

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

5

ROČNÍK 29 (LVII)
PRAHA
KVĚTEN 1984
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada:

akademik Jaroslav Oto Vrtiak (předseda), akademik Koloman Bođa, MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., MVDr. Evžen Jurák, CSc., prof. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Josef Straka, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Oto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,
Praha 1984

■

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozborů 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 решенных 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.

SHODA A OPAKOVATELNOST ELEKTRONICKÉHO STANOVENÍ POČTU SOMATICKÝCH BUNĚK MLÉKA V DIAGNOSTICKÝCH LABORATOŘÍCH

I. Blahová, D. Ryšánek

BLAHOVÁ, I. — RYŠÁNEK, D. (Státní veterinární ústav, Olomouc; Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Shoda a opakovatelnost elektronického stanovení počtu somatických buněk mléka v diagnostických laboratořích*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 257-262.

Na základě šesti sdružených pokusů, uskutečněných v šesti diagnostických laboratořích vybavených elektronickými počítači Coulter Counter Model D, byla analyzována opakovatelnost a shoda stanovení počtu somatických buněk v mléce. Výsledky byly konfrontovány s obdobnými testy uskutečněnými v Holandsku. Průměrná difference výsledků stanovení mezi zúčastněnými laboratořemi měla zlepšující se tendenci v porovnání s pořadím sdružených testů, takže v posledním testu bylo dosaženo vyhovující shody mezi všemi laboratořemi. Směrodatná odchylka průměrné difference i průměrná rozdílnost paralelních vzorků byly rozkolísané. Bylo zjištěno, že kalibrace počítačů metodou platů a žlabu nevyhovuje a bude třeba ji nahradit kalibrací metodou polovičního počtu a nastavením jednotné prahové velikosti počítaných buněk. Opakovatelnost stanovení bude třeba zlepšit kontrolami dávkovačů pro ředění mléka a kontrolami standardnosti objemů počítaných přístroji.

mastitidy; mléko; somatické buňky; počet; opakovatelnost; shoda; sdružené testy

Stanovení počtu somatických buněk mléka na elektronických počítačích se stalo významnou součástí programů tlumení mastitid v mnoha zemích (Booth, 1978). Před tím však bylo třeba propracovat metodiku stanovení tak, aby se dosáhlo vyhovující shody a opakovatelnosti stanovení v jednotlivých laboratořích zapojených do programu.

Tato problematika byla předmětem intenzivního zájmu v zemích západní Evropy v první polovině sedmdesátých let (Heeschen, 1975; Westgarth, 1975; Grootenhuis, 1975). V Československu se stala vysoce aktuální začátkem osmdesátých let, kdy nabyly konkrétní podoby snahy o využití počtu somatických buněk v bazénových vzorcích mléka jako jednoho z ukazatelů jakosti syrového mléka při stanovení jeho výkupní ceny. Proto se referenční cytologická laboratoř Ústředního státního veterinárního ústavu stala iniciátorem prověření shody a opakovatelnosti stanovení v laboratořích Státních veterinárních ústavů.

Předmětem tohoto sdělení je analýza dosažených výsledků a vytyčení dalšího postupu.

MATERIÁL A METODY

Od října roku 1981 do března roku 1982 bylo šesti laboratorím rozesláno v šesti termínech celkem 18 referenčních vzorků. V odběrech, fixaci a distribuci vzorků se jednotlivé laboratoře střídaly. Všechny zapojené laboratoře byly vybaveny jednotným typem elektronického počítáče Coulter Counter Model D. Přístroje byly před každým zpracováním referenčních vzorků kalibrovány a metodou platů a žlabu byla stanovována pracovní prahová hodnota. Počet somatických buněk byl pak v referenčních vzorcích stanovován metodickým postupem podle ON 57 0532 (1982).

Abychom mohli porovnat shodu a opakovatelnost stanovení v jednotlivých laboratorích, rozhodli jsme se použít pro analýzu model hodnocení, který na základě obdobného řešení v Holandsku v letech 1971 až 1974 zveřejnil Grooten huis (1975). Tento autor použil tři charakteristiky hodnocení: průměrnou rozdílnost paralelních vzorků, průměrnou diferencí od referenčních průměrů a směrodatnou odchylku průměrné difference.

Průměrná rozdílnost paralelních vzorků ($\bar{d}$) byla stanovována tak, že se z každého z pěti rozesílaných vzorků připravila v příslušné laboratoři dvě ředění a z nich se stanovily paralelní výsledky dvěma měřeními. Hodnota každého ředění byla dána aritmetickými průměry z dvojic měření. Z těchto hodnot byla vypočtena absolutní rozdílnost. Ta byla vyjádřena v procentech z hodnoty příslušného referenčního průměru. Referenční průměr byl vypočten pro každý vzorek v centrální laboratoři z výsledků všech laboratoří po eliminaci hodnot, které se odchylovaly o více než jednu směrodatnou odchylku. Z procentuálních rozdílností jednotlivých vzorků byla pak vypočtena průměrná rozdílnost hodnot paralelních vzorků pro každou laboratoř.

Další charakteristikou holandského modelu byla průměrná difference hodnot vzorků od referenčních průměrů ($\bar{a}$). Byla vypočtena pro každou laboratoř jako průměr z procentuálních rozdílu mezi výsledky jednotlivých vzorků a referenčními aritmetickými průměry.

Třetí charakteristikou byla směrodatná odchylka průměrné difference (S_a), vypočtená z hodnot průměrné difference od referenčních průměrů pro každou laboratoř.

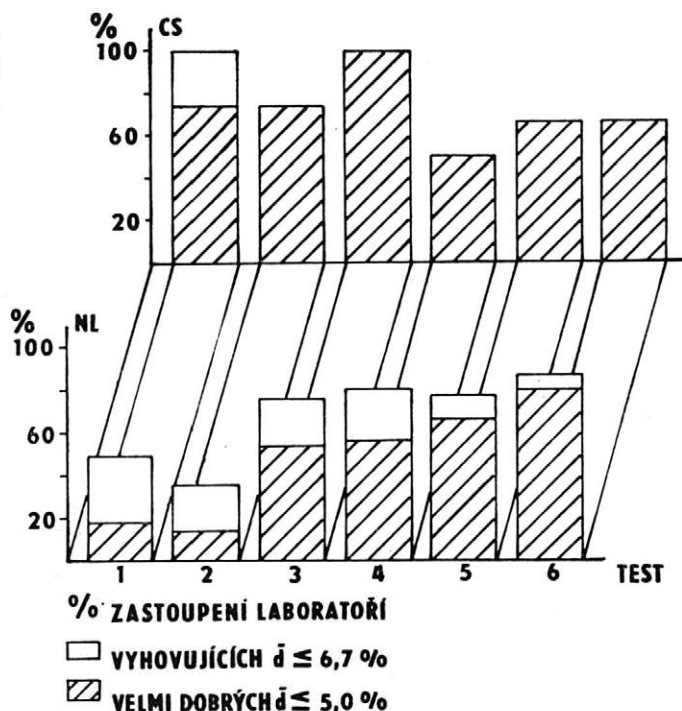
V námi analyzovaných sdružených testech se postupovalo v intencích holandského modelu, pouze s tím rozdílem, že byly rozesílány jen tři referenční vzorky. Vzájemné srovnání výsledků dosažených v Holandsku a v Československu bylo provedeno vyjádřením procentuálního zastoupení velmi dobrých, vyhovujících a nevyhovujících laboratoří v každém sdruženém testu.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Obr. 1 shrnuje dosažené výsledky opakovatelnosti stanovení v paralelních ředěních referenčních vzorků. Grooten huis (1975) udává pro průměrnou diferencí paralelních vzorků kritické hodnoty vyhovující a velmi dobré opakovatelnosti — $\bar{d} \leq 6,7 \%$; $\bar{d} \leq 5 \%$. Graf na obr. 1 vyjadřuje procentuální zastoupení laboratoří odpovídajících uvedeným kritickým hodnotám v procentech z celkového počtu laboratoří podílejících se na příslušném sdruženém testu. Z grafu je zřejmé, že počet vyhovujících laboratoří v Holandsku s pořadím testů narůstal, takže v šestém testu dosáhl téměř 90 %. Naproti tomu v Československu byla opakovatelnost stanovení velmi dobrá již v prvním testu, ale v dalších testech měla kolísavou tendenci. Z tohoto zjištění vyplývá, že bude nutné věnovat větší pozornost přesnosti ředění mléka i objemu odsávanému přístroji při počítání. Ty bude třeba podrobovat kontrolám v souladu s doporučením Mezinárodní mlékařské federace (1979).

Diferenci výsledků elektronického stanovení počtu somatických buněk mezi zúčastněnými laboratořemi dokumentuje obr. 2. Pro průměrnou diferencí od referenčních průměrů udává Grooten huis (1975) hodnoty vyhovující a velmi dobré — $\bar{a} \leq 10 \%$; $\bar{a} \leq 5 \%$. Zatímco v Holandsku se podařilo sdruženými testy zvýšit počet vyhovujících labora-

1. Opakovatelnost stanovení v paralelních vzorcích — Repeatability of determination in parallel samples

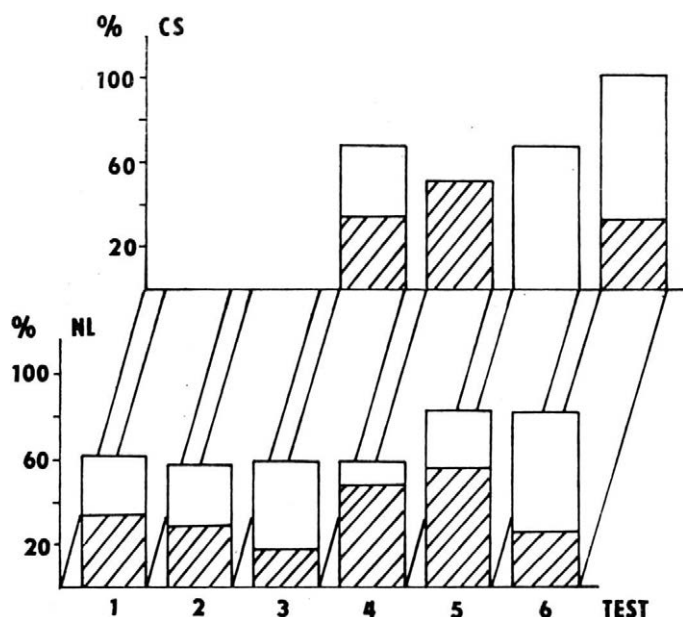


toří ze 60 na 80 %, v Československu to bylo z nuly na 100 % zúčastněných laboratoří. Tato tendence odráží význam, a tedy i nezbytnost periodického opakování sdružených testů.

