

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

11

ROČNÍK 24 (LII)
PRAHA
LISTOPAD 1979
CENA 10 Kčs



ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚĚLSTVÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí 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, doc. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Josef Raszyk, CSc., MVDr. Antonín Tesař, CSc., akademik Jaroslav Vrtiak, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc.

Redaktorka ing. Jovanka Václavíková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1979

■

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, Слезка 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.

CYTOGENETICKÁ ANALÝZA LYMFODINÝCH BUNIEK KRVI PRI LEUKÓZE HOVÄDZIEHO DOBYTKA

J. Staník, A. Ižariková

STANÍK, J. — IŽARIKOVÁ, A. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Cytogenetická analýza lymfoidných buniek krvi pri leukóze hovädzieho dobytká*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 641-647.

Pre cytogenetickú analýzu sme použili lymfocyty periférnej krvi od leukózných zvierat. Krv sme odobrali od leukóznej matky, jej 15-mesačnej leukóznej dcéry a zdravého otca dcéry (NAR-47). Diagnózu leukózy sme stanovili hematologickým vyšetrením. U matky sme vyhodnotili 139 metafázových platní, u dcéry 118 a u otca 132. Stanovili sme jednak normoploidiu, jednak chromozómové aberácie. U matky sme zistili 31,0 % chromozómových aberácií, u dcéry 32,3 % a u otca 37,2 %. Zlomky na X chromozómech sme zistili u matky (6,7 %) a u dcéry (1,7 %). Pozdĺžne rozchádzanie sa ramien v centromére na X chromozómech vo zvislej osi na dve samostatné ramená sme zistili u matky v 6,5 %, u dcéry v 5,9 % a u otca iba v 0,8 %.

chromozóm; karyotyp; hypoploidia; hyperploidia; delécia; aberácia

Intenzifikácia živočíšnej výroby, ktorá sa postupne realizuje vo veľkokapacitných formách aj v chove hovädzieho dobytká, si vyžaduje neustálu kontrolu zdravotného stavu stáda. Popri iných infekčných ochoreniach spôsobuje veľké ekonomické straty v živočíšnej výrobe aj chronické ochorenie krvotvorných orgánov — leukóza, a to najmä u importovaného čiernostrakatého nížinného dobytká. A práve minulý rok bol v znamení značných pokrokov v spoločnom boji členských štátov RVHP proti leukóze zvierat, zvlášť u hovädzieho dobytká a hydiny. Výsledky koordinovaného výskumu za obdobie 1971—1976 poukazujú na všeobecné zákonitosti zmien chromozómového systému, čím je umožnené hlbšie poznanie mechanizmu transformácie bunky normálnej a leukóznej; bol zistený účinok genetických faktorov pri vzniku a šírení leukóz hovädzieho dobytká.

Do súčasnej doby bol metodami populačnej genetiky zistený priamy vzťah medzi genotypom hovädzieho dobytká a jeho vnímavosťou k leukóze (Marschak a Duchter, 1965; Emeljanov a i., 1967; Glamba a i., 1970; Gehrke a Verter, 1968; Nachmansson a Laktionov, 1968; Semenichin, 1972; Ernst, 1973; Kostromitinov a i., 1975 — cit. Burba a i., 1978). Pojednanie o zmene krvného obrazu u potomkov kráv chorých na leukózu a pri juvenilnej leukóze uvádzajú Nikolic a Jovanovic (1969), Hugoson (1966), Vulinec a Herzeg (1973), Renner (1973 — cit. Burba a i., 1978), ktorí poukazujú na dedičnú podmienenosť pri vzniku leukózy u hovädzieho dobytká, pričom zdôrazňujú,

že sa dedí predispozícia, ktorá sa prejavuje v rozpätí dvoch, troch, štyroch pokolení (generácií).

Cytogenetické vyšetrenie prevádzali Gustavsson a Rockborn (1964) u kráv chorých na leukózu. U všetkých buniek zistili po 59 chromozómoch. V karyotype chorých kráv sa nachádzal nadpočetný submetacentrický chromozóm, ktorý vznikol pravdepodobne centrickým spojením dvoch akrocentrických chromozómov Robertsonovho typu: prvého a 29. páru chromozómov. Burba a i. (1978) študovali karyotypy leukózných zvierat získané z kostnej drene a zistili zmeny vyznačujúce sa značným znížením obsahu diploidných buniek a zvýšením množstva hypoploidných metafáz. Súčasné pozorovania v dynamike ukázali, že percento aneuploidných metafáz sa u teliat znižuje. Zvýšenie množstva hypoploidných buniek poukazuje na dedičnú patológiu mitózy v bunkách kostnej drene u potomkov, ako uvádza Alov (1965, 1972 – cit. Burba a i., 1978).

Birbin (1978) vyšetroval karyotypy leukózných zvierat získané z kostnej drene a z krvi. V kostnej dreni aberantné bunky chýbali, ale vyskytli sa v podstatne menšom počte v krvi, pri vyšetrení ktorej sa rysovali určité zákonitosti: u všetkých zvierat bola pozorovaná hyperploidia (85 až 99 %) a amplitúda hyperploidie kolísala od 61 do 78 chromozómov, pričom vedúcim bol klon obsahujúci 61 chromozómov.

Hyperploidiu pri leukóze hovädzieho dobytká registrovali Mutuzkin (1967) a Dun a i. (1975) – (cit. Birbin, 1978 a Burba, 1975). Všetky leukózne zvieratá mali v karyotype nadpočetný akrocentrický chromozóm. Taktiež Dun a i. (1975) zistili, že u 5,2 až 48,7 % vyšetrených buniek sa vyskytla hyperploidia o počte 61 až 76 chromozómov, 50 až 70 % aneuploidných buniek a hypoploidia o počte 58 až 59 chromozómov, ako aj morfológické zmeny chromozómov (2 až 55 %) ako: malý submetacentrický chromozóm, dlhý akrocentrický chromozóm (2 až 3 %), delécia, alebo celková strata krátkych ramien, pozdĺžne roztrhnutie jedného alebo oboch pohlavných X chromozómov v centromére (8,2 %).

Basrur a i. (1964), Chea a i. (1967) – (cit. Birbin, 1978) a tiež Gustavsson a Rockborn (1964) zistili určitú prestavbu chromozómov v bunkách krvi leukózných zvierat, ktorá sa prejavuje buď vytvorením metacentrických či submetacentrických chromozómov alebo stratou submetacentrického pohlavného chromozómu, podľa všetkého cestou jeho rozštiepenia na samostatné ramená.

Otázkou určenia dedičných faktorov v etiológii hovädzieho dobytká sa zaoberali Bublij a i. (1976).

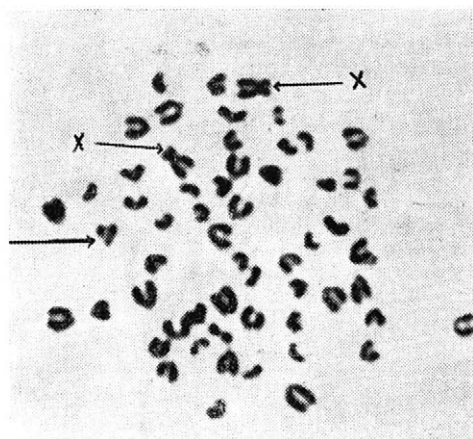
Dedičnosť pri vzniku leukózy u hovädzieho dobytká za použitia cytogenetických metód študovali Mutuzkin (1968), Nachmanson (1974), Dun a Golovčenko (1974), Burba (1975) a v karyotype leukózných zvierat zistili aneuploidiu a štrukturálne poruchy. Dedičné zmeny v sadách chromozómov sa niektorí autori snažia vysvetliť pôsobením infekčných a onkogénnych vírusov na chromozomálny aparát bunky (Nikols a Levan, 1965; Aila, 1965; Kerkis a i., 1967) – (cit. Birbin, 1978 a ďalší). Zákonité chromozomálne anomálie v lymfoidných bunkách krvi je možné považovať za dôkaz genetickej podmienenosti pri leukóze a karyotypickú analýzu anomálnych lymfoidných buniek krvi hovädzieho dobytká možno použiť ako jednu z metód štúdia genetického aspektu etiológie leukózy.

MATERIÁL A METÓDY

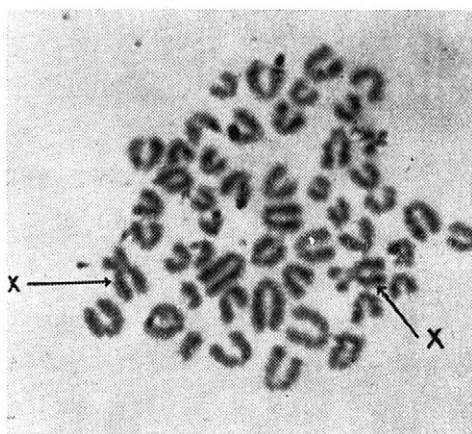
Na cytogenetickú analýzu lymfoidných buniek krvi pri leukóze hovädzieho dobytká sme použili karyotypy lymfocytov periférnej krvi od leukózných zvierat – matky, dcéry a zdravého otca. Diagnózu leukózy matky a dcéry sme stanovili na základe hematologického vyšetrenia.

Cytogeneticky sme vyšetrovali metódou Moorheada a i. (1960), ktorú modifikovali Lojda a i. (1971). Metafázové platne sme získali blokádou lymfoidných buniek C-metafázy v ich generačnom cykle v krátkodobej tkanivovej kultúre, čomu predchádzala stimulácia buniek s PHA. Pre vyhodnotenie chromozomálnej analýzy sme vyberali kvalitné platne hodnotené jednak mikroskopicky pri zväčšení 100 × 12, jednak z fotografií. Chromozómy sme počítali na čítacom dokumátore a fotografiách.

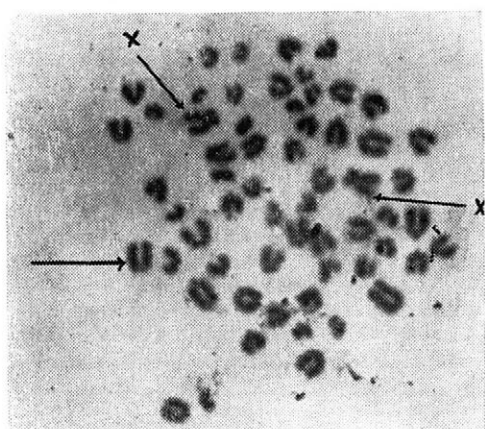
Z periférnej krvi matky bolo analyzovaných 139 metafázových platin pre hodnotenie.



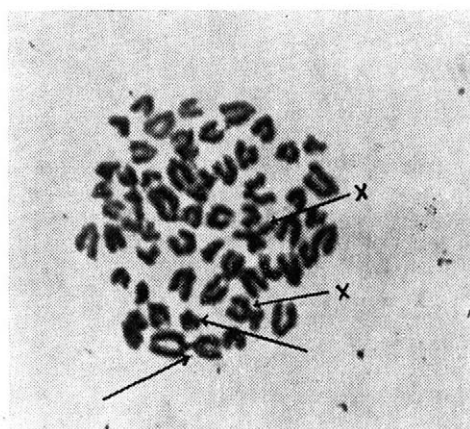
1. Leukózná matka ušné číslo 88563. Metafázová platňa s obojchromatídovým zlomom na chromozóme z oblasti 17. až 19. páru — A cow suffering from leucosis, ear mark no. 88563. A metaphase plate with a dichromatid break in the chromosome from the area of the 17th to 19th pair



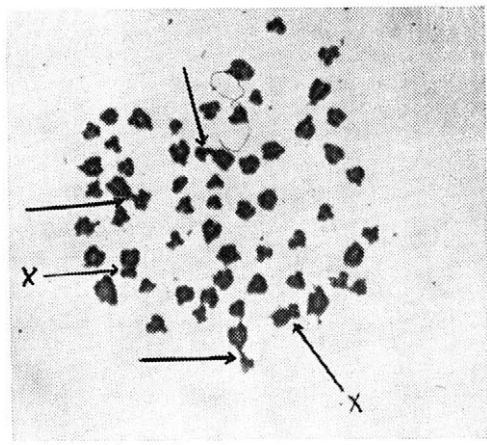
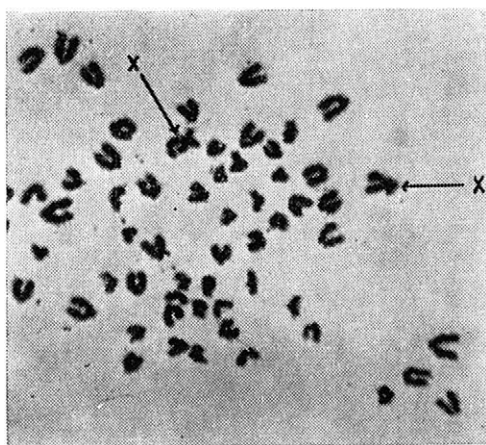
2. Leukózná matka ušné číslo 88563. Translokácia časti chromozómu na kratšie ramená X chromozómu — A cow suffering from leucosis, ear mark no. 88563. Translocation of a part of the chromosome to the shorter arms of the X chromosome



3. Leukózná matka ušné číslo 88563. Metafázová platňa so zlomom na chromozóme z oblasti druhého až tretieho páru — A cow suffering from leucosis, ear mark no. 88563. Metaphase plate with a break of the chromosome from the area of the 2nd to 3rd pair

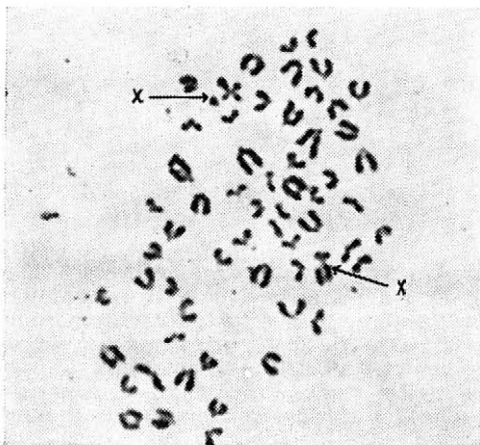


4. Leukózná matka ušné číslo 88563. Metafázová platňa s dvoma štrukturálnymi aberáciami: centrická fúza chromozómu z oblasti 25. až 27. páru a chromozómu 29. páru; asociácia chromozómu 1. páru a chromozómu z oblasti 4. až 6. páru — A cow suffering from leucosis, ear mark no. 88563. Metaphase plate with two structural aberrations: centric fusion of the chromosome from the area of the 25th to 27th pair and of the chromosome of the 29th pair; association of the chromosome of the 1st pair and the chromosome from the area of the 4th to 6th pair



5. Leukózná matka ušné číslo 88563. Metafázová platňa so zlomom na dlhšom ramene X chromozómu — A cow suffering from leucosis, ear mark no. 88563. Metaphase plate with a break of the longer arm of the X chromosome

6. Leukózná dcéra ušné číslo 00311. Metafázová platňa s tromi asociáciami: asociácia chromozómu 1. páru a chromozómu z oblasti 13. až 16. páru; asociácia chromozómu z oblasti 4. až 6. páru a 25. až 27. páru; asociácia chromozómu 2. páru a chromozómu z oblasti 18. až 20. páru — A daughter suffering from leucosis, ear mark no. 00311. Metaphase plate with three associations: association of the chromosome of the 1st pair with the chromosome of the area of the 13th to 16th pair; association of the chromosome from the area of the 4th to 6th pair and of the 25th to 27th pair; association of the chromosome of the 2nd pair and a chromosome of the area of the 18th to 20th pair



7. Leukózná dcéra č. 00311. Metafázová platňa so zlomami na oboch chromozómoch — na ich dlhších ramenách — A daughter suffering from leucosis, no. 00311. Metaphase plate with breaks in both chromosomes — at their longer arms

Od dcéry bolo vyšetrených 118 metafázových platní. Od otca dcéry (NAR-47) boli vyhodnotené 132 metafázové platne. Plemenník bol vyradený z inseminácie pre poruchu spermiogenézy.

Všetky vyšetrené zvieratá boli čiernostrakatého plemena.

Výsledky sú zhrnuté v tab. I; uvádzame aj niekoľko pozoruhodných aberácií na fotografiách (obr. 1-7).

VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUSIA

U všetkých troch vyšetrených zvierat (tab. I) sme zistili chromozómové aberácie od 31,0 do 37,2 %; z nich hyperploidia činí u matky 2,9 %, u dcéry 1,7 %, polyzómia u otca 3,8 %, u dcéry 0,72 % a hypozómia je u všetkých troch zvierat približne rovnaká a pohybuje sa od 12,2 % do 19,7 %. Zvýšené množstvo hyperploidných buniek zistil

I. Cytogenetický rozbor mitóz hodnotených zvierat u čiernostrakatého nížinného plemena — Cytogenetic analysis of mitoses of the evaluated animals of the black-pied lowland breed

Cytogenetický nález	Otec: NAR-47		Matka: 88563		Dcéra: 00311	
Počet hodnotených mitóz	132		139		118	
	počet	%	počet	%	počet	%
Normoploidia	31	23,5	11	7,9	11	9,3
Chromozómové aberácie	41	31,0	45	32,3	44	37,2
Hyperploidia	—	—	4	2,9	2	1,7
Polyzómia	5	3,8	1	0,7	—	—
Hypozómia	26	19,7	17	12,2	23	19,5
Zlomy na chromozóme	6	4,5	12	8,6	5	4,2
Obojchromatídové zlomy	1	0,8	4	2,9	3	2,5
Zlomy na X chromozóme	—	—	1	0,7	2	1,7
Delécia	1	0,8	—	—	—	—
Asociácia	1	0,8	6	4,3	14	11,9
Dicentrik	1	0,8	—	—	—	—
Fúza	—	—	2	1,4	—	—
Translokácia	—	—	1	0,7	—	—
Prstencový chromozóm	—	—	—	—	3	2,5
Pozdĺžne rozchádzanie X chromozómu	1	0,8	9	6,5	7	5,9

Alov [1965, 1972 — cit. Burba a i., 1978], ktorý uvažuje o možnosti vzniku defektov formovania mitotického aparátu bunky. V konečnom dôsledku sa v organizme nachádzajú bunky s nekompletným súborom chromozómov. Zvýšené množstvo hypoploidných buniek zistených aj u potomkov leukózných kráv svedčí o dedičnej patológii mitózy. Zlomy na chromozómoch sú najvyššie u matky — 8,6 %, nižšie u otca — 4,5 % a u dcéry — 4,2 %. Asociácie dvoch akrocentrických chromozómov sa vyskytli u dcéry na 11,9 %, u matky 4,3 % a u otca 0,8 %; na jednu metafázovú platňu pripadli niekedy tri, inokedy až štyri asociácie. Počet chromozómov v týchto karyotypoch v dôsledku toho klesol odpovedajúco na 54,XX a na 52,XY s výskytom troch a štyroch submetacentrických a metacentrických chromozómov pozostávajúcich z chýbajúcich akrocentrických chromozómov.

V karyotype otca sa vyskytli ojedinelé delécie [0,8 %] a dicentrik [0,8 %], u matky zlom na X pohlavnom chromozóme [0,7 %] a centrická fúza [1,4 %], u dcéry tiež zlom na X pohlavnom chromozóme [1,7 %] a prstencový chromozóm [2,5 %].

Zvláštnu skupinu tvoria aberácie, týkajúce sa celistvosti pohlavných chromozómov, ktoré boli zistené prevažne u matky [6,5 %] a dcéry [5,9 %]. Ide o rozchádzanie sa ramien X chromozómu v centromére vo zvislej osi na dve samostatné ramená. U otca sa tento úkaz vyskytol iba jedenkrát [0,8 %].

Takéto prestavby zistili Birbin (1975), Gustavsson a Rockborn (1964), Basrur a i. (1964 — cit. Birbin, 1978), Chea a i. (1967 — cit. Birbin, 1978), Dun a i. (1975) a iní (tab. I a obr. 1—7).

Záverom možno povedať, že tieto cytogenetické zmeny u leukózných zvierat svedčia o dedičnej predispozícii leukózy u hovädzieho dobytká.

Aj keď sa niektorí autori snažia zákonitú dedičnú zmenu v sadách chromozómov pri leukóze hovädzieho dobytká vysvetliť pôsobením infekčných a onkogénnych vírusov (Nikols a Leva, 1965; Kerkis a i., 1967 — cit. Birbin, 1978 a iní), nemôžeme poprieť genetickú podmienenosť chromozomálnych anomálií v lymfoidných bunkách krvi. Preto ju môžeme použiť ako jednu z metód štúdia genetického aspektu etiológie leukózy.

Literatúra

BIRBIN, S. S.: Citogenetickij analiz kletok lejkopoeza pri lejkoze krupnogo rogatogo skota. Veterinarija, 12, 1975, s. 37-42.

BIRBIN, S. S.: Kariologičeskij analiz limfoidnych kletok krovi v izučenii etiologii lejkoza. Veterinarija, 5, 1978, s. 37-40.

BUBLIJ, A. F. — CHAVRUK, A. F. — KUC, P. I. — ARKUŠA, N. S. — DURANIČEV, N. A. — SMETANINA, G. K.: Roľ nasledstvennych faktorov v rozprostranení lejkoza krupnogo rogatogo skota. Veterinarija, 2, 1976, s. 49-56.

BURBA, L. G.: Informacija o konferencii: „Aktualnyje voprosy issledovanij po genetika lejkozov životnyh“. Veterinaria, 2, 1975, s. 122.

BURBA, L. G. — DUN, E. A. — SIMOŇAN, G. A.: Izmenenije v kariotipe kletok kostnogo mozga molodňaka ot korov boľnyh lejkozom. Veterinarija, 3, 1979, s. 43-46.

DUN, E. A. — GOLOVČENKO, A. P.: Issledovanija chromosom v limfocitach krupnogo rogatogo skota pri lejkoze. Bjul. Vses. inst. eksp. vet., 17, 1974, s. 32.

DUN, E. A. — GOLOVČENKO, A. P. — NALETOVA, L. V.: Chromosomnyje nabory kletok krovjetvornych organov pri lejkoze. Veterinarija, 1, 1975, s. 35-38.

GUSTAVSSON, I. — ROCKBORN, G.: Nature, 203, 1964, s. 990.

LOJDA, L. — ŠTAVÍKOVÁ, M. a kol.: Cytogenetické studie u zvířat s porušeným zdravím. [Závěrečná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1974.

MOORHEAD, P. S. — NOWELL, P. C. — MELMANN, W. J. et al.: Chromosome preparation of leukocytes cultured from peripheral blood. Expl Cell Res., 20, 1960, s. 613-616.

MUTUZKIN, L. I.: Chromosomnaja i citologičeskaja charakteristika kostnogo mozga pri lejkozach i nekotoryh drugih zaboľevanijach krupnogo rogatogo skota. Bjul. Vses. inst. eksp. vet., 5, 1968, s. 31.

NACHMANSON, B. M.: K epizootologii lejkoza krupnogo rogatogo skota. Bjul. Vses. Inst. eksp. vet., 17, 1974, s. 117.

Došlo dňa 22. 3. 1979

СТАНИК, Й. — ИЖАРИКОВА, А. (Институт экспериментальной ветеринарии, Кошице): Цитогенетический анализ лимфоидных клеток крови при лейкозе крупного рогатого скота. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 641-647.

Для цитогенетического анализа применяли лимфоциты периферийной крови, взятой у лейкозных животных: матки, ее 15-месячной лейкозной дочери и у здорового отца дочери (NAR-47). Диагноз лейкоза получен в результате гематологического исследования. У матери установлено 139 метафазных пластинок, у дочери 118, а у отца 132. Определяли как нормоплоидность, так и хромосомные aberrации. У матери установлено 31,0% aberrаций, у дочери 32,3%, у отца 37,2%. Изломы на X хромосомах установлены у матери (6,7%) и дочери (1,7%). Продольное разделение ветвей в центромере на X хромосомах в перпендикулярной осе две стелельные ветви установлено у матери в размере 6,5%, у дочери — 5,9% и отца — 0,8%.

хромозом; кариотип; гипоплоидия; гиперплоидия; делеция; aberrация

STANÍK, J. — IŽARIKOVÁ, A. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Cytogenetic Analysis of Lymphoid Blood Cells in the Course of Bovine Leucosis*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 641-647.

For the cytogenetic analysis lymphocytes of the peripheral blood were used that had been obtained from cows suffering from leucosis. The blood was taken from a diseased cow, from its 15 months old daughter suffering from leucosis, and from the healthy bull-father (NAR-47). The diagnosis of leucosis was determined by means of hematological examination. In the cow 139 metaphase plates were evaluated, in the daughter 118, and in the bull 132. On the one hand, normoploidy was determined and on the other hand, chromosome aberrations. In the cow 31.0 p. c. of chromosome aberrations were found, in the daughter 32.3 p. c., and in the bull 37.2 p. c. Breaks in X chromosomes were found in the cow (6.7 p. c.) and in the daughter (1.7 p. c.). Longitudinal diversion of arms in the centromere in X chromosomes in the vertical axis into two separate arms was found in the cow amounting to 6.5 p. c., in the daughter to 5.9 p. c., and in the bull to only 0.8 p. c.

chromosome; karyotype; hypoploidy; deletion; aberration

STANÍK, J. — IŽARIKOVÁ, A. (Institut für experimentale Veterinärmedizin, Košice): *Zytogenetische Analyse der lymphoiden Blutzellen bei der Leukose des Rindviehs*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 641-647.

Für die zytogenetische Analyse verwendeten wir die Lymphozyten des peripheren Blutes von den Leukosetieren. Das Blut entnahmen wir vom leukosen Muttertier, von dem 15-monatigen leukosen Tochttertier und vom gesunden Vatertier der Tochter (NAR-47). Die Leukosediagnose wurde anhand einer hämopathologischen Untersuchung festgelegt. Beim Muttertier werteten wir 139 Metaphase-Platten, bei der Tochter 118 und beim Vatertier 132 aus. Wir legten einerseits die Normoploidie und andererseits die Chromosomenaberrationen fest. Beim Muttertier stellten wir 31,0% der Chromosomenaberrationen, bei der Tochter 32,3% und beim Vatertier 37,2% fest. Die Brüche der X-Chromosomen stellten wir beim Muttertier (6,7%) und bei der Tochter (1,7%) fest. Längliche Trennung der Achsen in der Zentromere auf den X-Chromosomen in der vertikalen Achse auf zwei selbständige Achsen wurden beim Muttertier mit 6,5%, bei der Tochter mit 5,9% und beim Vatertier nur mit 0,8% festgestellt.

