a Lys AA, ale súčasne určujeme tiež obsah arginínu v krvnej plazme a koncentráciu CCl_4 v bachorovej tekutine a v krvi. U intoxikovaných oviec preverujeme tiež schopnosť pečene syntetizovať močovinu po amoniakálnej záťaži.

MATERIÁL, PRIEBEH POKUSOV A METÓDA

BIOLOGICKÝ MATERIÁL

Experimenty sme robili na ovciach plemena merino, ž. h. 22 až 54 kg, vo veku 1 až 5 rokov. Krmilo sa dvakrát denne senom a voda bola k dispozícii *ad libitum*. Tetrachlórmetán sa aplikoval siedmim ovciam sondou do bachora v jednorázovej dávke $0,5 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. h. Pre kontrolu sme mali 10 oviec. Krv z *vena jugularis* a bachorový obsah pre analýzy sme odoberali tesne pred aplikáciou CCl_4 a potom v intervaloch ako je patrné z priložených obrázkov.

STANOVENIE ARGINÍNU V PLAZME

Koncentrácia arginínu sa určovala na automatickom analyzátore aminokyselín typ Hd 1200 E (Žiar nad Hronom, ČSSR).

URČENIE ENZYMATICKEJ AKTIVITY Leu AA a Lys AA V SÉRE

Substrátom pre stanovenie aktivity Leu AA bol L-leucyl-p-nitroanilid (Leu NAp) a L-lyzyl-p-nitroanilid (Lys NAp) pre určenie aktivity Leu AA. (Substráty syntetizoval E. Kasafírek z Výskumného ústavu pre farmáciu a biochémiu, Praha.)

Roztoky substrátov: 10^{-2}M Leu NAp v 10^{-2}M HCl a $5 \cdot 10^{-2}\text{M}$ Lys NAp v destilovanej vode.

Pre prípravu inkubačných zmesí sa použil 0,05 Tris-HCl pufer, $\text{pH} = 7,5$.

Podmienky: doba inkubácie 30 min., inkubačná teplota 30°C ; meranie extinkcie (A) oproti slepej sade pri 405 nm, hrúbka kvety = 1 cm.

Zloženie a príprava inkubačných zmesí: 0,7 ml pufer + 0,2 ml séra + 0,1 ml roztoku substrátu. Po 30minútovej inkubácii sa reakcia zastavila pridaním 0,5 ml 0,1 M HCl.

Zloženie a príprava slepej sady: 0,7 ml pufer + 0,2 ml séra + 0,5 ml 0,1 M HCl + 0,1 ml roztoku substrátu.

Výsledná koncentrácia Leu NAp a Lys NAp v inkubačnej zmesi: $[\text{S}] = 10^{-3}\text{M}$ Leu NAp, resp. $[\text{S}] = 5 \cdot 10^{-3}\text{M}$ Lys NAp

Výpočet aktivity:

$$23 \text{ A} = \text{mU/ml}$$

Poznámka: Podmienky stanovenia, zloženie inkubačných zmesí a slepej sady ako aj spôsob výpočtu aktivity sú pre oba enzýmy rovnaké.

STANOVENIE TETRACHLÓRMETÁNU (CCl_4)

V krvi a v bachorovej tekutine sa robila metodikou plynovej chromatografie na prístroji Chrom 2 (Labora, ČSSR) s použitím plameňo-ionizačného detektora spôsobom ako uvádza Hrivnák (1973).

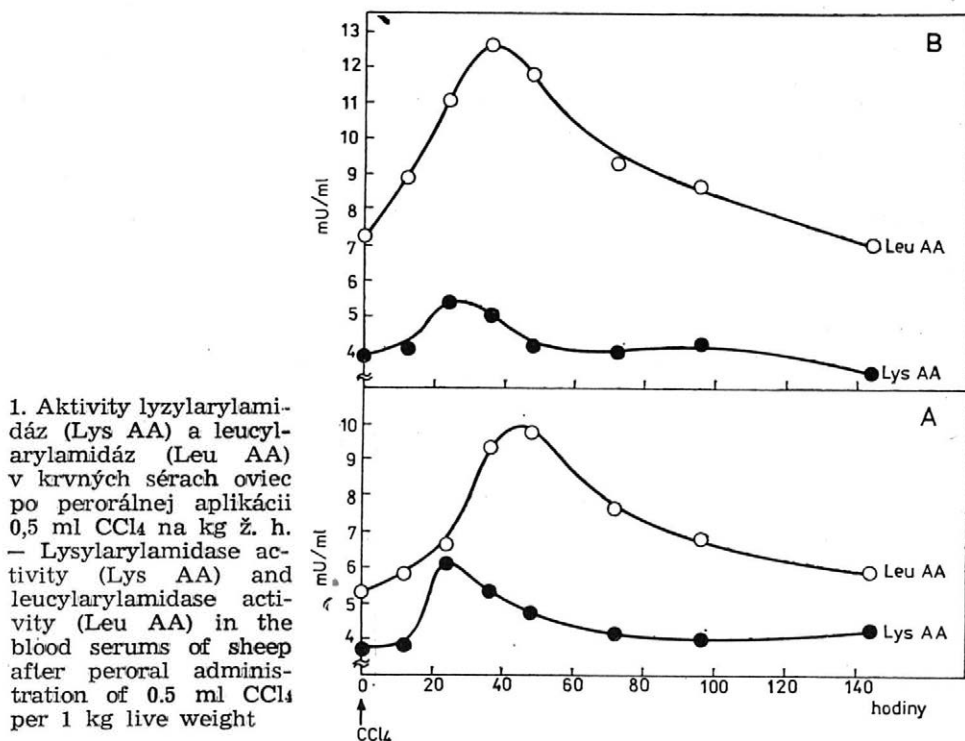
STANOVENIE MOČOVINY

v krvnej plazme sa robilo podľa Homolku (1965).

VÝSLEDKY

AKTIVITY SÉROVEJ Leu AA A Lys AA PO PODANÍ TETRACHLÓRMETÁNU

Všetky ovce, ktoré obdržali prvýkrát tetrachlórmetán v jednorázovej perorálnej dávke $0,5 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. h., vykazovali maximálny vzrast aktivity Lys AA (aminopeptidázy B) v 24. hod po aplikácii, zatiaľ čo najvyššie hodnoty aktivít Leu AA sa v sére namerali v 48. hod. po podaní CCl_4 (obr. 1). Ak sme týmto ovciam, mysliac si, že sú zdravé, po uplynutí



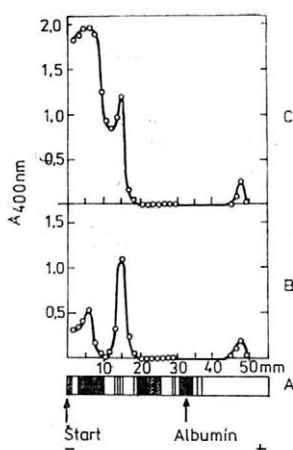
1. Aktivity lyzylarylamidáz (Lys AA) a leucylarylamidáz (Leu AA) v krvných sérach oviec po perorálnej aplikácii $0,5 \text{ ml CCl}_4$ na kg ž. h. — Lysylarylamidase activity (Lys AA) and leucylarylamidase activity (Leu AA) in the blood serums of sheep after peroral administration of 0.5 ml CCl_4 per 1 kg live weight

A. Aktivity sérovej Lys AA a Leu AA oviec, ktoré obdržali tetrachlórmetán prvýkrát (priemerné hodnoty u siedmich zvierat)

B. Aktivity sérovej Lys AA a Leu AA u oviec, ktoré dávku $0,5 \text{ ml CCl}_4$ na kg ž. h. obdržali po 21 dňoch druhýkrát (priemerné hodnoty u šiestich zvierat)

21 dní znova podali v tej istej dávke a rovnakým spôsobom tetrachlórmetán, maximálny vzrast aktivity Leu AA u všetkých oviec sa posunul až na 36. hod. po podaní CCl_4 — teda o 12 hodín skôr. Doba dosiahnutia najvyšších aktivít Lys AA sa v prípade opätovnej aplikácie tetrachlórmetánu nemenila a pripadla znovu na 24. hodinu.

Po elektroforetickom delení sérových bielkovín v polyakrylamidovom géli dostávame u zdravých (kontrolných) aj intoxikovaných zvierat tri frakcie Leu AA (obr. 2). Prvá, najrýchlejšia frakcia, je pred albumínmi; druhá frakcia je u zdravých oviec najväčšia. Tretia frakcia sa výrazne zväčšuje v sére zvierat, ktoré obdržali CCl_4 .



2. Aktivity Leu AA po elektroforetickom rozdelení sérových bielkovín v polyakrylamidovom géli — Leu AA activities after electrophoretic separation of serum proteins in polyacrylamidic gel

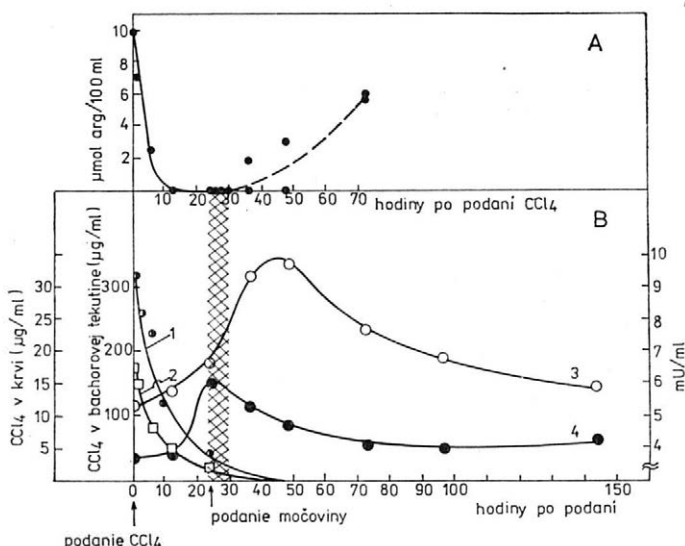
A - bielkovinné spektrum

B - frakcie Leu AA — stav pred aplikáciou CCl_4

C - frakcie Leu AA — stav 48 hodín po aplikácii CCl_4

KONCENTRÁCIA ARGINÍNU V PLAZME PO PODANÍ TETRACHLÓRMETÁNU

Zistili sme, že organizmus oviec na poškodenie tetrachlórmetánom veľmi zavčas reaguje zmenou koncentrácie arginínu v krvnej plazme. Obsah arginínu v plazme po aplikácii CCl_4 prudko klesá, takže už v 12. hodine nebol arginín v plazme (okrem prípadu u ovce č. 7) našim analytickým postupom detekovateľný. Naš metodický postup dovoľoval kvantitatívne vyčíslit iba koncentrácie arginínu $> 0,01 \mu\text{mol}$ na 100 ml. Nestanoviteľné stopové množstvá arginínu v plazme zotrúvali u väčšiny oviec od 12. do 30., príp. až do 48. hodiny po podaní tetrachlórmetánu (obr. 3A). U ovce č. 7 sme v 12. hodine tak nízky pokles koncentrácie arginínu v plazme nezaznamenali. Pre zaujímavosť uvádzame tento priebeh zvlášť na obr. 4.