Směrodatná odchylka hodnot průměrné difference je mírou rozptylu počtu somatických buněk stanovených jednotlivými laboratořemi. Groothuis (1975) považuje za vyhovující směrodatnou odchylku $\pm 10 \%$, za velmi dobrou $\pm 7,5 \%$. Z obr. 3 je zřejmé, že v Holandsku má tato charakteristika s opakováním sdružených testů výrazně zlepšující se trend. V Československu je rozkolísaná, i když ve dvou ze šesti testů dosáhla vyhovujících parametrů ve všech laboratořích. Toto zjištění je důsledkem problematického stanovení pracovní prahové hodnoty metodou platů a žlabu, tedy nestandardnosti stanovení prahové velikosti.

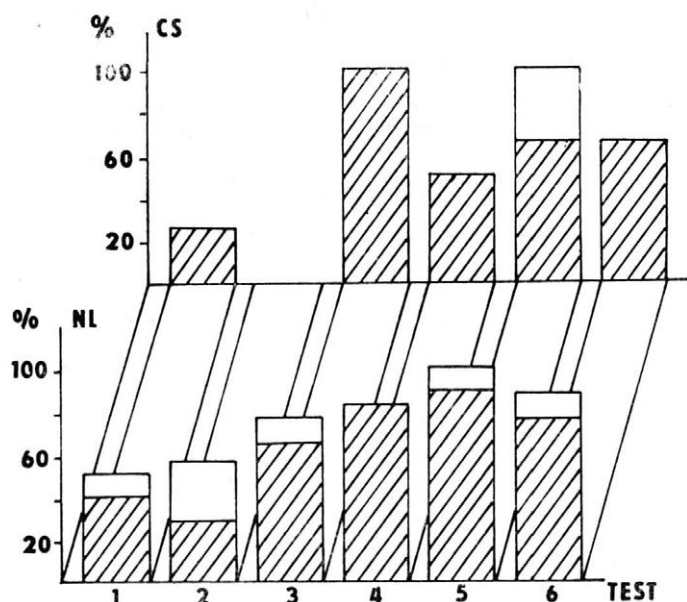
Na závěr můžeme konstatovat, že analýza opakovatelnosti a shody elektronického stanovení počtu somatických buněk bazénových vzorků mléka, uskutečněná v diagnostických laboratořích Státních veterinárních ústavů, prokázala, že je nezbytné sdružené testy periodicky opakovat. Jejich metodiku bude třeba upřesnit. Pracovní prahovou hodnotu bude vhodnější stanovovat kalibrací počítačů metodou polovičního počtu. Před kalibrací však musí být přezkoušeny a popřípadě opraveny dávkovače k ředění vzorků mléka, jakož i manometry přístrojů (s ohledem na standardnost objemů nasávaných při počítání). Tak by se měla dále zlepšit opakovatelnost i shoda stanovení počtu somatických buněk mléka v diagnostických laboratořích.

2. Diference výsledků stanovení mezi laboratorními — The differences in the results of determination between laboratories



% ZASTOUPENÍ LABORATORÍ

□ VYHOVUJÍCÍCH $\bar{s} \leq 10\%$
 ▨ VELMI DOBRÝCH $\bar{s} \leq 5\%$



% ZASTOUPENÍ LABORATORÍ

□ VYHOVUJÍCÍCH $S_a \leq 10\%$
 ▨ VELMI DOBRÝCH $S_a \leq 7,5\%$

3. Směrodatná odchylka difference stanovení — Standard deviation of the difference in determination

Autoři děkují s. Jarmile Hanzlovské z referenční laboratoře Ústředního státního veterinárního ústavu v Praze a MVDr. Richardu Makovcovi za podnět k řešení a za organizační pomoc při shromažďování dat. Dále děkují RNDr. Olze Matouškové za pomoc při matematicko-statistickém zpracování výsledků.

Literatura

- BOOTH, J. M.: International progress in the control of mastitis. In: Proc. XXth int. dairy Congr. Paris 1978. 59 s.
- GROOTENHUIS, G.: Somatic cell counting in the Netherlands. In: Proc. Semin. mast. Control. Bruxelles 1975, s. 116.
- HEESCHEN, W.: Determination of somatic cells in milk. In: Proc. Semin. mast. Control. Bruxelles 1975, s. 79.
- IDF: Somatic cells in milk — their significance and recommended methods for counting. IDF Bull., Doc. 114, 1979. 20 s.
- ON 57 0532: Stanovení počtu buněčných elementů v mléce. 1982.
- WESTGARTH, D. R.: Interpretation of hard bulk milk cells. In: Proc. Semin. mast. Control. Bruxelles 1975, s. 110.

Došlo dne 25. 8. 1983

БЛАГОВА, И. — РЫШАНЕК, Д. (Государственный ветеринарный институт, Оломоуц; Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Схожесть и повторяемость электронного определения количества соматических клеток молока в диагностических лабораториях. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 257-262.

На базе 6 сопряженных опытов, поставленных в 6 лабораториях с помощью ЭВМ Coulter Counter Model D, анализировали повторяемость и всхожесть в определении количества соматических клеток в молоке. Данные сопоставляли с аналогичными тестами, проведенными в Голландии. Средняя разность результатов между этими лабораториями отличалась улучшающейся тенденцией по мере продвижения очередности сопряженных тестов, и в последнем тесте схожесть была удовлетворительной. Стандартное отклонение средней разности и средняя разность между параллельными образцами колебались. Как установлено, калибровка ЭВМ по методу плато и желоба не удовлетворяет требованиям, ввиду чего ее придется заменить калибровкой по методу половинного количества и установки единой пороговой размерности подсчитываемых клеток. Повторяемость желательно улучшить с помощью контроля за дозировщиками — разбавителями молока и контроля стандартности объемов, подсчитываемых на ЭВМ.

мастит; молоко; соматические клетки; численность; повторяемость; совпадение; сопряженные тесты

BLAHOVÁ, I. — RYŠÁNEK, D. (State Veterinary Institute, Olomouc; Veterinary Research Institute, Brno): *The Congruence and Repeatability of the Electronic Determination of Somatic Cell Counts in Milk in Diagnostic Laboratories*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 257-262.

Six joint trials were conducted in six diagnostic laboratories equipped with the Coulter Counter Model D electronic computers. The congruence and repeatability of the determination of somatic cell counts in milk were determined in these trials. The results were confronted with similar trials performed in the Netherlands. The average differences in the results of determinations performed in the different laboratories exhibited a tendency of improvement as the joint tests proceeded, so that a satisfactory congruence of the results in all laboratories was obtained in the last trial. The standard deviation of the average difference and the average difference between parallel samples were characterized by high variedness. As found,

the calibration of the computers by the plateau-and-trough method is not satisfactory and should be replaced by the calibration method of half the number and by the setting of an equal threshold size of the counted cells. The repeatability of determination will have to be improved by controlling rationing devices for milk dilution and by controlling the standard volumes counted by the apparatuses.

mastitis; milk; somatic cells; counts; repeatability; congruence; joint tests

Adresy autorů:

MVDr. Irena Blahová, Státní veterinární ústav, Jakoubka ze Stříbra č. 1, 777 00 Olomouc

MVDr. Dušan Ryšánek, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

SUBMIKROSKOPICKÉ ASPEKTY ADHERENCE STREPTOKOKŮ SKUPINY B K VAGINÁLNÍM EPITELIÁLNÍM BUŇKÁM

M. Rýc, J. Jelínková, R. Bícová, K. B. Grabovskaja, A. A. Totoljan

RÝC, M. — JELÍNKOVÁ, J. — BÍCOVÁ, R. — GRABOVSKAJA, K. B. — TOTOLJAN, A. A. (Institut hygieny a epidemiologie, Praha; Institut pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů, Praha; Institut experimentální medicíny Akademie lékařských věd SSSR, Leningrad): *Submikroskopické aspekty adherence streptokoků skupiny B k vaginálním epiteliálním buňkám*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 263-270.

Studovali jsme submikroskopickou strukturu povrchů streptokoků skupiny B typu III (kmen 13/63) a ultrastrukturu interakce tohoto kmene streptokoků s lidskými vaginálními buňkami. Povrch většiny buněk B streptokoků byl po konvenčních fixačních technikách elektronové mikroskopie hladký; asi 25 % buněk streptokoků však obsahovalo na svém povrchu přídatnou vrstvu filamentózních protruzí. Zřetelná vrstva pouzderného materiálu byla vizualizována preinkubací tohoto kmene streptokoků s typově specifickým antisérem. Inkubace B streptokoků s vaginálními buňkami bez přidání protilátky prokázala kontakt části buněk bakteriální populace s epiteliálními buňkami prostřednictvím filamentózních protruzí. Většina buněk s hladkým povrchem však byla separována od vaginálních buněk mezerou o šíři až 150 nm. Dodatečná inkubace s typově specifickým antisérem prokázala, že uvedená mezera odpovídá pouzderné substanci bakterií. Pouzdro streptokoků skupiny B je tudíž základní komponentou jejich povrchu, odpovědnou za adherenci k vaginálním buňkám. Adherence B streptokoků k vaginálním epiteliím nebyla provázána ingescí bakterií ani destrukcí epiteliálních buněk.

ultrastruktura; lidské vaginální buňky; pouzdro; glykokalyx

Morfologické a fyzikálně chemické parametry interakce streptokoků skupiny B s epiteliálními buňkami jsou dosud podstatně méně známy než obdobné parametry streptokoků skupiny A nebo jiných bakterií. Dosud nebyly přesně definovány ani struktury na povrchu streptokoků skupiny B, odpovědné za adherenci [obecně nazývané adheziny nebo ligandy; Beachey, 1981], ani receptorové struktury na povrchu cytoplazmatické membrány hostitelské buňky. Minimální jsou rovněž naše současné znalosti o ultrastrukturálních aspektech těchto interakcí.

Povrch většiny kmenů streptokoků skupiny B je tvořen pouzdrem, jehož ultrastrukturální vizualizace je možná inkubací s typově specifickou protilátkou (Mackie aj., 1979). Přítomnost a šíře pouzdra je závislá na nutričních faktorech (Baker a Kasper, 1976). Pouzderná substance bakterií je však většinou pokládána za strukturu maskující adheziny, umístěné v buněčné stěně bakterií (Bartelt a Duncan, 1978; Whittack aj., 1981).

Studovali jsme proto na ultratenkých řezech morfologický obraz adherence streptokoků skupiny B k lidským vaginálním epiteliálním buňkám. Studie byla provedena se streptokoky sérotypu III, jenž je častým vyvolavatelem lidských infekcí (Baker aj., 1976). Cílem práce bylo prokázat, zda se v iniciálních fázích infekce vaginálních buněk uplatňují stěnové nebo pouzderné komponenty streptokoků skupiny B.