Chromosom; Karyotyp; Hypoploidie; Hyperploidie; Delezie; Aberation

Adresa autorov:

MVDr. ing. Ján Staník, CSc., prom. biológ Anna Ižariková, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Škultétyho 3, 040 00 Košice

POKYNY PRO AUTORY VĚDECKÉHO ČASOPISU VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní práce, recenze apod.

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být připojen souhlas vedoucího pracoviště s publikací článku a prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění prací rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě prací.

RUKOPISY MUSÍ VYHOVOVAT TĚMTO PODMÍNKÁM:

1. Úprava rukopisu musí odpovídat ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádek, mezi řádky dvojité mezery). Obrázky se označují arabskými číslicemi a texty k nim jsou na zvláštním listě. Tabulky se číslují římskými číslicemi a jsou také na zvláštních listech.

2. Rukopis původní práce má zpravidla tyto části:

- a) **Název práce** — výstižný a stručný (nemá přesahovat 85 úhozů)
- b) **Jména autorů** — bez titulu, se zkratkou křestního jména
- c) **Pracoviště** — plný úřední název se sídelním městem
- d) **Souhrn** — má vystihovat jen to nové a podstatné, co práce přináší. Nemá překročit rozsah 10 řádků
- e) **Klíčová slova** — připojí se po vynechání řádku pod souhrn. Klíčovým slovem rozumíme substantivum, které je nezbytné pro věcné zařazení práce. Klíčových slov by nemělo být méně než 3 a více než 12. Začínají malým písmem a oddělují se středníkem
- f) **Úvodní stať** — krátké odůvodnění práce a stav studované otázky
- g) **Materiál a metody** — metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní; popis metody by měl umožnit, aby se podle něho mohl používaný pracovní postup opakovat
- h) **Výsledky** — uvádějí se pouze skutečné nálezy a zjištění
- i) **Diskuse** — zhodnocení zjištěných výsledků, konfrontace s výsledky dříve publikovanými
- j) **Literatura** — musí odpovídat ČSN 01 0197. Odkazy na literaturu v textu jsou uvedeny jménem autora
- k) **Adresa autora (autorů)** — uvádí se plné jméno, akademické, vědecké a pedagogické tituly, jakož i podrobná adresa pracoviště s PSC

L. Němeček, J. Kursá, K. Blažek, J. Schramlová, B. Vostoupal

NĚMEČEK, L. — KURSA, J. — BLAŽEK, K. — SCHRAMLOVÁ, J. — VOSTOUPAL, B. (Vysoká škola veterinární, Brno; Vysoká škola zemědělská, Praha, fakulta provozně ekonomická, České Budějovice; Parazitologický ústav ČSAV, Praha; Státní veterinární ústav, veterinární nemocnice, České Budějovice): *Použití EKG vyšetření při cysticerkóze skotu*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 649-655.

U dvou telat s masivní cysticerkózou a u jednoho kontrolního zdravého telete jsme použili elektrokardiografické vyšetřovací metody ke zpřesnění klinického nálezu. Vyšetřovali jsme 75. den po experimentální invazi. Jednorázově snímané elektrokardiografické záznamy nepodaly charakteristické znaky, které by svědčily pro poškození vodivého systému srdce. U obou nakažených telat jsme však zjistili snížení tepové frekvence a u jednoho z nich také oploštění a změnu polaritu vlny T. Při pitvě a histologickém vyšetření srdce nakažených telat za 111 dní a 250 dní po invazi jsme zjistili napadení srdečního svalu cysticerky a rozptýlenou chronickou myokarditidu. Z tohoto zjištění a ze sledování dynamiky patologických změn při cysticerkóze u jiných experimentálních zvířat lze usuzovat, že v době elektrokardiografického vyšetření šlo o cysticerkózní myokarditidu v klidovém stadiu.

cysticerkóza; EKG; skot

Neustálý rozvoj elektrokardiografie v humánní medicíně, především její dominantní postavení při zjišťování arytmií srdeční činnosti nebo poškození myokardu, nezůstává bez vlivu na veterinární lékařství. I v tomto vědním oboru začíná elektrokardiografie nabývat na významu, především zásluhou vhodných přístrojů k registraci časového průběhu napětí vzniklého činnostními proudy srdce. Přesto se tato metoda zatím používá převážně jen v experimentálních podmínkách a dosud jenom zřídka jako doplňující vyšetřovací metoda klinických a jiných nálezů.

Zatímco v monografiích jsou popisovány elektrokardiografické obrazy při parazitárním onemocnění u psů — při dirofilarióze (Ettinger a Suter, 1970; Bolton, 1975), nenašli jsme v dostupné literatuře prameny, v nichž by bylo použito EKG vyšetření při parazitárním onemocnění u skotu. Vyšetřováním jsme sledovali možnost, jak využít získané výsledky k prohloubení intravitálního zjišťování lází při cysticerkóze skotu. Vyšetření bylo součástí komplexního studia experimentální cysticerkózy, zaměřeného především na objasnění některých základních otázek patologie a imunologie při této parazitóze, jejíž problematika se v současné době i v našich podmínkách aktualizuje.

Pokusná telata plemene české strakaté, samčího pohlaví, byla asi čtyři měsíce stará a vážila od 120 do 140 kg. Byla vybrána v zemědělském podniku prostém cysticerkozy a jejich negativita byla ověřena sérologickým vyšetřením. Telata byla přemístěna do veterinární nemocnice v Českých Budějovicích a umístěna v izolované stáji. Po osmidenácti pozorovací době byla dvě telata (č. 2 a 5) nakažena onkosférami tasemnice bezbranné (*Taeniarhynchus saginatus*). Teleti č. 2 bylo podáno 200 000, teleti č. 5 85 000 onkosfér v želatinových kapslích podavačem *per os*. Třetí tele (č. 6) bylo kontrolní a nebylo invadováno. Zdravotní stav telat jsme v pokusném období sledovali pravidelně klinickým vyšetřením a periodicky jsme dělali hematologické vyšetření, biochemické vyšetření krevního séra a sérologické vyšetření ke zjištění protilátek proti *C. bovis*. Výsledky těchto sledování jsou předmětem samostatného sdělení (Blažek aj., v tisku).

Elektrokardiografické křivky u dvou telat 75. den po experimentální invazi *C. bovis* a u jednoho zdravého telete, které bylo použito jako kontrolní, jsme registrovali přenosným elektrokardiografem UNICARD s teplocitlivým zápisem. Použili jsme konvenčně užívanou velikost cejchu v kalibraci $1\text{mV} = 10\text{ mm}$ a rychlost posunu registračního papíru 25 mm s^{-1} . Potenciály jsme snímali jehlovými elektrodami ze svodných míst na trupu zvířete. Po připojení patientských kabelů elektrokardiografu k jehlovým elektrodám jsme postupně zapisovali tři bipolární svody:

svod I.: krajina hrotu srdečního — krajina předlopatková vpravo,

svod II.: krajina hrotu srdečního — krajina hřbetu,

svod III.: krajina předlopatková vpravo — krajina hřbetu.

Při analýze záznamů jsme postupovali podle běžné doporučených návodů (Herles, 1954; Šanda aj., 1965; Sova, 1975).

U jednoho telete (č. 2) jsme 63. den po invazi udělali biopsii žvýkáčeho svalu; tele bylo poraženo za 250 dní po invazi, protože bylo určeno pro dlouhodobé sledování sérologických reakcí. Dvě telata (č. 5 a 6) byla poražena za 111 dní po invazi. Srdce a ostatní orgány jsme histologicky vyšetřili podle běžných histologických metodik.

VÝSLEDKY

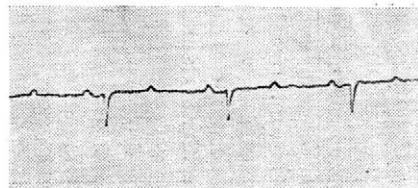
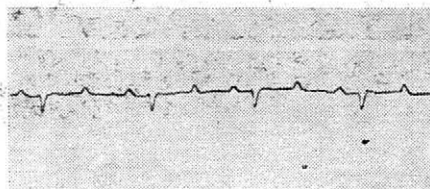
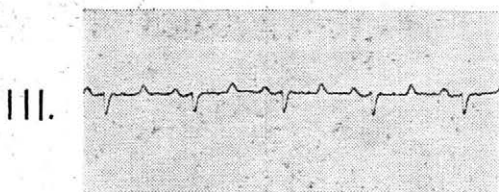
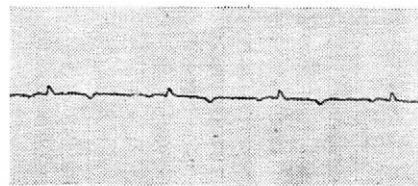
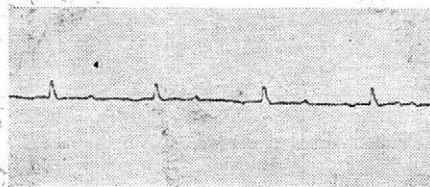
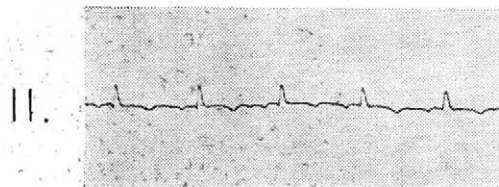
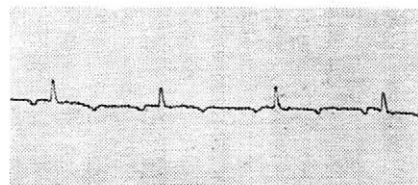
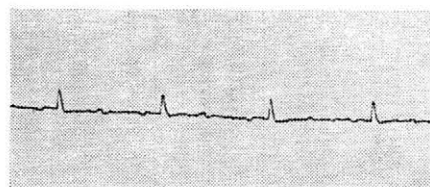
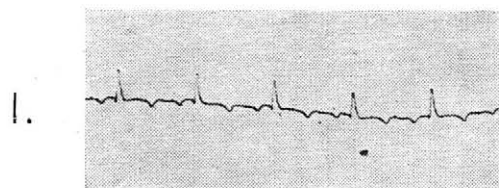
Klinicky se u obou nakažených telat invaze projevila kolísavým zvýšením rektální teploty mezi 15. až 24. dnem (č. 2) a mezi 20. až 26. dnem po invazi (č. 5) s maximem vzestupu 20., resp. 23. den po invazi ($40,5^{\circ}\text{C}$, $41,0^{\circ}\text{C}$). U obou telat byly zaznamenány lokomoční poruchy, třes a bolestivost svalstva, a to od 20. dne po invazi. Lokomoční poruchy odeznívaly pomalu a vymizely teprve kolem 50. až 60. dne. U obou vyšetřovaných telat jsme mezi 14. až 27. dnem *p. i.* zaznamenali výrazné zvýšení aktivity sérové fosfokinázy (SCPK). Kontrolní tele bylo v celém pozorovacím období bez klinických příznaků onemocnění, zjišťované hodnoty triasu a biochemického vyšetření byly ve fyziologickém rozmezí.

Jak u kontrolního telete, tak u nakažených zvířat jsme při EKG vyšetření 75. den po invazi zapisovali sinusový rytmus s nevýrazným kolísáním R-R intervalů. Tepová frekvence, určená z délky R-R intervalů, byla u zdravého telete 100 akcí za minutu, u nemocného telete č. 2 až 76 úderů za minutu a u telete č. 5 až 70 za minutu. Časové úseky EKG křivek všech telat byly v udávaných hodnotách. Při analýze velikosti, směru a tvaru složek síňového a komorového souboru jsme u kontrolního telete a u telete č. 5 nezaznamenali odchylky. U pokusného telete č. 2 měla vlna T v I. a II. svodu velmi nízkou amplitudu a pozi-

A

B

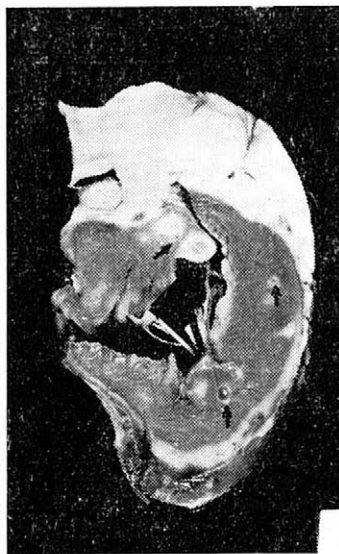
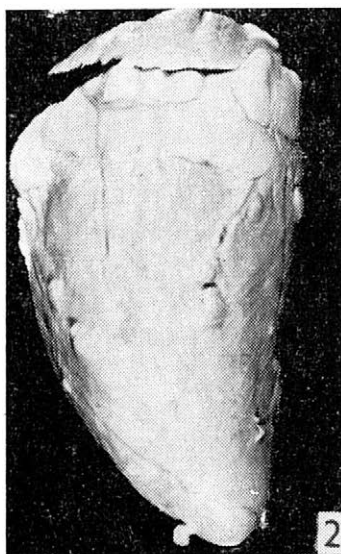
C



1. EKG křivky z I., II. a III. bipolárního svodu z trupu kontrolního telete (A), nemocného telete č. 2 (B) a nemocného telete č. 5 (C): rytmus sinusový, akce mírně nepravidelná, u telete č. 2 (B) vlna T_I a T_{II} pozitivní — ECG curves from the 1st, 2nd and 3rd bipolar lead from the body of the control calf (A), of the diseased calf no. 2 (B), and of the diseased calf no. 5 (C): the sinus rhythm, a slightly irregular action, in calf no. 2 (B) wave T_I and T_{II} positive

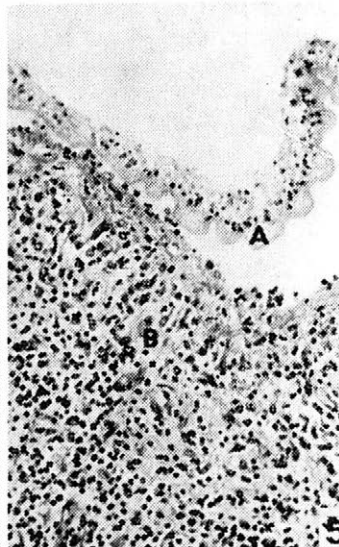
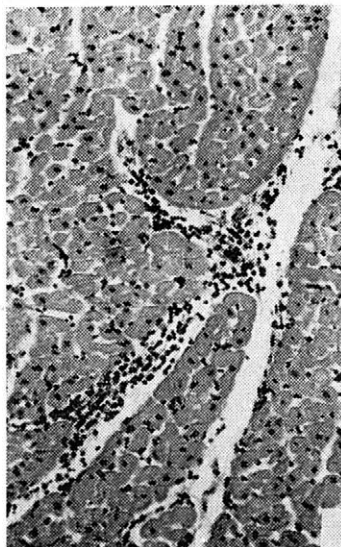
tivní směr (obr. 1), P-Q segment i S-T úsek probíhaly v izoelektrické linii.

Při biopsii žvýkáciho svalu u telete č. 2 jsme 63. den po invazi v excizi našli šest cyst s vyvinutými cysticerky, s poměrně slabou a jen sektorovou granulomatózní zánětlivou reakcí na obvodu stěny cysty. Sérologické vyšetření v té době prokázalo zvýšený titr protilátek. Při pitvě 250 dní p. i. jsme u tohoto telete našli v srdeční svalovině několik tuhých šedobílých ložisek velikosti broku, ojedinělá drobnější šedavá ložiska a dvě cysty s vitálními cysticerky na úponu šlašin. Histologicky šlo o chronickou, zčásti granulomatózní myokarditidu ložiskového charakteru. Také tele č. 5 bylo sérologicky pozitivní a při porážce za 111 dní po invazi jsme zjistili masivní cysticerkózu s výrazným postižením srdce. Cysticerky zde byly lokalizovány v hloubce svaloviny komor



2. Povrch srdce s cysticerky vyklenujícími epikard — Surface of the heart with cysticerci vaulting the epicardium

3. Řez srdcem napadeným cysticerky (šipky) 111 dní po invazi — Cross-section of the heart infected with cysticerci (arrows) 111 days after infection



4. Srdce, histologický řez. Lehká lymfocytární infiltrace intersticia ve vzdáleném okolí cysticerků — The heart, a histological section. Light lymphocytic infiltration of the interstitium in the distant environment of the cysticerci

5. Histologický řez částí cysty: A — stěna měchýřku cysticerk, B — granulomatózní reakce ve stěně cysty — A histological section of a part of the cyst: A — the wall of the cysticercus sac, B — the granulomatous reaction in the cyst wall

a předsíní, v mezikomorové přepážce a některé subepikardiálně a sub-endokardiálně. Přibližně 3/4 z nalezených cysticerků byly odumřelé, v regresi. V okolí vitálních cysticerků byla u obou telat sektorová granulomatózní reakce. Ve vzdálenějším okolí jsme nacházeli roztroušená ložiska lymfocytů, histocytů a někdy i eozinofilů (obr. 2, 3, 4 a 5).

DISKUSE

Z výsledků klinického vyšetření telat je pozoruhodný vzestup tělesné teploty, výrazné lokomoční poruchy a signifikantní elevace CPK ve třetím a čtvrtém týdnu po invazi. Tyto příznaky jsou v souvislosti s multifokální nekrózou kosterní a zčásti i srdeční svaloviny v časném období masivní cysticerkózy. Později tyto příznaky odeznívají.

V době EKG vyšetření šlo již o klidové stadium cyst, při kterém jsou cysticerky morfologicky diferencované a zánětlivá reakce srdce, vyvolaná přítomností cysticerků, je ložisková. To dokládá biopsie žvýkačického svalu, provedená krátce před EKG vyšetřením, a naše zkušenosti ze sledování dynamiky patologických změn při experimentální cysticerkóze (Blažek a Schramlová, 1979; Blažek aj., 1979a, b). Zvířata, která byla vyšetřena EKG, nebylo možné po vyšetření utratit, což by bylo účelné pro konfrontaci výsledků elektrokardiogramu s patologickým nálezem na srdci. Byla určena pro sledování jiného okruhu otázek.

Elektrokardiografické záznamy, získané ze tří bipolárních svodů s povrchu těla telat experimentálně nakažených onkosférami tasemnice bezbranné, nepodávají závažné nálezy, které by svědčily pro značné poškození jednotlivých úseků srdce, přestože tento orgán byl při pitvě 36 a 175 dní po EKG vyšetření napaden cysticerkou a histologicky byla zjištěna chronická zánětlivá reakce. U obou nemocných zvířat v porovnání s kontrolním teletem jsme zaznamenali bradykardii, kterou při myokarditidě udávají Šanda aj. (1965). Další znaky svědčící pro zánětlivé změny v myokardu — snížení voltáže vlny T a změnu v její polaritě — jak jsou citovány Herlesem (1954), Šandou aj. (1965) a Sovou (1975) — jsme zjistili pouze u jednoho telete s invazí 200 000 onkosfér, zatímco u druhého nemocného zvířete s invazí 85 000 onkosfér tyto znaky chybí. Snad by byly změny elektrokardiogramu výraznější v období časně fáze invaze, kdy dochází k destrukci srdečních vláken a k difúzní zánětlivé reakci. K přesné interpretaci výsledků by asi bylo nutné snímat elektrokardiogramy nikoli jednorázově, ale průběžně.

Literatura

- BLAŽEK, K. — SCHRAMLOVÁ, J.: Patologie svalové a viscerální cysticerkózy skotu. In: Sborník Celostátního sjezdu Společnosti patologů J. Ev. Purkyně, Košice, 1979. V tisku.
- BLAŽEK, K. — ŠVEC, M. — SCHRAMLOVÁ, J. — KURSA, J.: Průkaz buněčné přecitlivělosti při cysticerkóze skotu pomocí migračně inhibičního testu. Folia parasitol., Praha, 1979a, v tisku.
- BLAŽEK, K. — UHLÍKOVÁ, M. — HÜBNER, J. — SCHRAMLOVÁ, J. — KURSA, J.: Orgánové reakce a protilátková odpověď při experimentální cysticerkóze skotu. V tisku.
- BOLTON, G. R.: Handbook of canine electrocardiography. 1. vyd. Philadelphia — London — Toronto, W. B. Saunders Co. 1975. 370 s.

ETTINGER, S. J. — SUTER, P. F.: Canine Cardiology. 1. vyd. Philadelphia, W. B. Saunders Co. 1970. 630 s.
HERLES, F.: Základy elektrokardiografie. 3. vyd. Praha, St. zdrav. nakl. 1954. 308 s.
SOVA, J.: EKG a jiné grafické metody v kardiologické praxi. 1. vyd. Praha, Avicenum, Zdrav. nakl. 1975. 303 s.
SANDA, Z. — VIŽDA, J. — PIDRMAN, V. — ŘEZÁČ, V.: Elektrokardiografické praktikum. 3. vyd. Praha, St. pedagog. nakl. 1965. 67 s.

Došlo dne 21. 2. 1979

HEMEČEK, L. — KURSA, J. — BLAŽEK, K. — ŠPRAMLOVÁ, J. — VOSTOUPAL, B.: (Institut veterinární, Brno; Selskochozíjstvennýj institut, Praha, proizvodstvenno-ekonomickýj fakultet, Česke Budějovice; Institut parazitologii AN ČSSR, Praha; Gosudarstvennýj institut veterinární, veterinární bolnišnica, Česke Budějovice): EKG issledovanie pri cisticercokse krupnogo rohatogo skota. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 649-655.

У двух телят с массивным цистицеркозом и у одного контрольного здорового теленка был применен электрокардиографический метод исследования для уточнения клинической картины. Исследование имело место на 75-й день после экспериментальной инвазии. Разово заснятые электрокардиографические записи не предоставили характерных признаков, свидетельствующих о повреждении проводящей системы сердца. Но у обоих зараженных телят отмечено сокращение частоты пульса, а у одного из них также сплюснутость и изменения полярности волны Т. Вскрытие и гистологическое исследование сердца больных телят показали спустя 111 и 250 дней после инвадирования поражение сердечной мышцы кистицерками и дисперсионным хроническим миокардитом. Как эти данные, так и изучение динамики патологических изменений при цистицеркозе у других экспериментальных животных показывают наличие миокардита в стадии покоя во время кардиографического исследования.

цистицеркоз; EKG; крупный рогатый скот

NĚMEČEK, L. — KURSA, J. — BLAŽEK, K. — ŠCHRAMLOVÁ, J. — VOSTOUPAL, B. (University of Veterinary Medicine, Brno; University of Agriculture, Praha, Faculty of Economics and Management, České Budějovice; Parasitological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha; State Veterinary Institute, Veterinary Hospital, České Budějovice): ECG Examination of Bovine Cysticercosis. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 649-655.

In two calves with massive cysticercosis and one healthy control calf the method of electrocardiographic examination was applied to a preciser determination of the clinical finding. The examination was performed on the 75th day after the experimental infection. Singly recorded electrocardiographic findings provided no characteristic symptoms indicating an injury of the conductive system of the heart. However, in both infected calves a lowering of the pulse frequency was found and in one of them also a flattening and a change of the polarity of the T wave. Autopsy and histological examination of the heart of the infected calves performed 111 days and 250 days after the infection revealed an attacking of the cardiac muscle by cysticerci and dispersed chronic myocarditis. This finding and the investigated dynamics of pathological changes in the course of cysticercosis in other experimental animals indicate that at the time of the electrocardiographic examination cysticercoid myocarditis at a stage of rest was recorded.

cysticercosis; ECG; cattle

NĚMEČEK, L. — KURSA, J. — BLAŽEK, K. — ŠCHRAMLOVÁ, J. — VOSTOUPAL, B. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno; Hochschule für Landwirtschaft, Praha, Betriebs-ökonomische Fakultät, České Budějovice; Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha; Staatliches Veterinärinstitut, Veterinärkrankenhaus, České Budějovice): Verwendung der EKG-Untersuchung bei der Zystizerkose des Rindes. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 649-655.

Bei zwei Kälbern mit massiver Zystizerkose und bei einem gesunden Kontrollkalb verwendeten wir die elektrokardiographische Untersuchungsmethode zur Präzisierung des klinischen Befundes. Wir untersuchten am 75. Tag nach der Experimentalinvasion. Die einmalig aufgenommenen elektrokardiographischen Aufnahmen bewiesen keine charakteristischen Merkmale, die auf die Zerstörung des leitfähigen Systems des Herzens hinweisen. Bei beiden angesteckten Kälbern stellten wir jedoch eine Senkung der Pulsfrequenz und bei einem von diesen auch eine Abflachung und Veränderung der Polarität der T-Welle fest. Bei der Obduktion und bei der histologischen Untersuchung des Herzens der angesteckten Kälber in 111 und 250 Tagen nach der Invasion stellten wir einen Befall des Herzmuskels mit der Zystizerkose und eine zerstreute chronische Myokarditis fest. Aus dieser Feststellung und aus der Untersuchung der Dynamik der pathologischen Veränderungen bei der Zystizerkose bei anderen Experimentaltieren kann man die Schlußfolgerung ziehen, daß es sich zur Zeit der elektrokardiographischen Untersuchung um eine zystizerkose Myokarditis im Ruhestadium handelte.

Zystizerkose; EKG; Rind

Adresa autorů:

MVDr. Ladislav Němeček, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. Jaroslav Kurša, CSc., Vysoká škola zemědělská, Sinkuleho 5, 370 05 České Budějovice

Doc. dr. Karel Blažek, CSc., RNDr. J. Schramlová, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Flemingovo nám. 2, 166 32 Praha 6

MVDr. B. Vostoupal, Státní veterinární ústav, Třída míru 79, 370 00 České Budějovice

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

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

GIESECKE, W. H.

D 53.407/151

Bovine mastitis.

Private Bag, Pretoria Division of agric. information 1979. 37 s., 27 obr. Technical communication 151. (Mastitida — skot — diagnóza / Skot — nemoci — mastitida — prevence a léčení)

D 68.906

Die Mastitis des Rindes — Prädisposition und Prophylaxe und spezifische Probleme aus der Kälberhaltung. Tagung der Fachgruppe Rinderkrankheiten am 15./16. Febr. 1977 in Berlin.