3. Koncentrácia arginínu v krvnej plazme oviec po perorálnom podaní tetrachlórmetánu v dávke $0,5 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. h. — Arginine concentration in the blood plasma of sheep after peroral administration of tetrachloromethane in the dose of $0.5 \text{ ml per 1 kg live weight}$

A. Prvé body (0, 2, 6 a 12 hod. po podaní CCl_4) predstavujú priemerné hodnoty koncentrácie arginínu v plazme troch oviec; koncentrácie arginínu stanovené 24., 26., 28. a 30. hodinu sú priemerom meraní u šiestich oviec a koncentrácie arginínu zistené 36., 48. a 70. hodinu sú individuálne hodnoty zistené u dvoch oviec. Prerušovaná časť krivky predstavuje len predpokladaný priebeh koncentračných hodnôt arginínu.

B. Krivka č. 1: Úbytok CCl_4 z krvi oviec, ktorým bol jednorázove perorálne podaný tetrachlórmetán v dávke $0,5 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. h. Každý bod predstavuje priemernú hodnotu koncentrácie CCl_4 k krvi z merania u siedmich oviec

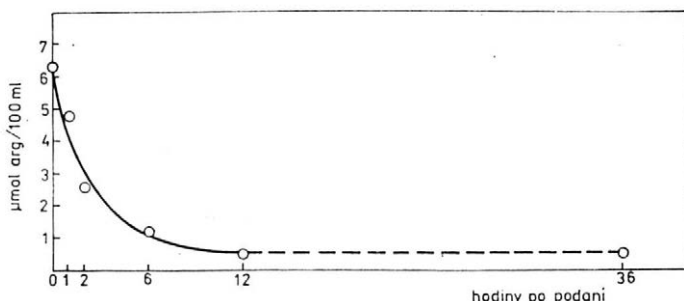
Krivka č. 2: Úbytok CCl_4 z bachorového obsahu oviec, ktorým byl jednorázove perorálne podaný tetrachlórmetán v dávke $0,5 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. h. Každý bod predstavuje priemernú koncentráciu CCl_4 v bachorovej tekutine z merania u siedmich oviec

Krivka č. 3: Aktivity sérovej Leu AA po jednorázovej perorálnej aplikácii tetrachlórmetánu ovciam v dávke $0,5 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. h. Jednotlivé hodnoty aktivít sú prmerom z merania u siedmich oviec

Krivka č. 4: Aktivity sérovej Lys AA po jednorázovej perorálnej aplikácii tetrachlórmetánu ovciam v dávke $0,5 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. h. Jednotlivé hodnoty aktivít sú prmerom z merania u siedmich oviec.

Poznámky:

1. Krivky č. 3 a 4 sú pojaté do obr. 3 z dôvodov prehľadnosti a názornosti celkového obrazu stanovovaných chemických ukazovateľov tetrachlórmetánovej intoxikácie
2. Vyšrafovaná časť medzi 24. až 30. hodinou po podaní CCl_4 predstavuje čarový úsek, v ktorom sa behom šiestich hodín stanovovala v krvi močovina



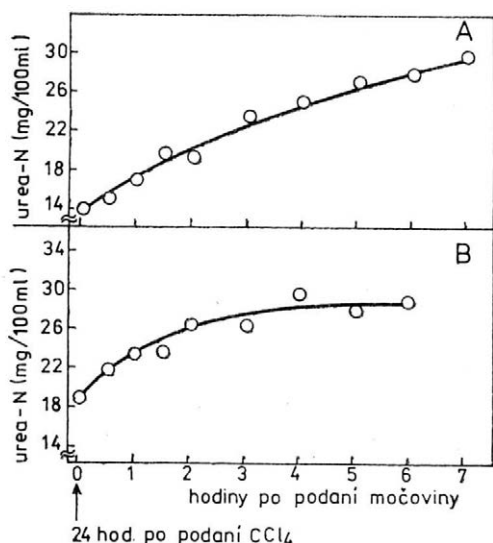
4. Pokles koncentrácie arginínu v krvnej plazme u ovce č. 7 po perorálnej aplikácii tetrachlórmetánu v dávke $0,5 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. h. — Arginine concentration drop in the blood plasma of sheep no. 7 after peroral administration of tetrachloromethane in the dose of $0.5 \text{ ml per } 1 \text{ kg live weight}$

Prerušovaná časť krivky (medzi 12.–36. hod.) predstavuje predpokladaný priebeh koncentrácie arginínu v plazme

SCHOPNOSŤ SYNTETIZOVAŤ MOČOVINU

Aby sme si overili, či ovce s poškodenou pečeňou sú schopné normálnej syntézy močoviny, podali sme im sondou v 24. hodine po aplikácii CCl_4 $0,5 \text{ g}$ urey na kg ž. h. Podaná urea slúžila v dôsledku jej hydrolýzy v tráviacom aparáte ako zdroj amoniaku. Podobnú dávku močoviny obdržali aj kontrolné zvieratá. Detoxikácia amoniaku sa prejavila u oboch skupín zvierat vzrastom koncentrácie močoviny v plazme.

Obr. 5 dokumentuje, že vzrast koncentrácie močoviny v plazme zvierat, ktoré obdržali CCl_4 , je nie úplne podobný vzrastu obsahu tejto látky u zvierat kontrolných, ktorým tetrachlórmetán aplikovaný nebol. Zvieratá s poškodenou pečeňou síce močovinu syntetizujú, teda amoniak detoxikujú, ovšem detoxikačná kapacita, ako je možné pozorovať z plochého priebehu poslednej časti krivky na obr. 5B, je u oviec po aplikácii CCl_4 nižšia. Štatisticky však nie je významná.



5. Koncentrácia močoviny v krvnej plazme oviec — Urea concentration in the blood plasma of sheep

A. Kontrolné ovce, ktorým bola perorálne bachorovou sondou podaná močovina v dávke $0,5 \text{ g kg}^{-1}$ ž. h. v 150 ml vody. Uvádzajú sa hodnoty, ktoré sú priemerom u 10 kontrolných oviec

B. Ovce, ktoré 24 hodín po perorálnom podaní tetrachlórmetánu ($0,5 \text{ ml CCl}_4$ na kg ž. h.) obdržali bachorovou sondou močovinu v dávke $0,5 \text{ g kg}^{-1}$ ž. h. v 150 ml vody. Uvedené hodnoty sú priemerom stanovení u piatich pokusných oviec

KONCENTRÁCIA TETRACHLÓRMETÁNU V BACHOROVEJ TEKUTINE A V KRVI PO JEHO PERORÁLNO M PODANÍ

Pri perorálnej dávke $0,5 \text{ ml CCl}_4 \text{ kg}^{-1}$ ž. h. mizne tetrachlórmetán z bachora a krvi oviec asi za 50 hod. po jeho podaní s $T_{1/2}$ pre krv cca 5 až 6 hod. (obr. 3B).

DISKUSIA

ZMENY KONCENTRÁCIE ARGINÍNU V KRVNEJ PLAZME

Toxikologický účinok tetrachlórmetánu sa v našich experimentoch prejavil veľmi skoro a citlivo rýchlym úbytkom arginínu z krvnej plazmy. Z pôvodnej koncentrácie na polovičnú klesol obsah arginínu asi za 2 až 3 hodiny po podaní CCl_4 . V dvanástej hodine po aplikácii CCl_4 bolo zníženie obsahu arginínu v plazme u väčšiny oviec ako 100-násobné a už neregistrovatelné našou analytickou metodikou.

U niektorých oviec nastáva opätovný vzostup koncentrácie arginínu v plazme približne v dobe vymiznutia CCl_4 z krvi (obr. 3), z čoho by sa dalo dedukovať, že pokles arginínu v plazme môže súvisieť s inhibičným účinkom tetrachlórmetánu na niektoré enzymatické systémy. Keďže arginín je metabolitom ureosyntetického (Krebs-Henseleitovho) cyklu, treba v prvom rade rozobrať inhibície enzýmov tohoto cyklu. McLeanová a Rossi (1964) nepotvrdili inhibíciu enzýmov Krebs-Henseleitovho cyklu tetrachlórmetánom (v 5 mM koncentrácii) *in vitro*. V pokusoch na krysách u intoxikovaných zvierat zistili rýchlosť tvorby močoviny podobnú ako pri kontrolách. Aj náš experiment, popísaný na obr. 5, poukazuje na zachovalú schopnosť syntézy močoviny u oviec po podaní CCl_4 , a to aj v dobe, keď sme v plazme zaznamenávali iba nemerateľné množstvá arginínu a keď v sére v dôsledku poškodenia pečene boli namerané zvýšené aktivity Lys AA a Leu AA. Zdá sa, že aj značne znížené koncentrácie arginínu sú dostatočné pre syntézu močoviny. Schopnosť syntetizovať močovinu je však nižšia než u zvierat kontrolných. McLean-

nová a Rossi (1964) vo včasnom štádiu tetrachlórmetánovej otravy (do 6 hodín) nenašli v pečeni zníženie aktivity enzýmov ureosyntetického cyklu, ale naopak – uvádzajú v tejto dobe zvýšenie aktivity karbamylfosfátsyntézy a ornitintraskarbomylázy, čo by naznačovalo poškodenie mitochondrií. Zníženie aktivity argininsyntetázového systému (argininosukcinátsyntetáza + argininosukcináza) registrujú až pozdšie – od 24. hodiny intoxikácie. Zníženie aktivity všetkých enzýmov Krebs-Henseleitovho cyklu s výnimkou argininosukcinázy pozorovali uvedení autori v 48. a v 96. hodine po podaní CCl_4 . Z pokusov McLeanovej a Rossiho nie je teda možné včasný pokles arginínu v plazme len na základe priamej enzymatickej inhibície enzýmov ureosyntetického cyklu tetrachlórmetánom jednoznačne vysvetliť. Mohli by sme ale uvažovať, že časové zvýraznenie inhibície argininsyntetázového systému, pozorované McLeanovou a Rossim až od 24. hodiny po aplikácii tetrachlórmetánu, ide na vrub nie samotného CCl_4 , ale jeho metabolitov, čiže jednalo by sa takto o jeho nepriamy účinok. Tetrachlórmetán sa totiž enzymaticky metabolizuje účinkom „mixed-function oxidases“ viazaných na endoplazmatickom retikule (Smuckler a i., 1967 a Ugazia a i., 1972). Vzniklé aktívne metabolity tetrachlórmetánu spôsobujú potom vlastne jeho hepatotoxický účinok, ktorého prejavom sú morfológické a funkčné zmeny bunecných štruktúr, sprevádzané poruchami celkového látkového metabolizmu, medzi ktoré patrí aj zníženie koncentrácie arginínu v krvi. Takouto domienkou je možné potom aspoň trochu prijateľne vysvetliť aj dlhotrvajúci pokles koncentrácie arginínu v plazme prasiat, ktorým bol podaný CCl_4 v perorálnej dávke $0,3 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. h. Nemerateľné koncentrácie arginínu v plazme prasiat sa zistili ešte aj 7. deň po aplikácii CCl_4 (Kačmár a i., 1975). Siedmy deň po podaní CCl_4 môžeme totiž očakávať, že v tele prasiat sú prítomné nanajvýš už len stopy nepremeného tetrachlórmetánu, ale zato tam môžu ešte toxicky pôsobiť jeho metabolity.