MATERIÁL A METODY

Streptokoky: Pracovali jsme se streptokoky skupiny B, typu III, kmenem 13/63, z Československé národní sbírky typových kultur Institutu hygieny a epidemiologie v Praze. Tento kmen byl izolován z vaginálního materiálu zdravé ženy. Baktérie byly kultivovány v Todd-Hewittově bujónu (Difco) pět hodin za třepání ve vodní lázni při teplotě 37 °C. Logaritmická kultura byla proprána v 0,1 M fosfátovém pufrovaném fyziologickém roztoku při 7,2 (PFR) trojnásobnou centrifugací při 4000 obrátkách 15 minut a resuspendována v PFR do koncentrace 5×10^8 bakterií/ml (stanoveno spektrofotometricky při $\lambda = 650$ nm; $OD_{650} = 0,5$).

Vaginální epiteliální buňky byly získány stěrem vatovým tampónem namočeným v PFR z horní třetiny vaginy dobrovolných dárců. Buňky byly odebírány od žen s normálním menstruačním cyklem bez hormonální antikoncepce, a to přibližně v období ovulace, kdy je adherence streptokoků skupiny B nejvyšší (Botta, 1979; Zawaneh aj., 1981). Epiteliální buňky byly vytřepány z tampónů do PFR, důkladně proprány pětinašobnou centrifugací v PFR při 2000 obrátkách 5 minut a naředěny v PFR do koncentrace 5×10^6 buněk/ml. Do pokusu byly brány pouze epiteliální buňky, u nichž kontrola ve světelném mikroskopu prokázala minimální bakteriální kontaminaci gramnegativními mikroorganismy a nepřítomnost bakterií grampozitivních.

Inkubace streptokoků s vaginálními buňkami: 0,5 ml suspenze streptokoků bylo smícháno s 0,5 ml suspenze vaginálních buněk (tj. poměr 1000 streptokoků na 1 vaginální buňku) a inkubováno 1, 2 nebo 3 hodiny za třepání ve vodní lázni při teplotě 37 °C. Po inkubacích byly buňky opakovaně promyty PFR, aby byly odstraněny neadherované streptokoky (centrifugace při 2000 obrátkách 5 min), a sediment byl fixován (viz elektronová mikroskopie).

U části vzorků bylo po inkubacích vaginálních buněk s bakteriemi a proprání v PFR přidáno k sedimentu po poslední centrifugaci 0,25 ml králíčího hyperimunního typového antiséra proti streptokokům skupiny B typu III stejného kmene, jaký byl použit k experimentům. Toto sérum neobsahovalo protilátky proti B skupinovému antigenu. Buňky byly inkubovány se sérem 1 hodinu za třepání ve vodní lázni při teplotě 37 °C, potom zcentrifugovány (2000 obrátek 5 min) a sedimenty fixovány pro elektronmikroskopické zpracování.

ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE

a) **Streptokoky:** 10 ml suspenze bakterií bylo zcentrifugováno při 4000 obrátkách 15 minut a k sedimentu bylo přidáno 0,25 ml králíčího hyperimunního typového antiséra proti typu III streptokoků skupiny B (u kontrolních vzorků 0,25 ml PFR). Po hodinové inkubaci ve vodní lázni při teplotě 37 °C za stálého třepání byly bakterie zcentrifugovány, proprány v PFR a sedimenty fixovány v 5 ml 2,5% roztoku glutaraldehydu v 0,1 M kakovylátovém pufru při pH 6,8 přes noc při teplotě 4 °C. Potom byly buňky dvakrát proprány kakovylátovým pufrům (0,1 M, pH 6,8) a dále fixovány přes noc při teplotě 22 °C v 1% kyslíčnicku osmičelém v R-K pufru (Ryter a Kellenberger, 1958), obsahujícím 10% tryptonu. Po proprání v R-K pufru byly bakterie zality do 2% agaru (Noble Agar Difco). Malé krychličky se zalitým materiálem byly kontrastovány 0,5% octanem uranylovým v R-K pufru 1,5 hodiny při teplotě 22 °C a zality do Eponu (Serva Feinbiochemica). Ultratenké řezy, připravené na ultramikrotonu LKB (Ultratome III), byly kontrastovány citrátem olovnatým (Reynolds, 1963) a hodnoceny v elektronovém mikroskopu Philips EM 300 při urychlovacím napětí 80 kV.

b) **Vaginální buňky s adherovanými streptokoky:** K propraným sedimentům bylo přidáno 5 ml 2,5% roztoku glutaraldehydu v 0,1 M ka-

kodylátovém pufru pH 6,8 a suspenze byla fixována 2,5 hodiny při teplotě 22 °C. Po trojnásobném proprání v 0,1 M kodylátovém pufru pH 6,8 byl sediment dále fixován v 1 ml 1% kyslíčnicku osmičelého v R-K pufru 1 hodinu při teplotě 22 °C, dvakrát proprán R-K puftrem a dále fixován 1% kyslíčnickem osmičelým v R-K pufru obsahujícím 10 % tryptonu přes noc při teplotě 22 °C. Potom byly vzorky proprány R-K puftrem a zality do 2% agaru (Noble Agar Difco). Další zpracování materiálu bylo totožné s postupem uvedeným v předchozím odstavci.

VÝSLEDKY

a) Ultrastruktura povrchu streptokokového kmene: Streptokoky skupiny B typu III (kmen 13/63) představují koky, jejichž povrch je asi u 75 % buněk ultrastruktrálně hladký (obr. 1). Buněčná stěna streptokoků je 20 až 30 nm široká a je tvořena elektron-denzní vnitřní vrstvou, na níž leží vrstva střední elektronové denzity. Asi 25 % populace představují buňky, u nichž je na povrchu morfologicky zřetelná vrstva filamentózních protruzí 10 až 25 nm široká (obr. 2; Jelínková a Rýc, 1979). Jde zřejmě o kondenzovanou část kapsulárního materiálu, jenž u většiny buněk za daných fixačních podmínek není vizualizován, popřípadě o materiál buněčné stěny. Dobrá ultrastruktrální vizualizace pouzderné substance je možná po inkubaci bakteriálních buněk s typově specifickým antisérem (obr. 3); pouzdro tvoří po této inkubaci rozsáhlou vrstvu o šířce 50 až 250 nm.

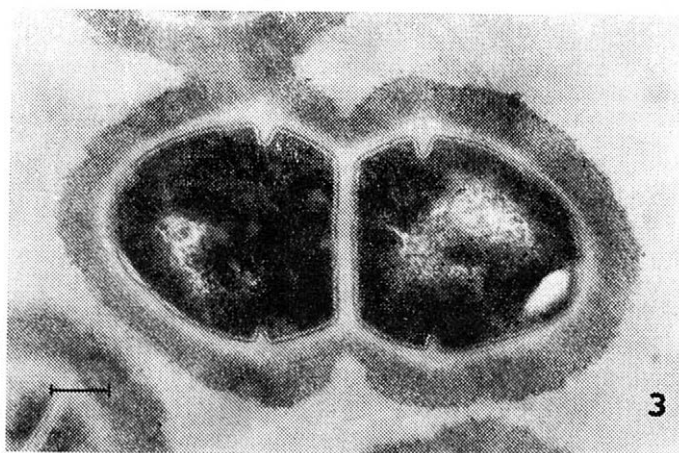
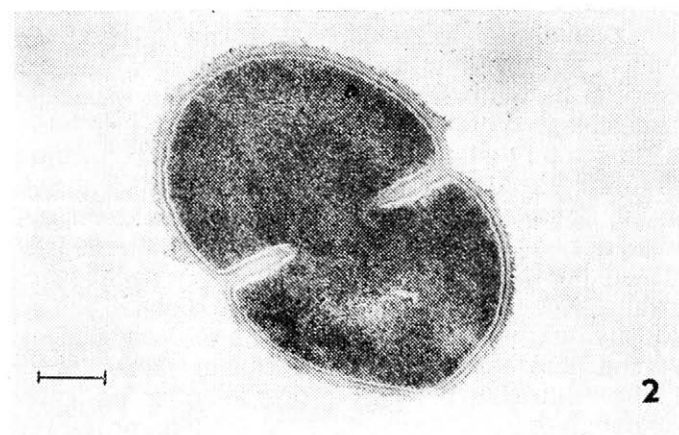
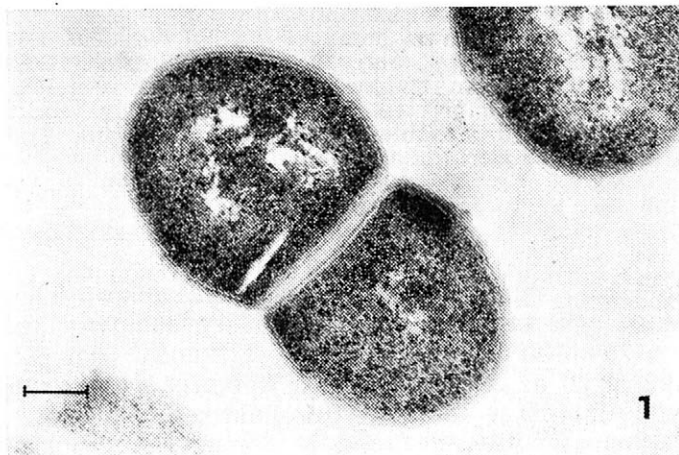
b) Ultrastrukturální obraz adherence streptokoků k vaginálním epiteliím: Po inkubaci vaginálních buněk s buňkami streptokoků skupiny III bez přidání antiséra bylo možné jen ojediněle zachytit kontakt bakterií s cytoplazmatickou membránou epitelálních buněk (obr. 4). Buňky streptokoků bez filamentózních protruzí, tedy s hladkým povrchem buněčné stěny, byly separovány od vaginálních buněk širokou mezerou měřící až 150 nm (obr. 5). Tato mezera představuje pouzderný materiál streptokokové buňky, neboť následná inkubace s typovým antisérem vedla k vizualizaci pouzderných struktur (obr. 6) obdobného charakteru, jako byla pouzdra po inkubaci samotných streptokokových buněk s typově specifickým antisérem (obr. 3).

Adherence streptokoků skupiny B k lidským vaginálním buňkám nebyla v našich pokusech nikdy provázena ingescí bakterií nebo destrukcí epitelálních buněk. Uvedený ultrastrukturální obraz adherence byl identický po 1, 2 i 3 hodinách inkubace streptokoků s vaginálními buňkami.