Berlin, Deutsche veterinärmediz. Gesellschaft e. V. (1979). 108 s., tab., grafy. (Berlín — konference veterinární — 1977 — sborník / Mastitida — skot — sborník — NSR / Telata — nemoci — ochrana — sborník — NSR)

KOVÁCS, J.

E 39.432

Védekezés a tőgygyulladások ellen.

Budapest, Mezőgazdasági és élelmészügyi min. 1977. 26 s. (Mastitida — skot — ochrana a léčení)

C 4.159/1596

Mastitis control.

Ottawa, Canada Depart. of agric. 1978. 8 s. Publication 1596. (Dojnice — nemoci — mastitida / Mastitida — dojnice — ekonomické otázky)

OLSON, P. D. — GIBSON, G. W.

C 17.554/388

MMA (Mastitis — Metritis — Agalactia) syndrome in sows.

Moscow (Idaho), USDA 1977. 2 s. Current information series 388. (Mastitida — prasnice — léčení a prevence / Metritida — prasnice — léčení a prevence / Agalakcie — prasnice — léčení a prevence)

D 68.337

Bolezni ovec. (Na kazachskom jazyke).

Almaty, Kajnar 1977. 286 s. (Ovce — nemoci — příručka)

VYUŽITÍ BARVICÍ METODY SUDANOVOU ČERNÍ B U GRANULOCYTŮ A MONOCYTŮ SKOTU PRO DIAGNOSTIKU LEUKÓZ

R. Rademacher, J. Vaňásek, D. Sodomková

RADEMACHER, R. — VAŇÁSEK, J. — SODOMKOVÁ, D. — (Státní veterinární ústav, veterinární nemocnice, referenční laboratoř pro leukózu skotu, Hradec Králové; Vojenský lékařský výzkumný doškolovací ústav, Hradec Králové): *Využití barvicí metody sudanovou černí B u granulocytů a monocytů skotu pro diagnostiku leukózy*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 657-663.

V periferní krvi zdravého i leukózního skotu byla prokázána v neutrofilních granulocytech pozitivní reakce se sudanovou černí B, a to u zdravého skotu v intenzitě ++ až +++++, u leukózního skotu o něco slabší (++ až +++). Do jisté míry může tedy tento náález pomoci při odlišení reaktivních lymfocytů od leukózy skotu. Monocyty mají proti granulocytům reakci výrazně slabší; u zdravého skotu v intenzitě 0 až (++) , u leukózního skotu 0 až (+++). V kostní dřeni je prokazatelná slabší reakce sudanovou černí B ve skupině velkých buněk (promyelocyty a myelocyty neutrofilní i eozinofilní), a to ve skupině zdravého i leukózního skotu, než vykazují neutrofilní a eozinofilní granulocyty periferní krve. Reakce se sudanovou černí B na lipidy je tedy použitelná jako pomocná pro odlišení buněk myeloidní, monocytární a lymfoidní řady periferní krve a kostní dřene při leukózách skotu.

cytochemie; kostní dřeň; leukóza skotu; neutrofilní granulocyt; periferní krev; lipidy; sudanová černí B

Závažnost cytochemických reakcí ve veterinární medicíně vyrostla v souvislosti s diferenciací forem leukózy. Na zasedáních vědecko-metodické komise RVHP byla na popud sovětské delegace v posledních letech zřejmá snaha vytvořit z hematologických, cytochemických, biochemických, histologických, genetických a virologických metodik společný systém pro specifikaci forem leukózy skotu. Do řady cytochemických metodik patří i metoda barvení lipidů sudanovou černí B.

Metoda specifického barvení lidských granulocytů a monocytů v krevních roztěrech sudanovou černí B byla popsána Sheehanem (1939) a byla využita McMannusem (1945) a Discombem (1946) — cit. Sheehan a Storey, (1947). Může být použita ve starých i nových roztěrech krve a kostní dřene. V neutrofilních granulocytech se barví jemná granula, a to přes plazmu i jádro. Eozinofilní granulocyty mají podobné rozložení granul. Granula jsou rozprostřena zvláště v plazmě, jádro má granula vzácně. Lidské monocyty mívají různé množství jemných granul přes plazmu i jádro, přičemž granula jsou v některém místě jádra silně nahloučena. Azurofilní granula lymfocytů se nebarví. Dřeňové buňky se při některých krevních nemocech jeví sudanofilní, při jiných se nebarví. Heřmanský (1969) odvozuje ze sudanofilie granulocytů a monocytů, že pocházejí ze společné myeloidní zárodečné buňky. Specifická sudanofilie je prokazatelná již u mnohých

myeloblastů, jemná granulární pozitivita stoupá až k maximálnímu stupni u promyelocytů. U myeloidních monocytů, které se odštěpují ve stadiu mladším než jsou promyelocyty (cit. Heřmanský, 1969), zůstává specifická sudanofilie slabší s jemnějšími a řidšími granuly.

Sudanofilie po preparaci solemi rtuti (Heřmanský, 1965) dává barevný tón granul, který se mění od modrého přes šedý k hnědému tónu. Nespecifická alfa-naftyl-esteráza u lidí (Löffler, 1961—cit. Heřmanský, 1969) zůstává s vývojem neutrofilních granulocytů jen slabě pozitivní, myeloidní monocyty dávají naopak u lidí známou silnou pozitivitu. Naftol-AS-D-chloracetátesteráza (Moloney, 1960) zvyšuje pozitivitu od zralého promyelocytu až k neutrofilnímu granulocytu, zatímco monocyty se barví jen slabě. Difúzní PAS reakce stoupá od myelocytů až k segmentovaným neutrofilním granulocytům na rozdíl od monocytů, jež mají u lidí jen slabou reakci (Heřmanský a Friedman, 1951). Konečně negativní nukleární arylsulfatáza (Eckert a Dennett, 1966) potvrzuje myeloidní původ zcela nezralých buněk. Na rozdíl od těchto jmenovaných reakcí sudan B reakce za fyziologických mezí nekolísá.

Z veterinárních autorů se zabývala cytochemickými reakcemi Bauer-Sičová (1963, 1965) ve snaze odlišit reaktivní lymfocytózy od enzootické leukózy skotu. Na tyto práce navazují Stöber (1965), Stöber a Haubner (1967) a Achmetšin (1972), kteří se snaží využít reakci k odlišení buněk při leukóze skotu. Grundboeck (1968) a Rademacher aj. (1974) zdůrazňují použití souborů cytochemických reakcí, jež pomohou odlišit typy buněk periferie a kostní dřeně a potvrdit, o kterou formu leukózního procesu jde.

MATERIÁL A METODY

Reakci na lipidy jsme dělali metodou podle Sheehana a Storeye (1947) v modifikaci Heřmanského aj. (1970) se sudanovou černí B. Souběžně byly barveny i další cytochemické reakce, a to PAS reakce na glykogén podle Wislockiho aj. (1949), nespecifická esteráza podle Löfflera (1971), naftol-AS-D-chloracetátesteráza podle Moloney aj. (1960) a alkalická fosfatáza podle Hayhoa a Quaglina (1968).

Nejprve se souběžně s ostatními reakcemi modelu Heřmanského aj. (1970) dělaly reakce vždy dvou až tří roztěrů periferní krve šestnácti kusů a dření třinácti kusů zdravého skotu plemene české strakaté. Zároveň byly tytéž reakce barveny z buněk periferní krve (25 kusů) a dřeně (21 kus) skotu téhož plemene nemocného leukózou. Týmiž barvivy se tyto reakce dělaly a vyšetřovaly i na humaním pracovišti (VLVDÚ Hradec Králové). Bylo tedy možno porovnávat intenzitu reakce u lidí a u skotu. Celkem bylo vyšetřeno 250 roztěrů.

Stanovení lipidů podle Sheehana a Storeye (1947) v modifikaci Heřmanského aj. (1970)

Pracovní postup:

- 1) fixace nátěru parami koncentrovaného formaldehydu — 10 minut,
- 2) ponoření nátěru do roztoku 2 + 3 v daném poměru bez oplachování — 30 minut,
- 3) promytí v 70% alkoholu a opláchnutí v tekoucí vodě,
- 4) oschnutí a dobarvení 1% jádrovou červení — 30 minut (u čerstvého roztoku stačí kratší doba).

Roztoky:

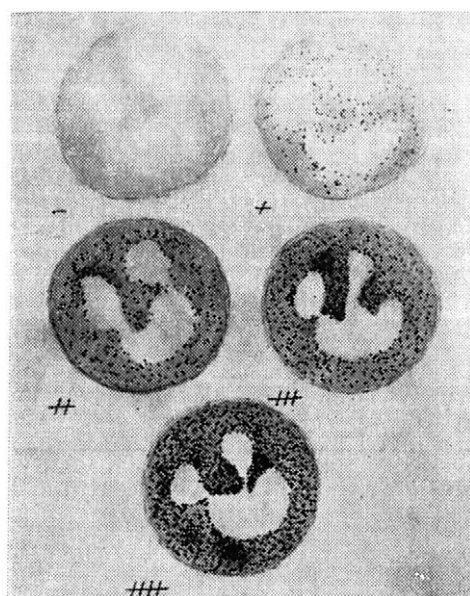
- 1 : koncentrovaný formaldehyd;
- 2 : roztok sudanu B:
0,3 g sudanu B rozpustit ve 100 ml 96% etylalkoholu a přefiltrovat;
- 3 : nárazníkový roztok:
A — 16 g krystalického fenolu p. a. rozpustit v 30 ml 96% etylalkoholu — C_2H_5OH
B — 0,3 g $Na_2HPO_4 \cdot 12 H_2O$ rozpustit ve 100 ml destilované vody.
Smícháním roztoku A a B vznikne fenolový nárazník. Před barvením se smísí 60 ml filtrovaného roztoku sudanu B a 40 ml fenolového nárazníku;
- 4 : 1% jádrová červeně:
1 g jádrové červeně rozpustit ve 100 ml 5% vodného roztoku síranu hlinitého za horka, po zchlazení přefiltrovat.

Hodnocení:

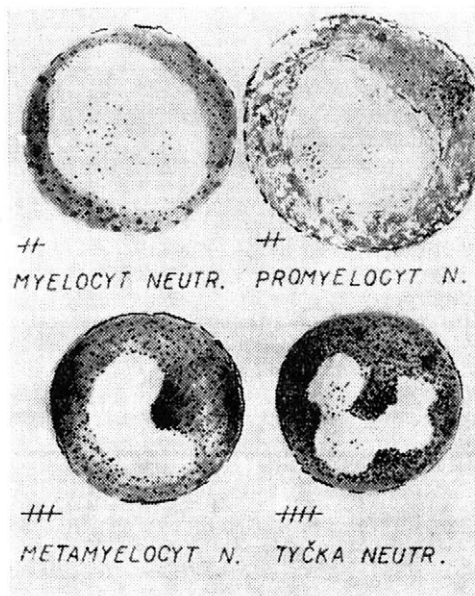
Stupeň pozitivity se hodnotí od 0 do ++++ podle intenzity zbarvení a velikosti šedých až černých granul v plazmě granulocytů při kontrastním obarvení jader 1% jádrou červení.

VÝSLEDKY A DISKUSE

U lidí se barví sudanovou černí B specificky granulocyty a monocyty [Heřmanský aj., 1970; Hule a Hrubíško, 1969]. U neutrofilních granulocytů je reakce velmi intenzivní, u monocytů jsou granula drobnější a jejich počet je nižší. Granula eozinofilních granulocytů se barví hnědavě s různě vyznačenou centrální kresbou.



1. Intenzita lipidů v neutrofilních leukocytech skotu (periferní krev) — The levels of lipids in the neutrophilic leukocytes of cattle (peripheral blood)



2. Intenzita lipidů dřeňových buněk skotu — The levels of lipids of the marrow cells of cattle

V periferní krvi zdravého i leukózního skotu byla prokázána v neutrofilních granulocytech pozitivní reakce shodně se Stöberem (1965) a Achmetšinem (1972) se sudanovou černí na ++ až ++++ (obr. 1), v průměru o něco slabší (++) až ++++ v neutrofilních granulocytech leukózního skotu. Černá granula eozinofilních granulocytů vykazují pozitivitu na ++ až ++++, opět však o něco slabší (++) až ++++ v periferní krvi leukózního skotu. Lymfocyty a lymfoidní buňky periferie nevykazují pozitivitu na lipidy (shodně Miura a Oshima, 1967). Této skutečnosti je možné do jisté míry využít k odlišení negativních lymfocytů a prolymfocytů od silně reagujících buněk myeloidní řady.

U skotu byla zjištěna podobná sudanofilie monocytů jako u lidí. Monocyty vykazují proti granulocytům reakci slabší (0 až ++) u zdravého než u leukózního skotu (0 až +++). K podobným výsledkům dospěli i Stöber a Haubner (1967) — (tab. I).

U dřevných buněk je prokazatelná slabší reakce sudanovou černí ve skupině velkých buněk (promyelocyty a myelocyty neutrofilní — obr. 2), a to souběžně ve skupině zdravého i leukózního skotu, než u granulocytů periferní krve. Reakce eozinofilních promyelocytů a meta-

I. Intenzita lipidů buněk periferní krve u skotu zdravého a nemocného leukózou — The levels of lipids of the cells of peripheral blood in healthy cattle and in cattle suffering from leucosis

	Zdravý skot	Leukózní skot
Neutrofilní granulocyty	++-++++	++-++++
Eozinofilní granulocyty	++-++++	++-++++
Monocyty	0-(++)	0-(+++)
Lymfocyty	0	0
Erytrocyty	0	0

II. Intenzita lipidů dřevných buněk skotu zdravého a nemocného leukózou — The levels of lipids of the marrow cells of healthy cattle and of cattle suffering from leucosis

	Zdravý skot	Leukózní skot
Myelo a promyelocyty neutrofilní	++ +-(++++)	+-++
Myelo a promyelocyty eozinofilní	++ +-(+++)	+-++
Metamyelocyty a tyčky neutrofilní	(++)-++++-++++	++-++++
Metamyelocyty a tyčky eozinofilní	++-++++	+-++++
Normo a makroblasty	0	0
Monocyty a monocytoidní buňky	0	0
Lymfocyty a lymfoidní buňky	0	0
Plazmatické buňky	0	0
Megakaryocyt a megakaryoblast	/	/

myelocytů kostní dřeně je o něco slabší než u eozinofilních granulocytů periferní krve (tab. II).

Tato reakce je tedy vhodnou pomocnou reakcí pro odlišení buněk myeloidní, monocytární a lymfoidní řady periferie a kostní dřeně při leukózách skotu.

Literatura

ACHMETŠIN, P. E.: Citochimičeskije issledovanija pri lejkoze krupnogo rogatogo skota. Ref. Vsesoj. symp. o probleme leukozov sel'skochoz. životnych. Charkov, Moskva 1972, s. 85.

BAUER-SIČOVÁ, P.: Zur Zytochemie des Leukozyten des Rindes — Normalbefunde und Beobachtungen bei einigen Leukosepatienten. Zentbl. VetMed., A, 10, 1963, s. 364-380.

BAUER-SIČOVÁ, P.: Zytochemie der neutrophilen Granulozyten. Antrittvorlesung, Giessen 1964. Zentbl. VetMed., A, 12, 1965, s. 365-379.

ECKERT, H. — DENNETT, T.: Aust. Ann. Med., 15, 1966, s. 152.

GLUZMAN, A. F. — DORONIN, N. N.: Citochimičeskije issledovanija kletok krovi i krovotvorných organov pri lejkoze krupnogo rogatogo skota. Ref. Vsesoj. symp. o probleme leukozov sel'skochoz. životnych. Charkov, Moskva 1972, s. 83-84.

GRUNDBOECK, M.: Szybka metoda hematologicznego rozpoznawania białaczki u bydła. Medycyna wet., 1968, č. 2, s. 66-70.

HAYHOE, F. G. C. — QUAGLINO, D.: Cytochemical demonstration and measurements of leukocyte alkaline phosphatase activity in normal and pathological states by a modified azo-dye coupling technique. Br. J. Haemat., 4, 1968, s. 375-389.

HERMANSKÝ, F.: Význam cytochemického vyšetřování patologických buněk myeloidního původu. Folia hematol., Praha, 91, 1969, s. 192-202.

HERMANSKÝ, F.: Histochemie. 41, 1965, s. 303.

HERMANSKÝ, F. — FRIEDMAN, B.: Sborník lék. čes., 1951, s. 182.

HERMANSKÝ, F. — LODROVÁ, V. — PÖSNEROVÁ, V.: Cytochemické vyšetřování leukocytů u některých laboratorních a domácích zvířat. Folia hematol., Praha, 92, 1970, s. 249-258.

HULE, V. — HRUBÍŠKO, M.: Hematologie a krevní transfúze. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1969.

LÖFFLER, H.: Zytochemische Klassifizierung der Leukosen bei Erwachsenen. Acta histochem., IX, 1971, s. 181-190.

MIURA, S. — OSHIMA, K.: Monocytic leukemia in cattle. Jap. J. vet. Sci., 29, 1967, č. 3, s. 141-150.

MOLONEY, W. C. — PHERSON, K. Mc. — FLIEGELMANN, L.: Esterase activity in leucocytes demonstrated by use of naphthol-AS-D-chlorate-substrate. J. Histochem. Cytol., 8, 1960, s. 200-207.

RADEMACHER, R. — VAŇÁSEK, J. — SODOMKOVÁ, D.: Využití některých cytochemických metodik k diferenciaci buněk periferní krve a dřeně u zdravého skotu a u skotu nemocného leukózou. Vet. Med., Praha, 19, 1974, s. 541-548.

SHEEHAN, H. L. — STOREY, G. W.: J. Path. Bact., 59, 1947, s. 336-347.

STÖBER, M.: Zytomorphologische und zytochemische Blutuntersuchungen beim Rind im Hinblick auf ihre Brauchbarkeit für die Diagnose der lymphatischen Leukose. [Habil.] Hannover 1965.

STÖBER, M. — HAUBNER: Beitrag zur Untersuchung der Monozyten im Blutausschlag vom Rind. Zentbl. VetMed., A, 14, 1967, s. 554-569.

WISLOCKI, G. B. — RHEINGOLD, J. J. — DEMPSEY, E. W.: The occurrence of the periodic acid Schiff reaction in various normal cells of blood and connective tissue. Blood, 4, 1949, s. 652-668.

Došlo dne 22. 9. 1978

РАДЕМАХЕР, Р. — ВАНЯСЕК, Й. — СОДОМКОВА, Д. (Государственный институт ветеринарии, ветеринарная больница, Градец Кралове; Военный медицинский научно-исследовательский институт усовершенствования врачей, Градец Кралове): Применение метода окрашивания судановой чернью Б гранулоцитов и моноцитов у крупного рогатого скота для диагностики лейкозов. *Vet. Med., Praha*, 24, 1979 (11): 657-663.

В периферийной крови здорового и лейкозного крупного рогатого скота, в нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитах доказана положительная реакция на судановую чернь Б интенсивностью от ++ до ++++ у здорового и от ++ до +++ у лейкозного. Следовательно, и этот диагноз может помочь отличить реактивные лимфоцитозы от лейкоза скота. Реакция моноцитов гораздо слабее, чем гранулоцитов: у здорового ее интенсивность от 0 до (++) , а у лейкозного от 0 до (+++) . В костном мозгу реакция с помощью судановой чернью Б достоверно слабее в группе крупных клеток (промиелоциты и миелоциты как нейтрофильные, так и эозинофильные) и у здоровых, и у лейкозных животных, чем у нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов периферийной крови. Следовательно, реакция с судановой чернью Б на липиды может служить как вспомогательная при различении клеток миелоидного, моноцитарного и лимфоидного ряда периферийной крови и костяного мозга при лейкозах крупного рогатого скота.

цитохимия; костяной мазг; лейкоз крупного рогатого скота; нейтрофильный гранулоцит; периферийная кровь; липиды; судановая чернь Б

RADEMACHER, R. — VAŇÁSEK, J. — SODOMKOVÁ, D. (State Veterinary Institute, Veterinary Hospital, Hradec Králové; Military Post-Graduate Research Institute of Medicine, Hradec Králové): *Leucosis Diagnosis by the Staining Method with Sudan Black B Applied to Granulocytes and Monocytes of Cattle*. *Vet. Med., Praha*, 24, 1979 (11): 657-663.

In the peripheral blood of healthy cattle and cattle suffering from leucosis a positive reaction with Sudan black B was found in neutrophilic and eosinophilic granulocytes: in healthy cattle at an intensity from ++ to ++++, and in cattle suffering from leucosis it was somewhat slighter (++ to +++). This finding can, to a certain extent, help in the distinguishing of reactive lymphocytosis from the leucosis of cattle. Compared with granulocytes the reaction of monocytes is markedly weaker: in healthy cattle at an intensity from 0 to (++) , and in diseased cattle from 0 to (+++) . In the bone marrow there is a significantly weaker reaction to Sudan black B in the group of large cells (neutrophilic and eosinophilic promyelocytes and myelocytes); in the group of healthy and diseased cattle the reaction is weaker than in neutrophilic and eosinophilic granulocytes of the peripheral blood. The reaction obtained with Sudan black B for lipids can be used as an aid for the distinguishing of cells of the myeloid, monocytic, and lymphoid order of peripheral blood and bone marrow in cattle leucosis.

cytochemistry; bone marrow; cattle leucosis; neutrophilic granulocytes; peripheral blood; lipids; Sudan black B

RADEMACHER, R. — VAŇÁSEK, J. — SODOMKOVÁ, D. (Staatliches Institut für Veterinärmedizin, Veterinärkrankenhaus, Hradec Králové; Militärisch medizinisches Forschungsinstitut für zusätzliche Ausbildung der Ärzte, Hradec Králové): *Ausnutzung der Färbemethode mit Sudanschwarz B bei den Granulozyten und Monozyten beim Rind für die Diagnostik der Leukosen*. *Vet. Med., Praha*, 24, 1979 (11): 657-663.

Im peripheren Blut des gesunden und Leukoserindes wurde in den neutrophilen und auch in den eosinophilen Granulozyten eine positive Reaktion mit Sudanschwarz B nachgewiesen, und zwar beim gesunden Rind in einer Intensität von ++ bis ++++, beim Leukoserind war die Intensität ein bißchen schwächer (++ bis +++). Zu bestimmtem Maße kann also dieser Befund bei der Unterscheidung der reaktiven Lymphozytosen von der Rindleukose beihilflich sein. Die Monozyten weisen den Granulozyten gegenüber eine deutlich schwächere Reaktion auf: beim gesunden Rind in einer Intensität von 0 bis (++) , beim Leukoserind 0 bis (+++) . Im Knochenmark stellt man eine nachweislich schwächere Reaktion mit dem Sudanschwarz B in der Gruppe der großen Zellen (Promyelozyten und Myelozyten neutrophile und auch eosinophile) und zwar in der Gruppe des gesunden und auch des Leukoserindes fest, als die neutrophilen und eosinophilen Granulozyten des Peripherblutes aufweisen. Die Reaktion mit dem Sudanschwarz B auf die Lipide ist also als ein Hilfs-

mittel bei der Unterscheidung der Zellen der myeloiden, monozytären und lymphoiden Reihe des Peripherblutes und Knochenmarks bei den Rinderleukosen verwendbar.

Zytochemie; Knochenmark; Leukose des Rindes; neutrophile Granulozyten; peripheres Blut; Lipide; Sudanschwarz B

Adresa autorů:

MVDr. Rudolf Rademacher, CSc., MVDr. Dana Sodomková, Státní veterinární ústav – veterinární nemocnice, Kozinova 227, 500 02 Hradec Králové
Doc. MUDr. Jaroslav Vaňásek, Vojenský lékařský výzkumný doškolovací ústav, 500 00 Hradec Králové

VĚDECKÉ ČASOPISY

ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÉ

uveřejňují původní vědecké práce o vyřešených výzkumných úkolech ze všech oborů zemědělství a lesnictví. Dále otiskují vědecká pojednání, studie a přehledy zahraniční literatury o vědeckých problémech. Práce z různých výzkumných pracovišť vztahující se k jednomu problému jsou vydávány v monotematických číslech.

V roce 1979 jsou vydávány časopisy:

ROSTLINNÁ VÝROBA	12X ročně, předplatné Kčs 216,—
ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA	12X ročně, předplatné Kčs 120,—
VETERINÁRNÍ MEDICÍNA	12X ročně, předplatné Kčs 120,—
ZEMĚDĚLSKÁ EKONOMIKA	12X ročně, předplatné Kčs 120,—
ZEMĚDĚLSKÁ TECHNIKA	12X ročně, předplatné Kčs 120,—
LESNICTVÍ	12X ročně, předplatné Kčs 144,—
SBORNÍK ÚVTIZ	
GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ	4X ročně, předplatné Kčs 40,—
OCHRANA ROSTLIN	4X ročně, předplatné Kčs 40,—
MELIORACE	2X ročně, předplatné Kčs 20,—
SOCIOLOGIE ZEMĚDĚLSTVÍ	2X ročně, předplatné Kčs 20,—
ZAHRADNICTVÍ	4X ročně, předplatné Kčs 40,—

Vědecký časopis SCIENTIA AGRICULTURAE BOHEMOSLOVACA je určen pro zahraničí. Otiskuje vědecké práce a studie, které jsou československým přínosem k celosvětovým poznatkům zemědělské vědy. Články jsou otiskovány v angličtině a ruštině. Časopis vychází čtvrtletně a celoroční předplatné činí Kčs 40,—.

VĚSTNÍK ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÉ je orgánem ČSAZ a výzkumných ústavů. Informuje o problematice zemědělské vědy a výzkumu, projednávávané na zasedáních pléna, předsednictva odborů a komisí ČSAZ, na konferencích a symposiích. Přináší referáty z mezinárodních kongresů a výsledné zprávy ze studijních cest ze zahraničí. V četných rubrikách uveřejňuje materiály o plánech a výsledcích činnosti jednotlivých ústavů a pracovišť. Věstník ČSAZ vychází měsíčně a celoroční předplatné činí Kčs 96,—.