Vysvetlenie príčin poklesu obsahu arginínu v plazme (sére) pri otravách tetrachlórmetánom sa v budúcnosti iste upresní a azda aj celkove objasní. Doplnia sa aj poznatky o špecifčnosti tohoto nálezu. Už dnes však môžeme reálne uvažovať o užitočnosti stanovenia obsahu arginínu (a aj niektorých iných aminokyselín) v krvnej plazme zvierat (sacov) pre potreby toxikologickej diagnostiky a štúdium chemickej patológie tetrachlórmetánu a látok príbuzných. Vieme napr., že pri otrave prasiat alebo sliepok kadmim zníženie obsahu arginínu v plazme nenastalo (Kačmár a i., 1975). Závislosť obsahu arginínu v krvnom sére od dávky tetrachlórmetánu bola zatiaľ študovaná len u krýs (Korsud a i., 1972). Bolo by užitočné takéto štúdiá realizovať aj u hospodársky dôležitých zvierat, pretože tetrachlórmetán býva ovciam a hovädzemu dobytku aplikovaný ako protiparazitárny prostriedok (antifasciolicum) a toxicita tetrachlórmetánu pre uvedené hostiteľské zvieratá nie je ešte dostatočne prebádaná (Seawright, McLean, 1967).

VZRAST AKTIVITY SÉROVEJ Leu AA a Lys AA PO APLIKÁCI TETRACHLÓRMETÁNU

Morfológické a funkčné poruchy bunecných štruktúr pečene, spôsobené toxickým účinkom tetrachlórmetánu, majú tiež za následok zvýšený priestup bunecných solubilných, ale aj štruktúrne viazaných enzý-

mov v krvi. Vzrast aktivity rôznych bunecných enzýmov v krvnom sére (plazme) zvierat pri otravách chloridom uhličitým bol študovaný mnohými autormi (napr.: Sova a i., 1960; Kutas a Karsai, 1961; Lax a i., 1961; Lindberg a i., 1962; Cornelius a i., 1963; Dinman a i., 1963; Neuman a i., 1963; Zimmermen a i., 1965; McLean a McLean, 1966; Pelikán a Kaláb, 1967; Bartík a i., 1967; Cacciatore a Antoniello, 1971; Korsud a i., 1972; Kačmár a i., 1975).

Aj v našom experimente sme u oviec po intoxikácii tetrachlórmetánom zaznamenali zmeny sérových aktivít Leu AA a Lys AA, znázornené na obr. 1A. Rozdiel v maximálnych aktivitách pri Lys AA (24 hod. po aplikácii CCl₄) a Leu AA (48 hod. po aplikácii CCl₄) sa dá pomerne prijateľne interpretovať buď odlišným rozdelením uvedených enzýmov v subcellulárnych bunecných frakciách pečene, alebo rôznou rýchlosťou odstraňovania enzýmov z krvného riečišťa, prípadne časove diferencovaným uvoľňovaním enzýmov pri eventuálnom poškodení buniek viacerých orgánov. Ako sme uviedli v jednej z našich predchádzajúcich prác (Bartík, Blahovec, 1971), aktivity Lys AA sa v pečeni kráv v prevažnej miere nachádzajú v rozpustnej frakcii buniek. Aktivity Leu sú síce prítomné tiež hlavne v solubilnej frakcii, ale majú pomerne značné zastúpenie aj v mitochondriálnej a mikrosomálnej frakcii, kde sú štrukturálne viazané. Zo štrukturálnej väzby sa budú uvoľňovať Leu AA len postupne a do krvi sa tak dostanú pozdejšie. Ak sú však bunecné štruktúry pečene po predchádzajúcej dávke CCl₄ ešte narušené — ako je tomu pri opakovanej dávke tetrachlórmetánu po 21 dňoch (obr. 1B), potom maximálny vzostup aktivity Leu AA sa časove posunie dopredu, pretože z dvojnásobne atakovaných buniek sa enzýmy uvoľnia rýchlejšie. V našom prípade opakovaného poškodenia pečene na výsledné enzymatické aktivity môžu mať vplyv aj regeneračné pochody v pečevnom parenchýme. O rýchlosti ubúdania Lys AA a Leu AA z krvi, ako aj o eventuálnom poškodení iných orgánov pri otrave tetrachlórmetánom nie sme zatiaľ u oviec informovaní, a preto nemôžeme zaujať k takýmto možnostiam výkladu príslušné stanovisko.

Po elektroforetickom rozdelení sérových bielkovín v polyakrylamidovom géli sa aktivity Leu AA delia u kontrolných ako aj u intoxikovaných oviec na tri frakcie (obr. 2). Keďže po aplikácii CCl₄ je atakovaný hlavne parenchým pečene, predpokladáme, že tretia frakcia Leu AA je hepatálneho pôvodu. Elektroforetické delenie aktivít sérových Lys AA sme popísali už skôr (Molnárová a i., 1972).

Literatúra

BARTÍK, M. — BLAHOVEC, J.: Arylamidázová aktivita v pečeni a v ľadvinách hovädzieho dobytká — rozdelenie aktivity v subcellulárnych frakciách. Vet. Med., Praha, 16, 1971, s. 91-98.

BARTÍK, M. — MARCANÍK, J. — MICHNOVÁ, E.: Dynamika zmien aktivity sérového katepsínu, pepsínu a cystinaminopeptidázy u oviec s toxickou hepatitídou. Vet. Med., Praha, 12, 1967, s. 435-442.

BARTÍK, M. — MICHNOVÁ, E.: Arylamidázová aktivita v krvných sérach domácich zvierat. Vet. Med., Praha, 16, 1971, s. 449-456.

CACCIATORE, L. — ANTONIELLO, S.: Arginase activity of mouse serum and liver tissue in some conditions of experimental liver damage. *Enzymologia*, **41**, 1971, s. 112-120.

CORNELIUS, C. E. — DOUGLAS, G. M. — GRONWALL, R. R.: Comparative studies on plasma arginase and transaminases in hepatic necrosis. *Cornell Vet.*, **53**, 1963, s. 181-191.

DINMAN, B. D. — HAMDI, E. A. — FOX, C. F. — FRAJOLA, W. J.: CCl₄ toxicity. III: Hepato-structural and enzymatic change. *Archs envir. Hlth*, **7**, 1963, s. 630-646.

HOMOLKA, J.: Chemická diagnostika v dětském věku. Stát. zdrav. nakl., Praha, 1963.

HRIVNÁK, J.: Niektoré poznatky o ovplyvnení detoxikácie amoniaku u oviec chlořidom uhlíčitým. [Kandidátska dizertačná práca.] Košice 1973. s. 60-68. — Vysoká škola veterinárska.

KAČMÁR, P. — ŠAMO, A.: Aktivita aminotransferázy GOT a GPT, SODH, GGTP a arylamidáz u ošípaných pri toxickej hepatitíde. *Veterinárství*, **24**, 1974, s. 554-555.

KAČMÁR, P. — ZWICK, K. — ŠAMO, A. — ŠUTIÁK, V.: Dynamika zmien amoniaku, močoviny, glutamínu a voľných aminokyselín v krvi odstavčiat po experimentálnom poškodení organizmu kadmíom a tetrachlórmetánom. Prednesené na VIII. konferencii o fyziológii hospodárskych zvierat v Smoleniciach, konanej v dňoch 8.-10. decembra 1975.

KORSUD, G. O. — GRICE, H. C. — MURRAY Mc LANGHLAN, J.: Sensitivity of several serum enzymes in detecting carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *Toxic. appl. Pharmac.*, **22**, 1972, s. 474-483.

KUTAS, F. — KARSAL, F.: The diagnostic value of transaminase and cholinesterase determinations in hepatic diseases of domestic animals. *Acta vet. hung.*, **13**, 1961, s. 227-288.

LAX, T. — MADĚROVÁ, V. — ŠINDELÁŘOVÁ, K. — NEUMAN, V.: Studium hepatotoxického účinku terapeutických dávek chloridu uhličitého a hexachlorethanové suspenzie používaných při fasciolóze skotu. *Sb. Vys. šk. zeměd.*, Brno, **9**, 1961, s. 327-339.

LINDBERG, P. — ORSTADIUS, K. — TANHUANPÄÄ, E.: Studies on the activity of sorbite dehydrogenase in normal swine blood sera and tissues and in sera after experimental carbon tetrachloride poisoning. *Acta vet. scand.*, **3**, 1962, s. 235-244.

McLEAN, A. E. M. — McLEAN, E. K.: The effect of diet and 1,1,1-trichloro-2,2-bis-(p-chlorophenyl)ethane (DDT) on microsomal hydroxylating enzymes and on sensitivity of rats to carbon tetrachloride poisoning. *Biochem. J.*, **100**, 1966, s. 564-571.

McLEAN, P. — ROSSI, F.: Changes in the activities of urea cycle enzymes after the administration of carbon tetrachloride. *Biochem. J.*, **91**, 1964, s. 261-270.

MICHÁLEK, A.: Elektroforetická heterogenita dehydrogenázy kyseliny mliečnej v krvi hospodárskych zvierat. [Kandidátska dizertačná práca.] Košice 1973. — Vysoká škola veterinárska.

MICHNOVÁ, E.: Aktivita niektorých proteináz a arylamidáz v krvných sérach zvierat. [Kandidátska dizertačná práca.] Košice 1970, s. 137-163. — Vysoká škola veterinárska.

MOLNÁROVÁ, M. — BARTÍK, M. — ŠAMO, A.: Lyzylarylamidázová aktivita v krvných sérach domácich zvierat. *Vet.Med.*, Praha, **17**, 1972, s. 561-658.

NEUMAN, V. — KULHÁNEK, V. — MADĚROVÁ, V. — ŠINDELÁŘOVÁ, K.: Ornithine carbamyl transferase activity in blood serum and liver of guinea pigs after CCl₄ intoxication. *Acta vet. hung.*, **13**, 1963, s. 239-244.

PELIKÁN, V. — KALÁB, M.: Sledování arginázové aktivity u jaterních chorob. Praha, Stát. zdrav. nakl. 1967.

SEAWRIGHT, A. A. — McLEAN, A. E. M.: Induced susceptibility of sheep to carbon tetrachloride intoxication. *Aust. vet. J.*, **43**, 1967, s. 354-358.