DISKUSE

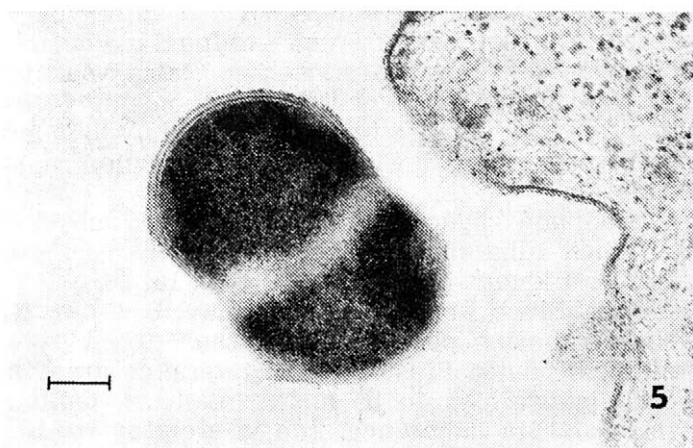
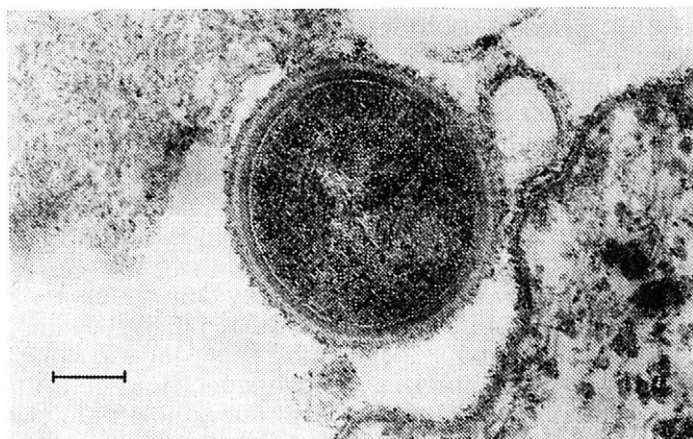
Adherence bakterií k epitelálním buňkám je pokládána za iniciální stupeň interakce mezi bakterií a hostitelem a za předpoklad rozvoje infekce, včetně kolonizace mukózních povrchů a následné invaze bakterií nebo jejich produktů do hlubších vrstev napadených tkání (Ofek a Beachey, 1980). Adherence je morfologicky zprostředkována většinou kontaktem mezi povrchovými strukturami bakteriálních buněk a cytoplazmatickou membránou buněk epitelálních.

Nejednotné jsou prozatím nálezy při zkoumání účasti přídatných povrchových struktur polysacharidové povahy (glykokalyx) jak bakte-



1.—3. Streptokoky skupiny B typu III (kmen 13/63): 1) buňka s hladkým povrchem buněčné stěny; 2) buňka s filamentózními protruzemi na povrchu; 3) buňky po inkubaci s typově specifickým antisérem; na jejich povrchu je zřetelná vrstva kapulárního materiálu — Streptococci of group B, type III (strain 13/63): 1) cell with a smooth surface of cell wall; 2) cell with filamentous protrusions on surface; 3) cells after incubation with type-specific antiserum; their surface bears a marked layer of capsular material

4.—6. Adherence streptokoků skupiny B typu III (kmene 13/63) k lidským vaginálním buňkám; 4) adherence prostřednictvím filamentózních protruzí na povrchu bakterie; 5) typický obraz adherence streptokokových buněk s hladkým povrchem; bakterie jsou separovány od vaginální buňky mezerou cca 150 nm širokou; 6) adherence po inkubaci s typově specifickým antisérem; vizualizace kapsulárního materiálu prokazuje účast pouzdra bakterií v adherenci (úsečky na všech obrázcích představují 150 nm) — The adherence of streptococci of group B, type III (strain 13/63) to human vaginal cells; 4) adherence through filamentous protrusions on bacterium surface; 5) a typical picture of the adherence of smooth-surface streptococcus cells; bacteria are separated from the vaginal cell by a gap about 150 nm wide; 6) adherence after incubation with type-specific antiserum; the visualization of capsular material enables the demonstration of the involvement of bacterium capsule in adherence (all line segments in the figures represent 150 nm)



riálních, tak i epiteliálních buněk (Costerton a Irvin, 1981). Pouzdro streptokoků představuje typickou glykokalyxovou strukturu; u streptokoků skupiny A byla zjištěna jeho inhibiční funkce v adhezenci k epiteliálním buňkám (Bartelt a Duncan, 1978) i buňkám fagocytujícím (Whitnack aj., 1981). U streptokoků skupiny B nebyla úloha pouzdra v adhezenci dosud vůbec studována.

Naše nálezy ukazují, že adhezinová struktura streptokoků skupiny B při jejich adhezenci k lidským vaginálním buňkám je vázána na pouzdro. Inkubace kmene 13/63 streptokoků skupiny B typu III s vaginálními epiteliemi vedla v převážné většině případů k ultrastrukturálně prokazatelné separaci bakterií od epiteliálních buněk mezerou, jejíž šíře odpovídá pouzderné substanci daného kmene. Dodatečná inkubace adherovaných buněk s typově specifickým antisérem prokazatelně demonstrovala pouzderný charakter adhezinu. V našem uspořádání pokusu byly streptokoky inkubovány s typovým antisérem až po proběhlé adhezenci, abychom vyloučili případnou interferenci typově specifických protilátek a adheziny na povrchu streptokoků.

Pokud byly ojediněle pozorovány i přímé kontakty streptokoků skupiny B s vaginálními buňkami prostřednictvím filamentózních protruzí, tj. bez inkubace s antisérem, předpokládáme, že šlo o kontakt kondenzovaného kapsulárního materiálu. Nelze však vyloučit, že filamentózní protruze mohou být i materiálem buněčné stěny streptokoků; citlivost této vrstvy povrchu streptokoků skupiny B k proteolytickým enzymům (Jelínková a Rýc, 1979) nevylučuje ani jednu z uvedených možností.

Obdobné závěry o úloze pouzderné substance streptokoků skupiny B v jejich adhezenci k lidským vaginálním buňkám jsme v poslední době zjistili i u kmene B streptokoků typu Ia.

Adherence streptokoků skupiny B k lidským vaginálním buňkám nebyla v našich pokusech provázena ingescí bakterií ani destrukcí epiteliálních buněk. Přestože jsme interakci streptokoků s vaginálními buňkami sledovali až do tří hodin inkubace, jediným morfologickým obrazem zůstávala adherence. Zde je zřetelný rozdíl mezi interakcí streptokoků skupiny B s vaginálními buňkami a interakcí streptokoků skupiny A s buňkami bukálními, faryngeálními nebo s buňkami tkáňových kultur HEp-2, kdy po dvou hodinách inkubace pravidelně docházelo k destrukci bukálních a faryngeálních buněk (Rýc, nepublikované pozorování) a ingesci streptokoků skupiny A do buněk HEp-2 (Rýc a Grabovská y a, 1981).

Chemická povaha adhezinových struktur v pouzdře streptokoků skupiny B i receptorových struktur v povrchu epiteliálních buněk zůstává intenzívně studovaným problémem na našich i zahraničních pracovištích (Zawaneh aj., 1979; Bagg aj., 1982).

Literatura

- BAGG, J. — POXTON, I. R. — WEIR, D. M. — ROSS, P. W.: Binding of type-III group-B streptococci to buccal epithelial cells. *J. med. Microbiol.*, 15, 1982, s. 363-372.
- BAKER, C. J. — KASPER, D. L.: Microcapsule of type III strains of group B streptococcus: Production and morphology. *Infect. Immun.*, 13, 1976, s. 189-194.
- BAKER, C. J. — KASPER, D. L. — DAVIS, C. E.: Immunochemical characterization

of the "native" type II polysaccharide of groups B streptococcus. *J. exp. Med.*, 143, 1976, s. 258-270.

BARTELT, M. A. — DUNCAN, J. L.: Adherence of group A streptococci to human epithelial cells. *Infect. and Immun.*, 20, 1978, s. 200-208.

BEACHEY, E. H.: Bacterial adherence: Adhesin-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. *J. infect. Diseases*, 143, 1981, s. 325-345.

BOTTA, G. A.: Hormonal and type-dependent adhesion of group B streptococci to human vaginal cells. *Infect. and Immun.*, 25, 1979, s. 1084-1086.

COSTERTON, J. W. — IRVIN, R. T.: The bacterial glycocalyx in nature and disease. *Ann. Rev. Microbiol.*, 35, 1981, s. 299-324.

JELÍNKOVÁ, J. — RÝC, M.: Some questions concerning group-B streptococcal type antigens. — In: PARKER, M. T. (ed): *Pathogenic streptococci*. Reedbooks Fox Lane North, Chertsey, Surrey, 1979, s. 149-150.

MACKIE, E. B. — BROWN, K. N. — LAM, J. — COSTERTON, J. W.: Morphological stabilization of capsules of group B streptococci, types Ia, Ib, II, and III, with specific antibody. *J. Bact.*, 138, 1979, s. 609-617.

OFEK, I. — BEACHEY, E. H.: General concepts and principles of bacterial adherence in animals and man. — In: BEACHEY, E. H. (ed): *Bacterial adherence*. London, Chapman and Hall 1980, s. 1-29.

REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 19, 1963, s. 208-212.

RÝC, M. — GRABOVSKAYA, K. B.: Ultrastructural study of interaction of group A streptococci with tissue culture cells. *Zbl. Bakt. Hyg., Abt. I, Orig. A*, 249, 1981, s. 302-309.

RYTER, A. — KELLENBERGER, E.: Étude au microscope électronique de plasma contenant de l'acide déoxyribonucléique. I. Les nucléotides des bactéries en croissance active. *Z. Naturforsch.*, 13b, 1958, s. 597-605.

WHITNACK, E. — BISNO, A. L. — BEACHEY, E. H.: Hyaluronate capsule prevents attachment of group A streptococci to mouse peritoneal macrophages. *Infect. and Immun.*, 31, 1981, s. 985-991.

ZAWANEH, S. M. — AYOUB, E. M. — BAER, H. — CRUZ, A. C. — SPELLACY, W. N.: Factors influencing adherence of group B streptococci to human vaginal epithelial cells. *Infect. and Immun.*, 26, 1979, s. 441-447.

ZAWANEH, S. M. — AYOUB, E. M. — BAER, H. — CRUZ, A. C. — SPELLACY, W. N.: Cyclic variation in the adherence of group B streptococci to human vaginal epithelial cells. *Amer. J. Obstet. Gynaecol.*, 140, 1981, s. 381-386.

Došlo dne 3. 1. 1984

РЫЦ, М. — ЕЛИНKOVA, Я. — БИЦОВА, Р. — ГРАБОВСКАЯ, К. Б. — ТОТОЛЯН, А. А. (Институт гигиены и эпидемиологии, Прага; Институт усовершенствования врачей и фармацевтов, Прага; Институт экспериментальной медицины при Академии медицинских наук — СССР, Ленинград): Субмикроскопические аспекты адгезии стрептококков группы Б к вагинальным клеткам эпителия. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984 (5): 263-270.