PODÍL AEROBNÍHO A ANAEROBNÍHO METABOLISMU U KONÍ PŘI STUPŇOVANÉ FYZICKÉ ZÁTĚŽI

J. Kovář

KOVÁŘ, J. (Výzkumná stanice pro chov koní, Slatiňany): *Podíl aerobního a anaerobního metabolismu u koní při stupňované fyzické zátěži*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 665-671.

U sedmi koní ve 13 pokusech popisujeme změny koncentrace laktátu v krvi jako odezvu na stupňovanou fyzickou zátěž, skládající se z 1140 m kroku, 2×1000 m klusu a 3×500 m cvalu. Sledovali jsme závislost koncentrace laktátu na rychlosti v jednotlivých úsecích a rozlišili jsme zřetelně aerobní a anaerobní fáze metabolismu. Na základě nástupu anaerobního metabolismu a jeho průběhu je reálné vytvořit testy k posouzení fyzických schopností a trénovanosti koní.

kůň; výkonnost; laktát; aerobní a anaerobní metabolismus

Díky rozvoji jezdeckého sportu a požadavku zvyšovat výkonnost koní je v poslední době stále citlivěji pocítován nedostatek objektivních testů pro posouzení jejich fyzického potenciálu a trénovanosti. Tato práce je příspěvkem k uvedené problematice a bude se zabývat podílem aerobního a anaerobního metabolismu při zátěži. Jako kritérium pro posouzení jednotlivých typů metabolismu byla zvolena koncentrace krevního laktátu [LA].

Biochemická stanovení uváděná v literatuře v souvislosti s výkonností je možné rozdělit do tří okruhů. První okruh se týká látek úzce souvisejících s energetickým metabolismem, jako je glukóza, laktát, pyruvát a makroergní substráty. Druhý okruh souvisí s homeostázou a náleží sem parametry pH, pO_2 , pCO_2 , minerální látky a další. Třetí okruh zahrnuje širokou skupinu enzymů. Nejuzší vazbu s výkonností má zřejmě první okruh látek a z nich pak se zdá být nejvýznamnější postavení laktátu. Literární prameny o laktátu v souvislosti se zátěží u koní jsou již dosti četné. Bojanovský aj. (1961) rozlišují u testovaných military koní v dostihu na 3600 m s překážkami ($v = 10 - 12 \text{ m s}^{-1}$) příznivou odezvu (vzestup na 1,13 mmol LA/l) a špatnou odezvu (23,6 mmol LA/l). Jícha aj. (1961) a Dušek (1962) sledovali dynamiku změn krevního laktátu v důsledku tažné práce různé intenzity. Sakurai aj. (1967) zaznamenávají stoupající hladinu laktátu po zátěži na 1100 m souhlasně se stoupající rychlostí. Krzywanek a Wittke (1970) popisují změny po stejné zátěži uskutečňované v různých fázích tréninku a dostihové sezóny. Krzywanek (1973) rozděluje testované koně na tři skupiny podle kondice a stanovuje koncentraci laktátu po zátěži 2400 m ($v = 10 \text{ m s}^{-1}$). Zjišťuje, že pozátěžová hodnota laktátu stoupá s klesající kondicí. Skwarlo a Flisińska-Bojanowska (1973) a Flisińska-Bojanowska aj. (1974) sledují odezvu organismu na mírnou zátěž a cval na 2200 m ($v = 9,2 \text{ m s}^{-1}$). Laktát po mírné zátěži, který byl nesignifikantně odlišný od klidových hodnot, sledovali také Aitken aj. (1974).

Krzywanek (1974) popsal závislost pH na koncentraci LA u klusáků a podrobně sledoval zotavovací fázi v pohledu poklesu laktátu na klidovou hladinu. Lindholm a Saltin (1974) podrobili dostihové koně opakovanému testování při zátěži konstantní rychlostí na 6×400 m, 6×700 m a 6×1000 m při třech rychlostech a sledovali vývoj koncentrace krevního a svalového laktátu. Milne (1974) sledoval vytrvalostní mírnou zátěž a její odezvu v laktátu. Persson a Ullberg (1974) jednak pozorovali závislost laktátu na tepové frekvenci, jednak po testu na 4000 m ($v = 10$ m s⁻¹) použili jako kritéria laktátovou clearance, která souvisí s eliminací laktátu ze svalů do krevního oběhu. Vliv transportu a následné zátěže na LA popisují Codazza aj. (1974). Na pohyblivém pásu ($v = 4$ m s⁻¹) testovali v souvislosti se splenektomií Persson a Bergsten (1975). Změny během výcviku popisují Klein a Kroupová (1976). Kossila aj. (1976) srovnávají klidové hodnoty a po středně obtížném zatížení u jezdeckých koní a klusáků sledují vliv věku a pohlaví. Milne aj. (1976) vyšetřovali koně v tréninku trvající 42 dní. Při Velké pardubické a rámcových dostizích při této ceně sledovali skupinu koní Komárek aj. (1978) nenašli podstatný rozdíl mezi odezvou po hlavním dostihu a po dostizích rámcových. Krzywanek aj. (1976) volili pro testování zátěž 1600 m ($v = 10$ m s⁻¹) a zaměřili se na dobu zotavení. Vytrvalostní zátěž v jízdě na 80,5 km sledovali Lucke a Hall (1978).

Z přehledu prací zabývajících se laktátem je patrná různorodost testů z hlediska zátěže. Vzorky krve při nich byly odebírány před zátěží, ihned po ní a v době zotavení, přičemž koně byli hodnoceni většinou na základě pozátěžové hodnoty. Hladina laktátu byla tedy brána jako výsledek celkové únavy během zátěže a nepočítalo se s různou intenzitou práce v jejím průběhu. Naše práce si vytkla za úkol vývoj změn během zátěže.

MATERIÁL A METODA

Do pokusu jsme zařadili sedm koní — šest koní plemene starokladrubský vraník a jednoho anglického polokrevníka. Koně prodělali základní výcvik pod sedlem i v zápřeži. Testování kladrubských vraníků proběhlo po zkouškách výkonnosti, anglický polokrevník byl rok po základním výcviku občas používán pro jezdecký sport. Koně byli testováni na travnaté oválné dráze 500 m dlouhé, kde běželi vždy po dvojicích — jeden kůň testovaný, jeden doprovodný. Čtyři koně byli testováni jedenkrát, jeden dvakrát, jeden třikrát a jeden čtyřikrát. Celkem jsme dělali 13 testů.

Model zátěže byl 1140 m kroku, 1000 m pomalejšího klusu, 1000 m rychlejšího klusu a 3×500 m cvalu se stoupající rychlostí. V jednotlivých kolech zátěže jsme měřili čas a z něj jsme potom vypočítali rychlost pohybu v jednotlivých úsecích.

Krev jsme odebírali z *vena jugularis* stabilně fixovanou kanylou při jejím zavedení a okamžitě po jednotlivých stupních zátěže. Po stanovení laktátu byla krev deproteinizována 1 N HClO₄ v poměru 1 : 1. L-laktát byl stanoven enzymatickým testem fy. Boehringer.

VÝSLEDKY

V tab. I jsou uvedeny průměrně dosahované hodnoty se základními statistickými charakteristikami (s — směrodatná odchylka, $V\%$ — variační koeficient) v jednotlivých stupních zátěže a maximální a minimální zaznamenané hodnoty laktátu.

Zjištěné hladiny laktátu jsou pro lepší názornost vyneseny graficky na obr. 1.

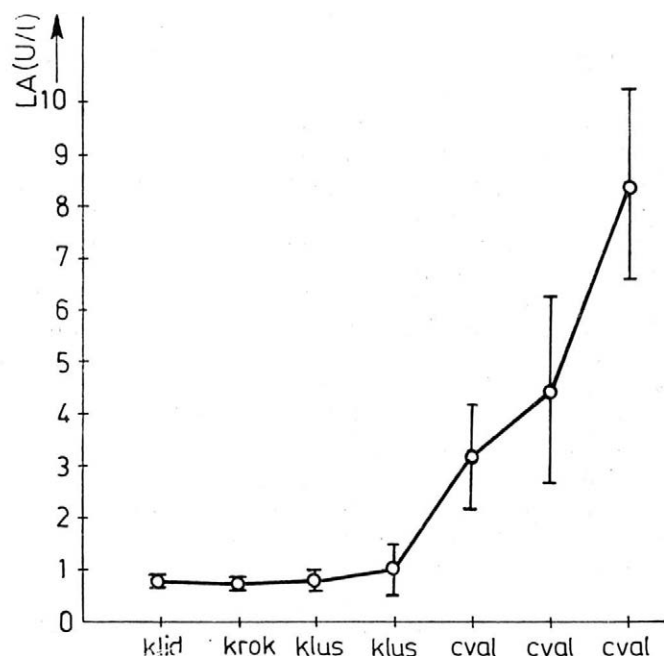
DISKUSE

Ze závislosti laktátu na stupních zátěže je patrné, že k jeho vzestupu dochází až při vyšších rychlostech — cvalových. Vyneseme-li jed-

I. Průměrné hodnoty laktátu a rychlostí dosahovaných v jednotlivých stupních zátěže — The average values of lactate concentration and speeds achieved under different strain

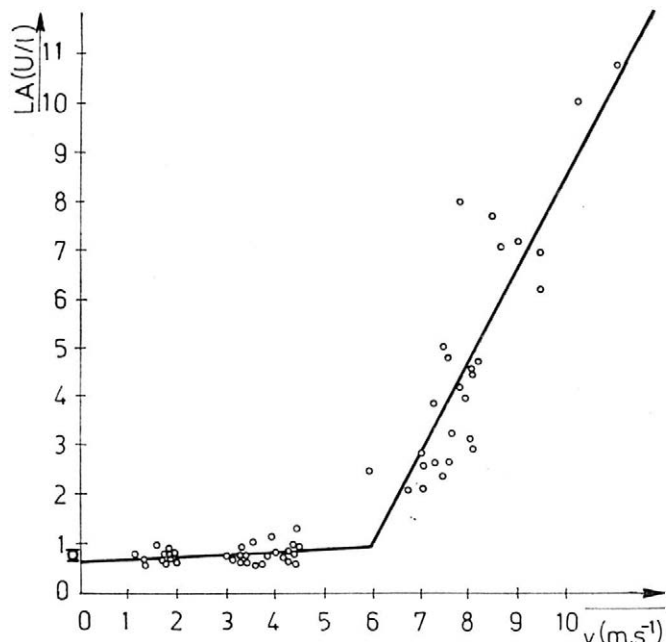
	klid	krok	1. klus	2. klus	1. cval	2. cval	3. cval
v ($m s^{-1}$)	—	1,69	3,44	4,42	7,48	7,83	9,66
s	—	0,27	0,25	0,47	0,49	0,65	1,01
LA ($mmol l^{-1}$)	0,79	0,73	0,79	1,01	3,18	4,47	8,38
s	0,11	0,10	0,17	0,53	1,02	1,84	1,85
V %	13,30	14,00	21,30	52,50	32,20	41,20	22,10
LA min.	0,64	0,58	0,61	0,63	2,07	2,07	7,00
LA max.	0,97	0,93	1,15	2,44	4,75	7,98	10,75

1. Změny koncentrace laktátu v průběhu testu — Changes in lactate concentration during the test



notlivé hodnoty koncentrace laktátu proti dosažené rychlosti, získáme takové rozložení bodů, jaké je uvedeno na obr. 2.

Z tohoto obrázku lze usoudit, že existuje vztah mezi rychlostí pohybu a koncentrací laktátu v krvi. U našeho souboru, který je víceméně na stejné úrovni fyzické kondice, zůstává laktát až do rychlosti $5 m s^{-1}$ v rozmezí fyziologických klidových hodnot. Tyto hodnoty jsou také v souladu s klidovými hodnotami uváděnými v citované literatuře, přičemž nezáleží na stupni trénovanosti vyšetřovaných koní. Při rychlostech nad $6 m s^{-1}$ však laktát prudce stoupá. Tato informace svědčí o nástupu anaerobního metabolismu při hrazení energie pro potřebný výkon. Při pomalejším běhu je veškerá energie získávána aerobní cestou,



2. Závislost koncentrace laktátu na rychlosti —
The dependence of lactate concentration on speed

proto se tvorba laktátu nezvyšuje. Při intenzivnější práci při rychlostech nad 6 m s^{-1} již tato energie nepostačuje a je získávána anaerobní cestou. Tyto výsledky lze srovnat s citovanou prací Lindholma a Saltina (1974). Pro jejich soubor klusáků ($n = 6$) zjišťují strmý vzestup pozátěžových hodnot laktátu až od rychlosti 10 m s^{-1} (testovali rychlosti 3,3; 5,6; 8,3; 9,1; 11,1; 11,7—12,5 m s^{-1}). Vzhledem k tomu, že skupina jimi testovaných koní byla zřejmě výkonnostně schopnější než náš soubor a zátěž u klusáků je odlišná od zátěže jezdeckých koní, nastal zlom na křivce laktátu až při vyšších rychlostech. Je otázka, zda by se nemohlo využít závislosti přechodu aerobního a anaerobního metabolismu na rychlosti, popřípadě průběhu anaerobního metabolismu, k posouzení výkonnosti koní.

Spočítáme-li regresní přímky metodou nejmenších čtverců pro závislost LA pro rychlosti 0 až 5 m s^{-1} a LA pro rychlosti 5 až max. m s^{-1} , získáme dvě přímky:

$$1. \quad y = 0,05x + 0,64 \\ r = 0,3604$$

$$\text{pro } x \in [0; 5 \text{ m s}^{-1}] \\ r_{95} \% = 0,33$$

$$2. \quad y = 1,91x - 10,57 \\ r = 0,8556$$

$$\text{pro } x > 5 \text{ m s}^{-1} \\ r_{99} \% = 0,487$$

kde: y — koncentrace LA v mmol l^{-1}
 x — rychlost v m s^{-1}
 r_{95}, r_{99} — tabelovaná hodnota

Vypočítaný koeficient korelace je v obou případech vyšší než tabelovaný pro příslušný počet stupňů volnosti a hladinu pravděpodobnosti a svědčí o lineární závislosti mezi sledovanými parametry. Průsečník přímek najdeme v bodě — $6,03 \text{ m s}^{-1}$; $0,95 \text{ mmol LA/l}$ a může označovat teoretický nástup účasti anaerobního metabolismu.

Při hodnocení jednotlivých koní ovšem kromě samotného počátku anaerobního metabolismu bude přicházet v úvahu i směrnice přímky, charakterizující vzestup LA při anaerobní práci. Do její hodnoty se však zřejmě bude větší měrou promítat únava z celého testu. Ovšem i zde je nutné podotknout, že koncentrace LA v krvi je především obrazem intenzity vykonávané práce. Toto tvrzení je možné vysledovat z hodnot zjištěných Krzywankem (1974) a potvrzuje je námi zaznamenaný průběh testování u jednoho koně. Tento kůň byl veden ve druhém cvalovém úseku pomaleji než v prvním a hladina laktátu ihned poklesla, jak o tom svědčí tab. II.

II. Hodnoty dosahované u jednoho koně ve cvalových úsecích — The values obtained in one horse in the gallop sections of track

	1. cval	2. cval	3. cval
$v \text{ (m s}^{-1}\text{)}$	7,46	7,04	9,43
LA (mmol l ⁻¹)	2,32	2,07	6,93

Syntézou těchto pohledů lze dospět k závěru, že koncentrace LA v krvi je především obrazem intenzity vykonávané práce, přičemž únava z předchozího zatížení se zobrazí v menší míře. Na základě této skutečnosti se jeví jako reálné vytvoření objektivních testů výkonnosti koní s použitím stupňované zátěže. Rychlosti v jednotlivých úsecích bude vhodné rozložit již na základě subjektivního odhadu fyzických schopností koně.

Literatura

- AITKEN, M. M. — ANDERSON, M. G. — MACKENZIE, G. — SANFORD, J.: Correlation between physiological and biochemical parameters used to assess fitness in the horse. J. S. Afr. Vet. Assoc., 45, 1974, č. 4, s. 237-277.
- BOJANOVSKÝ, I. — BOSÁK, V. — EISELT, E. — ZBUZEK, V. — DOLEŽAL, V. — KLEMENT, J.: Pokus o hodnocení výkonnosti závodních koní v obraze některých funkčních ukazatelů. Čs. Fyziol., 10, 1961, s. 227-228.
- CODAZZA, D. — MAFFEO, G. — REDAELLI, G.: Serum enzyme changes and hemato-chemical levels in thoroughbreds after transport and exercise. J. S. Afr. Vet. Assoc., 45, 1974, č. 4, s. 331-334.
- DUŠEK, J.: Sledování hematologických ukazatelů, glukózy a kyseliny mléčné u koní po krátkodobém maximálním výkonu. Živočišná Výroba, 7, 1962, s. 127-133.
- FLISIŇSKA-BOJANOWSKA, A. — SKWARLO, K. — LUKASZEWSKA, J. — BOBI-LEWITZ, D. — WILK, M. — GILL, J.: Diurnal variations of serum cortisol and PBI in the thoroughbred horse and effect of physical effort on plasma cortisol concentration. Bull. Acad. Pol. Sci., Cl. II, 13, (10), 1974, s. 719-720.
- JÍCHA, J. — DUŠEK, J. — POKORNÁ, M.: Biochemické a hematologické hodnoty tažných koní v klidu a po pracovní zátěži. II. část — Změny po pracovní zátěži. Živočišná Výroba, 6, 1961, s. 169-180.
- KLEIN, Z. — KROUPOVÁ, V.: Odras fyzické zátěže na některých krevních ukazatelích. Bull. VSCHK Slatiňany, 1976, č. 26, s. 61-68.
- KOMÁREK, J. — MATOUŠEK, V. — JADRNY, L.: Biochemické a hematologické změny v krvi koní pro dostihu „Velká pardubická“. Vet. Med., Praha, 23, 1978, č. 3, s. 169-174.

- KRZYWANIEK, H.: Untersuchungen zur Beurteilung der aktuellen Leistungsfähigkeit von Trabrennpferden. Zentbl. VetMed., A, 20, 1973, s. 265-286.
- KRZYWANIEK, H.: Lactic acid concentration and pH values in trotters after racing. J. S. Afr. Vet. Assoc., 45, 1974, č. 4, s. 355-360.
- KRZYWANIEK, H. — MILNE, D. W. — GABEL, A. A.: Acidbase values of standard-bred horses recovering from strenuous exercise. Am. J. vet. Res., 37, 1976, č. 3, s. 291-294.
- KRZYWANIEK, H. — WITTKKE, G.: Parameter des Energiestoffwechsels und des Sauerstofftransportes bei Vollblutpferden in Perioden unterschiedlicher Trainingsintensität. Inst. Z. angew. Physiol., 28, 1970, s. 228-238.
- KOSSILA, V. — TANHVANTÄÄ, E. — PELTONEN, T. — VIRTANEN, E.: Effect of physical stress on the pulse and respiration rates and blood composition of riding horses and trotters. Annls Agric. fenn., 1976, č. 15, s. 322-329.
- LINDHOLM, A. — SALTIN, B.: The physical and biochemical response of standard-bred horses to exercise of varying speed and duration. Acta vet. scand., 15, 1974, č. 3, s. 310-324.
- LUCKE, J. N. — HALL, G. M.: Biochemical changes in horses during a 50-mile endurance ride. Vet. Rec., 102, 1978, s. 356-358.
- MILNE, D. W.: Blood gases, acid-base balance and electrolyte and enzyme changes in exercising horses. J. S. Afr. Vet. Assoc., 45, 1974, č. 4, s. 345-354.
- MILNE, D. W. — SKARDA, R. T. — GABEL, A. A. aj.: Effects of training on biochemical values in standardbred horses. Am. J. vet. Res., 37, 1976, č. 3, s. 285-290.
- PERSSON, S. — ULLBERG, L. E.: Blood volume in relation to exercise tolerance in trotters. J. S. Afr. Vet. Assoc., 45, 1974, č. 4, s. 293-299.
- PERSSON, S. — BERGSTEN, G.: Circulatory effects of splenectomy in the horse: IV. Effect on blood flow and blood lactate at rest during exercise. Zentbl. VetMed., A, 22, 1975, s. 801-807.
- SAKURAI, N. — YAMAOKA, S. — MURAKAMI, M.: Relationship between exercises and changes in blood characteristics in horses. Exp. Rep. Eq. Hlth. Lab., 4, 1967, s. 15-19.
- SKWARŁO, K. — FLISIŃSKA-BOJANOWSKA, A.: Effect of moderate effort on levels of lactic and pyruvic acids, of glucose and on alkaline reserve in thoroughbred horse blood in winter. Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. sci. biol., Cl., 21, 1973, č. 1, s. 77-81.

Došlo dne 27. 3. 1979

КОВАРЖ, Й. (Научно-исследовательская станция коневодства, Слатиняны): Доля аэробного и анаэробного метаболизма у лошадей при нарастающей физической нагрузке. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 665-671.

У семи лошадей в ходе 13 опытов описаны изменения концентрации лактата в крови как реакция на возрастающую физическую нагрузку, состоящую из 1140 м шагов, 2 X 1000 м рыси и 3 X 1500 м галопа. Определяли зависимость концентрации лактата от скорости на отдельных отрезках, причем явно различали аэробную и анаэробную фазы метаболизма. На основе поступления анаэробного метаболизма и его хода можно провести тесты для оценки физической способности и тренировки лошадей.

лошадь; работоспособность; лактат; аэробный и анаэробный метаболизм

KOVÁŘ, J. (Research Station for Horse Breeding, Slatiňany): *The Proportions of Aerobic and Anaerobic Metabolism in Horses Exposed to Graded Physical Strain.* Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 665-671.

Changes in the concentration of lactate in the blood are described as a response to graded physical strain, consisting of 1140 m of walk, 2 X 1000 m of trot, and 3 X 1500 m of gallop in seven horses in thirteen experiments. The dependence of lactate concentration on speed in different track sections was examined and the aerobic and anaerobic stages of metabolism were clearly differentiated. It appears realistic on the basis of the onset and course of anaerobic metabolism to work out tests for evaluating the physical capacities and training abilities of horses.

horse; performance; lactate; aerobic and anaerobic metabolism

KOVÁŘ, J. (Forschungsstation für Pferdezucht, Slatiňany): *Anteil des aeroben und des anaeroben Metabolismus bei Pferden bei erhöhter physischer Belastung.* Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 665-671.

Bei sieben Pferden in drei Versuchen wird die Laktatkonzentration im Blut als Reaktion bei einer aus 1140 m im Schritt, zweimal 1000 m im Trab und dreimal 500 m im Galopp bestehenden, abgestuften physischen Belastung beschrieben. Wir untersuchten die Abhängigkeit der Laktatkonzentration von der Geschwindigkeit in den einzelnen Abschnitten und unterschieden deutlich die aeroben und anaeroben Metabolismusphasen. Aufgrund des Auftretens des anaeroben Metabolismus und dessen Verlauf ist es möglich, Tests zur Beurteilung der physischen Fähigkeiten und des Trainings der Pferde auszuarbeiten.

Pferd; Leistung; Laktat; aerober und anaerober Metabolismus

Adresa autora:

Ing. Josef Kovář, Výzkumná stanice pro chov koní, 538 21 Slatiňany

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

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

D 57.021/29

Calendar (Highlands and Islands) for control of sheep diseases.

Aberdeen, North of Scotland — College of agric. 1978. 2 listy. College leaflet 29. (Ovce — nemoci — ochrana — léčení)

D 69.147

Effects of poisonous plants on livestock.

New York, Academic press 1978. 600 s., obr., tab. (Logan — mezinárodní konference o vlivu jedovatých látek na skot — 1977 — sborník / Jedovaté rostliny — hospodářská zvířata — otravy — vztahy — sborník)

NORRIS, L. A.

D 38.943/296

Arsenic in cattle hair after forests are precommercially thinned with organic arsenical herbicides.

Oregon (Portland) 1977. 9 s., 2 tab. PNW-296. (Skot — srst — arzén — obsah — lesy — herbicidy organické — arsenikové — pastviny — vztahy — USA — Washington — výzkum)

IVIE, G. W. — DOROUGH, H. W.

D 69.146

Fate of pesticides in large animals.

New York, Academic press 1977. 270 s., obr., tab. (Zvířata — pesticidy — látková přeměna — sborník mezinárodní)

ONDERKA, D. K. — FUNNELL, H. S.

C 23.512/1978/6

Mycotoxicosis in poultry.

Toronto (Ontario), Ministry of agric. and food 1978. 1 list. Factsheet 6. (Mykotoxikózy — drůbež — diagnostika — prevence)

SWERCZEK, T. W. — WISE, W. E.

D 61.393/20

Strangles.

Lexington (Kentucky), College of agric. 1977. nestr. VET-20. (Kůň — nemoci nakažlivé — hřiběcí — prevence a léčení)

HALL, R. F.

C 21.944/51

Pink eye. — Southern regional beef cow — calf handbook.

Lexington (Kentucky), College of agric. 1977. 2 s., obr. ASC-51. (Skot — nemoci nakažlivé — zánět rohovky a spojivky / *Moraxella bovis* — skot — nemoci / *Mycoplasma bovis* — skot — nemoci)

PŘEŽÍVÁNÍ BAKTÉRIÍ NA POZINKOVANÉM A HLINÍKOVÉM MATERIÁLU

K. Kubíček, P. Dvořák, J. Ivanská

KUBÍČEK, K. — DVOŘÁK, P. — IVANSKÁ, J.: (Vysoká škola veterinární, Brno): *Přežívání bakterií na pozinkovaném a hliníkovém materiálu*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 673-678.

Ověřovali jsme přežívání *St. aureus*, *E. coli* a salmonel bez bílkovinné chyby a s ní na novém pozinkovém a dezinfekcí narušeném plechu a srovnávali s přežíváním těchto mikroorganismů na novém plechu hliníkovém, který jsme považovali za inertní. Sledování otiskovou metodou trvalo sedm dnů. Růst mikroorganismů byl hodnocen indexem jejich přežívání. Prokázali jsme výrazný oligodynamický účinek pozinkovaného plechu zejména na gramnegativní bakterie. Účinek se zvýšil narušením těchto plechů dlouhodobou dezinfekcí v koncentrovaném roztoku chloraminu BS. Antimikrobiální účinek jsme zaznamenali také u plechů hliníkových narušených dezinfekcí. Na obou druzích plechů byl účinek snižován bílkovinnou chybou — přidáním krevního séra do bujónových suspenzí.

oligodynamie; gramnegativní bakterie; grampozitivní bakterie; bílkovinná chyba

Již v době římské republiky bylo známo, že voda ve stříbrných nádobách se nekazí. Vysvětlení tohoto jevu podal švýcarský botanik Naegeli v roce 1893 (Raška aj., 1953) a nazval jej oligodynamíí (oligos — malý, dynamon — síla).