SOVA, Z. — JÍCHA, J. — HORÁK, M.: Stanovení transaminázy kyseliny glutamové-oxaloctové a glutamové-pyrohroznové v krevním séru u koní s poškozením jater, II. sdělení. *Vet.Med.*, Praha, **5**, 1960, s. 155-166.

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

UGAZIO, G. — KOCH, R. R. — RECKNAGEL, R. O.: Mechanism of protection against carbon tetrachloride by prior carbon tetrachloride administration. *Expl. molec. Path.*, 16, 1972, s. 281-285.

ZIMMERMAN, H. J. — KODERA, Y. — WEST, M.: Rate of increase in plasma levels of cytoplasmic and mitochondrial enzymes in experimental carbon tetrachloride hepatotoxicity. *J. Lab. clin. Med.*, 66, 1965, s. 315-323.

Došlo dne 9. 6. 1976

ГРИВНАК, И. — БАРТИК, М. — ШАМО, А. — ШУТИАК, В. — ЦВИК, К. (Ветеринарный институт, Кошице; Институт экспериментальной ветеринарии, Кошице): Активности лейцилариламидазы и лизилариламидазы (аминопептидазы В) в сыворотке крови и содержание аргинина в плазме овец после применения тетрахлорметана. *Vet. Med., Praha*, 22, (2) : 109-120, 1977.

У семи овец, которым однократно при помощи рубцового зонда вводился тетрахлорметан в дозе 0,5 мл/кг ж.в., изучались изменения активностей лейцилариламидазы (Leu AA), лизилариламидазы (аминопептидазы В) — (Lys AA), в сыворотке крови и изменения концентрации аргинина в плазме. Активности сывороточных лизилариламидазы и лейцилариламидазы до применения CCl_4 (30 °C, субстраты L-лизил-р-нитроанилид, или L-лейцил-р-нитроанилид) имели следующие средние значения:

3,8 (3,0 — 5,1) мУ/мл Lys AA и 5,4 (3,7 — 7,8) мУ/мл Leu AA. Активности Lys AA и Leu AA после интоксикации тетрахлорметаном росли. Максимальные активности сывороточных Lys AA [6,2 (4,6 — 7,8) мУ/мл] были установлены спустя 24 часа и самые высокие значения активностей сывороточных Leu AA [9,9 (6,0 — 13,3) мУ/мл] были отмечены спустя 48 часов после подачи тетрахлорметана. Понижение энзимовых активностей до исходных значений у Lys AA произошло на четвертый день и у Leu AA даже после 6 дней после тетрахлорметановой интоксикации. Овцы, которые после 21 дня от первой дозы CCl_4 получили следующую дозу тетрахлорметана (снова 0,5 мл CCl_4 на кг ж.в.), показывают самую высокую активность сывороточной Leu AA уже после 36 часов после второй подачи CCl_4 ; максимальная активность Lys AA после второй подачи CCl_4 не зависела от времени. Путем электрофоретического деления сывороточных белков в полиакриламидовом геле были получены у контрольных и интоксигированных животных три фракции Leu AA. У животных, которые получали CCl_4 , значительно увеличилась активность третьей (самой медленной подвижной) фракции; активности первой и второй фракций остались без изменения. Уже после ранней стадии отравления тетрахлорметаном происходит явное понижение концентрации аргинина (Arg) в плазме крови; на половину понизилась концентрация Arg приблизительно через 2—3 часа, между же 12—30 часами после подачи CCl_4 в плазме большинства овец были установлены уже только неподдающиеся измерению количества аргинина. Обратное повышение концентрации аргинина производило через 36—50 часов после подачи тетрахлорметана. Тетрахлорметан исчезает из крови и из жидкости рубца приблизительно спустя два дня после его введения.

лейцилариламидаза; лизилариламидаза; аминопептидаза В; ариламидаза; отравление тетрахлорметаном; энзиматическая диагностика

HRIVNÁK, J. — BARTÍK, M. — ŠAMO, A. — ŠUTIAK, V. — ZWICK, K. (University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): Activities of Leucylarylamidases and Lysylarylamidases (Aminopeptidases B) in the Blood Serum and the Arginine Content in the Blood Plasma of Sheep after the Application of Tetrachloromethane. *Vet. Med., Praha*, 22, 1977 (2) : 109-120.

In seven sheep which were given tetrachloromethane in a single dose of 0.5 ml per kg of live weight through the rumen tube we examined the changes of activities of leucylarylamidases (Leu AA), lysylarylamidases (aminopeptidases B) — (Lys AA) in the blood serum and the changes of the arginine concentration in the blood plasma. The activities of serum lysylarylamidases and leucylarylamidases before the CCl_4 application (30 °C, substrates — L-lysyl-p-nitroanilide, or L-leucyl-p-nitroanilide) showed the following average values: 3.8 (3.0—5.1) mU ml⁻¹ Lys AA and 5.4 (3.7—7.8) mU ml⁻¹ Leu AA. The activities of Lys AA and Leu AA increased after

the intoxication with tetrachloromethane. The maximum activities of serum Lys AA [6.2 (4.6–7.8) $\mu\text{M ml}^{-1}$] were recorded in the 24th hour and the highest values of activities of serum Leu AA [9.9 (6.0–13.3) $\mu\text{M ml}^{-1}$] were recorded in the 48th hour after the tetrachloromethane administration. The decrease of enzyme activities to the original activities was revealed in Lys AA the fourth day and in Leu AA after about six days after the tetrachloromethane intoxication. The sheep which were given 21 days after the administration of the first dose of CCl_4 another dose of tetrachloromethane (again 0.5 ml of CCl_4 per kg of live weight) showed the highest activity of serum Leu AA already in the 36th hour after the second administration of CCl_4 ; the achievement of the maximum activity of Lys AA did not change after the second application of CCl_4 as to time. By electrophoretical separation of serum proteins on polyacryl amide gel we obtained three fractions of Leu AA both in the control and intoxicated animals. In sheep which were given CCl_4 , the activity of the third fraction (with the slowest course) increased significantly; the activities of the first and second fractions did not change. Already in the early stage of intoxication with tetrachloromethane a significant decrease of arginine concentration (Arg) was revealed in the blood plasma; the Arg concentration decreased by halves after about two to three hours and between the 12th and 30th hour after the CCl_4 administration the traces (immeasurable) of arginine were only found in the blood plasma of most sheep. The new increase of the arginine concentration occurred 36 to 50 hours after the tetrachloromethane administration. Tetrachloromethane disappeared from the blood and rumen liquor in about two days after its application.

leucylarylamidases; lysylarylamidases; aminopeptidase B; arylamidases; tetrachloromethane intoxication; enzymic intoxication

HRIVNÁK, J. — BARTÍK, M. — ŠAMO, A. — ŠUTIAK, V. — ZWICK, K. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice; Institut für Experimentalveterinärmedizin, Košice) *Aktivitäten der Leucylarylamidasen und Lysylarylamidasen (Aminopeptidasen B) im Blutserum und der Arginingehalt im Plasma der Schafe nach der Applikation von Tetrachlormethan*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 109–120.

Bei sieben Schafen, den das Tetrachlormethan in einer Dosis von 0,5 ml je kg^{-1} Lebendmasse einmalig durch die Pansensonde appliziert wurde, wurden die Änderungen der Aktivitäten der Leucylarylamidasen (Leu AA), der Lysylarylamidasen (Aminopeptidasen B) — (Lys AA) im Blutserum und die Änderungen der Arginkonzentration im Plasma untersucht. Die Aktivitäten der Serumlysylamidase und der Serumleucylarylamidase vor der Applikation von CCl_4 (30 °C, Substrate L-Lysyl-p-Nitroanilid, resp. L-Leucyl-p-Nitroanilid) haben folgende durchschnittliche Werte ergeben: 3,8 (3,0–5,1) $\mu\text{M ml}^{-1}$ Lys AA und 5,4 (3,7–7,8) $\mu\text{M ml}^{-1}$ Leu AA. Die Aktivitäten von Lys AA und Leu AA erhöhten sich nach der Intoxikation durch Tetrachlormethan. Die höchsten Aktivitäten von Serum lys AA [6,2 (4,6–7,8) $\mu\text{M ml}^{-1}$] wurden in der 24. Stunde festgestellt und die höchsten Werte der Aktivitäten von Serumleu AA [9,9 (6,0–13,3) $\mu\text{M ml}^{-1}$] wurden in der 48. Stunde nach der Applikation von Tetrachlormethan vermerkt. Das Absinken der Enzymaktivität zur Ausgangsaktivität trat bei Lys AA am vierten Tag und bei Leu AA ungefähr bis nach sechs Tagen nach der Intoxikation durch Tetrachlormethan ein. Die Schafe, die in 21 Tagen nach der ersten Dosis von CCl_4 eine weitere Dosis von Tetrachlormethan (wieder 0,5 ml CCl_4 je kg^{-1} Lebendgewicht) erhielten, weisen die höchste Aktivitäten von Serumleu AA schon in der 36. Stunde nach der zweiten Verabreichung von CCl_4 auf, die Erreichung der höchsten Aktivität von Lys AA änderte sich zeitlich nach der zweiten Applikation von CCl_4 nicht. Durch die elektrophoretische Teilung der Serumproteine im Polyakrylamidgel wurden bei den Kontroll-, wie auch bei den vergifteten Tieren drei Fraktionen von Leu AA gewonnen. Bei den Tieren, die das Tetrachlormethan bekommen haben, erhöhte sich signifikant die Aktivität der dritten (der am langsamsten vorgehenden) Fraktion; die Aktivitäten der ersten und der zweiten Fraktion haben sich nicht geändert. Schon im frühen Stadium der Intoxikation durch Tetrachlormethan kommt eine signifikante Senkung der Arginkonzentration (Arg) im Blutplasma auf; auf die halben Werte sank die Arginkonzentration ungefähr nach zwei bis drei Stunden und zwischen der 12. bis 30. Stunde nach der Applikation von CCl_4 wurden im Blutplasma der meisten Schafe

bereits Spuren von Arginin (nicht meßbar) festgestellt. Der Wiederaufstieg der Argininkonzentration kommt nach 36 bis 50 Stunden nach der Applikation von Tetrachlormethan auf. Das Tetrachlormethan verschwindet aus dem Blut und aus der Pansenflüssigkeit ungefähr zwei Tage nach seiner Applikation.

Leucylarylamidasen; Lysylarylamidasen; Aminopeptidase B; Arylamidasen; Vergiftung durch Tetrachlormethan; enzymatische Diagnostik

Adresa autorů:

MVDr. Ján Hrivnák, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Komenského 73, 041 81 Košice

Prof. MVDr. Michal Bartík, DrSc., MVDr. Alexander Šamo, MVDr. Václav Šutiak, CSc., doc. ing. Karol Zwick, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

ANTIGENNÍ VZTAHY MEZI PASTEURELAMI A AKTINOBACILY

O. Mráz

MRÁZ, O. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Antigenní vztahy mezi pasteurelami a aktinobacily*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 121-132.