Определяли субмикроскопическую структуру поверхностей стрептококков группы Б типа III (штамм 13/63) и ультраструктуру взаимодействия штамма с вагинальными клетками человека. Поверхность большинства клеток Б стрептококков после традиционных фиксирующих вмешательств электронмикроскопии была гладкой; около 25% клеток стрептококков, однако, содержали на своей поверхности добавочный слой филаментозных протрузий. Хорошо заметный слой оболочного материала был визуализирован посредством преинкубации этого штамма с типовой специфической антисывороткой. Инкубация Б стрептококков с вагинальными клетками без добавки антител показала контакт части клеток бактериальной популяции с клетками эпителия посредством филаментозных протрузий. Но большинство клеток с гладкой поверхностью сепарированы от вагинальных промежутком шириной до 150 нм. Как показала добавочная инкубация с типовой специфической антисывороткой, этот промежуток отвечает оболочной субстанции бактерий. Следовательно, оболочка стрептококков группы Б — основной компонент их поверхности, обуславливающий сцепление с вагинальными клетками, которое по отношению к вагинальным эпителиям не сопровождается ингибацией бактерий или же деструкцией клеток эпителия.

ультраструктура; вагинальные клетки человека; оболочка; глюкокализ

RÝC, M. — JELÍNKOVÁ, J. — BÍCOVÁ, R. — GRABOVSKAYA, K. B. — TOTOLYAN, A. A. (Institute of Hygiene and Epidemiology, Praha; Postgraduate Medical and Pharmaceutical Institute, Praha; Institute of Experimental Medicine, Academy of Medical Sciences of the USSR, Leningrad): *Submicroscopic Aspects of the Adherence of Group B Streptococci to Vaginal Epithelial Cells*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 263-270.

The submicroscopic structure of surfaces in the streptococci of group B, type III (strain 13/63) and the ultrastructure of the interaction of this streptococcus strain with human vaginal cells were studied. The surface of the majority of B streptococci was smooth after using the conventional fixing techniques of electron microscopy; however, about 25 % of streptococcal cells had an additional layer of filamentous protrusions on their surface. A marked layer of capsular material was visualized by means of the preincubation of this streptococcus strain with a type-specific antiserum. The incubation of B streptococci with vaginal cells without any addition of antibody allowed for the demonstration of the contact of a part of the cells of the bacterial population with the epithelial cells through filamentous protrusions. However, the majority of the smooth-surface cells was separated from vaginal cells by a gap wide up to 150 nm. It was demonstrated by additional incubation with type-specific antiserum that the above mentioned gap corresponded to the capsular substance of bacteria. Hence the capsule of streptococci in group B is the basic component of their surface responsible for adherence to vaginal cells. Adherence of B streptococci to vaginal epithelia was accompanied neither by bacterium ingestion nor by the destruction of epithelial cells.

ultrastructure; human vaginal cells; capsule; glycocalyx

Adresy autorů:

MUDr. Miloš Rýc, CSc., RNDr. Ruth Bícová, Institut hygieny a epidemiologie, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10

RNDr. Jarmila Jelínková, CSc., Institut pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10

Dr. Kornelia Borisovna Grabovskaja, dr. Artem Akopovič Totoljan, Institut experimentalnoj mediciny Akademii medicinskych nauk SSSR, ul. akad. Pavlova 12, 197 022 Leningrad, SSSR

CHROMOZOMÁLNA ANALÝZA BÝKOV VO VZŤAHU K PORUCHÁM POHLAVNEJ ČINNOSTI

J. Staník, A. Ižariková

STANÍK, J. — IŽARIKOVÁ, A. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Chromozomálna analýza býkov vo vzťahu k poruchám pohlavnej činnosti*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 271-278.

Chromozomálnou analýzou sme vyšetrili 16 býkov rôznej plemennej príslušnosti z PS Milhostov. U vyšetrovaných býkov sa vyskytli poruchy pohlavnej činnosti (poruchy spermiogenézy, aspermia, nevyhovujúca kvalita semena, hypoplázia semenníkov a pod.). Vyšetrenie sme urobili metódou podľa Moorheada a i. (1960) modifikovanou Lojdom a i. (1974), a to mikroskopickým hodnotením metafázových platní (100 X 12) a z fotografií. Chromozómy sme počítali na čítacom dokumátore (z negatívov filmov) a z fotografií. Pre každé zviera sme vyhotovili súpis. Zistili sme, že z numerických odchýlok sa najčastejšie vyskytuje hypozómia (u 11 plemenníkov — 68,75 %), hyperploidia (u 10 plemenníkov — 62,5 %), menej polyzómia (u 4 plemenníkov — 25,0 %) a iné aneuploidie (v jednom prípade — 6,2 %). Zo štrukturálnych odchýlok sa u 14 plemenníkov vyskytli zlomy (87,5 %), u piatich plemenníkov obojchromatídové zlomy (31,25 %) a v troch prípadoch zlomy na pohlavných chromozómoch (18,75 %). V jednom prípade sa vyskytla centrická fúza (6,25 %), v dvoch prípadoch asociácia (12,5 %) a v štyroch prípadoch zmiešané odchýlky (25,00 %).

centrická fúza; asociácia; metafázové platne

Cytogenetický výskum je jednou z dynamicky sa rozvíjajúcich disciplín biologických vied. Jej súčasťou je aj klinická cytogenetika, ktorá skúma a uplatňuje poznatky o dedične podmienených poruchách zdravia, ako aj o genotype zdravia.

Cytogenetické metódy slúžia teda dvom cieľom, a to poznaniu biologických mechanizmov geneticky regulujúcich priebeh rozvoja jedincov a zabezpečeniu chovu pred rozšírením genetických väd v populácii.

V súčasnosti boli na základe chromozomálnej analýzy a najmä chromozómových odchýlok popísané dedičné choroby a letálne faktory u zvierat.

Gustavsson (1980) uvádza, že pri cytogenetickom vyšetrení domácich zvierat s chromozomálnymi aberáciami, zapríčiňujúcimi rôzne poruchy zdravia, bola zistená veľká variabilita v rámci druhu, plemena, populácie a rodiny. Aberácie s nepriaznivými účinkami na sexuálny vývoj alebo na fertilitu sú u väčšiny populácií rýchle eliminované umelou selekciou.

Halman (1972) a Galloway a Norman (1976) zistili, že vyšší stupeň chromatídových gapov súvisí so zníženou fertilitou a testikulárnou hypopláziou u býkov, avšak Gustavsson (1977) usudzuje,

že gapy a zlomy sú pravdepodobne sekundárnej povahy. Lojda a Havránková (1975) diagnostikovali hypopláziu semenníkov u býkov s karyotypom XXY.

Najviac cytogenetických informácií o subfertilite pochádza zo štúdia štrukturálnych prestavieb chromozómov. Popescu (1972) popísal päť prípadov inverzie u býkov. Značné zníženie fertility (30—70 %) u jalovic dáva Gustavsson (1969) do súvisu s pravdepodobnou X-autozomálnou translokáciou.

Hansen (1969) popísal u dánskeho červeného dobytká so zníženou fertilitou (o 10 %) tandemovú translokáciu zapríčínujúcu poruchy plodnosti.

Mayr a Schlegler (1981) vyšetrili 20 býkov strakatého plemena zo siedmich staníc, kde bola vykonaná umelá inseminácia. U vyšetrených býkov zistili 12 Robertsonových translokácií, jednu reciprokú translokáciu a štyri prípady gonozomálneho chimerizmu. Autori uvádzajú rozšírenie výskytu aberácií v súvislosti s plemenami. Robertsonovu translokáciu 1/29 v súvislosti so zníženou fertilitou (o 3,5—8 %) uvádzajú Gustavsson (1971, 1975), Henderson a Brvere (1979). Vyšetrením potomstva býka s translokáciou 1/29 došli Harvey a Logue (1975) k záveru, že táto vada je dedičná podľa Mendelovho zákona. Tento defekt genetického aparátu u hovädzieho dobytká je ťažko zistiteľný bez bezprostrednej analýzy karyotypu, a to najmä vtedy, keď sa neprejaví ani na exteriéri zvierata ani v morfológii semena.

Chromozómové aberácie u jedného zvierata sa podľa charakteru a percentuálneho výskytu posudzujú v súvislosti s rôznymi poruchami zdravia, avšak nie je ešte možné určiť príčinné vzťahy medzi klinickými a cytogenetickými elementmi (Klimenko, 1973).

Jednou z numerických aberácií je polyploidia. V súčasnosti sa predpokladá, že kinetika spermatogenézy je určená nielen úrovňou pohlavných a gonadotropných hormónov hypofýzy, ale aj funkčnou aktivitou genómu pohlavných buniek v priebehu ich vývoja. Z toho vyplýva, že bunky s disbalancovaným počtom chromozómov majú menšie šance vstúpiť do meiózy ako normálne diploidné bunky. Fakt, že spermatogénne bunky so štrukturálnymi poruchami karyotypu hynú v čase meiózy alebo dokonca v postmeiotickej perióde a že väčšina polyploidných buniek sa vystavuje negatívnej selekcii v meióze, je svedectvom toho, že polyploidia vedie k silnému porušeniu génovej bilancie buniek.

Štrukturálne poruchy chromozómov v súvislosti s uvedenými poruchami spermiogenézy popisuje Klimenko (1973), ktorý cytogeneticky vyšetril 11 býkov. U troch zistil translokáciu v heterozygótnom stave a u ôsmich inverziu chromozómov. Štrukturálne aberácie chromozómov sú obvyčajne príčinou celkovej sterility (Sysa, 1976).

Chromatídové poruchy vo forme zlomov a gapov sú dôležité, pretože sú predpokladom štrukturálnej prestavby chromozómov. Vyššia frekvencia achromatických gapov a chromozómových zlomov bola z rôznych príčin pozorovaná v lymfocytoch hovädzieho dobytká (Halman, 1972; Bongso a Basrur, 1976; Galloway a Norman, 1976; Staník a i., 1979, 1980).