Svoboda a Bolek (1972) i Stellmacher aj. (1974), kteří porovnávají oligodynamický účinek různých kovů, uvádějí, že téměř všechny se vyznačují lepším účinkem na gramnegativní bakterie než na bakterie grampozitivní. Na spóry, mykobakterie, některé plísně a enteroviry neúčinkují vůbec, nebo jen slabě. Sprows a Poe (1943) uvádějí konkrétní údaje o antimikrobiálním působení zinku a jeho sloučenin. Během desetimínutového působení byla *Salmonella typhi* usmrcena $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ v ředění 1:3, ZnCl_2 v ředění 1:8, ZnJ_2 v ředění 1:30 a $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ v ředění 1:3. Na *Staphylococcus aureus* byl účinek podstatně méně příznivý.

Kabelík (1961), který ve své práci sledoval přežívání bakterií na plastických hmotách, používal aluminium místo skla jako inertní materiál. Opirá se přitom o práci Drgovu (1960).

Oligodynamie se využívá zejména při dezinfekci vody a k terapii nebo profylaxi v různých klinických oborech. Zhotovování některých stavebních prvků z kovů, jako např. klíky, oplechování dveří apod., je rovněž využitím principu oligodynamie, na který se dnes často zapomíná (Svoboda a Bolek, 1972).

Kříž upozorňuje na negativní vliv pozinkovaných materiálů při podávání živých avirulentních vakcín drůbeží v pitné vodě.

Z prací Kubička a Hojovce (1978a, b) vyplývá nejnižší stupeň kontaminace stájových povrchů laktózopozitivními mikroorganismy v moderních halách pro výkrm prasat před dezinfekcí na hrazení kotců vyrobeném z pozinkovaného materiálu. Tato skutečnost nás vedla k ověření doby přežívání mikroorganismů na pozinkovaném plechu a ke srovnání s dobou přežívání na inertním plechu hliníkovém.

MATERIÁL A METODA

Na pozinkovaném plechu a na hliníkovém plechu, který byl považován za inertní, jsme sledovali přežívání bakterií *Staphylococcus aureus* (CCM 5766, 2301, 6737, 2468), *Escherichia coli* (CCM 5055, 5053, 5149, 5172) a salmonel *S. anatum* CCM 5436, *S. suis* CCM 5438, *S. typhi murium* CCM 5445) z ČS. sbírky mikroorganismů. U všech použitých kmenů byla ověřena termorezistence i fenolorezistence podle Vaškova (1961). Abychom mohli připravit bakteriální suspenzi, přeočkovali jsme tři dny po sobě mikroorganismy na masopeptonovém agaru. Z agarových kultur starých 24 hodiny jsme připravili směsnou bujónovou suspenzi o hustotě 2×10^9 , která byla inkubována při teplotě 37 °C po dobu 16 hodin. Polovina bujónových suspenzí byla obohacena 15 % koňského séra.

Jako nosiče byly použity čtverečky o velikosti 10×10 cm z pozinkovaného plechu a z plechu hliníkového. Polovina nosičů bylo připravena z nového plechu, druhá polovina z plechů narušených ponořením do 10 % roztoku chloraminu BS po dobu 14 dnů. Zbytky dezinfekčního roztoku na nosičích byly deaktivovány sirnatem sodným a opláchnuty destilovanou vodou. Na každý vysterylizovaný nosič jsme dvoumilitrovou injekční stříkačkou bez jehly nanесли devět samostatných kapek bakteriální suspenze. Ty jsme nechali v termostatu při teplotě 37 °C asi dvě hodiny zaschnout a potom jsme kontaminované nosiče uchovávali při teplotě 15 °C a při relativní vlhkosti 65 %. V každém pokusu byly takto připraveny 24 nosiče. Osm nosičů bylo kontaminováno vždy stejným druhem mikroorganismů, z toho čtyři nosiče z pozinkovaného plechu a čtyři nosiče z plechu hliníkového. Polovina nosičů byla z nových plechů, druhá polovina z plechů narušených dezinfekcí. Polovina nosičů byla kontaminována bujónovou suspenzí s přidavkem séra, druhá polovina suspenzí bez přidavku koňského séra.

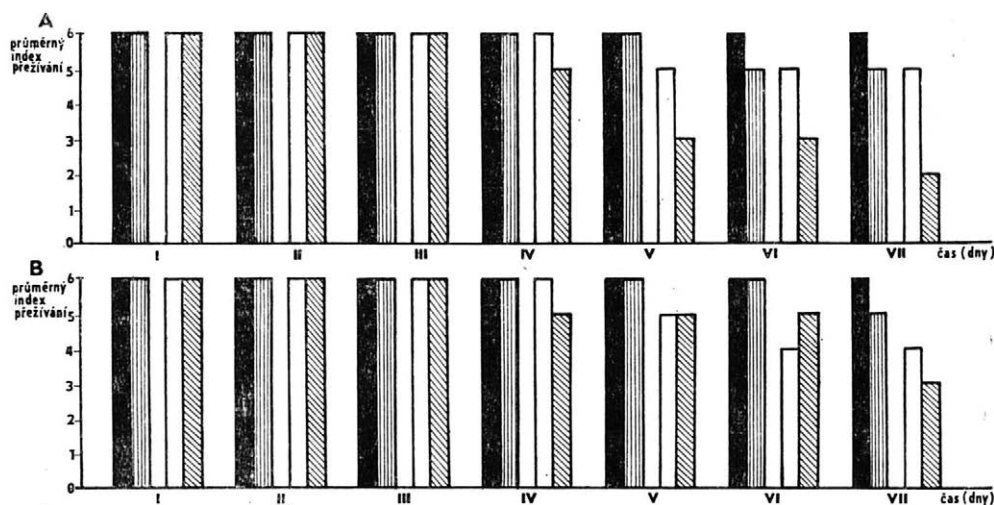
Vzorky byly odebírány metodou otisků na krevní agar, resp. na Endův agar naplněný do sterilních 20 ml injekčních stříkaček, upravených odtavením dna s konusem. První otisky jsme odebírali hned, jak bujónová suspenze zaschla, další ve 24hodinových intervalech po dobu šesti dnů. Půdy byly inkubovány při teplotě 37 °C, krevní agar po dobu 48 hodin, Endův agar po dobu 24 hodin. Hodnotili jsme indexem přežívání podle uvedeného schématu:

počet zárodků	index přežívání
do 25	1
od 26 do 50	2
od 51 do 300	3
nad 300, když ještě prosvítá půda	4
souvislý povlak se zrnitým povrchem	5
souvislý povlak lesklý	6

Tímto postupem bylo zpracováno celkem šest pokusů.

VÝSLEDKY

Výsledky jsou zřejmé ze tří sloupkových grafů, na kterých je znázorněna časová závislost přežívání bakterií na jednotlivých nosičích, vyjádřená průměrným indexem přežívání, a to v horní části grafů — označené A — bez bílkovinné chyby, v dolní části grafů — označené B — s bílkovinnou chybou.



1. Časová závislost přežívání *St. aureus* na hliníkovém a pozinkovaném plechu:

A: bez bílkovinné chyby

B: s bílkovinnou chybou

Time dependence of the survival of *St. aureus* on aluminous and on galvanized plate:

A: without any protein error

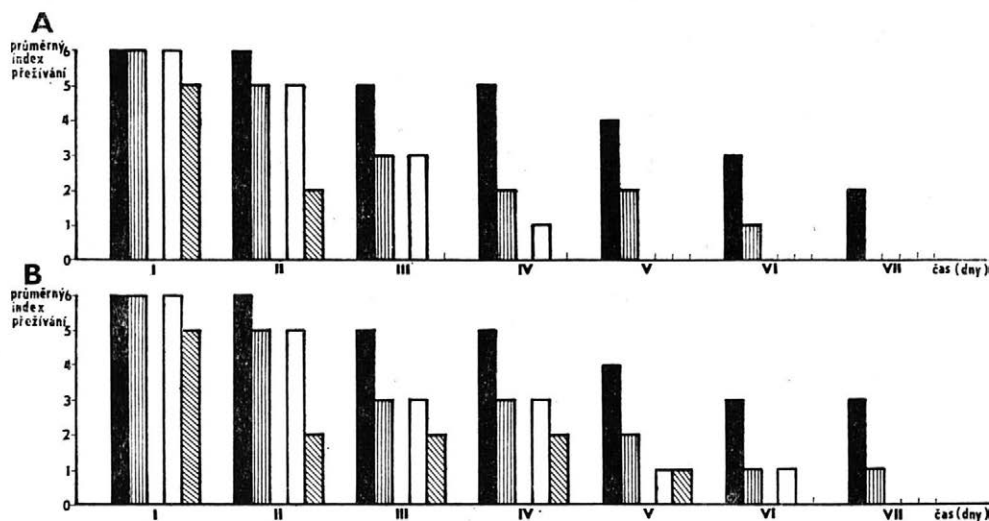
B: with protein error

■ Al - nový

▨ Al - narušený

□ Zn - nový

▧ Zn - narušený



2. Časová závislost přežívání *E. coli* na hliníkovém a pozinkovaném plechu:

A: bez bílkovinné chyby

B: s bílkovinnou chybou

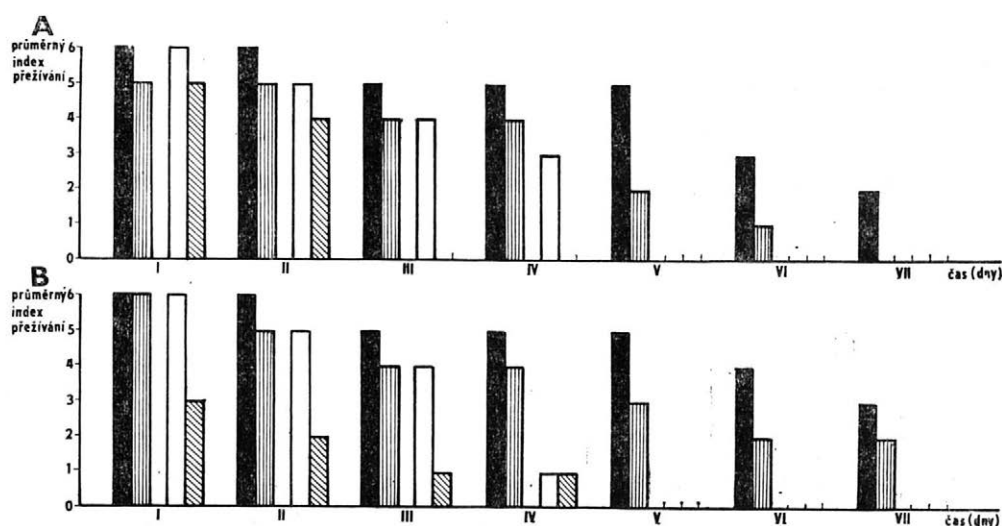
– Time dependence of the survival of *E. coli* on aluminous and on galvanized plate:

A: without any protein error

B: with protein error

Z obr. 1 je zřejmé přežívání *St. aureus*. V horní části grafu A vidíme, že na novém hliníkovém plechu se za sedm dnů sledování nesnížil počet přežívajících mikroorganismů. Na narušeném hliníkovém plechu nastal od šestého dne mírný pokles. Na novém pozinkovaném plechu je patrný mírný pokles počínaje pátým dnem a na narušeném pozinkovaném plechu je pokles zřejmý již od čtvrtého dne a je markantnější. Dolní část grafu B skýtá přibližně stejný obraz.

Přežívání *E. coli* je zřejmé z obr. 2. V části A na novém hliníkovém plechu začíná pokles od třetího dne a během doby sledování nebylo dosaženo nulové hodnoty. Na narušeném hliníkovém plechu začíná pokles již druhý den a nulové hodnoty dosahuje sedmý den. Na novém pozinkovaném plechu začíná pokles od druhého dne a dosahuje nulové hodnoty pátý den. Na narušeném pozinkovaném plechu začíná pokles již při prvním odběru a nulové hodnoty dosahuje již třetí den. V části B se projevuje vliv bílkovinné chyby posunem nulové hodnoty zhruba o dva dny.



3. Časová závislost přežívání salmonel na hliníkovém a pozinkovaném plechu:

A: bez bílkovinné chyby

B: s bílkovinnou chybou

- Time dependence of the survival of salmonellae on aluminous and on galvanized plate: A: without any protein error
B: with protein error

Obr. 3, na kterém je znázorněno přežívání salmonel, je velmi podobný obr. 2.

Z uvedených výsledků je zřejmý výrazný oligodynamický účinek pozinkovaného plechu ve srovnání s plechem hliníkovým; tento účinek se zvyšuje po narušení dezinfekcí. Také na narušeném hliníkovém plechu byl zaznamenán antimikrobiální účinek. Podstatně výrazněji se účinek projevoval na gramnegativní bakterie než na bakterie grampozitivní. Antimikrobiální účinek byl snižován bílkovinnou chybou.

Naše výsledky vysvětlují údaje Kubíčka a Hojovce (1978a, b), kteří zjišťovali nejnížší stupeň kontaminace stájových povrchů laktótopozitivními mikroorganismy v moderních halách pro výkrm prasat před dezinfekcí na hrazení kotců z pozinkovaného materiálu, na kterém se uplatňuje oligodynamický účinek zinku.

Ve shodě s údaji Svobody a Bolka (1972), Stellmacher a aj. (1974) a Sprowlse a Poee (1943) jsme zjistili vyšší oligodynamický účinek na gramnegativní bakterie než na bakterie grampozitivní. Rovněž se nám podařilo potvrdit, že oligodynamický účinek snižuje přítomnost organických látek. Z toho lze pro praxi vyvodit, že oligodynamický účinek kovů se může uplatnit zejména v dobrých zoohygienických podmínkách. Naproti tomu ve znečištěném prostředí se uvedený účinek může snížit.

Vycházíme-li z údajů Kabelíka (1961) a Drgova (1960) o tom, že hliník je inertní materiál, můžeme snižující se přežívání gramnegativních mikroorganismů na tomto materiálu vysvětlit jinými vlivy, např. vysycháním. To však nelze aplikovat na hliník narušený dezinfekcí, na kterém v porovnání s hliníkem nenarušeným se uplatňuje antimikrobiální účinek. Námi zjištěné zvýšení antimikrobiálního účinku na dezinfekci narušeném pozinkovaném plechu a vznikající antimikrobiální účinek na plechu hliníkovém vysvětlujeme silným oxidačním účinkem chloraminu BS, při kterém vznikají antimikrobiálně účinnější kysličníky těchto kovů. Za daných podmínek nelze předpokládat vznik sloučenin chlóru s kovem.

Z našich výsledků vyplývá ve shodě s údaji Svobody a Bolka (1972), že je výhodné využívat oligodynamický účinek pozinkovaného materiálu k výrobě stavebních a technologických zařízení při výstavbě moderních stájových objektů. Nesmíme však zapomenout i na možné komplikace vyplývající z tohoto oligodynamického účinku, jak na ně upozorňuje Kříž (osobní sdělení).

Literatura

- KUBÍČEK, K. — HOJOVEC, J.: Vliv různého množství 2% Chloraminu B na účinnost dezinfekce ve výkrmnách prasat. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978a, s. 449-456.
- KUBÍČEK, K. — HOJOVEC, J.: Vliv různého množství 3% a 5% roztoku Jodonalu A na účinnost dezinfekce ve výkrmnách prasat. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978b, s. 513-520.
- MĚRKA, V. — ERICHLEB, M. — GRUBE, D.: Metallsalze und metallorganische Verbindungen. In: *Handbuch der Desinfektion und Sterilisation*. Band 1. Grundlagen der Desinfektion. Berlin, VEB Verlag Volk und Gesundheit, 1972, s. 178-208.
- RAŠKA, K. aj.: Desinfekce, desinsekce, deratizace. Praha, Státní zdravotnické nakladatelství 1953. 286 s.
- SPROWLS, J. B. — POE, C. F.: Disinfectant powers of certain astringent salts and solutions. *J. Am. pharm. Ass.*, 32, 1943, s. 41-44.
- STELLMACHER, W. — SCHOLZ, K. — PREISSLER, K.: Desinfektion. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1974. 311 s.
- SVOBODA, K. — BOLEK, S. aj.: Dezinfekce a sterilizace v prevenci nozokomiálních nákaz. Praha, Avicenum — Zdrav. nakl. 1972. 263 s.
- VAŠKOV, V. I.: Metody issledovaniya dezinfekcionnyh, dezinsekcionnyh i deratizacionnyh preparatov. Moskva, MEDGIZ 1961. 236 s.

Došlo dne 24. 5. 1979

КУБИЧЕК, К. — ДВОРЖАК, П. — ИВАНСКА, Й. (Институт ветеринарии, Брно): Выживание бактерий на оцинкованном и алюминиевом материале. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 673-678.

Испытывали выживание *St. aureus*, *E. coli* и сальмонел без белковой ошибки и с ней на новой оцинкованной и поврежденной дезинфекцией жести и сравнивали его на новом алюминиевом листе, который считался инертным. Наблюдения с помощью метода оттисков продолжались 7 дней. Рост микроорганизмов определяли индексом их выживания. Доказано заметное олигодинамическое воздействие оцинкованной жести, главное, на грамотрицательные бактерии, которое еще больше усиливается при длительном дезинфицировании жести концентрированным раствором хлорамина BS. Антимикробное действие отмечено также у дезинфицированных алюминиевых листов. На обоих листах это воздействие ослабляла белковая ошибка, вызываемая добавкой кровяной сыворотки в бульонные суспензии.

олигодинамия; грамотрицательные бактерии; грампозитивные бактерии; белковая ошибка

KUBÍČEK, K. — DVOŘÁK, P. — IVANSKÁ, J. (University of Veterinary Medicine, Brno): *The Survival of Bacteria on Galvanized and Aluminous Material*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 673-678.

The survival of *St. aureus*, *E. coli*, and of salmonellae was tested without any protein error and with it on new galvanized and with disinfection disturbed plate and compared with the survival of these microorganisms on new aluminous plate which was considered to be inert. The investigation by means of the impression method lasted for seven days. The growth of the microorganisms was evaluated according to the index of their survival. A distinct oligodynamic effect of the galvanized plate was proved especially on gram-negative bacteria. The effectiveness increased by a disturbing of these plates with a long-term disinfection in a concentrated solution of chloramine BS. An antimicrobial effect was recorded also in aluminous plates disturbed by disinfection. On both kinds of plate the effectiveness was lowered by a protein error — by an adding of blood serum to the broth suspensions.

oligodynamics; gram-negative bacteria; gram-positive bacteria; protein error

KUBÍČEK, K. — DVOŘÁK, P. — IVANSKÁ, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Überleben der Bakterien auf dem verzinkten und Aluminiummaterial*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 673-678.

Wir überprüften das Überleben von *St. aureus*, *E. coli* und *Salmonella* ohne Proteinfehler und mit diesem auf einem neuen verzinkten und durch Desinfektion zerstörten Blech, und wir verglichen die Ergebnisse mit dem Überleben dieser Mikroorganismen auf einem neuen Blech aus Aluminium, welches wir für inert hielten. Die Untersuchung anhand der Abdruckmethode dauerte sieben Tage. Das Wachstum der Mikroorganismen wurde anhand des Indexes ihres Überlebens bewertet. Wir bewiesen eine deutliche oligodynamische Wirkung des verzinkten Blechs vor allem auf die gramnegativen Bakterien. Die Wirkung erhöhte sich durch die Zerstörung dieser Bleche durch eine langfristige Desinfektion in konzentrierter Lösung vom Chloramin BS. Die antimikrobielle Wirkung verzeichneten wir auch bei den Blechen aus Aluminium, die durch die Desinfektion zerstört wurden. Auf beiden Blecharten wurde die Wirkung durch den Proteinfehler herabgesetzt — durch die Zugabe vom Blutserum in die Bouillonsuspensionen.

Oligodynamie; gramnegative Bakterien; grampositive Bakterien; Proteinfehler

Adresa autorů:

MVDr. Karel Kubíček, CSc., MVDr. P. Dvořák, MVDr. J. Ivanská, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 41 Brno

ULTRAŠTRUKTÚRA DVOJITÝCH A VIACPOČETNÝCH BIČÍKOV SPERMIÍ KÁČERA

M. Marett

MARETT, M. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Ultraštruktúra dvojitých a viacpočetných bičíkov spermii káčera*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 679-689.

Sledovali sme stavbu dvojitých a viacpočetných bičíkov spermii káčera. U spermii s týmto defektom sme pozorovali prítomnosť jednej alebo dvoch implantančných jamiek na hlavičke spermie s jedným alebo dvoma proximálnymi centriolmi zasadenými do rozšírenej bázy jadra. Stavba proximálnych centriolov bola často narušená. Distálne centrioly boli uložené samostatne bez výrazného tvarového či štrukturálneho narušenia. Mitochondriálna pošva bola vytvorená okolo obidvoch, prípadne viacerých bičíkov, pričom medzi bičíkmi bol prítomný obyčajne iba jeden rad mitochondrií. Krúžok vykazoval tvarové defekty a zmeny v uložení. Amorfná pošva bola vytvorená okolo každého bičika osobitne bez výrazných defektov. Ojedinele boli zaznamenané nepatrné zmeny v usporiadaní fibril axiálneho zväzku.

abnormálne spermie; dvojité a viacpočetné bičíky; elektrónová mikroskopia; káčer

Bičík spermie cicavcov ako aj hydiny je vzhľadom na bohatosť štruktúr, ktoré ho tvoria, vhodným miestom pre vznik anomálií. Pri spermiiach cicavcov boli opísané početné defekty v stavbe bičika, pričom bol nimi postihovaný krčok, stredný oddiel, hlavný oddiel i koncový oddiel. Mnohé z defektov uvedených častí spermii boli pozorované pri spermiiach s dvojitými alebo viacerými bičíkmi a boli zaznamenané u viacerých druhov zvierat. U dvojjaderných spermatíd, diploidných spermii a u spermii s viacpočetnými hlavičkami ich zaznamenali u cicavcov Matano (1971), Hunt a Johnson (1971), Kojima (1973), Kojima a i. (1974), Zibrín (1978). U iných typov abnormálnych spermii zaznamenali prítomnosť dvojitých bičíkov Aughey a Renton (1971), Fujita a i. (1972), Bisson a i. (1975), David a i. (1975). U hydiny sme sa s opisom dvojitých a viacpočetných bičíkov nestretli. Niektoré aspekty deformácie niektorých štruktúr bičika zahrňujúcich aj výskyt dvojitých bičíkov boli u tohoto druhu opísané v našom predchádzajúcom príspevku (Marett, 1975b).

MATERIÁL A METÓDY

Semená sme získavali od troch dospelých káčerov masážou, alebo zo semenovodu po ich usmrtení. Časť semena sme použili na posúdenie pohyblivosti a kon-

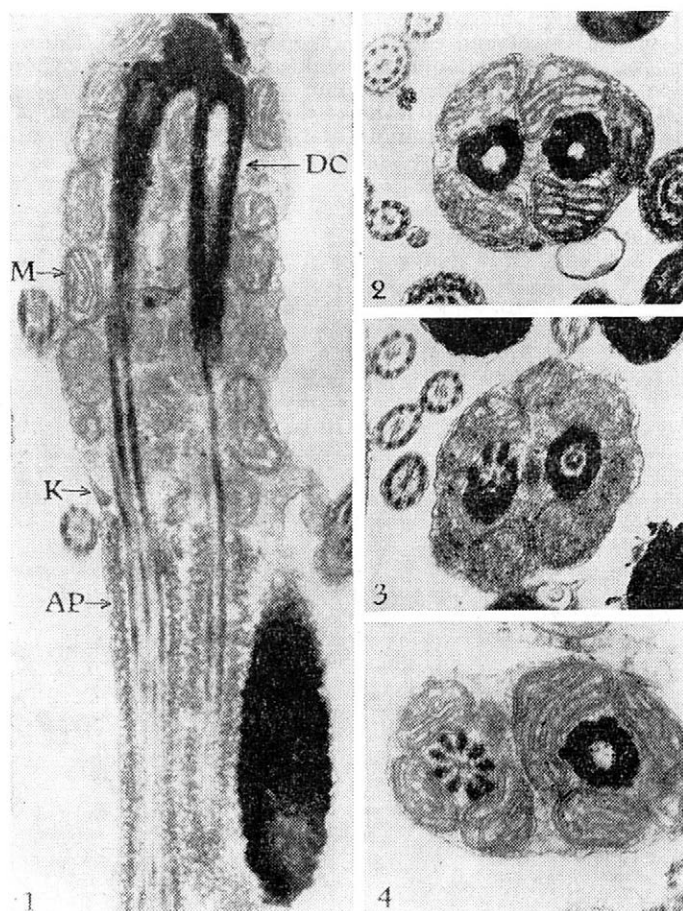
centrácie spermií a na zhotovenie náterov, časť sme spracovali pre elektrónmikroskopické štúdium. Semeno sme spracovávali podľa metódy Birch — Andersena a Bloma (1963). Pre fixáciu sme použili 3% glutaraldehyd a 1% kyslíčník osmičelý (OsO_4) vo fosfátovom pufri, pH 7,4. Fixovaný materiál sme odvodnili v stúpačkom rade acetónu, resp. alkoholu a zaliali do Durcupanu ACM a Eponu 812 (Luft, 1961). Ultratenké rezy sme získavali na ultramikrotóme BS 490 A a ofarbili uranylacetátom a citrátom slova (Reynolds, 1963). Získané rezy sme prehládali v elektrónovom mikroskope Tesla BS 613.

VÝSLEDKY

Nálezy tvarových a štrukturálnych abnormalít bičíka, ktoré sme zistili a ktorých časť tu prezentujeme, boli pozorované v semene zdravých káčerov používaných v prirodzenej plemenitbe. Semeno svetelnomikroskopicky vykazovalo normálne hodnoty motility a koncentrácie.