Shromáždili jsme reprezentativní kmeny pasteurel (osm kmenů *Past. multocida*, osm kmenů *Past. pneumotropica*, dvanáct kmenů *Past. ureae* a šest kmenů *Past. gallinarum*) a vyšetřili je z hlediska možné antigenní příbuznosti. Pasteurelová antiséra posloužila i ve srovnávacích pokusech se 17 0-sérotypy aktinobacilů (*Act. lignieresii* AB, C, D, E — *Act. equuli* A, B, EA — *Act. haemolyticus* A, B, C, E, F — *Act. salpingitidis* A, B, C, D, E — Mráz, 1968, 1969a, b, c; Mráz aj., 1976). Povrchový antigen obou mikrobních druhů byl rozpuštěn autoklavizací podle Bibersteina aj. (1958). Po odstředění bylo praná suspenze použito ve zkumavkové aglutinaci a povrchového antigenu v gelové precipitaci podle Ouchterlonyho (1949). Uvedenými postupy bylo dosaženo těchto výsledků: 1. Zkumavková aglutinace prokázala antigenní samostatnost jednotlivých druhů pasteurel i celkovou samostatnost rodu vůči systematicky blízkým aktinobacilům. Ojedinělé reakce se vyskytly jen u druhů *Act. equuli* a *Act. haemolyticus*, ale nepřesáhly vesměs čtvrtinu aglutinačního titru pasteurelových antisér. 2. U pasteurelových druhů byl zjištěn větší počet 0-sérotypů (*Past. multocida*: A, BC, C, D, E — *Past. pneumotropica*: A, B, C, D, E — *Past. ureae*: AB, B, C, D, E — *Past. gallinarum*: A, B, C), z toho u druhu *Pasteurella multocida* a *Pasteurella ureae* také po jednom případě jejich komplexního zastoupení. 3. Gelová precipitace odhalila různá množství povrchového antigenu a u 27 kmenů (80 %) pasteurel i jeho smíšenou skladbu. Sérologické vymezení druhu zde bylo téměř nemožné; značnou příbuznost s pasteurelami projevily podle tohoto antigenu i srovnávací kmeny aktinobacilů. 4. Zjištěná specifita 0-antigenů ve studovaných souborech mikrobních kmenů podporuje samostatnost pasteurel a aktinobacilů v systému bakterií a posiluje i přesvědčení o stabilitě jejich druhové skladby.

Actinobacillus; *Actinobacillus equuli*; *Actinobacillus haemolyticus*; *Actinobacillus lignieresii*; *Actinobacillus salpingitidis*; antigenní struktura; antigenní vztahy; gelová precipitace; *Pasteurella*; *Pasteurella gallinarum*; *Pasteurella multocida*; *Pasteurella pneumotropica*; *Pasteurella ureae*; zkumavková aglutinace

Antigenní struktura a z ní vyplývající vztahy jsou známé vesměs jen u druhu *Pasteurella multocida*, resp. u jejích forem podle různých hostitelů.

První rozsáhlejší studie tohoto zaměření pochází od Rosenbusche a Merchanta (1939), kteří vyšetřili 32 kmeny z koní, skotu, ovcí, prasat, drůbeže a králíků. Tito autoři prokázali dva až tři aglutinační typy podle plného antigenu (OK), jež vztáhli převážně ke zkvašování arabinózy a xylózy. Z dokladných tabulek však

lze nicméně vyčíst, že se konformita ve zkvašování arabinózy a příslušnosti k antigennímu typu projevila jen u aviárních kmenů, zatímco kmeny ze savců byly v prvním i druhém ohledu velmi nejednotné.

S čistou somatickou substancí pracovali až Namioka a Murata (1961b), kteří studovali její kvalitu u kmenů roztrfidených podle kapsulárního antigenu (Carter, 1955). Jejich elaborát je cenný co do přípravy hodnotného aglutinačního testu, úrovně vysocovacích pokusů a dosažených výsledků. Zjistili nejen, že existuje větší počet typů podle 0-antigenu, ale navíc i skutečnost, že se u sérotypů A a D podle Cartera mohou vyskytovat také různé 0-antigeny.

Vzhledem k tomu, že je kapsulární (povrchová) substance považována za faktor patogenity a také imunogenity (Patočka, 1970), překvapí, že o dva roky později dokázal Heddleston (1962) různou imunogenitu a Namioka s Brunerem (1963) také různou virulenci kmenů o stejném povrchovém antigenu. Murata aj. (1964) z podobných pokusů uzavírají, že by 0-antigen a 0-protilátky mohly být u pasteurelóz dokonce významnější než analogické preparáty povrchového antigenu. Nověji Cimoch (1970) již tvrdí, že efektivnost specifické profylaxe tu závisí výhradně na somatické struktuře pasteurelových kmenů.

Vyšetřování čistého povrchového antigenu počíná Carterem (1955) a dělalo se zprvu jen nepřímou aglutinací. Později bylo převedeno na jednodušší sklízkovou aglutinaci (Namioka a Murata, 1961a), ale existují také metody precipitační (Heddleston aj., 1972). Dosud známe pět sérotypů (A–E), ačkoliv nechybí ani kmeny v tomto ohledu deficitní (Namioka a Murata, 1961b).

Antigenní studie ostatních pasteurel jsou velmi vzácné a týkají se jen druhu *Past. pneumotropica* (Jawetz, 1950) nebo *Past. gallinarum* (Hall aj., 1955). Srovnávací pokusy s rámci celého rodu a vůči systematicky blízkým aktinobacilům nebyly zatím provedeny.

MATERIÁL A METODA

V práci jsme použili 34 kmenů pasteurel, a to osmi kmenů *Past. multocida* z člověka, skotu, prasat, ovcí a slepic, osmi kmenů *Past. pneumotropica* z myší, dvanácti kmenů *Past. ureae* z člověka, myší a morčat a šesti kmenů *Past. gallinarum* ze slepic. Snažili jsme se o co možná široké zastoupení podle hostitelů a chorobných změn, přičemž více než třetina kmenů (13) pocházela ze zahraničních sbírek (tab. I).

Aktinobacilové kmeny o celkovém počtu 17 kusů odpovídaly sérotypům AB, C, D, E *Act. lignieresii* (Mráz, 1969a), A, B, EA *Act. equuli* (Mráz, 1968), A, B, C, E, F *Act. haemolyticus* (Mráz, 1969b, c) a sérotypům A, B, C, D, E *Act. salpingitidis* (Mráz aj., 1976). Blíží údaje jsou v tab. II.

Před začátkem pokusů jsme všechny kmeny přezkoušeli na druhovou příslušnost, a to za využití standardních metod (Pelczar aj., 1957; Cowan a Steel, 1965) a našich vlastních zkušeností (Mráz aj., 1971; Mráz, 1975). Hlavní důraz byl přitom kladen na růstové schopnosti na MacConkeyově agaru s krystalovou violetí (BioQuest), na ureázu, tvorbu indolu, dekarboxylázu ornitinu, zkvašování laktózy a maltózy, tvorbu sirovodíku a hemolýzu ovčích i jehněčích erytrocytů.

Kmeny pro přípravu antisér jsme pomnožovali na silněji nalitém krevním agaru o dvojitém maso-peptonovém základu. Po 24hodinové inkubaci byly kultury z Petriho misek smyty fyziologickým roztokem, jedenkrát odstředěny a v případě *Pasteurella multocida* ještě usmrceny 0,1% formalinu. Při cca 16 dávkách po 2.10⁹ mikrobiálních buněk a za dodržování třídních intervalů trvala celá intraperitoneální imunizace králíků sedm až osm týdnů. Po vykrvení zvířat byla oddělená antiséra konzervována merthiolátem v poměru 1 : 10 000.

Somatické a povrchové antigeny pocházely z kultur, které byly namnoženy a promyty stejným způsobem jako pro imunizaci. Výchozí suspenze o hustotě 10 × 10⁹ mikrobiálních buněk v 1 ml jsme autoklavizovali 1 hodinu při 120 °C (Biberstein aj., 1958) a dokonale odstředili. Po jednoduchém promytí centrifugátu byla somatická frakce vyšetřována zkumavkovou aglutinací a supernatant s povrchovým antigenem gelovou precipitací podle Ouchterlonyho (1949). Ke konzervaci obou složek posloužil opět merthiolát.

I. Původ studovaných kmenů pasteurel – The origin of the Pasteurella strains studied

Lab. č. kmene	Sbírk. č. kmene	Izolace	Identifikace	Hostitel	Orgán/nemoc
<i>Pasteurella multocida</i>					
405 a/69 537 d/69 552 a/69 325/61 Pa 41/62 385/61 Pa 39/62 Pa 40/62	CCM 5902 CCM 5903 CCM 5904 CCM 5419 ÚEM Pa 41/62 CCM 5420 ÚEM Pa 39/62 ÚEM Pa 40/62	V. Paučková P. Vladík P. Vladík O. Mráz O. Mráz	O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz G. R. Carter O. Mráz G. R. Carter G. R. Carter	člověk tele prase ovce slepice	hnis z rány pneumonie pneumonie pneumonie cholera drůbeže
<i>Pasteurella pneumotropica</i>					
421 187 315 435 701/18/70 701/23/70 701/24/70 701/21/70	NCTC 8141 CCM 5776 CCM 5777 CCM 5778	E. Jawetz W. G. Hoag et al. J. G. Heyl SSC P. Jelen P. Jelen P. Jelen P. Jelen	E. Jawetz ⁺ W. G. Hoag et al. ⁺ J. G. Heyl ⁺ W. Frederiksen ⁺ O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz	myš myš myš myš myš myš myš myš	plíce děloha děloha plíce nosohltan nosohltan nosohltan nosohltan
<i>Pasteurella ureae</i>					
402 523 524 3520/59 175 1/71 175 m/71 176/10/71 176/37/71 176/41/71 176/46/71 334/3/71 334/15/71	CCM 5779 CCM 5780 CCM 5781 NCTC 10219 P. Jelen P. Jelen O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz	B. Korner W. Frederiksen SSAa S. D. Henriksen a K. Jyssum P. Jelen P. Jelen O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz	W. Frederiksen W. Frederiksen W. Frederiksen S. D. Henriksen a K. Jyssum O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz	člověk člověk člověk člověk myš myš myš myš myš myš morče morče	pleurální mok sputum sputum ozaena nosohltan nosohltan nosohltan nosohltan nosohltan nosohltan nosohltan nosohltan
<i>Pasteurella gallinarum</i>					
85 a/72 85 e/72 85 j/72 85 1/72 P-913 P 836	CCM 5977 CCM 5978 CCM 5979 ATCC 13361	P. Jelen P. Jelen P. Jelen P. Jelen K. L. Heddeleston W. J. Hall	O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz K. L. Heddeleston W. J. Hall	slepice slepice slepice slepice slepice	choana nakažlivá rýma nakažlivá rýma nakažlivá rýma sinus