Sysa a Slawomirski (1979) na základe výskumov usudzujú, že nepravidelnosti v genetickom materiáli uloženom v pohlavných chromozómoch vplývajú v prvom rade na vývoj orgánov pohlavného

I. Sumárna tabuľka chromozomálnej analýzy u plemenných býkov s poruchami pohlavnej činnosti — Summarizing table of chromosomal analysis in sires with disorders of sexual activity

Príčina cytogenetického vyšetrenia	Porucha spermiogenézy											
	LG-8		NX-33		NF-28		DL-56		OK-135		DI-26	
	SP		HF × NČ 50%		SS × NČ 75%		SS		SS		SS	
	poč.	%	poč.	%	poč.	%	poč.	%	poč.	%	poč.	%
Mitózy vyšetrené numericky:	50		43		35		32		34		24	
normoploidia	46	92,0	36	89,72	31	88,57	31	96,88	25	73,52	20	83,33
numerické odchýlky	4	8,0	7	16,27	4	11,43	1	3,12	9	26,47	4	16,66
hypozómia	4	8,0	2	4,65	1	2,85	1	3,12	2	5,88	1	4,16
polyzómia	—	—	—	—	1	2,85	—	—	—	—	1	4,16
hyperploidia	—	—	5	11,62	2	5,71	—	—	7	20,58	2	2,83
iné aneuploidie	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mitózy vyšetrené štruktúrne:	114		87		87		100		100		141	
štruktúrne odchýlky	5	4,38	2	2,29	1	1,14	4	4,00	4	4,00	9	6,38
zlomy	3	2,63	2	2,29	1	1,14	1	1,00	4	4,00	7	4,96
obojchromatidové zlomy	1	0,87	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0,71
zlomy na pohlavných chromozónoch	1	0,87	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0,71
delécia	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
centrická fúza	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
asociácia	—	—	—	—	—	—	3	3,00	—	—	—	—
zmiešané odchýlky	—	—	1	2,32	—	—	—	—	—	—	1	4,16

1. pokračovanie tab. I

[illegible]

2. pokračovanie tab. I

Príčina cytogenetického vyšetrenia	Porucha spermiogenézy		Nevyhovujúca kvalita semena						Hypoplázia semenníkov	
	OK-139		NEC-71		HX-15		GR-7		RER-28	
	SS		SS × NČ 75%		SS		SP × Ay 25%		SS × ČS 75%	
	poč.	%	poč.	%	poč.	%	poč.	%	poč.	%
Mitózy vyšetrené numericky:	36		44		40		49		32	
normoploidia	34	94,44	40	90,90	36	90,00	38	77,55	26	81,25
numerické odchýlky	2	5,56	4	4,09	4	10,00	11	22,45	6	18,75
hypozómia	—	—	4	4,09	—	—	—	—	—	—
polyzómia	1	2,77	—	—	—	—	—	—	—	—
hyperploidia	1	2,77	—	—	4	10,00	11	22,45	—	—
iné aneuploidie	—	—	—	—	—	—	—	—	6	18,75
Mitózy vyšetrené štrukturálne:	118		60		107		91		82	
štrukturálne odchýlky	3	2,54	2	3,33	2	1,86	—	—	4	4,87
zlomy	2	1,69	—	—	1	0,93	—	—	3	3,65
obojchromatídové zlomy	—	—	—	—	1	0,93	—	—	1	1,22
zlomy na pohlavných chromozómoch	1	0,84	—	—	—	—	—	—	—	—
delécia	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
centrická fúza	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
asociácia	—	—	1	1,66	—	—	—	—	—	—
zmiešané odchýlky	—	—	1	2,27	—	—	—	—	1	3,12

aparátu, a tým aj na jeho funkciu. Štrukturálne aberácie pohlavného chromozómu menia jeho genetickú aktivitu, čím dochádza k poruchám stavby a funkcie pohlavného ústrojenstva.

MATERIÁL A METÓDA

Cytogenetickou analýzou sme vyšetrili 16 plemenných býkov z PS Milhostov za roky 1980 až 1982. Plemenná príslušnosť býkov bola rôzna. Plemenné býky sú odchované u nás, až na osem jedincov, ktorých otcovia sú importovaní.

U vyšetrovaných plemenníkov sa vyskytli poruchy pohlavnej činnosti, a to najmä poruchy spermiogenézy, ako napr. aspermia, nevyhovujúca kvalita semena, slabá aktivita a nízka koncentrácia semena a v jednom prípade sa vyskytla hy-poplázia semenníkov.

Poruchy pohlavnej činnosti boli zistené na stanici plemenných býkov pri od-bere semena a jeho vyšetrení. Plemenníky boli ponechané v pozorovaní tri me-siace a keďže sa stav nezlepšil, boli vyradené. Predpokladáme, že príčinou tejto poruchy boli zhoršené podmienky výživy ako aj genetický činiteľ. U plemenníkov odchovaných u nás, ktorých predkovia — rodičia sú k dispozícii, je predpoklad hlbšieho skúmania príčiny, avšak u plemenníkov, ktorých otcovia boli importovaní, je toto vyšetrenie komplikovanejšie.

Pre cytogenetické vyšetrenie sme použili metódu podľa Moorheada a i. (1960) modifikovanú Lojdom a i. (1974). Metafázové platne sme hodnotili mikros-kopicky 100 X 12 a z fotografií. Chromozómy sme počítali na čítacom dokumátore (z negatívov filmov) a z fotografií. Pre každé hodnotené zviera sme vypracovali súpis ku.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Cytogenetické vyšetrenie domácich zvierat sa dnes uskutočňuje v mnohých krajinách. Tieto znalosti sa využívajú hlavne v šľachtiteľskej práci pre zlepšenie reprodukčnej a produkčnej schopnosti, ako aj pri identifikácii dedične podmienených porúch zdravia hospodárskych zvierat.

Numerické a štrukturálne odchýlky, zistené u plemenníkov s po-ruchami pohlavnej činnosti, sú uvedené v tab. I.

Z numerických odchýlok sa najčastejšie vyskytuje hypozómia a hy-perploidia. Hypozómia sa vyskytla u 11 plemenníkov s karyotypom 56 XY, 58 XY, 59 XY s počtom mitóz od 1 do 8. Hyperploidia sa vyskytla v desiatich prípadoch ako 120 XXYY, 102 XXYY s počtom mitóz od 1 do 11. Polyzómia sa vyskytla v štyroch prípadoch ako 61 XY, 62 XY s počtom mitó 1. Iné aneuploidie sa vyskytli v jednom prípade s počtom mitóz 6. Stotožňujeme sa s autormi Isakova (1968), Baranov a Dy-ban (1968), ktorí zisťovali polyploidiu (hyperploidiu) u samcov no-riek a myši a tvrdia, že polyploidia (hyperploidia) vedie k silnému po-rušeniu gémovej bilancie buniek s disbalancovaným počtom chromozó-mov a vystavujú sa silnej negatívnej selekcii pri meióze.

Zo štrukturálnych odchýlok sa vo väčšom počte vyskytujú mitózy so zlomami, a to v 14 prípadoch u 16 plemenníkov s počtom mitóz od 1 do 7. Obojchromatídové zlomy sa vyskytli u piatich plemenníkov s počtom mitóz 1, zlomy na pohlavných chromozómoch sa vyskytli v troch prípadoch (u troch plemenníkov). V jednom prípade sa vyskytla centrická fúza, v dvoch prípadoch asociácia s počtom mitóz od 1 do 3 a zmiešané odchýlky sa vyskytli u štyroch plemenníkov s počtom mitóz

1. O štrukturálnych odchýlkach sa zmieňujú Klímenko (1973), Sysa (1976), Halman (1972), Galloway a Norman (1976), Staník a i. (1979, 1980) a usudzujú, že nepravidelnosť v genetickom materiáli uloženom v pohlavných chromozómoch vplýva v prvom rade na vývoj pohlavného ústrojenstva, a tým aj na jeho funkciu. Gustavsson (1980) uvádza, že aberácie s nepriaznivými účinkami na sexuálny vývoj sú vo väčšine populácií rýchle eliminované umelou selekciou.

Predpokladáme, že pri cytogenetickom vyšetrení väčšieho počtu plemenníkov s poruchami pohlavnej činnosti dôjdeme k objasneniu príčin a k objaveniu markerov, ktoré by na základe počtu chromozómových aberácií pomohli pri selekcii plemenníkov zaraďovaných do inseminácie.

Literatúra

- BARANOV, V. S. — DYBAN, A. P.: Analiz narušenij spermatogeneza i embryogeneza u myšej geterozygotnych po tranzlokacii T 6. Genetika, 4, 1968, č. 12, s. 70.
- BONGSO, A. — BASRUR, P. K.: Chromosome anomalies in Canadian Guernsey bulls. Cornell Veter., 66, 1976, s. 476-489.
- GALLOWAY, D. B. — NORMAN, J. R.: Testicular hypoplasia and autosomal secondary constrictions in bulls. Proc. VIII int. Congr. anim. Reprod. artif. Insem., Krakow, IV, 1976, s. 710-713.
- GUSTAVSSON, I.: Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in Swedish cattle. Hereditas, 63, 1969, s. 68-169.
- GUSTAVSSON, I.: Culling rates in daughters of sires with a translocation of centric fusion type. Hereditas, 67, 1971, s. 65-73.
- GUSTAVSSON, I.: New information on the reduced fertility of cattle with the 1/29 translocation. Proc. 2nd Eur. Colloq. Cytogenet., Giessen, 1975, s. 184-186.
- GUSTAVSSON, I.: Cytogenetic analysis of cattle chromosomes — current utilization and speculation of future applications. Ann. Génét. Sélec. anim., 9, 1977, s. 459-462.
- GUSTAVSSON, I.: Chromosome aberrations and their influence on the reproductive performance of domestic animals — a review. Z. Tierzüchtg. Zücht.-Biol., 97, 1980, s. 176-195.
- HALMAN, C. R. E.: Autosomal deletion and infertility in cattle. Veter. Rec., 91, 1972, s. 572.
- HARVEY, M. J. A. — LOGUE, D. N.: Studies on the 13/21 Robertsonian translocation in Swiss Simmental Cattle. 2. Eur. Kolloq. Zytogenet. Veter.-Med., Tierz. Säugetierkde, Giessen, 1975, s. 155-161.
- HANSEN, K. M.: Bovine tandem fusion and infertility. Hereditas, 63, 1969, s. 453-454.
- HENDERSON, L. M. — BRVERE, N.: Conservation of nucleolus organized regions during evolution in sheep, goat, cattle and audad. Can. J. Genet. Cytol., 21, 1979, s. 1-8.
- ISAKOVA, G. K.: Poliploidija v kostnom mozge i spermatogennom epiteliu samcov norok raznoj plodovitosti. Genetika, XVII, 1981, č. 5, s. 858-872.
- KLIMENKO, V. V.: Chromosomnyje anomaliji v veterinarnoj patologiji. Životnovodstvo, 14, 1973, č. 1, s. 29-35.
- LOJDA, L. — ŠTAVÍKOVÁ, M. a kol.: Cytogenetické studie u zvířat s porušeným zdravím. [Závěrečná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1974.
- LOJDA, L. — HAVRÁNKOVÁ, J.: 2. Eur. Kolloq. Zytogenet. Veter.-Med., Tierz. Säugetierkde, Giessen, 1975, s. 29-30.
- MAYR, B. — SCHLEGER, W.: Cytogenetics investigation in austrian bulls and boars. Zbl. Veter.-Med., R. A. 28, 1981, s. 70-75.
- MOORHEAD, P. S. — NOWELL, P. C. — MELLMAN, J. et al.: Chromosome preparations of leucocytes cultured from peripheral blood. Exp. Cell. Res., 20, 1960, s. 613-616.
- POPESCU, C.: Ann. Génét. Sélec. anim., 3, 1971, č. 4, s. 521-525.
- SYSA, P. S.: Translokacja chromosomalna 1/29 u dwóch buhajkow rasy polskiej czerwonej. Med. weter., 32, 1976, č. 6, s. 353-355.
- SYSA, P. S. — SLAWOMIRSKI, V.: Aberracje chromosomowe u bydla domowego

(*Bos taurus*, L.). Cz. II. Nieprawidłowości chromosomów płciowych. Med. wet. 35, 9, 1979, s. 563-565.