Počet bičíkov zahrnutých do jednej spoločnej cytoplazmatickej membrány sa u defektných spermií pohyboval od dvoch do štyroch, pričom najčastejšie sme pozorovali spermie s dvojitémi bičíkmi, spermie s trojitými bičíkmi zriedkavejšie a spermie s viacerými bičíkmi len ojedinele. Bičíky pritom obsahovali buď všetky neporušené štruktúry, alebo vykazovali známky čiastočného tvarového alebo štrukturálneho poškodenia, a to u jedného, prípadne u viacerých bičíkov. Najčastejšie postihovanou oblasťou, kde sme pozorovali zmeny na štruktúrach, bol krčok a mitochondriálna pošva, kým ostatné štruktúry bičíka, ako amorfná pošva a axiálny zväzok fibríl, boli zmenami postihované v menšej miere. Spôsob skĺbenia bičíka s hlavičkou u spermií s dvoma a viacerými bičíkmi býva rôzny. Obyčajne je vytvorená jedna kĺbna jamka, do ktorej je zasadený iba jeden tvarove zmenený proximálny centriol (obr. 1, 6, 8). Zmenou nebýva postihnutý iba samotný proximálny centriol, ale aj elektrónopticky hustý materiál, ktorý ho obklopuje. Táto zmena sa prejavuje najmä v jeho nepravidelnej lokalizácii a v zmene jeho množstva v porovnaní s normálnym výskytom. V niektorých prípadoch sme pozorovali prítomnosť dvoch kĺbnych jamiek, do ktorých boli zasadené dva proximálne centrioly, uložené paralelne vedľa seba (obr. 5). Hlavička spermie býva v takýchto prípadoch v mieste priloženia proximálnych centriolov čiastočne rozšírená. Na proximálny centriol sa napájajú dva distálne centrioly, ktoré sú s ním pevne spojené elektrónopticky hustým materiálom. Vo všeobecnosti sme pozorovali prítomnosť dvoch distálnych centriolov, a to aj v prípade výskytu iba jedného proximálneho centriolu. Distálne centrioly na rozdiel od proximálneho centriolu vykazovali len minimálne zmeny, ktoré sa prejavovali menšou nepravidelnosťou v hrúbke ich steny, prípadne v rozdielnom množstve materiálu vyplňujúceho ich lúmen (obr. 1, 8).

Zmeny na mitochondriálnej pošve majú charakter tvarových a štrukturálnych zmien mitochondrií, ktorých rozsah závisí od priestorových možností. Okrem mitochondrií s normálnym tvarom sme u dvojitéch a viacpočetných bičíkov pozorovali aj mitochondrie okrúhleho, alebo inak nepravidelného tvaru (obr. 1—7). Priebeh mitochondriálnych kríst bol však vždy v smere dlhšej osi mitochondrie. U niektorých mitochondrií sme pozorovali náznaky, alebo ojedinele aj značné prejavy degeneratívnych zmien spojených so stratou mitochondriálnych kríst (obr. 3, 6, 8, 12). Mitochondrie boli pritom uložené okolo každého distálneho

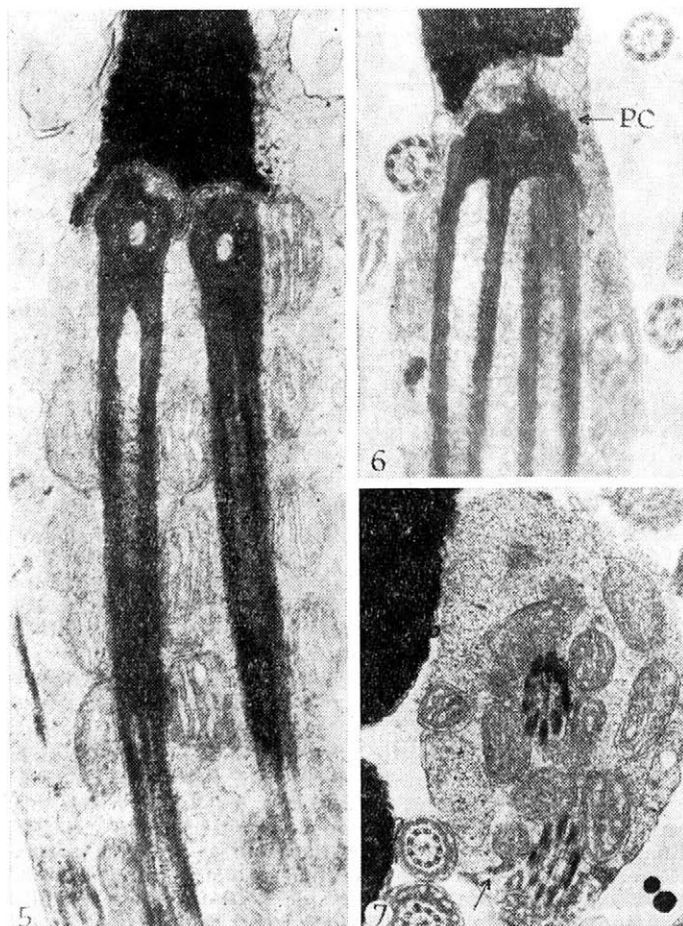


1. Pozdĺžny prierez dvojítym bičíkom spermie. Obidva distálne centrioly (DC) sú spojené s jedným proximálnym centriolom. Mitochondrie (M) sú uložené takmer pravidelne z vonkajšej strany distálnych centriolov. Jensenov krúžok (K) je na bičíku vľavo tvarovo deformovaný a čiastočne dislokovaný; na bičíku vpravo je nezreteľný. Amorfná pošva (AP) je prítomná u oboch bičíkov. Zväčšenie 36 050 $\times$ — A longitudinal cross-section of a double flagellum of the spermatozoon. Both distal centrioles (DC) are linked with one proximal centriole. The mitochondria (M) are deposited almost regularly from the outer side of the distal centrioles. Jensen's ring (K) on the flagellum on the left shows a deformed shape and it is partly dislocated, on the flagellum on the right it is indistinct. The amorphous sheath (AP) is present in both flagella. Enlargement 36 050 $\times$

2. Priechy prierez dvojítym bičíkom spermie na úrovni stredného oddielu. Stena distálnych centriolov je nepravidelne hrubá. Mitochondrie sú oválneho i nepravidelného tvaru so zachovaním vnútornej stavby. Zväčšenie 36 050 $\times$ — A cross-section of a double flagellum of the spermatozoon on the level of the central section. The wall of the distal centrioles is irregularly coarse. The mitochondria are of an oval and also irregular shape with a retention of the internal structure. Enlargement 36 050 $\times$

3. Priechy prierez dvojítym bičíkom spermie na úrovni stredného oddielu a prechodu distálneho centriolu do axiálneho zväzku fibríl. Vnútroštruktúra mitochondrií je značne narušená. Zväčšenie 30 750 $\times$ — A cross-section of a double flagellum of the spermatozoon on the level of the central section and of the transition of the distal centriole into the axial bundle of fibrils. The internal structure of the mitochondria has been disturbed considerably. Enlargement 30 750 $\times$

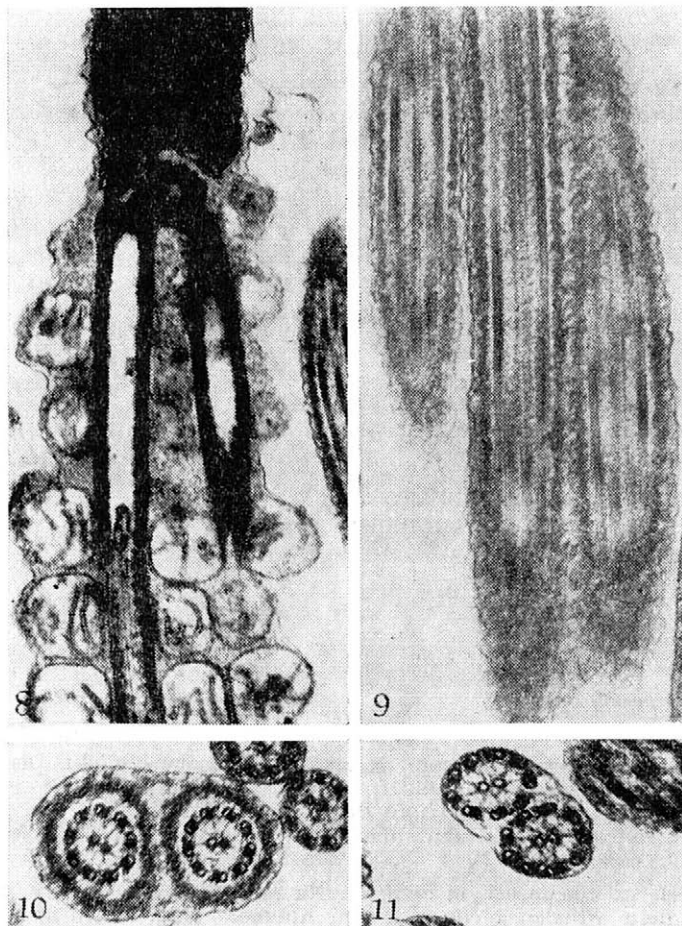
4. Priečný prierez dvojitém bičíkom na úrovni stredného oddielu. Jeden z bičíkov je zachytený na úrovni distálneho centriolu (vpravo), druhý už na úrovni axiálneho zväzku fibril (vľavo). Stavba prítomných štruktúr je zachovaná. Zväčšenie 53 375X — A cross-section through a double flagellum on the level of the central section. One of the flagella is located on the level of the distal centriole (on the right), and the other on the level of the axial bundle of fibrils (on the left). The present structures has been retained. Enlargement 53 375X



5. Pozdĺžny prierez dvojitém bičíkom spermie. V zadnej časti hlavičky sú vytvorené dve implantačné jamky, v ktorých sú uložené dva proximálne centrioly. Mitochondrie sú prítomné tak z vonkajšej, ako aj z vnútornej strany distálnych centriolov. Zväčšenie 41 250X — A longitudinal section through a double flagellum of the spermatozoon. In the rear of the head two implantation pits are formed, in which two proximal centrioles are deposited. Mitochondria are present both from the external and from the internal side of the distal centrioles. Enlargement 41 250X

6. Pozdĺžny prierez proximálnym úsekom stredného oddielu. Distálne centrioly sú spojené s jedným proximálnym centriolom (PC). V priestore medzi centriolmi a na niektorých miestach i z vonkajšej strany chýbajú mitochondrie. Zväčšenie 51 500X — A longitudinal section through the proximal section of the central part. The distal centrioles are linked with one proximal centriole (PC). In the space between the centrioles and at some places also from the external side there are no mitochondria. Enlargement 51 000X

7. Šikmý prierez kaudálnym úsekom strednými oddielmi bičíka. Časť mitochondrií je lokalizovaná pri axiálnom zväzku fibríl. Časť sa nachádza v cytoplazme v tesnej blízkosti. Jensenov krúžok je zľava tvarove deformovaný a čiastočne dislokovaný (šípka). Zväčšenie 36 900× — An oblique section through the caudal section of the central parts of the flagellum. A part of the mitochondria is localized near the axial bundle of fibrils. A part is located in the cytoplasm in close vicinity. Jensen's ring is deformed from the left side and partly dislocated (arrow). Enlargement 36 900×

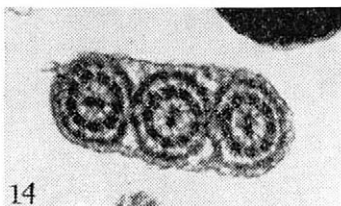
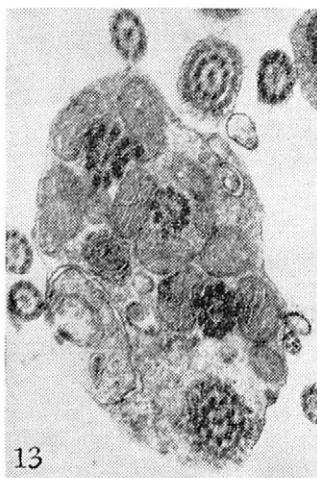


8. Pozdĺžny prierez kaudálnym úsekom hlavičky a stredným oddielom bičíka. Proximálny centriol je značne deformovaný a je nepravideľne uložený v artikulačnej jamke hlavičky. Prítomné mitochondrie sú značne deformované a štrukturálne narušené. Zväčšenie 36 900× — A longitudinal section through the caudal section of the head and through the central part of the flagellum. The proximal centriole is strongly deformed and it is irregularly deposited in the articulation pit of the head. The present mitochondria are strongly deformed and structurally disturbed. Enlargement 36 900×

9. Pozdĺžny prierez dvojitém bičíkom na úrovni hlavného oddielu. Amorfná pošva a axiálny zväzok fibríl nejavia známky deformácie. Zväčšenie 36 900× — A longitudinal section through a double flagellum at the level of the principal section. The amorphous sheath and the axial bundle of fibrils show no signs of deformation. Enlargement 36 900×

10. Priechý prierez dvojitém bičíkom na úrovni hlavného oddielu. Amorfná pošva je zachovaná okolo oboch bičíkov. Axiálny zväzok fibríl je neporušený. Zväčšenie 68 800× — A cross-section through a double flagellum at the level of the principal section. The amorphous sheath is preserved around both flagella. The axial bundle of fibrils is undisturbed. Enlargement 68 800×

11. Priechý prierez dvojitém bičíkom na úrovni koncového oddielu. Obe bičíky sú zachované bez štrukturálneho narušenia. Zväčšenie 68 800× — A cross-section through a double flagellum on the level of the terminal section. Both flagella are preserved without any structural disturbance. Enlargement 68 800×



12. Priechý prierez trojitým bičíkom na úrovni stredného oddielu. Distálne centrioly nejavia známky výrazného narušenia rovnako ako prítomné mitochondrie. Zväčšenie 49 200× — A cross-section of a triple flagellum on the level of the central section. The distal centrioles show no signs of distinct disturbance unlike the present mitochondria. Enlargement 49 200×

13. Priechý prierez viacpočetným bičíkom. Na reze sú zachytené tri bičíky v úrovni stredného oddielu a jeden bičík v úrovni hlavného oddielu. Mitochondriálne pošvy vykazujú nepravidelnosti v usporiadaní mitochondrií. Zväčšenie 30 750× — A cross-section through a multiple flagellum. The section shows three flagella on the level of the central section and one flagellum on the level of the principal section. The mitochondrial sheaths show irregularities in the arrangement of the mitochondria. Enlargement 30 750×

14. Priechý prierez trojitým bičíkom na úrovni hlavného oddielu. Amorfná pošva je v mieste medzi jednotlivými bičíkmi narušená. Zväčšenie 47 950× — A cross-section through a triple flagellum on the level of the principal section. The amorphous sheath is disturbed at the place between the flagella. Enlargement 47 950×

15. Priechý prierez trojitým bičíkom na úrovni posledného úseku hlavného oddielu. Amorfná pošva vytvára nesúvislý prstenec. Axiálny zväzok fibríl je zachovaný. Zväčšenie 47 950× — A cross-section through a triple flagellum on the level of the terminal section of the principal part. The amorphous sheath forms an incoherent ring. The axial bundle of fibrils is preserved. Enlargement 47 500×.

centriolu, resp. časti axiálnych fibríl, alebo na niektorom úseku chýbali. Neprítomnosť mitochondrií bola zvyčajne pozorovaná v mieste medzi distálnymi centriolmi (obr. 2, 3). Na priečných rezoch dvojíťmi a viacpočetnými bičíkmi v oblasti stredného oddielu sme u niektorých spermíí pozorovali, že v mieste, kde sa bičíky k sebe prikladajú, bol prítomný spravidla iba jeden rad mitochondrií spoločný pre dva alebo viaceré susediace bičíky (obr. 4, 5, 12). Počet bičíkov s takýmto rozložením mitochondrií prevládal nad bičíkmi, kde mitochondrie na týchto miestach chýbali, resp. nad bičíkmi, kde okolo každého distálneho centriolu boli vytvorené kompletne mitochondriálne pošvy.

Priebeh a dĺžka stredných oddielov u jednotlivých bičíkov býva spravidla rovnaká. Rozdielna dĺžka tohoto oddielu u jednotlivých bičíkov bola pozorovaná len ojedinele, čo sa prejavuje prítomnosťou rôznych častí bičíka na priečných prierezoch dvojíťmi či viacpočetnými bičíkmi. Táto rozdielnosť dĺžky stredného oddielu môže byť spôsobená rozdielnou dĺžkou distálneho centriolu, alebo, čo je najpravdepodobnejšie, rozdielnym počtom mitochondrií, zahrnutých do mitochondriálnej pošvy. U viacpočetných bičíkov s párnym počtom je dĺžka stredného oddielu buď rovnaká u všetkých bičíkov, alebo je párove rozdielna.

Jensenov krúžok býva zmenami postihovaný zhodne s mitochondriálnou pošvou, najmä u tých bičíkov, kde sa v mieste jeho výskytu nachádza časť cytoplazmy. Obyčajne býva postihovaný iba tvar krúžku, ktorý sa mení z pôvodne trojuholníkovitého tvaru u normálnych spermíí na nepravidelne sploštený tvar s hrotom smerujúcim mimo centra bičíka. V niektorých prípadoch Jensenov krúžok chýbal, alebo bol dislokovaný mimo miesta normálneho uloženia.

Amorfná pošva hlavného oddielu bičíka spermie býva postihovaná len ojedinele; prejavuje sa to v jej neprítomnosti na niektorom úseku, resp. nepravidelnosťou jej steny (obr. 14, 15). Amorfná pošva chýbala obyčajne iba v poslednom úseku hlavného oddielu, čo však u normálnych spermíí možno považovať aj za bežný jav.

Axiálny zväzok fibríl je, rovnako ako amorfná pošva, málo postihovanou štruktúrou u dvojíťch a viacpočetných bičíkov, kde sme ojedinele pozorovali zmeny v počte a usporiadaní fibríl. Zmeny v usporiadaní fibríl sme zaznamenali u axoném zachytených na rezoch tak hlavným, ako aj koncovým oddielom a postihujú predovšetkým vonkajšie duplety. Neprítomnosť fibríl je nálezom zriedkavejším a postihuje obyčajne iba vonkajšie duplety. Zmeny v stavbe axiálneho zväzku fibríl v úseku stredného oddielu sme nepozorovali.

Len malá časť viacpočetných bičíkov spermíí je obdarená menším množstvom cytoplazmy, v ktorej sa nachádza jemne granulárny materiál alebo dislokované rôzne štruktúry bičíka, ako sú mitochondrie a axiálne fibrily, prípadne iné obyčajne vezikulárne útvary.

DISKUSIA

Prítomnosť dvojíťch a viacpočetných bičíkov na priečných rezoch v elektrónmikroskopických pozorovaniach možno prisúdiť viacerým anomáliám spermíí, ktoré majú odlišný pôvod. Na základe našich pozorovaní, ako aj pozorovaní iných autorov možno výskyt dvojíťch a viac-

početných bičíkov považovať za sprievodný jav diploidných spermíí, ale možno ich prisúdiť aj ďalším abnormalitám spermíí. Beatty a Fecheimer (1972) zaznamenali u diploidných spermíí potkana prítomnosť čiastočného alebo úplného zdvojenia bičíkov, resp. prítomnosť troch bičíkov u 37 % diploidných spermíí. Prítomnosť dvoch bičíkov u diploidných spermíí býka pripúšťa aj Zibrín (1978). Vychádzajúc z pozorovaní uvedených autorov možno teda prítomnosť dvojitého a trojitých bičíkov prisúdiť diploidným spermíám, a to aj napriek pozorovaniam Gledhilla (1975), ktorý u diploidných spermíí býka pozoroval iba jedno centriolárne teliesko, jeden bičík a jeden akrozóm.

Mnohé zo zmien, ktoré sme u dvojitého prípadne viacpočetných bičíkov pozorovali, sa lokalizovali predovšetkým na spojovaciu oblasť bičíka s hlavičkou a na stredný oddiel. Naše nálezy sú zhodné s nálezmi zaznamenanými u dvojjaderných spermatíd človeka, kde boli zaznamenané dve spojovacie časti bičíka priložené k jednej implantačnej platničke na povrchu jadra (Matano, 1971). Aughey a Renton (1971) naproti tomu pozorovali u abnormálnych spermíí psa výskyt dvojitého bičíkov s dvoma implantačnými jamkami, ktoré boli doprevádzané zmenami na mitochondriálnej pošve v dôsledku prítomnosti časti cytoplazmy. Okrem toho autori pozorovali aj výskyt sekundárnych elementov v oblasti hlavného oddielu spermie. Duplikáciu bičíkov u spermíí človeka pozorovali i Fujita a i. (1972), Bisson a i. (1975), David a i. (1975). Mitochondriálna pošva tak v našom materiáli, ako aj v materiáli uvedených autorov bola spravidla vyvinutá, aj keď často deformovaná. Čiastočný vývin mitochondriálnej pošvy bol na druhej strane zaznamenaný u viacpočetných bičíkov obalených do jednej cytoplazmatickej membrány u tzv. „gigant“ spermíí u sterilných mutantov myši (Hunt a Johnson, 1971).

Tvar mitochondrií je u dvojitého a viacpočetných bičíkov ovplyvňovaný priestorovými možnosťami v mieste ich uloženia a často sa odlišuje od tvaru sploštených platničiek opísaných u normálnych spermíí kohúta (Lake a i., 1968) a káčera (Maretta, 1975a).

Zmeny na Jensenovom krúžku sú charakteristické najmä zmenou jeho tvaru a lokalizácie. Pozorovali sme ich spravidla vtedy, keď v tomto úseku bola prítomná časť cytoplazmy. Podobný nález možno vidieť aj u abnormálnych spermíí človeka (Fujita a i., 1972). Stavba hlavného a koncového oddielu bičíka tak u spermíí cicavcov, ako aj u nami študovaných spermíí bola postihovaná veľmi zriedka.

Dvojité a viacpočetné bičíky sú niekedy doprevádzané aj prítomnosťou časti zadržanej cytoplazmy na niektorom úseku bičíka, spravidla na strednom oddieli, a to najmä vtedy, keď hlavička spermie vykazuje tvarové úchytky. Tento nález je spoločný pre spermie cicavcov aj pre spermie hydiny. Fujita a i. (1972) pozorovali u abnormálnych spermíí človeka zmeny v uložení krúžku, ktorý bol aj mimo miesta ukončenia mitochondriálnej pošvy v dôsledku posunutia cytoplazmatickej kvapky do zadnejšej oblasti, než je stredný oddiel. Takéto premiestnenie krúžku u spermíí káčera sme pozorovali veľmi zriedkavo. Zmena miesta uloženia krúžku je však spravidla doprevádzaná aj zmenou jeho tvaru.

Prítomnosť dvoch a viacerých bičíkov obalených do jednej cytoplazmatickej membrány so zmenou v stavbe niektorých štruktúr bola pozorovaná u spermíí s prudkým otočením bičíka u viacerých druhov

cicavcov (Pedersen a i., 1971; Duijn a Geuze, 1972; Chenoweth a i., 1970; Koefoed-Johnsen a Pedersen, 1971; Kojima, 1975; Kojima a i., 1969; Pedersen a Lebech, 1971). Výskyt spermií s otočením bičíka bol pozorovaný aj u spermií hydiny. Pôvod tohoto defektu u hydiny je však spravidla iný než u cicavcov, čo vyplýva z odlišnej anatomickej stavby pohlavných ciest, ale aj z odlišného chovania sa spermií v podmienkach *in vitro*.

Hoci existujú aj niektoré spoločné znaky medzi abnormalitami označovanými ako „dag“ defekt u spermií cicavcov a inými abnormalitami sprevádzanými viacnásobným otočením bičíka a našimi pozorovaniami, možno prítomnosť dvojitých a trojitých bičíkov u káčera považovať za primárne zmeny, ktoré sú vlastné predovšetkým diploidným spermiám. Potvrdzujú to pozdĺžne prierezy dvojitých bičíkov už od miesta artikulácie bičíka s hlavičkou a zistenia o prítomnosti dvoch, resp. troch bičíkov u diploidných spermií potkana (Beatty a Fechheimer, 1972). Tým ale nevylučujeme možnosť výskytu abnormalít doprevádzaných prítomnosťou viacerých bičíkov a abnormalít, ktoré sú doprevádzané otočením bičíka, tak ako boli pozorované u spermií cicavcov.

Literatúra

- AUGHEY, E. — RENTON, J. P.: The ultrastructure of abnormal spermatozoa in a stud dog. *J. Reprod. Fert.*, 25, 1971, s. 303-304.
- BEATTY, R. A. — FECHHEIMER, N. S.: Diploid spermatozoa in rabbit semen and their experimental separation from haploid spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 7, 1972, s. 267-277.
- BIRCH-ANDERSEN, A. — BLOM, E.: Concentrating ejaculated sperm for electron microscopy. *Nature*, 199, 1963, s. 199-201.
- BISSON, J. P. — DAVID, G. — MAGNIN, C.: Etude ultrastructurale des anomalies de l'acrosome dans les spermatozoïdes a tete irreguliere. *Bull. Ass. Anat., Paris*, 59, 1975, s. 345-356.
- DAVID, G. — BISSON, J. P. — CZYGLIK, F. — JOUANNET, P. — GERNIGON, C.: Anomalies morphologiques du spermatozoïde humain. *J. Gyn. Obst. Biol. Repr.*, 4, (suppl. 1), 1975, s. 1-85.
- DUIJN, van C. J. — GEUZE, J. J.: Ultrastructural mid-piece defects in spermatozoa from the subfertile Great Yorkshire boar "Ard". In: VIIth Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. München, 1972, s. 469-473.
- FUJITA, T. — MIYOSHI, M. — TOKUNAGA, J.: Scanning and transmission electron microscopy of human ejaculate spermatozoa with special reference to their abnormal forms. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.*, 105, 1972, s. 483-497.
- GLEDHILL, B. L.: Cytophotometry of presumed diploid bull spermatozoa. *Nord. VetMed.*, 17, 1975, s. 328-335.
- HUNT, D. M. — JOHNSON, D. R.: Abnormal spermatogenesis in two pink-eyed sterile mutants in the mouse. *J. Embryol. exp. Morphol.*, 26, 1971, s. 111-121.
- CHENOWETH, P. J. — PASCOE, R. R. — McDOUGALL, H. L. — McCOOSKER, P. J.: Abnormality of the spermatozoa of a stallion (*Equus caballus*). *Br. vet. J.*, 126, 1970, s. 476-481.
- KOEFOED-JOHNSEN, H. H. — PEDERSEN, H.: Further observations on the dag-defect of the tail of the bull spermatozoon. *J. Reprod. Fert.*, 26, 1971, s. 77-83.
- KOJIMA, I.: Boar spermatozoa with multiple heads. *J. Reprod. Fert.*, 35, 1973, s. 537-539.
- KOJIMA, Y.: Fine structure of boar semen abnormality: hairpin curved semen. *J. Electron Microsc.*, Tokyo, 24, 1975, s. 167-169.
- KOJIMA, Y. — ISHIKAWA, T. — MIFUNE, Y.: Etude morphologique sur le spermatozoïde anormal de taureau au microscope electronique. *Jap. J. vet. Res.*, 17, 1969, s. 97-104.
- KOJIMA, Y. — KINOSHITA, Y. — FUKUDA, M.: Multiple headed spermatozoa in the boar testes. *Jap. J. vet. Sci.*, 36, 1974, s. 363-374.