Vysvětlivky: ATCC = American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, USA
CCM = Československá sbírka mikroorganismů Univ. J. E. Purkyně, Brno
NCTC = National Collection of Type Cultures, London
SSAa = Statens Seruminstitut, Aalborg, Denmark
SSC = Statens Seruminstitut, Copenhagen
ÚEM = Ústav epidemiologie a mikrobiologie, Praha
⁺) = získán jako *Pasteurella pneumoniae*

II. Původ srovnávacích kmenů aktinobacilů - The origin of the comparative strains of Actinobacilli

Lab. č. kmene	S*)	Sbírk. č. kmene	Izolace	Identifikace	Hostitel	Orgán/nemoc
<i>Actinobacillus lignieresii</i>						
Thomp. 1 VFB 263/63 Phill. 2491/53 Mar. 1	AB C D E	CCM 5144 CCM 5784 CCM 5783 CCM 5145	L. Thompson O. Mráz J. E. Phillips P. H. Martin	L. Thompson O. Mráz J. E. Phillips P. H. Martin	skot skot ovce skot	aktinomykóza aktinomykóza aktinomykóza aktinomykóza
<i>Actinobacillus equuli</i>						
Dorss. 1276/61 VFB 781/64 Wet. 1706	A B EA	CCM 5586 CCM 5587 ATCC 13376	Van Dorssen Z. Matoušek A. S. Browne	Van Dorssen ⁺ O. Mráz P. W. Wetmore et al.	prase kůň kůň	septikemie septikemie kloub
<i>Actinobacillus haemolyticus</i>						
VFB 370/61 Gottw. 243/62 T 185 Thomp. 1 C 49 Bib. 927	A B C E F	CCM 5143 CCM 5786 NCTC 10218 GCM 5422 CCM 5787	O. Mráz Z. Matoušek S. D. Henriksen D. A. Thompson E. L. Biberstein	O. Mráz O. Mráz S. D. Henriksen ⁺⁺ D. A. Thompson ⁺⁺ E. L. Biberstein ⁺⁺	ovce prase ovce ovce ovce	mastitis septikemie pneumonie játra
<i>Actinobacillus salpingitidis</i>						
26 b/65 556/71 558 g/71 573 a/71 138/8/74	A B C D E	CCM 5995 CCM 5974 CCM 5975 CCM 5976	VŠV Košice P. Vladík P. Jelen P. Vladík SVÚ Hradec Králové	O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz O. Mráz	slepice slepice slepice slepice slepice	játra choana peritonitis játra

Vysvětlivky: *) = O-sérotypy z antigenního srovnání 36 aktinobacilových kmenů (Mráz 1968, 1969 a, b - Mráz et al., 1976)

+) = získán jako *Actinobacillus suis*++) = získán jako *Pasteurella haemolytica*

VÝSLEDKY

Celkový pohled na glutinační údaje by vyžadoval rozměrnou tabuli, kterou jsme z technických důvodů rozdělili do čtyř tabulek menších. Vzhledem k tomu, že mezidruhové reakce byly velmi řídké a poměrně slabé, lze přejít přímo k hodnocení dílčích výsledků.

U druhu *Pasteurella multocida* (tab. III) bylo zjištěno pět sérotypů včetně jednoho smíšeného (BC), který představuje vrstevnaté uložení dílčích antigenů. Zajímavá je i konformita kmenů Pa 39/62 a Pa/40/62, jež svou kapsulární substancí patří k sérotypům A a B podle Cartera. Druh *Pasteurella pneumotropica* (tab. IV) vykazuje v našich pokusech rovněž pět sérotypů, z nichž tři (A, B a C) odpovídají kmenům z latentních infekcí uteru a plic myši a dva (D a E) kmenům z nosohltanu myši utracených. Podobná diferenciacce se projevila také u druhu *Pasteurella ureae* (tab. V), jejíž sérotyp AB, resp. B, je tvořen kmeny z horních dýchadel člověka, C a D kmeny z nosohltanu utracených myši a sérotyp E kmeny z nosohltanu utracených morčat. U druhu *Pasteurella gallinarum* (tab. VI) byly zjištěny celkem tři sérotypy a nápadnější je pouze antigenní shoda našich kmenů 85 e/72, 85 j/72 a 85 l/72 s Heddlestoneovým kmenem P-913.

Antigenní samostatnost jednotlivých druhů pasteurel podle O-antigenu byla provázena i samostatností celého rodu vůči systematicky blízkým aktinobacilům. Ojedinelé silnější reakce se vyskytly pouze u kmenů *Actinobacillus equuli* (kmen Dorss. 1276/61 v antisérech *Pasteurella gallinarum* 85 j/72 a 85 l/72, stejně jako v antiséru *Pasteurella ureae* 523, kmen VFB 781/64 v antisérech *Pasteurella ureae* 334/3/71 a 334/15/71) a *Actinobacillus haemolyticus* (kmen Gottw. 243/62 v antisérech *Pasteurella pneumotropica* 435 a 701/24/70, resp. i v antiséru *Pasteurella ureae* 334/3/71), nepřesáhly však vesměs čtvrtinu aglutinačního titru uvedených antisér. Příslušné tabelární údaje pro celkovou jednoznačnost výsledků neuvádíme.

V oboru povrchového antigenu jsme zjistili naopak značnou příbuznost pasteurelových druhů navzájem a rodu jako takového vůči aktinobacilům. Svědčí o tom 36 až 75 % mezidruhových reakcí u pasteurel a 57 % reakcí mezi oběma sledovanými rody. Nepochybný podíl na této frekvenci má i převládající komplexní stavba povrchové substance, neboť 80 % kmenů pasteurel a 58 % kmenů z rodu *Actinobacillus* vykazovalo dva až tři dílčí precipitinogeny. O absenci tabulek zde platí totéž, co v předchozím odstavci, nehledě na rozsah celého článku.

DISKUSE

Předkládaná práce staví na bakteriologickém srovnání pasteurel a aktinobacilů (M r á z, 1975) a je zcelujícím pohledem na jejich postavení v systému bakterií. Z tohoto důvodu byl kladen hlavní důraz na obligátní somatický antigen a jeho co možná jednoduchou purifikaci. Za vhodný postup lze označit termické uvolnění povrchové substance podle Bibersteina aj. (1958), jak jsme mohli potvrdit už ve svých dřívějších pracích o pasteurelách, resp. příbuzných aktinobacilech (M r á z,

III. Výsledky zkumavkové aglutinace v antisérech *Pasteurella multocida* — The results of test-tube agglutination in the antisera of *Pasteurella multocida*

Antigeny	Antiséra <i>Pasteurella multocida</i>							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Pasteurella multocida</i>								
1 (405 a/69)	1280A	160	0	0	0	0	0	0
2 (537 d/69)	320	640BC	320	640	0	160	0	0
3 (552 a/69)	80	320	320BC	320	0	0	0	0
4 (325/61)	320	320	160	640BC	0	0	160	0
5 (Pa 41/62)	320	320	320	640	640 C	160	0	0
6 (385/61)	0	80	80	0	0	1280D	0	0
7 (Pa 39/62)	0	0	40	0	0	0	640 E	640
8 (Pa 40/62)	0	0	0	0	0	0	640	640 E
<i>Pasteurella pneumotropica</i>								
9 (421)	0	0	0	0	0	0	0	0
10 (187)	0	0	0	0	0	0	0	0
11 (315)	0	0	0	0	0	0	0	0
12 (435)	0	0	0	0	0	0	0	0
13 (701/18/70)	0	160	0	0	0	160	0	0
14 (701/23/70)	0	160	0	0	0	160	0	0
15 (701/24/70)	0	0	40	0	0	0	0	0
16 (701/21/70)	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pasteurella ureae</i>								
17 (402)	0	0	80	0	0	0	0	0
18 (523)	0	40	80	160	0	0	0	0
19 (524)	0	0	80	80	0	0	0	0
20 (3520/59)	0	80	80	160	0	0	0	0
21 (175 l/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
22 (175 m/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
23 (176/10/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
24 (176/37/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
25 (176/41/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
26 (176/46/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
27 (334/3/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
28 (334/15/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pasteurella gallinarum</i>								
29 (85 a/72)	0	0	0	0	0	0	0	0
30 (85 e/72)	0	0	0	0	0	0	0	0
31 (85 j/72)	0	0	0	0	0	0	0	0
32 (85 l/72)	0	0	0	0	0	0	0	0
33 (P-913)	0	0	0	0	0	0	0	0
34 (P 836)	0	0	0	0	0	0	0	0

Poznámka: U reakcí uváděna pouze intenzita ++

IV. Výsledky zkumavkové aglutinace v antisérech *Pasteurella pneumotropica* — The results of test-tube agglutination in the antisera of *Pasteurella pneumotropica*

Antigeny	Antiséra <i>Pasteurella pneumotropica</i>							
	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>Pasteurella multocida</i>								
1 (405 a/69)	0	0	0	0	0	0	320	0
2 (537 d/69)	0	0	0	0	0	0	320	0
3 (552 a/69)	0	80	0	80	0	0	0	0
4 (325/61)	80	160	80	160	0	0	320	80
5 (Pa 41/62)	80	80	0	0	160	0	320	0
6 (385/61)	160	320	0	0	320	0	640	80
7 (Pa 39/62)	0	0	0	0	0	0	0	0
8 (Pa 40/62)	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pasteurella pneumotropica</i>								
9 (421)	640A	640	0	80	0	0	0	0
10 (187)	640	1280A	0	0	0	0	0	0
11 (315)	0	0	320B	0	0	0	0	0
12 (435)	80	80	0	640C	0	0	320	80
13 (701/18/70)	0	0	0	0	2560D	1280	2560	0
14 (701/23/70)	0	0	0	0	1280	1280D	2560	0
15 (701/24/70)	160	80	0	0	1280	640	2560D	0
16 (701/21/70)	80	80	0	160	160	160	640	640E
<i>Pasteurella ureae</i>								
17 (402)	0	0	0	0	0	0	0	0
18 (523)	160	320	80	160	0	0	0	80
19 (524)	40	0	0	0	0	0	0	0
20 (3520/59)	160	80	80	80	0	0	0	160
21 (175 1/71)	0	0	0	80	0	0	0	160
22 (175 m/71)	0	0	0	80	0	0	0	160
23 (176/10/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
24 (176/37/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
25 (176/41/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
26 (176/46/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
27 (334/3/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
28 (334/15/71)	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pasteurella gallinarum</i>								
29 (85 a/72)	0	0	0	0	0	0	160	80
30 (85 e/72)	0	0	0	0	0	0	0	0
31 (85 j/72)	0	0	0	0	0	0	0	0
32 (85 l/72)	0	0	40	0	0	0	0	0
33 (P-913)	0	80	0	0	0	0	160	0
34 (P 836)	40	0	0	0	0	0	0	0

teurella ureae

[illegible]