STANÍK, J. — IŽARIKOVÁ, A. — TETŘEVOVÁ, J. — ČIERNA, V.: Štúdium dedične podmienených chýb vo vzťahu k chromozomálnej analýze. [Čiastková záverečná správa.] Košice, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny 1979. 77 s.

STANÍK, J. — IŽARIKOVÁ, A. — DOBEŠ, I. — ČIERNA, V. — TETŘEVOVÁ, J.: Cytogenetické štúdium dedičnosti chorôb u hovädzieho dobytku. [Záverečná správa.] Košice, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny 1980. 76 s.

Došlo dňa 11. 7. 1983

СТАНИК, Я. — ИЖАРИКОВА, А. (Институт экспериментальной ветеринарной медицины, Кошице): Хромосомный анализ быков с точки зрения расстройств половой активности. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5): 271-278.

Путем хромосомного анализа исследовали 16 разнопородных быков из племяхоза Милхостов, у которых были обнаружены половые расстройства: спермиогенеза, качества семени; гипоплазия семенников, аспермия и пр.). Исследовали по методу Моорхида и др. (1960) в модификации Лойда и др. (1974), оценивали метафазные узлы и микроскопически (100 X 12), и по фотоснимкам. Хромосомы подсчитывали на счетном докуматоре (по негативам фильмов) и из фотоснимков. Из нумерических отклонений чаще всего встречаются гипозомия (у 11 производителей — 68,75 %), гиперплоидия (у 10 — 62,5 %), в меньшей мере полизомия (у 4 — 25,0 %) и др. виды анеуплоидии (в 1 случае — 6,2 %). Из изломы (31,25 %), у 3 — изломы половых хромосом (18,75 %), у 5 — двуххроматидные изломы (31,25 %), у 5 — изломы половых хромосом (18,75 %). В 1 случае отмечена центрическая фузия (6,25 %), в двух — социация (12,5 %), в 4 — смешанные отклонения (25,00 %).

центрическая фузия; осоциация; метафазовые участки

STANÍK, J. — IŽARIKOVÁ, A. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Chromosomal Analysis of Bulls in relation to Disorders of Sexual Activity*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5): 271-278.

Chromosomal analysis was used for the examination of 16 bulls of different breeds from the Milhostov breeding station. The examined bulls exhibited disorders of sexual activity (disorders of spermiogenesis, aspermia, bad quality of semen, hypoplasia of testes, etc.). The examination was performed by the method after Moorhead et al. (1960) modified by Lloyd et al. (1974): metaphase plates were evaluated microscopically (100 X 12) and from photos. The chromosomes were counted by means of the counting documator (from film negatives) and from photos. A card was prepared for each animal. Hyposomy (11 sires — 68.75 %) and hyperploidy (10 sires — 62.5 %) were found to be the most frequent numerical aberrations, followed by polysomy (4 sires — 25.0 %) and other aneuploidies (one case — 6.2 %). As to structural defects, breaks occurred in 14 sires (87.5 %), bichromatid breaks in five sires (31.25 %) and breaks on sexual chromosomes in three sires (18.75 %). Centric fusion was observed in one case (6.25 %), association in two cases (12.5 %) and mixed aberrations in four cases (25.00 %).

centric fusion; association; metaphase plates

Adresa autorov:

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

REZISTENCE VIRU AUJESZKÉHO CHOROBY, PŘÍTOMNÉHO V KRVÍ PRASAT, NA DISIŘIČITAN DRASELNÝ A KYSELINU CHLOROVODÍKOVOU

P. Večerka, P. Dvořák

VEČERKA, P. — DVOŘÁK, P. (Vysoká škola veterinární, Brno; Výzkumný ústav masného průmyslu, Brno): *Rezistence viru Aujeszského choroby, přítomného v krvi prasat, na disiřičitan draselný a kyselinu chlorovodíkovou*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 279-285.

Zjišťovali jsme citlivost viru Aujeszského choroby, který byl přítomen v krvi prasat, na účinky konzervancí — disiřičitanu draselného ($K_2S_2O_5$) a kyseliny chlorovodíkové (HCl). Citlivost viru byla zjišťována na králících infikovaných prasečí krví, jež obsahovala virus Aujeszského choroby a k níž byla přidána konzervancia v různém množství. Bylo zjištěno, že 0,5 % $K_2S_2O_5$ a 3 % HCl jsou zcela dostatečné koncentrace konzervancí k tomu, aby byly všechny viry přítomné v krvi inaktivovány. Takto konzervovaná krev může být využita ke krmným účelům v chovech prasat bez nebezpečí, že by do zdravých chovů byla zavlečena zkrmvanou krví Aujeszského choroba.

konzervancia; koncentrace konzervancí; inaktivace

V souladu s usnesením XVI. sjezdu KSČ je kladen maximální důraz na využití všech domácích zdrojů bílkovin pro výživu hospodářských zvířat.

Jednou z dostupných forem vedlejších surovin masného průmyslu je krev jatečných zvířat. Možnostmi zpracování krve a jejího využití se zabýval Dvořák (1982), který upozornil mimo jiné i na konzervaci krve chemickou cestou. Tento způsob lze řešit přímo v závodech masného průmyslu.

V současné době je téměř všechna krev (96 % veškeré krve těžené na jatkách MP ČSR) zpracované na VAÚ a některých zemědělských závodech sušením. Vzhledem ke značným nákladům na přepravu a sušení krve přestává být ekonomika tohoto systému výhodná. Rovněž Adamczyk (1983) uvádí, že sušená krev jako krmivo je ekonomicky málo výhodná, protože z důvodů velkého vysušení krve se stává hemoglobin odolný k působení preteolytických enzymů. V důsledku toho je využíváno pouze 60 % bílkovin, jež jsou v krevní moučce obsaženy.

Proto se stává aktuální zpracovat krev ekonomicky výhodnějším způsobem. Chemickou konzervací krve, působení disiřičitanu sodného ($Na_2S_2O_5$) a kyseliny chlorovodíkové (HCl), řešil po technické i mikrobiologické stránce Vrchlauský (1969 a 1970). Krev jím konzervovaná obsahovala 0,5 % $Na_2S_2O_5$ a 3 % 18% HCl a měla pH 3. Využití takto konzervované krve ke krmným účelům ověřili v bilančním pokuse

na prasatech J a m b o r a V r c h l a b s k ý (1970). Průměrný denní přírůstek u prasat krmených touto krví činil 640 g; v kontrolní skupině, krmené rybí moučkou, bylo dosaženo průměrného denního přírůstku 625 g. Ve srovnání se sušením krve v zařízeních VAÚ na krevní moučku by úspora na výrobu jednoho tisíce tun chemicky konzervované krve představovala 5000 GJ a 30 000 kW při návratnosti 1,24, což je vysoce efektivní. Také lze předpokládat, že se zvýší stravitelnost takto konzervované krve.

Z hlediska možnosti výskytu viru Aujeszkého choroby v krvi jatečných prasat a zavlečení této choroby zkrmovanou krví do zdravých chovů bylo nutné ověřit virocidní účinky disiřičitanu draselného ($K_2S_2O_5$) a kyseliny chlorovodíkové (HCl) na virus Aujeszkého choroby a zjistit provozní jistotu účinnosti daných konzervancí.

Virocidní účinky chemických látek na virus Aujeszkého choroby popisuje S a b ó (1981). Uvádí např., že vystaví-li se virus pH 4, dokáže se za dvě hodiny pouze jeho stopy, 0,5% kyselina chlorovodíková a sírová jej usmrcují za jednu až tři minuty, 1 % sublimátu a 2 % louhu sodného či draselného ihned.

MATERIÁL A METODY

Odolnost viru Aujeszkého choroby, přítomného v krvi prasat, byla zjišťována modelovým pokusem.

Ke sterilně odebrané krvi prosté viru Aujeszkého choroby byl přidán virus Aujeszkého choroby, pak byla přidána různá množství $K_2S_2O_5$ a HCl tak, aby vznikly vzorky krve s virem Aujeszkého choroby o koncentraci 0,5 % $K_2S_2O_5$ a s 1, 2, 2,5, 2,75 a 3 objemovými procenty 18% HCl. Za 24 hodiny po přidání $K_2S_2O_5$ a HCl byly těmito vzorky krve infikování králíci o hmotnosti 2,5 kg. Současně byli — jako kontrolní skupina — infikováni králíci pouze virem Aujeszkého choroby, krví smíchanou s virem Aujeszkého choroby a pouze prasečí krví.

Prasečí krev byla získána na jatkách JPM v Brně z klinicky zdravých prasat, která pocházela z chovu prostého Aujeszkého choroby. Krev od každého prasete byla odebrána zvlášť. Ihned po dopravení do laboratoře byla přelita do sterilních kádinek o objemu 1 l a bylo k ní přidáno 10 ml viru Aujeszkého choroby. Asi 50 ml krve bylo před přidáním viru odlito zvlášť, aby mohla být zjištěna případná bakteriální kontaminace.

Pro infekci byly použity kmeny viru Aujeszkého choroby označené ČVOŠ a TOP, získané od dr. Sabó, CSc. Oba kmeny viru jsou plně virulentní, zabíjejí králíky za silného pruritu během tří až pěti dnů a selata do věku čtyři až šest týdnů po aplikaci *per os*. Kmeny ČVOŠ i TOP byly přidány do krve v koncentraci 10^6 ID₅₀. Kmen ČVOŠ byl přidán do krve prvního prasete, označené „500“, a kmen TOP do krve druhého prasete, označené „300“. Po přidání viru byla krev uložena do chladničky při teplotě +4 °C.

Za 24 hodiny po přidání viru byl do krve „500“ i „300“ přidán disiřičitan draselný v množství 0,5 % a za další 24 hodiny HCl, ředěná a. p. destilovanou vodou (18%), v množství 1, 2, 2,5, 2,75 a 3 objemová procenta. Po přidání disiřičitanu byla krev vyjmuta z ledničky a uskladněna při teplotě laboratoře. Takto pak byla skladována po celou dobu pokusu.