LAKE, P. E. — SMITH, V. — YOUNG, D.: The ultrastructure of the ejaculated fowl spermatozoon. Q. J. exp. Physiol., 53, 1968, s. 356-366.

LUFT, J. H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. J. biophys. biochem. Cytol., 9, 1961, s. 409-414.

MARETTA, M.: The ultrastructure of the spermatozoon of the drake. Acta vet. hung., 25, 1975a, s. 53-60.

MARETTA, M.: Structural abnormalities in the middle piece of the drake's spermatozoon tail. Acta vet. hung., 25, 1975b, s. 245-250.

MATANO, Y.: Ultrastructural study on human binucleate spermatids. J. Ultrastruct. Res., 34, 1971, s. 123-134.

PEDERSEN, H. — LEBECH, P. E.: Ultrastructural changes in the human spermatozoon after freezing for artificial insemination. Fert. Steril., 22, 1971, s. 125-133.

PEDERSEN, H. — REBBE, H. — HAMMEN, R.: Human sperm fine structure in a case of severe asthenospermia necro-spermia. Fert. Steril., 22, 1971, s. 156-164.

REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol., 17, 1963, s. 208-212.

ZIBRÍN, M.: Abnormálne spermie — jedna z príčin polyploidie? Vet. Med., Praha, 23, 1978, s. 55-62.

Došlo dňa 1. 12. 1978

MARETTA, M. (Institut veterinární, Košice): Ультраструктура двоянних и многочислен-
ных жгутиков спермиев селезня. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 679-689.

Определяли строительство двоянних и многочисленных жгутиков в спермиях селезня. У спермиев с этим дефектом отмечено присутствие одной или более имплантированных ямок на головке сперматозоида с одной или двумя проксимальными центриолами, помещенными в расширенном основании ядра. Строение этих центриолов нередко расстроено. Дистальные центриолы находятся самостоятельно, без заметных нарушений форм или структуры. Митохондриальное влагалище образовано вокруг упомянутых жгутиков, причем между ними находится, как правило, лишь один ряд митохондрий. Кругок отличается деформациями и изменениями в положении. Аморфное влагалище образовано вокруг каждого жгутика в отдельности и не отличается заметными дефектами. В отдельных случаях отмечены слабые изменения в упорядочении фибрилл аксиального пучка.

абнормальные спермии; двоянние и многочисленные жгутики; электронмикроскопия; селе-
зень

MARETTA, M. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Ultrastructure of Double and Multiple Flagella of the Spermatozoa of a Drake*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 679-689.

The structure of double and multiple flagella of the spermatozoa of a drake was investigated. In spermatozoa with this defect one or two implantation pits were observed in the head of the spermatozoon with one or two proximal centrioles situated in the extended base of the nucleus. The structure of the proximal centrioles was frequently disturbed. Distal centrioles were placed separately without any marked figural or structural disturbance. The mitochondrial sheath was formed around both or more flagella, and between the flagella only one line of mitochondria was usually found. The ring showed defects in shape and changes in the deposition. An amorphous sheath was formed around each flagellum separately without any marked defects. In single cases insignificant changes were recorded in the arrangement of fibrils of the axial bundle.

abnormal spermatozoa; double and multiple flagella; electron microscopy; drake

MARETTA, M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Ultrastruktur der Doppel- und mehrzähligen Geißeln bei den Gänserichspermien*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 679-689.

Wir untersuchten den Aufbau der Doppel- und mehrzähligen Geißeln bei den Gänserichspermien. Bei den Spermien mit diesem Defekt beobachteten wir

das Auftreten von einer oder von zwei Implantationsgruben auf dem Spermienkopf mit einem oder mit zwei proximalen Zentriolen, die in der verbreiteten Basis des Kerns eingesetzt sind. Der Aufbau der proximalen Zentriolen war oftmals zerstört. Die distalen Zentriolen wurden einzeln ohne eine deutliche Zerstörung der Gestalt oder der Struktur gelagert. Die mitochondriale Scheide wurde ohne beide, bzw. mehrere Geißeln gebildet, wobei zwischen den Geißeln gewöhnlich nur eine Reihe der Mitochondrien anwesend war. Der Ring wies Defekte der Gestalt und Veränderungen hinsichtlich der Lagerung auf. Die amorphe Scheide wurde ringsum jede Geißel ohne deutliche Defekte gebildet. Vereinzelt wurden undeutliche Veränderungen der Anordnung der Fibrillen des axialen Bundes verzeichnet.

abnormale Spermien; Doppel- und mehrzählige Geißeln; Elektronenmikroskopie; Gänserich

Adresa autora:

MVDr. Milan Mareta, CSc., Vysoká škola veterinárska. Komenského 73, 041 81 Košice

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

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

NEELY, H. J.

C 23.512/1978/28

Brucellosis, the disease.

Toronto (Ontario), Ministry of agric. and food 1978. 2 s. Factsheet 78/28. (Brucelóza — hospodářská zvířata)

NEELY, H. J.

C 23.512/1978/42

Brucellosis — freelisted herds.

Toronto (Ontario), Ministry of agric. and food 1978. 2 s. Factsheet 42. (Brucelóza — skot — kontrola stáda)

OLIVER, P. G. — MARTIN, S. J.

C 23.512/1978/71

Colibacillosis of swine. (E. coli diarrhea, white scours).

Toronto (Ontario), Ministry of agric. and food 1978. 2 s. Factsheet 78-071. (*Escherichia coli* — prase — nemoci střevní — ochrana a léčení)

C 4.159/1631

Aujeszky's disease pseudo-rabies.

Ottawa, Canada Department of agric. 1977. Nestr. Publication 1631. (Nemoci virové — prase — Aujeszského nemoc)

WISE, W. E. — SWERCZEK, T. W.

D 61.393/19

Pseudorabies Aujeszky's disease.

Lexington (Kentucky), College of agric. 1977. Nestr. VET-19. (Nemoci virové — prase — Aujeszského nemoc / Aujeszského nemoc — prase — prevence a léčení)

OSTERHAUS, A. D. M. E.

D 51.973/94

Feline infections peritonitis virus identification, propagation and epidemiology.

Utrecht, Drukkerij public. B. V. 1978. 122 s., obr., tab., grafy. (FIP virus — vlastnosti — výzkum — Holandsko / Kočka — nemoci virové — zánet pobřišnice — výzkum — Holandsko)

POUŽITÍ SELEKTIVNÍHO SULFITREDUKČNÍHO MÉDIA PRO IZOLACI *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

S. Konečný, V. Míčková

KONEČNÝ, S. – MÍČKOVÁ, V.: (Státní veterinární ústav, Ostrava): *Použití selektivního sulfitredukčního média pro izolaci Clostridium perfringens*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 691-697.

Prověřili jsme schopnost sulfitredukce u 33 sbírkových bakteriálních kmenů. Vzhledem ke schopnosti redukovat sulfit v modifikovaných sulfitredukčních půdách u široké škály bakteriálních kmenů byla prověřena možnost použití selektivních médií s přísadkou různých koncentrací roztoků antibiotik. Koncentrace 750 µg D-cykloserinu na 1 ml sulfitredukčního média se jevila jako nejvhodnější pro izolaci a detekci sulfitredukčních klostridií, především *Clostridium perfringens*. Tato koncentrace zajišťovala také dostatečnou inhibici nežádoucích bakterií, aniž by ovlivnila růst a schopnost *Clostridium perfringens* redukovat sulfit v použitém médiu.

sulfitredukce; klostridia; selektivní živné půdy; D-cykloserin

Při detekci klostridií se začalo využívat, především v potravinářské mikrobiologii, jejich schopnosti redukovat sulfid v kultivačních médiích. Podle Zaadhofa a Terplana (1967) je 96 % všech klostridií schopno sulfitredukce.

Všechny půdy pracující na principu sulfitredukce mají společnou bázi. Ke vhodné živné půdě se přidá sulfit pro redukci v množství 0,05 % a sloučenina trojmocného železa s vysokou disociační konstantou. Převážně je doporučován citrát železitý nebo síran železitoamonný v koncentraci 0,05 %. Klostridia redukují sulfit za tvorby nepatrného množství sirovodíku, který reaguje s přítomným železem na sírník železa, takže rostoucí kolonie zabarvují okolí média černě (Mosel, 1964 – cit. Zaadhof a Terplan, 1967; Sinell a Levetzow, 1967; Takacz a Narayan, 1965).

V roce 1959 připravil Mossel (cit. Zaadhof a Terplan, 1967) první sulfitovou živnou půdu. Na podobném principu byla později vypracována další média – Differential, Reinford Clostridial Medium (Gibbs a Freame, 1965), francouzský sulfitagar (cit. Coretti a Mügenburg, 1968), Mosselův agar apod.

Hanák a Konečný (1971) připravili modifikovaný sulfitredukční agar, který se rutinně používá na pracovištích SVÚ při izolaci sulfitredukčních klostridií u vzorků surovin a potravin živočišného původu. Rovněž potvrdili, že schopnost sulfitredukce není specifickou vlastností klostridií. Některé nespornující (zejména gramnegativní) mikroorganismy ji mají rovněž.

Pro eliminaci nežádoucí mikroflóry při detekci klostridií byla doporučována média s chloralhydrátem, brilantovou zelení, krystalovou violetí, azidem sodným apod. Selektivní účinnost těchto půd byla však omezená a růst klostridií byl potlačován (Jastrzebski aj., 1968; Fúzi a Csukas, 1969).

Později se začala používat antibiotika jako selektivní přípravky do kultivačních pūd pro klostridia — kanamycin, vancomycin, polymyxin B, streptomycin nebo neomycin (Neubauer, 1969; Berkhoff a Redenbarger, 1976). Jako nejvhodnější se ukázalo použití přípravků antibiotika D-cykloserin (Füzi a Csukas, 1969). Kultivační půda s tímto antibiotikem inhibovala růst široké palety bakteriálních druhů a zároveň podporovala růst klostridií.

Tyto poznatky zpracoval Harmon (1975), který doporučil přípravu roztoku D-cykloserinu v množství 1 g na 200 ml 0,05 M fosfátového pufru o pH 8,0. Před vylitím na plotny se přidává 20 ml tohoto roztoku na 250 ml speciální agarové báze — tryptose-sulfit-cykloserin (TSC).

MATERIÁL A METODY

Jako kultivační médium byl používán na SVÚ Ostrava modifikovaný sulfitredukční agar.

Složení a příprava kultivačního média:

A. pepton (trypton)	10,0
živný bujón č. 1	3,0
kvasničný extrakt	7,0
chlorid sodný	5,0
B. cystein hydrochlorid	0,3
acidum ascorbicum	0,1
C. agarová řasa	20,0
destilovaná voda	1000,0

Připravenou bázi A a C rozvaříme v Kochově hrnci a přidáme substanci B. Upravíme pH na 7,0 a sterilizujeme opět v páře 15 až 20 minut.

Před vylitím přidáme 10 ml 5% citrátu železitého a 10 ml 5% siřičitanu sodného. Opět sterilizujeme v páře 20 minut a rozlejeme po 10 ml do zkumavek.

V první fázi jsme prověřovali schopnost sulfitredukce v připraveném živném médiu u těchto sbírkových kmenů: *Clostridium perfringens*, *Cl. septicum*, *Cl. histolyticum*, *Cl. chauvoei*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. cereus* v. *mycoides*, *B. cylindrosporus*, *B. stearothermophilus* v. *calidolactis*, *Bacillus licheniformis*, *B. polymyxa*, *B. sphaericus*, *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. firmus*, *B. lentus*, *Micrococcus flavus*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* — biotyp 1, 2, biotyp 3, 4, 5, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella anatum*, *S. typhimurium*, *S. jerusalem*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila* a *Vibrio parahaemolyticus*.

Bujónové 18hodinové kultury (u anaerobních zárodků jsme pomnožovali ve VF bujónech přelitých parafínem) vyšetřovaných bakteriálních kmenů byly jednotlivě inokulovány bakteriologickou kličkou hlubokým vpichem do agarových sulfitredukčních pūd ve zkumavkách.

Ve druhé části práce jsme sledovali vliv některých doporučených antibiotik, přidávaných v různých koncentracích do sulfitredukčního agaru, na růst a schopnost sulfitredukce u některých bakteriálních kmenů.

Použitá antibiotika:

Neomycin Spofa, orig. lahvičky po 1 g účinné steril. báze;

Streptomycin Sulphate, SSSR, orig. lahvičky po 1 g účinné báze;

Cycloserin Spofa, 1 tableta obsahuje 250 mg účinné báze D-cykloserinu.

Poznámka: D-cykloserin není v distribuci v práškové substanci.

Příprava roztoků antibiotik:

Streptomycin jsme rozpustili a promíchali ve 2 ml sterilní destilované vody přímo v lahvičce. Abychom získali koncentraci 1 mg na 1 ml půdy, přidali jsme celý obsah lahvičky na 1 litr rozpuštěné půdy. Pro koncentraci 500 µg účinné substance na 1 ml půdy jsme přidali pouze 1 ml rozmíchaného obsahu lahvičky na 1 litr půdy.

Neomycin jsme přesně navážili na analytických váhách v množství 0,08 g. Toto množství jsme přidali do rozpuštěné a sterilizované půdy (do jednoho litru).

D-cykloserin se připravil v různých koncentracích tak, že se tablety cycloserinu důkladně rozpustily v 10 ml 0,05 M fosfátového pufru (pH 8,0 ± 0,1). Toto množství jsme přidali do jednoho litru sulfitredukčního média, aby konečná koncentrace byla 1 mg ml⁻¹ (4 tablety Cycloserinu), 750 µg ml⁻¹ (3 tbl.) a 500 µg ml⁻¹ (2 tbl.).

VÝSLEDKY

V první části pokusů, ve které jsme sledovali schopnost sulfidredukce u 33 bakteriálních kmenů jednotlivě inokulovaných hlubokým vpichem do modifikovaného sulfitredukčního agaru vylitého ve zkumavkách, jsme inkubovali při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin.

Charakter růstu a vznik sulfidredukce u sledovaných bakteriálních kmenů je uveden v tab. I.

I. Charakter růstu a sulfidredukce v tuhých půdách (inokulace vpichem) — The character of growth and of the sulphite-reduction in rigid media (inoculation by means of stabbing)

Kmen	Sulfit-redukce	Charakter růstu po 24 hodinách inkubace při teplotě 37 °C
<i>Clostridium perfringens</i>	+	černání podél vpichu za čtyři až šest hodin
<i>Clostridium septicum</i>	+	difúzní černání za 18 hodin
<i>Clostridium histolyticum</i>	+	difúzní černání agarového sloupce
<i>Bacillus subtilis</i>	—	—
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i>	—	—
<i>Bacillus cereus</i>	—	—
<i>Bacillus cylindrosporus</i>	+	difúzní šednutí až černání
<i>Bacillus stearothermophilus</i> var. <i>calidolactis</i>	—	—
<i>Bacillus licheniformis</i>	—	—
<i>Bacillus polymyxa</i>	—	—
<i>Bacillus sphaericus</i>	—	—
<i>Bacillus circulans</i>	—	—
<i>Bacillus coagulans</i>	—	—
<i>Bacillus firmus</i>	—	—
<i>Bacillus lentus</i>	—	—
<i>Micrococcus flavus</i>	—	—
<i>Staphylococcus aureus</i>	—	—
<i>Yersinia enterocolitica</i> biotyp 1	±	šednutí pouze v místě vpichu
<i>Yersinia</i> biotyp 2	±	šednutí okolí (v hloubce) vpichu
<i>Yersinia</i> biotyp 3	+	slabé přerušované černání v průběhu vpichu
<i>Yersinia</i> biotyp 4	—	—
<i>Yersinia</i> biotyp 5	+	difúzní černání celého agarového sloupce
<i>Proteus mirabilis</i>	+	difúzní černání, převládá na povrchu půdy
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	±	slabé, nevýrazné šednutí místa vpichu
<i>Serratia marcescens</i>	—	—
<i>Citrobacter freundii</i>	+	difúzní černání agarového sloupce
<i>Salmonella anatum</i>	+	difúzní černání agarového sloupce
<i>Salmonella typhi</i> murium	+	difúzní černání, segmentace půdy
<i>Salmonella jerusalem</i>	+	difúzní černání, segmentace půdy
<i>Escherichia coli</i>	+	černání v místě vpichu
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	nepravidelné šednutí agarového sloupce
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	—	tmavnutí v celém průběhu vpichu

Byla potvrzena vysoká sulfitredukční aktivita u velkého počtu mikrobních druhů. U sledovaných enterobakteriaceí jsme převážně zjišťovali schopnost redukovat sulfid, hlavně pak u kmenů *Proteus mirabilis*. Černání převážně probíhalo od povrchu agarového sloupce — na rozdíl od klostridiálních kmenů, u kterých byl postup černání opačný, což je dáno růstovými požadavky na anaerobní prostředí. Rovněž u většiny použitých biotypů *Yersinia enterocolitica* byla prokázána schopnost sulfitredukce. Pouze biotyp 4 sulfitredukci nevykazoval. Z vyšetřených kmenů rodu *Bacillus* byla zjištěna sulfitredukce pouze u kmene *B. cylindrosporus*.

Ve druhé části pokusů jsme použili bakteriální kmeny, které vykazovaly sulfitredukci nebo které bývají častou kontaminantou surovin a potravin živočišného původu.

Bakteriální kmeny byly jednotlivě inokulovány bakteriologickou kličkou hlubokým vpichem do sulfitredukčních agarů ve zkumavkách s různými koncentracemi antibiotik.

Inkubace probíhala při teplotě 37 °C po dobu 24 až 48 hodin. V těchto intervalech jsme sledovali vliv použitých koncentrací streptomycinu, neomycinu a D-cykloserinu na růst a schopnost sulfitredukce u použitých bakteriálních kmenů. Výsledky vyšetření jsou uvedeny v tab. II a III.

Byla prokázána poměrně malá účinnost neomycinu a streptomycinu na průvodní mikroflóru s částečným inhibičním účinkem na zárodky rodu *Clostridium*.

II. Sulfitredukce některých bakteriálních kmenů inokulovaných vpichem do tuhých půd s neomycinem a streptomycinem (inkubace při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin a 48 hodin) — The sulphite-reduction of some bacterial strains inoculated by means of stabbing into rigid media with neomycin and streptomycin (incubation at a temperature of 37 °C for a period of 24 and 48 hours)

Kmen	Neomycin 80 µg ml ⁻¹		Streptomycin 1 mg ml ⁻¹		Streptomycin 500 µg ml ⁻¹	
	24 hodiny	48 hodin	24 hodiny	48 hodin	24 hodiny	48 hodin
<i>Clostridium perfringens</i>	+	+	±	+	+	+
<i>Clostridium septicum</i>	±	±	—	—	—	±
<i>Clostridium histolyticum</i>	±	+	—	±	±	+
<i>Bacillus subtilis</i>	—	—	—	—	—	—
<i>Bacillus cereus</i>	—	—	—	—	—	—
<i>Bacillus cylindrosporus</i>	±	+	±	+	±	+
<i>Yersinia enterocolitica</i> , biotyp 5	+	+	—	—	—	±
<i>Proteus mirabilis</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	±	+	—	—	—	—
<i>Citrobacter freundii</i>	—	+	—	—	—	+
<i>Salmonella anatum</i>	—	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	—	—	—	—

III. Sulfitredukce některých bakteriálních kmenů inokulovaných vpichem do tuhých půd s různými koncentracemi D-cykloserinu — The sulphite-reduction of some bacterial strains inoculated by means of stabbing into rigid media with different concentration of D-cykloserine

Kmen	D-cykloserin					
	1 mg ml ⁻¹		750 µg ml ⁻¹		500 µg ml ⁻¹	
	24 hodiny	48 hodin	24 hodiny	48 hodin	24 hodiny	48 hodin
<i>Clostridium perfringens</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Clostridium septicum</i>	—	+	+	+	+	+
<i>Clostridium histolyticum</i>	±	+	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	—	—	—	—	—	—
<i>Bacillus cereus</i>	—	—	—	—	—	—
<i>Bacillus cylindrosporus</i>	—	—	—	—	—	±
<i>Yersinia enterocolitica</i> , biotyp 5	—	—	—	—	—	±
<i>Proteus mirabilis</i>	—	—	—	±	—	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	—	—	—	—
<i>Citrobacter freundii</i>	—	—	—	—	—	—
<i>Salmonella anatum</i>	—	—	—	—	—	±
<i>Escherichia coli</i>	—	—	—	—	—	±

Podstatně lepší byly výsledky při použití D-cykloserinu, zvláště pak v koncentracích 750 µg na 1 ml sulfitredukčního agaru, kdy byla inhibována nežádoucí mikroflóra, aniž by se ovlivnil růst a schopnost sulfitredukce u sledovaných kmenů klostridií.

DISKUSE

Byla potvrzena vysoká sulfitredukční schopnost klostridií (Z a a d - h o f a T e r p l a n, 1967; S i n e l l a L e v e t z o w, 1967 a jiní). Zvláště vysokou sulfitredukční aktivitu vykazoval kmen *Clostridium perfringens*, jehož růst se již za čtyři až šest hodin inkubace projevoval černáním sulfitredukčního média v místě vpichu. U ostatních klostridií byl růst pomalejší a černání agarového sloupce mělo ihned difúzní charakter. Tohoto momentu lze použít při diagnostice *Clostridium perfringens*, které je nepohyblivé, takže primární růst probíhá pouze v průběhu inokulačního vpichu a černáním bezprostředního okolí půdy.

Byly potvrzeny údaje H a n á k a a K o n e č n é h o (1971) o neschopnosti sulfitredukce u rodu *Bacillus*, jehož zástupci jsou nejčastější kontaminantou potravin a často negativně ovlivňují izolaci klostridií u vzorků potravin. V této práci však byla zjištěna výjimka u kmene *Bacillus cylindrosporus*, který vykazoval šednutí až difúzní černání agarového sloupce.

Použitím široké škály bakteriálních kmenů byla prokázána sulfiredukce také u druhu *Yersinia enterocolitica*, mimo biotyp 4. Po prověření většího počtu kmenů by tato skutečnost mohla sloužit jako jedna z diagnostických reakcí a potvrzení tohoto biotypu.

V druhé části pokusu, na rozdíl od doporučení Neubauera (1969) a Jastrzebského aj. (1968), byla zjištěna malá účinnost neomycinu a streptomycinu na sledované mikroby. Naopak se projevilo nepříznivé ovlivnění růstu některých kmenů klostridií, i když růst *Clostridium perfringens* nebyl podstatně omezen.

Byla potvrzena účinnost D-cykloserinu (Füzi a Csikas, 1969; Harmon, 1975) v koncentraci 750 μ g na 1 ml sulfiredukčního agaru. Toto antibiotikum se používá v humánní klinické praxi jako antituberkulotikum, které však není v distribuci v čisté substanci, ale pouze v tabletách. Rozpustnost tím byla značně ztížena, ale při použití fosfátového pufru a po důkladném promísení bylo dosaženo vhodné koncentrace.

Výsledky této práce rámcově řeší problém rychlé orientace a stanovení přítomnosti sulfiredukčních klostridií za použití selektivních sulfiredukčních médií. V potravinářské mikrobiologii mohou sloužit jako podkladový materiál pro metodický postup izolace i stanovení počtu sulfiredukčních klostridií v surovinách a potravinách živočišného původu.

Literatura

- BERKHOFF, G. A. — REDENBARGER, J. L.: Isolation and identification of anaerobes in the veterinary diagnostic laboratory. Am. J. vet. Res., 18, 1976, č. 7, s. 1069-1074.
- CORETTI, K. — MÜGENBURG, H.: Vorkommen und Bedeutung von Clostridien in Gelatine. Fleischwirtschaft, 5, 1968, s. 632-637.
- FÜZI, M. — CZUKAS, Z.: New selective medium for isolation of *Clostridium perfringens*. Acta microbiol. hung., 16, 1969, s. 273-278.
- GIBBS, J. — FREAME, X.: Methods for recovery of *Clostridia* from foods. J. appl. Bact., 28, 1965, s. 95-97.
- HANÁK, J. — KONEČNÝ, S.: Vhodnost některých sulfiredukčních médií pro stanovení zárodků rodu *Clostridium*. Vet. Med., Praha, 16, 1971, s. 457-462.
- HARMON, S. M.: Collaborative study of an improved method for the enumeration and confirmation of *Clostridium perfringens* in foods. J. Ass. off. analyt. Chem., 59, 1976, č. 3, s. 605-612.
- JASTRZEBSKI, T. — CYGAN, Z. — NOWAK, J.: Badania nad metodami wyosabniania *Clostridium*. Ocena przydatności inhibitorów w podłożach wybiórczych. Medycyna wet., XXIV, 1968, č. 10, s. 586-589.
- LEVETZOW, R.: Ein Beitrag zum Clostridiennachweis bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung. Arch. Lebensmittelhyg., 10, 1967, s. 217-219.
- NEUBAUER, F.: Kvantitativní citlivost *Clostridium perfringens* na neomycin ve vztahu ke kultivační technice. Čs. Epidem. Mikrobiol. Imunol., 18, 1969, č. 3, s. 153-156.
- SINELL, J. H. — LEVETZOW, R.: Sulfireduzierende Clostridien in verpackten Fleischwaren. Fleischwirtschaft, 4, 1967, s. 392-396.
- TAKACS, V. — NARAYAN, K. G.: Über das Sulfite-Reduzierungsvermögen von Clostridien in einem modifizierten Nährmedium. Arch. Lebensmittelhyg., 5, 1965.
- ZAADHOF, X. — TERPLAN, X.: Zur Eignung verschiedener Nährmedien für den Nachweis von Clostridien in Milch. Arch. Lebensmittelhyg., 18, 1967, s. 27-30.