VI. Výsledky zkumavkové aglutinace v antisérech *Pasteurella gallinarum* — The results of test-tube agglutination in the antisera of *Pasteurella gallinarum*

Antigeny	Antiséra <i>Pasteurella gallinarum</i>					
	29	30	31	32	33	34
<i>Pasteurella multocida</i>						
1 (405 a/69)	0	0	0	0	0	0
2 (537 d/69)	0	0	160	160	0	0
3 (552 a/69)	0	0	80	80	0	0
4 (325/61)	0	0	320	160	0	0
5 (Pa 41/62)	0	80	320	160	0	0
6 (385/61)	0	0	0	0	0	0
7 (Pa 39/62)	0	0	0	0	0	0
8 (Pa 40/62)	0	0	0	0	0	0
<i>Pasteurella pneumotropica</i>						
9 (421)	0	0	0	0	0	0
10 (187)	0	0	0	0	0	0
11 (315)	0	0	0	0	0	0
12 (435)	0	0	0	0	0	0
13 (701/18/70)	0	0	0	0	0	0
14 (701/23/70)	0	0	0	0	0	0
15 (701/24/70)	0	0	0	0	0	0
16 (701/21/70)	0	0	0	0	0	0
<i>Pasteurella ureae</i>						
17 (402)	0	0	0	80	0	0
18 (523)	640	160	160	160	0	0
19 (524)	0	0	80	0	0	0
20 (3520/59)	0	0	40	0	0	0
21 (175 1/71)	0	0	0	0	0	0
22 (175 m/71)	0	0	0	0	0	0
23 (176/10/71)	0	0	0	0	0	0
24 (176/37/71)	0	0	0	0	0	0
25 (176/41/71)	0	0	0	0	0	0
26 (176/46/71)	0	0	0	0	0	0
27 (334/3/71)	0	0	0	0	0	0
28 (334/15/71)	0	0	0	0	0	0
<i>Pasteurella gallinarum</i>						
29 (85 a/72)	5120A	40	40	160	0	0
30 (85 e/72)	0	640B	640	1280	640	0
31 (85 j/72)	0	640	1280B	1280	640	0
32 (85 l/72)	0	640	1280	1280B	640	0
33 (P-913)	0	640	1280	1280	1280B	320
34 (P 836)	0	160	320	80	0	1280C

1968, 1969a, b). Využití této rozpustné frakce jako precipitinogenu se nabízelo spíše okrajově a souhlasí s publikacemi jiných autorů (Heddlston aj., 1972).

Výsledky zkumavkové aglutinace u druhu *Pasteurella multocida* vcelku nepřekvapily, ale zjištěná antigenní pluralita u ostatních druhů je ne-

sporným přínosem. Výrazná specifičnost O-antigenů svědčí o druhové samostatnosti vyšetřených pasteurel, nebo ji alespoň značně posiluje. Zajišťující je i vazba některých sérotypů na latentní orgánové infekce (*Pasteurella pneumotropica*) a hostitelské druhy (*Pasteurella ureae*). Tuto poslední skutečnost pokládáme sice za významnou, nikoli však natolik, aby stačila k roztržení jinak uceleného biochemického syndromu na event. nové druhy.

Gelová precipitace poskytla reakce o velmi rozdílné intenzitě a některé z nich byly až dubiozní. Tento fakt je výrazem nestejnosti množství povrchového antigenu u jednotlivých kmenů a z literatury víme (Namiooka a Murata, 1961b; Mráz, 1969b), že může i zcela chybět. Na druhé straně nelze zapomínat ani na příbuznost těchto polysacharidových substancí s jinými čeleděmi (Mráz, 1969c). Jakkoliv je tedy rozsáhlá shoda studovaných druhů a rodů na tomto úseku významná, ustupuje taxonomický význam povrchového antigenu značně do pozadí.

Závěrem lze říci, že zjištěná specifita O-antigenů ve studovaných soubořích podporuje samostatnost pasteurel a aktinobacilů v systému bakterií a posiluje i přesvědčení o stabilitě jejich druhové skladby.

Literatura

- BIBERSTEIN, E. L. — MEYER, M. E. — KENNEDY, P. C.: Colonial variation of *Pasteurella haemolytica* isolated from sheep. J. Bact., 76, 1958, s. 445-452.
- CARTER, G. R.: Studies on *Pasteurella multocida* I. A haemagglutination test for the identification of serological types. Am. J. vet. Res., 16, 1955, s. 481-484.
- CIMOCH, P. F.: Tipizacija pasterell po 0-antigenym svojstvum. Veterinarija, 46, 1970, č. 1, s. 41-44.
- COWAN, S. T. — STEEL, K. J.: Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge Univ. Press 1965. 217 s.
- HALL, W. J. — HEDDLESTON, K. L. — LEGENHAUSEN, D. H. — HUGHES, R. W.: Studies on Pasteurellosis I. A new species of *Pasteurella* encountered in chronic fowl cholera. Am. J. vet. Res., 16, 1955, s. 598-604.
- HEDDLESTON, K. L.: Studies on Pasteurellosis V. Two immunogenetic types of *Pasteurella multocida* associated with fowl cholera. Avian Dis., 6, 1962, 315.
- JAWETZ, E.: A pneumotropic *Pasteurella* of laboratory animals I. Bacteriological and serological characteristics of the organism. J. infect. Dis., 86, 1950, s. 172-183.
- MRÁZ, O.: Reevaluation of original strains *Actinobacillus suis* and haemolytic strains *Actinobacillus lignieresii* ATCC isolated from organs of diseased pigs. Sborník VŠZ v Brně, řada B — Spisy Fak. vet., 37, 1968, s. 277-290.
- MRÁZ, O.: Vergleichende Studie der Arten *Actinobacillus lignieresii* und *Pasteurella haemolytica* I. *Actinobacillus lignieresii* BRUMPT, 1910; emend. Zentbl. Bakt. I. Abt., Orig., 209, 1969a, s. 212-232.
- MRÁZ, O.: Vergleichende Studie der Arten *Actinobacillus lignieresii* und *Pasteurella haemolytica* II. *Pasteurella haemolytica* NEWSON und CROSS, 1932. Zentbl. Bakt. I. Abt., Orig., 209, 1969b, s. 336-349.
- MRÁZ, O.: Vergleichende Studie der Arten *Actinobacillus lignieresii* und *Pasteurella haemolytica* III. *Actinobacillus haemolyticus* (NEWSON und CROSS, 1932) comb. nov. Zentbl. Bakt. I. Abt., Orig., 209, 1969c, s. 349-364.
- MRÁZ, O.: Differentiation possibilities between *Pasteurellae* and *Actinobacilli*. Acta vet., Brno, 44, 1975, v tisku.
- MRÁZ, O. — MASSALEMA, F. — SOVADINA, M.: Diagnostika suspektních kmenů *Pasteurella multocida*. Vet. Med., Praha, 16, 1971, s. 19-28.
- MRÁZ, O. — VLADÍK, P. — BOHÁČEK, J.: Actinobacilli in domestic fowl. Zentbl. Bakt. I. Abt., Orig., A 236, 1976, s. 294-307.
- MURATA, M. — HORIUCHI, T. — NAMIOKA, S.: Studies on the pathogenicity of *Pasteurella multocida* for mice and chickens on the basis of 0-groups. Cornell Vet., 54, 1964, s. 293-307.

- NAMIOKA, S. — BRUNER, D. W.: Serological Studies on *Pasteurella multocida*. IV. Type distribution of the organism on the basis of their capsule and O-groups. Cornell Vet., 53, 1963, s. 41-53.
- NAMIOKA, S. — MURATA, M.: Serological studies on *Pasteurella multocida*. I. A simplified method for capsule typing of the organism. Cornell Vet., 51, 1961a, s. 498-507.
- NAMIOKA, S. — MURATA, M.: Serological studies on *Pasteurella multocida*. II. Characteristics of somatic (O) antigen of the organism. Cornell Vet., 51, 1961b, s. 507-521.
- OUCHTERLONY O.: Antigen-antibody reactions in gels. Acta path. microbiol. scand., 26, 1949, s. 507-515.
- PATOČKA, F. aj.: Lékařská mikrobiologie. Praha, Avicenum 1970. 897 s.
- PELCZAR, M. J. aj.: Manual of Microbiological Methods. McGraw-Hill, New-York — Toronto — London 1957. 315 s.
- ROSENBUSCH, C. T. — MERCHANT, I. A.: A study of the hemorrhagic septicemia pasteurellae. J. Bact., 37, 1939, s. 69-89.

Došlo dne 1. 9. 1976

MPAŽ, O. (Veterinárny institút, Brno): Antigenní vztahy mezi pastorellami a aktinobacilii. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2): 121-132.

Nami bylo собрано и обследовано с точки зрения возможного антигенного родства 34 репрезентативных штамма пастерелл (восемь штаммов *Past. multocida*, восемь штаммов *Past. pneumotropica*, двенадцать штаммов *Past. ureae* и шесть штаммов *Past. gallinarum*). Антисыворотка пастерелл применялась и в сравнительных опытах с 17 O-сериотипами актинобацилл (*Act. lignieresii* AB, C, D, E — *Act. equuli* A, B, EA — *Act. haemolyticus* A, B, C, E, F — *Act. salpingitidis* A, B, C, D, E — Мраз, 1968, 1969a, б, в; Мраз и кол. 1976). Поверхностный антиген обоих микробных видов растворялся при помощи автоклавирования согласно Биберштейну и кол. (1958). После центрифугирования вымытые суспензии использовались для пробирочной агглютинации и поверхностного антигена в гелевой преципитации согласно Оухтерлони (1949). В результате чего были получены следующие заключения: 1. Пробирочная агглютинация доказала антигенную самостоятельность отдельных видов пастерелл и общую самостоятельность рода по отношению к систематически близким актинобациллам. Отдельные реакции наблюдались только у видов *Act. equuli* и *Act. haemolyticus*, однако они, как правило, не превысили 1/4 агглютинационного титра пастерелльных антисывороток. 2. У пастерелльных видов было установлено большое число O-сериотипов (*Past. multocida*: A, BC, C, D, E — *Past. pneumotropica*: A, B, C, D, E — *Past. ureae*: AB, B, C, D, E — *Past. gallinarum*: A, B, C), в том числе у вида *Pasteurella multocida* и *Pasteurella ureae* также по одному случаю их комплексного появления. 3. Гелевая преципитация установила разное количество поверхностного антигена и у 27 штаммов (80 %) пастерелл также его смешанный состав. Серологическое определение вида в этом случае было почти невозможным; значительное родство с пастереллами согласно этому антигену проявили также сравниваемые штаммы актинобацилл. 4. Установленная специфичность O-антигенов в изучаемых совокупностях микробных штаммов поддерживает самостоятельность пастерелл и актинобацилл в системе бактерий и также подкрепляет уверенность в стабильности их видового состава.