Došlo dne 11. 5. 1979

КОНЕЧНЫ, С. — МИЧКОВА, В. (Государственный институт ветеринарии, Острава): Применение селективной сульфитредукционной среды для изоляции *Clostridium perfringens*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 691-697.

Испытывали способность к сульфитредукции у 33 бактериальных штаммов коллекции. Ввиду способности редуцировать сульфит в модифицированных сульфитредукционных средах у широкой шкалы бактериальных штаммов, проверяли возможность использования селективных сред с добавкой разных концентраций растворов антибиотиков. Концентрация 750 μg Д-циклосерина/мл среды представляется оптимальной для изоляции и детектирования сульфитредукционных клостридий, прежде всего *Cl. perfringens*. Она обеспечивает и достаточную ингибицию нежелательных бактерий, не влияя при этом на рост и способность *Cl. perfringens* редуцировать сульфит в данной среде.

сульфитредукция; клостридии; селективные питательные среды; Д-циклосерин

KONEČNÝ, S. — MÍČKOVÁ, V. (State Veterinary Institute, Ostrava): Application of a Selective Sulphite-reducing Medium for the Isolation of *Clostridium perfringens*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 691-697.

The effect of sulphite-reduction in 33 sample bacterial strains was tested. With regard to the capacity of reducing sulphite in modified sulphite-reduction media in a wide scale of bacterial strains the possibility of an application of selective media with an addition of various concentrations of antibiotic solutions was checked. A concentration of 750 μg of D-cycloserine per 1 ml of the sulphite-reduction medium appeared to be the most advantageous for the isolation and detection of sulphite-reductive clostridia, above all of *Clostridium perfringens*. This concentration ensured also a sufficient inhibition of undesirable bacteria without any affection of the growth and capacity of *Clostridium perfringens* to reduce sulphite in the applied medium.

sulphite-reduction; clostridia; selective nutrient media; D-cycloserine

KONEČNÝ, S. — MÍČKOVÁ, V. (Staatliches Veterinärinstitut, Ostrava): Verwendung vom selektiven Sulfitreduktionsmedium für die Isolierung vom *Clostridium perfringens*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 691-697.

Wir überprüften die Fähigkeit der Sulfitreduktion bei 33 bakteriellen Sammlungsstämmen. Mit Rücksicht auf die Fähigkeiten, Sulfit in den modifizierten Sulfitreduktionsböden bei einer breiten Skala der bakteriellen Stämme zu reduzieren, wurde die Möglichkeit der Verwendung von selektiven Medien mit Zugabe von verschiedenen Konzentrationen der Antibiotikallösungen überprüft. Die Konzentration von 750 μg D-Zykloserin je 1 ml Sulfitreduktionsmedium setzte sich als die geeignetste für die Isolierung und Detektion der Sulfitreduktionsklostridien, vor allem *Clostridium perfringens*, durch. Diese Konzentration gewährleistete auch eine ausreichende Inhibition der unerwünschten Bakterien, ohne das Wachstum und die Fähigkeit des *Clostridium perfringens*, Sulfit im verwendeten Medium zu reduzieren, zu beeinflussen.

Sulfitreduktion; Clostridien; selektive Nährböden; D-Zykloserin

Adresa autorů:

MVDr. Stanislav Konečný, MVDr. Vlasta Míčková, Státní veterinární ústav Ostrava, 723 08 Ostrava-Martinov

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 12 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- I. Herzig, M. Toulová, A. Holub, Z. Pleskač: Uplatnění sušených hroznových výlisků u prasat ve výkrmu
- M. Toulová, I. Herzig, M. Dvořák, B. Vojtíšek, J. Raszyk: Změny biochemických ukazatelů krve a orgánů prasat při podávání sušených hroznových výlisků
- V. Kotrbáček, A. Holub, J. Česnek: Elektrický dynamický katatermometr a tepelné prostředí v porodnách prasat
- D. Jalč, I. Zeleňák: Stráviteľnosť *in vitro* niektorých lignocelulózových materiálov
- J. Pavelka, J. Šebesta: Sledování výskytu kadmia v některých druzích potravin
- J. Hrušovský: Elektroforetické sledování lipoproteinů v krvi psů po aplikaci β , β' -dichlórdietylsulfidu

GLYKOPROTEINY KREVNÍHO SÉRA PSŮ PO APLIKACI β, β' -DICHLÓRDIETYL SULFIDU

J. Hrušovský

HRUŠOVSKÝ, J. (Vojenský veterinární výzkumný ústav, Praha): *Glykoproteiny krevního séra psů po aplikaci β, β' -dichlórdietylsulfidu*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11) : 699-703.

V práci jsme sledovali bílkovinné spektrum krevního séra psa po aplikaci β, β' -dichlórdietylsulfidu pomocí papírové elektroforézy. Stanovení fuchsin-pozitivních látek po předcházející oxidaci kyselinou jodistou jsme zjistili, že takto detekované glykoproteiny jsou v sérových bílkovinách převážně zastoupeny ve frakci α_2 globulinů. Po intoxikaci β, β' -dichlórdietylsulfidu se významně zvyšují hladiny těchto glykoproteinů. Elevace je statisticky významná 24 hodiny po aplikaci (zvýšení v průměru o 141 %) a dosahuje rovněž v časovém rozvoji maxima v terminálním stadiu (zvýšení o 210 %).

elektroforéza; glykoproteiny; pes

Práce navazuje na předcházející článek Hrušovského (1979), ve kterém jsme sledovali vliv β, β' -dichlórdietylsulfidu na změny v bílkovinném spektru psů. Statisticky významné změny byly zjištěny v hodnotách albuminu (pokles) a v hodnotách α_2 -globulinů (vzestup). Na základě těchto výsledků jsme proto přistoupili k bližší chemické charakteristice zvýšené subfrakce globulinů.

Účelem bylo zachytit vhodnými biochemickými metodami za současné klinické kontroly změny v hodnotách glykoproteinů v periferní krvi psů po aplikaci β, β' -dichlórdietylsulfidu.

MATERIÁL A METODA

Pracovali jsme se skupinou zdravých psů o hmotnosti 7 až 10 kg, samců, ve věku od dvou do šesti let. Zvířata byla krmena stejně jako v předcházejícím sdělení (Hrušovský, 1979). Psi byli rozděleni do dvou skupin po šesti, a to do skupiny kontrolní a pokusné.

β, β' -dichlórdietylsulfid jsme aplikovali v dávce 35 mg konc. na 1 kg hmotnosti subkutánně. U obou skupin jsme krev odebírali z *vena cephalica antebrachii* z hrudní končetiny vždy na lačno v ranních hodinách, ihned jsme ji odstředili, stáhli sérum a elektroforeticky oddělili sérové bílkoviny ve vlhké komoře (Hrušovský, 1979).

DETEKCE GLYKOPROTEINŮ

Vysušené elektroforeogramy ponoříme na 5 minut do delipidační chloroform-metanolové lázně. Proužky se osuší mezi filtračními papíry a ponoří na 15 minut do 1% roztoku kyseliny jodisté. Po skončení oxidace se promyjí důkladně vodou se stopou etylenglykolu, aby se odstranil nadbytek kyseliny jodisté. Potom proužky přelejeme fuschin-siřičitým činidlem. Barvení přerušíme v okamžiku, kdy papírový nosič začíná růžovět. Promyjeme několikrát destilovanou vodou a důkladně vypíráme 2% roztokem siřičitanu sodného, okyseleného kyselinou solnou, a potom vysušíme mezi filtračními papíry. Suché proužky fixujeme 40 minut ve formalínu a vysušíme volně na filtračním papíru v digestoři. Potom uděláme redukci pozadí. Proužky navlhčíme alkoholem, vodou a ponoříme do 0,2% roztoku siřičitanu sodného. Jakmile pozadí papírového nosiče ztratí růžovou barvu, vybereme proužky z lázně, vysušíme mezi filtračními papíry a suché vyhodnocujeme.

KVANTITATIVNÍ HODNOCENÍ

Rozložení glykoproteinů v bílkovinném spektru jsme porovnali s paralelním proteinogramem téhož vzorku séra. Ke kvantitativnímu stanovení jsme využili integrační záznam na Eri 10 Zeiss, filtr 2, citlivost 0,5, štěrbina 36, hodnoceno průsvitem. Statisticky jsme hodnotili *t*-testem.

VÝSLEDKY

Skupině pokusných psů jsme aplikovali v dávce 35 mg na kilogram hmotnosti s. c. β, β' -dichlórdietylsulfid; krev jsme odebírali v době těsně před aplikací, 1, 2, 4, 6, 24 a 48 hodin, dále 7. a 14. den po aplikaci. Po podání β, β' -dichlórdietylsulfidu jsme za dvě až čtyři hodiny pozorovali klinickou reakci — spontánní zvracení. Druhý den po aplikaci měli psi sníženou chuť k žrádlu. Ze sledované skupiny přežil interval 14 dní jen jeden pes, ostatní psi mezi prvním až sedmým dnem po aplikaci látky exitovali.

I. Hodnoty α_2 -glykoproteinů v séru psů po aplikaci β, β' -dichlórdietylsulfidu — The values of α_2 -glycoproteins in the dog serum after the administration of β, β' -dichlor-diethylsulphide

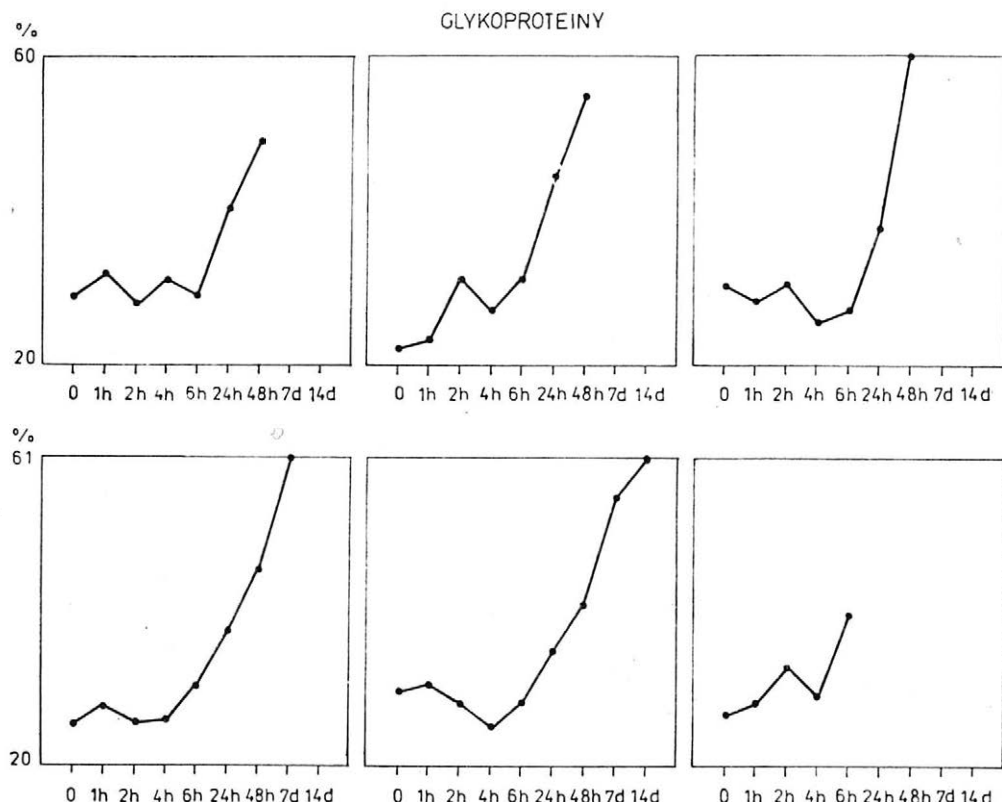
Doba odběru krve po aplikaci β, β' -dichlórdietylsulfidu	Kontrolní skupina			Pokusná skupina		
	α_2 -glyko-proteiny	<i>n</i>	<i>P</i>	α_2 -glyko-proteiny	<i>n</i>	<i>P</i>
0 hodin	27,8	6	—	28,0	6	—
1 hodina	30,0	6	—	29,0	6	—
2 hodiny	26,5	6	—	29,0	6	—
4 hodiny	29,0	6	—	26,5	6	—
6 hodin	28,8	6	—	30,4	6	—
24 hodiny	26,7	6	—	41,4	5	0,001
48 hodin	29,2	6	—	50,7	5	0,001
7. den	28,5	6	—	59,5	2	0,001
14. den	30,1	6	—	61,0	1	0,001

α_2 -glykoproteiny jsou vyjádřeny v relativních procentech; *n* = počet zvířat; *P* = pravděpodobnost významnosti v procentech

Glykoproteiny v séru, rozdělené elektroforetickou metodou na papíře, jsou zastoupeny v bílkovinném spektru ve všech frakcích. Nejvýraznější frakce odpovídá α_2 -globulinu, který činí u kontrolních psů 28,5 rel. procent. Při kvantitativním hodnocení jsme vyjadřovali procentuální podíl této frakce vzhledem k celkovému obsahu glykoproteinů v bílkovinném spektru. Intoxikace β, β' -dichlórdietylsulfidu v uvedeném technickém uspořádání pokusu zvyšuje hodnoty α_2 -glykoproteinů v periferní krvi psů. Toto zvýšení je statisticky významné již 24 hodiny po aplikaci, má progresivní charakter v časovém průběhu intoxikace a dosahuje maximálních hodnot v terminálním stadiu intoxikace.

Zajímalo nás, zda opakovaná traumatizace, způsobená odběrem krve, nevyvolává zvýšení sérových glykoproteinů. Paralelní analýzy na skupině kontrolních zvířat, kterým byla odebrána krev ve stejných časových intervalech jako u skupiny pokusné, vyloučily možnost vlivu traumatizace na zvýšení glykoproteinů. Hodnoty glykoproteinů s pohyblivostí α_2 -globulinu jednotlivých skupin psů v různých časových intervalech po aplikaci β, β' -dichlórdietylsulfidu jsou uvedeny v tab. I.

Jednotlivá zvířata jsou individuálně citlivá. Jak je patrné z doby přežití, je odpověď zvýšení glykoproteinů všeobecně platná, což můžeme sledovat na obr. 1.



1. Změny v α_2 -glykoproteinech v periferní krvi pokusných psů — The changes in α_2 -glycoproteins in the peripheral blood of the experimental dogs

Podle klinických zkušeností se zvyšují glykoproteiny hlavně u chorobných stavů spojených s destrukcí tkáně, např. u těžkých zánětlivých procesů a tumorů. Čím větší jsou tyto poruchy a čím horší je průběh choroby, tím vyšší je obsah glykoproteinů. Glykoproteiny zvyšují termostabilitu bílkovin a způsobují posunutí Weltmannovy reakce doleva. Nízkomolekulární frakce s pohyblivostí α_1 -globulinů se vyznačuje lehkou permeabilitou. Druhá skupina glykoproteinů s pohyblivostí α_2 -globulinů má větší molekulovou hmotnost a menší permeabilitu. V průběhu chorobného procesu se zvyšuje nejprve nízkomolekulární frakce, později frakce vysokomolekulární. Teprve po úplném zhroucení obranných sil je zaznamenán opět vzestup nízkomolekulární frakce.

Fyziologický význam glykoproteinů není dosud objasněn. Nejsou známa místa geneze těchto složených bílkovin. Seibert (1947) považuje zvýšené množství glykoproteinů za přímý výraz tkáňové destrukce. Podporou této teorie je experimentální nález, že venózní krev obsahuje vyšší hodnoty glykoproteinů než krev arteriální. Protože neutrální polysacharidy v tkáních mají podobné složení cukrů jako sérové glykoproteiny, není možné vyloučit, že v inflamačních tkáních se přímo uvolňují preformované glykoproteiny a přecházejí do krevního oběhu. Je také možná přímá syntéza glykoproteinů v zánětlivých okřscích. Catchpole (1950) se domnívá, že sérové glykoproteiny se zvyšují jako následek depolymerizace základních substancí pojivových tkání, které přecházejí do krevního oběhu. Oproti jiným — souhlasně se vyjadřujícím — autorům je tu námitka, protože séromukoid a ostatní glykoproteiny neobsahují glukuronové kyseliny na rozdíl od kyselých mukopolysacharidů pojiva. Snad se uvolňují přednostně ty polysacharidy, které obsahují málo glukuronových kyselin.

Shetlar aj. (1950) se domnívají, že ke zvýšení sérových glykoproteinů přispívají zcela nebo zčásti nejdříve procesy s tkáňovou proliferací než s tkáňovou destrukcí.

Vzhledem k progresivnímu charakteru elevace glykoproteinů nemůžeme pozorované změny v periferní krvi psů po s.c. intoxikaci β, β' -dichlórdietylsulfidu považovat za primární projev toxického účinku β, β' -dichlórdietylsulfidu. Rovněž nemůžeme na této bázi předpokládat poruchu proteosyntézy, která by vedla ke vzniku glykoproteinů. V dostupné literatuře jsme nenašli práci, která by pojednávala o změnách glykoproteinů po intoxikaci β, β' -dichlórdietylsulfidem. Vzhledem k podobným nálezům po ozáření, podle kterých Lebedinskij (1956) považuje zvýšení glykoproteinů v séru za následek pasivního prostupu depolymerizovaných polysacharidových komplexů z pojivových tkání do krve, nemůžeme vyloučit ani tento možný mechanismus zvýšení glykoproteinů v periferní krvi psů. Považujeme proto pozorované zvýšení glykoproteinů po intoxikaci β, β' -dichlórdietylsulfidu za nespecifickou, ale relativně včasnou sekundární změnu. Domníváme se, že progresivní charakter elevace má diagnostický význam hlavně pro posouzení stupně zasažení a prognózu intoxikovaného organismu.

Literatura

- CATCHPOLE, H. R.: Proc. Soc. exp. Biol. Med., 75, 1950, s. 211.
HRUŠOVSKÝ, J.: Elektroforetická sledování změn bílkovinného spektra psů po β , β' -dichlorodiethylsulfidu. Vet. Med., Praha, 24, 1979, č. 8, s. 507-512.
LEBEDINSKI, A. V.: Přírodní vedy, sekcia biol. a lekárstva, 1956, č. 1.
SEIBERT, A. B.: J. clin. Invest., 26, 1977, s. 90.
SHETTLAR, M. R. — KELLY, K. H. — FOSTER, J. V. — SHETTLAR, C. L. — EVERETT, M. R.: Am. J. Obstet. Gynec., 59, 1950, s. 1140.

Došlo dne 19. 6. 1978

ГРУШОВСКИ, Й. (Военный ветеринарный научно-исследовательский институт, Прага): Значения гликопротеинов кровяной сыворотки собак после введения β , β' -дихлордиэтилсульфида. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 699-703.

Прослеживали белковый спектр кровяной сыворотки собаки после введения β , β' -дихлордиэтилсульфида с помощью бумажного электрофореза. Путем определения фуксин-положительных веществ после предшествующей окислации йодистой кислотой установлено, что выведенные таким образом гликопротеины представлены в сывороточных белках преимущественно во фракции α_2 глобулинов. После интоксикации β , β' -дихлордиэтилсульфида значительно повышаются значения этих гликопротеинов. Эlevation статистически значима спустя 24 часа после обработки (повышение в среднем на 141 %) и достигает со временем максимума в терминальной стадии (повышение на 210 %).

электрофорез; гликопротеины; собака

HRUŠOVSKÝ, J. (Military Veterinary Research Institute, Praha): *Glycoprotein Values of the Dog Blood Serum after the Administration of β , β' -dichlorodiethylsulphide*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 699-703.

The protein spectrum of the dog blood serum was studied after the administration of β , β' -dichlorodiethylsulphide. Paper electrophoresis was used for this purpose. Fuchsin-positive substances were determined after previous oxidation with periodic acid, which made it possible to reveal that the glycoproteins detected in this way were represented in serum proteins mostly in the fraction of α_2 globulins. After β , β' -dichlorodiethylsulphide intoxication the values of these glycoproteins significantly increase. The rise is statistically significant 24 hours after administration (average rise by 141 %) and within the time scope it reaches its maximum in the terminal stage (rise by 210 %).

electrophoresis; glycoproteins; dog

HRUŠOVSKÝ, J. (Militärische Veterinärforschungsanstalt, Praha): *Glykoproteinwerte des Blutserums der Hunde nach Applikation von β , β' -Dichlordiäthylsulfid*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (11): 699-703.

In der vorliegenden Arbeit verfolgten wir das Eiweißspektrum des Hundeblutserums nach Applikation von β , β' -Dichlordiäthylsulfid mit Hilfe der Papierelektrophorese. Durch Bestimmung der Fuchsin-positiven Stoffe nach vorangehender Oxydation mit Überjodsäure stellten wir fest, daß die auf diese Weise ermittelten Glykoproteine in den Serumeiweißstoffen vorwiegend in der Fraktion der α_2 -Globuline vertreten sind. Nach Intoxikation mit β , β' -Dichlordiäthylsulfid erhöhen sich signifikant die Werte dieser Glykoproteine. Die Elevation ist statistisch signifikant 24 Stunden nach der Applikation (Erhöhung um durchschnittlich 141 %) und erreicht im Endstadium das Maximum (Erhöhung um 210 %).

Elektrophorese; Glykoproteine; Hund

Adresa autora:

Doc. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha - Motol

Rukopis odevzdán k tisku 31. 8. 1979 — Podepsáno k tisku 8. 11. 1979

Staník J., Ižariková A.: Cytogenetická analýza lymfoidných buniek krvi pri leukóze hovädzieho dobytká	641
Němeček L., Kursá J., Blažek K., Schramlová J., Vostoupal B.: Použití EKG vyšetření při cysticerkóze skotu	649
Rademacher R., Vaňásek J., Sodomková D.: Využití barvicí metody sudanovou černí B u granulocytů a monocytů skotu pro diagnostiku leukóz	657
Kovář J.: Podíl aerobního a anaerobního metabolismu u koní při stupňované fyzické zátěži	665
Kubiček K., Dvořák P., Ivanská J.: Přežívání bakterií na pozinkovaném a hliníkovém materiálu	673
Maretta M.: Ultrastruktúra dvojitých a viacpočetných bičikov spermii káčera	679
Konečný S., Míčková V.: Použití selektivního sulfitredukčního média pro izolaci <i>Clostridium perfringens</i>	691
Hrušovský J.: Glykoproteiny krevního séra psů po aplikaci β, β' -dichlorodietylsulfidu	699

СОДЕРЖАНИЕ

Станик Й., Ижарикова А.: Цитогенетический анализ лимфондных клеток крови при лейкозе крупного рогатого скота	641
Немечек Л., Курса Й., Блажек К., Шрамлова Й., Востoupал Б.: EKG исследование при цистицеркозе крупного рогатого скота	649
Радемахер Р., Ванясек Й., Содомкова Д.: Применение метода окрашивания судановой чернью Б гранулоцитов и моноцитов у крупного рогатого скота для диагностики лейкозов	657
Коварж Й.: Доля аэробного и анаэробного метаболизма у лошадей при нарастающей физической нагрузке	665
Кубичек К., Дворжак П., Иванска Й.: Выживание бактерий на оцинкованном и алюминиевом материале	673
Маретта М.: Ультраструктура сдвоенных и многочисленных жгутиков спермиев селезня	679
Конечны С., Мичкова В.: Применение селективной сульфитредукционной среды для изоляции <i>Clostridium perfringens</i>	691
Грушовский Й.: Значения гликопротеинов кровяной сыворотки собак после введения β, β' -дихлордиэтилсульфида	699

CONTENTS

Staník J., Ižariková A.: Cytogenetic Analysis of Lymphoid Blood Cells in the Course of Bovine Leukosis	641
Němeček L., Kursá J., Blažek K., Schramlová J., Vostoupal B.: ECG Examination of Bovine Cysticercosis	649
Rademacher R., Vaňásek J., Sodomková D.: Leucosis Diagnosis by the Staining Method with Sudan Black B Applied to Granulocytes and Monocytes of Cattle	657
Kovář J.: The Proportions of Aerobic and Anaerobic Metabolism in Horses Exposed to Graded Physical Strain	665
Kubiček K., Dvořák P., Ivanská J.: The Survival of Bacteria on Galvanized and Aluminous Material	673
Maretta M.: The Ultrastructure of Double and Multiple Flagella of the Spermatozoa of a Drake	679
Konečný S., Míčková V.: Application of a Selective Sulphite-reducing Medium for the Isolation of <i>Clostridium perfringens</i>	691
Hrušovský J.: Glycoprotein Values of the Dog Blood Serum after the Administration of β, β' -dichlorodiethylsulphide	699

Staník J., Ižariková A.: Zytogenetische Analyse der lymphoiden Blutzellen bei der Leukose des Rindviehs	641
Němeček L., Kursá J., Blažek K., Schramlová J., Vostoupal B.: Verwendung der EKG-Untersuchung bei der Zystizerkose des Rindes	649
Rademacher R., Vaňásek J., Sodomková D.: Ausnutzung der Färbemethode mit Sudanswarz B bei den Granulozyten und Monozyten beim Rind für die Diagnostik der Leukosen	657
Kovář J.: Anteil des aeroben und des anaeroben Metabolismus bei Pferden bei erhöhter physischer Belastung	665
Kubíček K., Dvořák P., Ivanská J.: Überleben der Bakterien auf dem verzinkten und Aluminiummaterial	673
Marettá M.: Ultrastruktur der Doppel- und mehrzähligen Geißeln bei den Gänserichspermien	679
Konečný S., Míčková V.: Verwendung vom selektiven Sulfitreduktionsmedium für die Isolierung vom <i>Clostridium perfringens</i>	691
Hrušovský J.: Glykoproteinwerte des Blutserums der Hunde nach Applikation von β,β' -Dichlordiäthylsulfid	699