Actinobacillus; *A. equuli*; *A. haemolyticus*; *A. lignieresii*; *A. salpingitidis*; антигенная структура; антигенные отношения; гелевая преципитация; *Pasteurella*; *P. gallinarum*; *P. multocida*; *P. pneumotropica*; *P. ureae*; пробирочная агглютинация

MPAŽ, O. (University of Veterinary Medicine, Brno): Antigenic Relations between *Pasteurellae* and *Actinobacilli*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2): 121-132.

We collected 34 representative strains of pasteurellae (eight strains of *Past. multocida*, eight strains of *Past. pneumotropica*, twelve strains of *Past. ureae* and six strains of *Past. gallinarum*) and examined them with regard to the possible antigenic relationship. Their specific antisera served also in the comparative experiments with 17 O-serotypes of actinobacilli (*Act. lignieresii* AB, C, D, E — *Act. equuli* A, B, EA, — *Act. haemolyticus* A, B, C, E, F — *Act. salpingitidis* A, B, C, D, E — Mraz, 1968, 1969a, b, c; Mraz et al., 1976). The envelope antigen of both microbial species was dissolved in autoclave after Biberstein et al. (1958). After separation, the washed suspensions were used in test tube agglutination

and the envelope antigen in gel precipitation after Oouchterlony (1949). The following results were achieved by the mentioned procedures: 1. The test tube agglutination proved the antigenic independence of individual species of pasteurellae and even the general independence of the genus against the systematically related actinobacilli. Not numerous reactions occurred only in the species of *Act. equuli* and *Act. haemolyticus*, however, they did not exceed altogether one fourth of agglutination titre of pasteurellous antisera. 2. In pasteurellae a higher number of 0-serotypes was found (*Past. multocida*: A, BC, C, D, E — *Past. pneumotropica*: A, B, C, D, E — *Past. ureae*: AB, B, C, D, E — *Past. gallinarum*: A, B, C), of which in *Pasteurella multocida* and *Pasteurella ureae* also by one case of their complex occurrence. 3. The gel precipitation revealed various amounts of the envelope antigen and in 27 strains (80 %) of pasteurellae also its combined composition. A serological definition of the species was nearly impossible; a considerable affinity with pasteurellae was recorded according to this antigen also in the comparative strains of actinobacilli. 4. The determined specificity of 0-antigens in the examined sets of microbial strains indicates the independence of pasteurellae and actinobacilli in the system of bacteria and upholds the opinion on stability of their species composition.

Actinobacillus; *Actinobacillus equuli*; *Actinobacillus haemolyticus*; *Actinobacillus lignieresii*; *Actinobacillus salpingitidis*; antigenic composition; antigenic relations; gel precipitation; *Pasteurella*; *Pasteurella gallinarum*; *Pasteurella multocida*; *Pasteurella pneumotropica*; *Pasteurella ureae*; test tube agglutination

MRÁZ, O. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Antigene Beziehungen zwischen Pasteurellen und Aktinobazillen*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (2) : 121-132.

Es wurden 34 repräsentative Stämme der Pasteurellen (acht Stämme der *Past. multocida*, acht Stämme der *Past. pneumotropica*, zwölf Stämme der *Past. ureae* und sechs Stämme der *Past. gallinarum*) gesammelt und vom Gesichtspunkt der möglichen antigenen Verwandtschaft untersucht. Deren spezifische Antisera dienten auch zu Vergleichsversuchen mit 17 0-Serotypen von Aktinobazillen (*Act. lignieresii* AB, C, D, E — *Act. equuli* A, B, EA — *Act. haemolyticus* A, B, C, E, F — *Act. salpingitidis* A, B, C, D, E, — Mráz, 1968, 1969a, b, c; Mráz u. a., 1976). Das Oberflächenantigen beider Mikrobenarten wurde im Autoklav nach Biberstein u. a. (1958) gelöst. Nach dem Schleudern wurden die gewaschenen Suspensionen in der Reagenzglasagglutination und das Oberflächenantigen in der Gelpräzipitation nach Ouchterlony (1949) angewandt. Durch die beschriebenen Verfahren wurden folgende Ergebnisse erreicht: 1. Die Reagenzglasagglutination erwies die antigene Selbstständigkeit der einzelnen Pasteurellenarten und auch die gesamte Selbstständigkeit des Genus gegenüber den systematisch nahen Aktinobazillen. Die Seltene Reaktionen kamen nur bei *Act. equuli* und *Act. haemolyticus* vor, überstiegen jedoch nicht insgesamt das Viertel des Agglutinationstiters der Pasteurellenantisera. 2. Bei den Pasteurellenarten wurde eine größere Anzahl von 0-Serotypen (*Past. multocida*: A, BC, C, D, E — *Past. pneumotropica*: A, B, C, D, E — *Past. ureae*: AB, B, C, D, E — *Past. gallinarum*: A, B, C) festgestellt, davon bei *Pasteurella multocida* und *Pasteurella ureae* auch je ein Fall ihrer komplexen Vertretung. 3. Die Gelpräzipitation zeigte eine unterschiedliche Menge des Oberflächenantigens und bei 27 Stämmen (80 %) der Pasteurellen auch seine gemischte Struktur. Die serologische Abgrenzung der Arten war in diesem Fall fast unmöglich; eine beträchtliche Verwandtschaft mit den Pasteurellen wiesen nach dem genannten Antigen auch die Stämme von Aktinobazillen auf. 4. Die festgestellte Spezifität von 0-Antigenen in den untersuchten Gesamtheiten der mikrobiellen Stämme unterstützt die Selbstständigkeit der Pasteurellen und Aktinobazillen im System der Bakterien und festigt auch die Überzeugung von der Stabilität ihrer Artenstruktur.

Actinobacillus; *Actinobacillus equuli*; *Actinobacillus haemolyticus*; *Actinobacillus lignieresii*; *Actinobacillus salpingitidis*; antigene Struktur; antigene Beziehungen; Gelpräzipitation; *Pasteurella*; *Pasteurella gallinarum*; *Pasteurella multocida*; *Pasteurella pneumotropica*; *Pasteurella ureae*; Reagenzglasagglutination

Rukopis odevzdán k tisku 10. 12. 1976 — Podepsáno k tisku 5. 5. 1977

Adresa autora:

MVDr. ing. Oldřich Mráz, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

Hofírek B., Groch L.: Frekvence hemálních mízních uzlin a jejich histologické změny ve zdravých a leukózních stádech skotu	65
Surynek J., Tomšík F.: Aktivita některých enzymů v krevní plazmě fétů a krav ve třetím trimestru gravidity	75
Jurmanová K., Černá J., Jiránek E.: Nález mykoplazmat v ejakulátech býků z inseminačních stanic Východočeského kraje	81
Habrda J., Malíková M., Bartoš J.: Léčebná účinnost snížených dávek neomycinu, furazolidonu a jejich kombinace při průjmech telat	91
Zajíček D., Márová M., Zahradníková W., Ryšavý B.: Experimentální paramphistomatóza jehňat	99
Hrivnák J., Bartík M., Šamo A., Šutiak V., Zwíck K.: Aktivita leucylarylamidáz a lyzylarylamidáz (aminopeptidázy B) v krvnom sére a obsah arginínu v plazme oviec po aplikácii tetrachlórmetánu	109
Mráz O.: Antigenní vztahy mezi pasteurelami a aktinobacily	121

СОДЕРЖАНИЕ

Гогирек Б., Грох Л.: Частота гемальных лимфатических узлов и их гистологические изменения в здоровых и лейкозных стадах крупного рогатого скота	65
Суринок И., Томшик Ф.: Активность некоторых энзимов в кровяной плазме фетов и коров в третьей трети беременности	75
Юрманова К., Черна Й., Йиранек Е.: Установление микоплазмы в эякулятах быков из станций по искусственному осеменению Восточночешской области	81
Габрда Й., Маликова М., Бартош Й.: Лечебное действие пониженных доз неомидина, фуразолидона и их комбинации при поносах телят	91
Зайичек Д., Марова М., Заградникова В., Рышавы Б.: Экспериментальный парамфистоматоз ягнят	99
Гривнак Й., Бартик М., Шамо А., Шутяк В., Цвик К.: Активности лейцилариламидазы и лизилариламидазы (аминопептидазы В) в сыворотке крови и содержание аргинина в плазме овец после применения тетрахлорметана	109
Мраз О.: Антигенные отношения между пастереллами и актинобациллами	121

CONTENTS

Hofírek B., Groch L.: The Frequency of Haemal Lymph Nodes and their Histological Changes in Healthy Cattle Herds and in Herds Suffering from Leucosis	65
Surynek J., Tomšík F.: Activity of Some Enzymes in the Blood Plasma of Foetuses and Cows in the Third Trimester of Pregnancy	75
Jurmanová K., Černá J., Jiránek E.: Findings of Mycoplasmas in the Ejaculates of Bulls from the Insemination Stations of the East-Bohemian Region	81
Habrda J., Malíková M., Bartoš J.: The Therapeutic Effectiveness of Reduced Doses of Neomycin, Furazolidon, and their Combinations in the Treatment of Diarrhoea in Calves	91
Zajíček D., Márová M., Zahradníková W., Ryšavý B.: Experimental Paramphistomatosis of Lambs	99
Hrivnák J., Bartík M., Šamo A., Šutiak V., Zwick K.: Activities of Leucylarylamidases and Lysylarylamidases (Aminopeptidases B) in the Blood Serum and the Arginine Content in the Blood Plasma of Sheep after the Application of Tetrachloromethane	109
Mráz O.: Antigenic Relations between Pasteurellae and Actinobacilli	121

INHALT

Hofírek B., Groch L.: Frequenz hämaler Lymphknoten und ihre histologische Veränderungen in gesunden und leukosen Rinderherden	65
Surynek J., Tomšík F.: Die Aktivität einiger Enzyme im Blutplasma von Föten und Kühen im dritten Trimester der Gravidität	75
Jurmanová K., Černá J., Jiránek E.: Befunde von Mykoplasmen in den Ejakulaten der Bullen aus den Besamungsstationen des Ostböhmisches Bezirkes	81
Habrda J., Malíková M., Bartoš J.: Heilwirkung verminderter Gaben von Neomycin, Furazolidon und ihrer Kombination gegen Durchfälle bei Kälbern	91
Zajíček D., Márová M., Zahradníková W., Ryšavý B.: Experimentelle Paramphistomatose der Lämmer	99
Hrivnák J., Bartík M., Šamo A., Šutiak V., Zwick K.: Aktivitäten der Leucylarylamidasen und Lysylarylamidasen (Aminopeptidasen B) im Blutserum und der Arginingehalt im Plasma der Schafe nach der Applikation von Tetrachlormethan	109
Mráz O.: Antigene Beziehungen zwischen Pasteurellen und Aktinobazillen	121