Za další 24 hodiny byl zahájen biologický pokus na králících o hmotnosti 2,5 kg. Jeho úkolem bylo ověřit virocidní účinek použitých chemických konzervancí na virus Aujeszkého choroby. Pro celý pokus bylo použito celkem 18 králíků. Tito králíci byli infikováni i. m. 1 ml infekčního materiálu do osvalené partie levé pánevní končetiny takto:

— králík č. 1 krev „500“

— králík č. 2 krev „300“

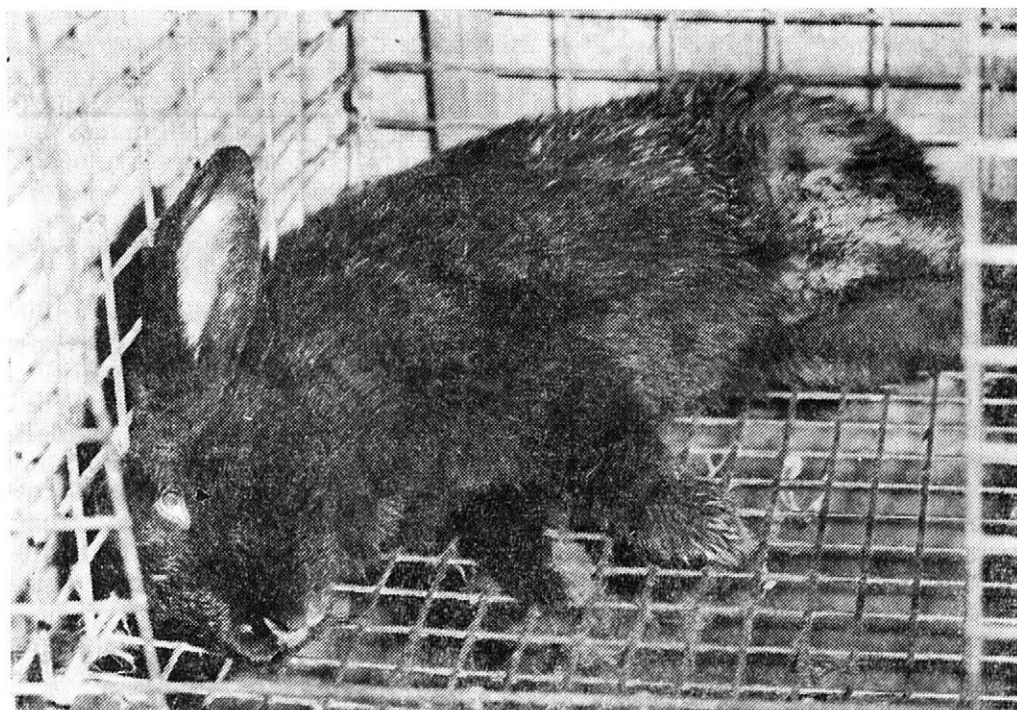
— králík č. 3 kmen ČVOŠ (10^6 ID₅₀)

- králík č. 4 kmen TOP (10^6 ID₅₀)
- králík č. 5 krev „500“ + ČVOŠ (10^6 ID₅₀)
- králík č. 6 krev „300“ + TOP (10^6 ID₅₀)
- králík č. 7 krev „500“ + ČVOŠ + 0,5 % $K_2S_2O_5$
- králík č. 8 krev „300“ + TOP + 0,5 % $K_2S_2O_5$
- králík č. 9 krev „500“ + ČVOŠ + $K_2S_2O_5$ + 1 % HCl
- králík č. 10 krev „300“ + TOP + $K_2S_2O_5$ + 1 % HCl
- králík č. 11 krev „500“ + ČVOŠ + $K_2S_2O_5$ + 2 % HCl
- králík č. 12 krev „300“ + TOP + $K_2S_2O_5$ + 2 % HCl
- králík č. 13 krev „500“ + ČVOŠ + $K_2S_2O_5$ + 2,5 % HCl
- králík č. 14 krev „300“ + TOP + $K_2S_2O_5$ + 2,5 % HCl
- králík č. 15 krev „500“ + ČVOŠ + $K_2S_2O_5$ + 2,75 % HCl
- králík č. 16 krev „300“ + TOP + $K_2S_2O_5$ + 2,75 % HCl
- králík č. 17 krev „500“ + ČVOŠ + $K_2S_2O_5$ + 3 % HCl
- králík č. 18 krev „300“ + TOP + $K_2S_2O_5$ + 3 % HCl

Krev podávaná králíkům byla současně vyšetřena bakteriologicky na přítomnost patogenních a podmíněně patogenních mikrobů. Vyšetřena byla i krev, která byla dána jako kontrolní mimo pokus.

Pokus byl sledován po dobu tří týdnů, potom byl uzavřen a vyhodnocen. Na závěr pokusu, tj. za tři týdny, bylo zopakováno bakteriologické vyšetření krve na přítomnost patogenních a podmíněně patogenních mikrobů.

Od králíků uhynulých během pokusu byla odebrána mícha a mozek; z těchto orgánů byla připravena 10% suspenze v pufrovaném fyziologickém roztoku za účelem průkazu viru Aujeszského choroby. 10% suspenzemi byly infikovány dva dny staré tkáňové kultury buněčné linie IBRS-2.



1. Uhynulý infikovaný králík — A dead infected rabbit

I. Virocidní účinek chemických konzervancií na virus Aujeszského choroby — The virocidal effect of chemical preservatives on Aujeszky disease virus

Králík číslo	Krev		Kmen viru		K ₂ S ₂ O ₅ 0,5 %	HCl %	Úhyn
	500	300	ČVOŠ	TOP			
1	+	—	—	—	—	—	—
2	—	+	—	—	—	—	—
3	—	—	+	—	—	—	+
4	—	—	—	+	—	—	+
5	+	—	+	—	—	—	+
6	—	+	—	+	—	—	+
7	+	—	+	—	+	—	+
8	—	+	—	+	+	—	+
9	+	—	+	—	+	1,0	+
10	—	+	—	+	+	1,0	+
11	+	—	+	—	+	2,0	+
12	—	+	—	+	+	2,0	+
13	+	—	+	—	+	2,5	—
14	—	+	—	+	+	2,5	—
15	+	—	+	—	+	2,75	—
16	—	+	—	+	+	2,75	—
17	+	—	+	—	+	3,0	—
18	—	+	—	+	+	3,0	—

VÝSLEDKY

Z 18 infikovaných králíků uhynuli do tří dnů králíci č. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 a 12. Králík č. 11 uhynul až 17. den po infekci. Všichni uhynulí králíci měli v různém stupni vykousané místo vpichu, vyhřezlé třetí víčko, anemické sliznice a křečovitě prohnuté tělo (obr. 1). Králíci č. 1 a 2, tj. ti, jimž byla podána pouze krev prostá viru Aujeszského choroby, a dále králíci č. 13 až 18 byli po třech týdnech čilí a zdraví a ani během pokusu u nich nebyly pozorovány změny zdravotního stavu (tab. I).

U uhynulých králíků nebyly nalezeny při pitvě žádné patologicko-anatomické změny a ve všech případech se podařilo prokázat z mozku a míchy virus Aujeszského choroby, který tvořil na TK buněčné linie IBRS-2 druhý až pátý den cytopatický efekt, charakteristický pro virus Aujeszského choroby.

Výsledky prvního bakteriologického vyšetření (na začátku pokusu) byly negativní, při druhém bakteriologickém vyšetření (na konci pokusu) byly z krve konzervované pouze 0,5 % K₂S₂O₅, krve konzervované 0,5 % K₂S₂O₅ a 1 % HCl a krve bez konzervancií izolovány kvasinky.

Krev jatečných zvířat je v současné době v ČSSR, ale i v dalších státech RVHP, využívána převážně ke krmným účelům jako krevní moučka, jak bylo shodně konstatováno referujícími na odborném semináři „Krev jatečných zvířat jako potravina a technická surovina“, který se konal v rámci Salimy 1983. Zkrmovat krev zpracovanou ekonomicky méně náročným způsobem by bylo velmi žádoucí. Přitom je však třeba dbát na to, aby jatečnou krví nebyla zavlečena infekční onemocnění do zdravých chovů zvířat, hlavně chovů prasat, v nichž se zkrmuje především.

V současné době je Aujeszského choroba aktuální nemocí prasat. Prasata se mohou virem Aujeszského choroby nakazit v přirozených podmínkách orální nebo nazální cestou (Shope, 1934, 1935a, b; Sabó a Rajčáni, 1968; Sabó, 1981). Nelze jednoznačně vyloučit možnost výskytu viru Aujeszského choroby v krvi jatečných prasat. Důvodem nálezu by mohla být aktivace viru, který je v organismu prasat v latentním stavu, při stresových situacích (jakými transport na jatky a pohyb zvířat před vlastní porážkou rozhodně jsou) a následná krátkodobá virémie. Existenci latentní infekce virem Aujeszského choroby u prasat dokázali Sabó a Rajčáni (1976). Jako tkáň, ze které byl virus prokázán v latentním stavu, byly označeny mandle, regionální krční mízní uzliny, *ganglion trigeminale* a sliznice nosu. Údaje v literatuře nepopírají možnost výskytu viru Aujeszského choroby v krvi prasat. McFerran a Dow (1965) hovoří o tom, že v krvi se virus nachází vzácně a že pravá virémie se po infekci virem Aujeszského choroby nevyskytuje. Rajčáni aj. (1969) uvádějí, že při bohatém titračním a fluorescenčním antigenu v lymfatických uzlinách lze předpokládat, že se virus do krve dostává, i když nejde o výraznou a dlouhotrvající virémii. Pouze virémií, jak uvádí Sabó (1981), si lze vysvětlit nález viru v mandlích, plicích a slezině i po subkutánní infekci. Virus z krve úspěšně izolovali ve dvou případech z deseti uměle infikovaných sedmidenních selat Blaškovič aj. (1970).

Jako další možnost se jeví splavení viru Aujeszského choroby krví z mandlí při vykrvování poražených prasat.

V naší práci jsme se snažili zjistit, zda přidáním kyseliny chlorovodíkové do krve dojde k inaktivaci viru Aujeszského choroby. Zůstávalo totiž nejisté, zda koagulované krevní bílkoviny po přidání kyseliny nechrání virové partikule před inaktivací. Z práce, kterou uveřejnili Žuffa a Škoda (1962), vyplývá, že virus Aujeszského choroby je při teplotě 4 °C stabilní v rozmezí pH 5 až 9. Při pH 10 přežívají za 24 hodin jen stopy viru a při pH 3 se virus inaktivuje už do dvou hodin. Při pH 4 a 11 se virus nedá po dvou hodinách dokázat na TK, přestože králíci, infikovaní 2 ml koncentrovaného materiálu, uhynou za typického pruritu, ale za 24 hodin vede působení uvedených hodnot pH k takové inaktivaci viru, že se ani inokulací na králíci nedá dokázat přítomnost živého viru ve vyšetřovaném materiálu. Měla by tedy být 3% koncentrace HCl v krvi, při níž klesá pH krve na hodnotu 3 nebo níže, považována za dostatečnou k inaktivaci viru Aujeszského choroby.

Jak ukázaly pokusy na králících, které lze považovat za nejvhodnější laboratorní zvířata pro experimentální infekci (Andrewes a Pereira, 1977; Lenette aj. 1974; Sabó, 1981), je zřejmé, že

již 2,5% koncentrace kyseliny chlorovodíkové je dostatečná k tomu, aby byl virus Aujeszkého choroby v krvi inaktivován.

Z těchto důvodů se nám jeví námi přijatá koncentrace konzervancí (0,5 % disiřičitanu draselného a 3 % kyseliny chlorovodíkové) jako dostatečná k tomu, aby inaktivovala veškerý virus Aujeszkého choroby, který by se v krvi vyskytoval.

ZÁVĚR

Z 18 infikovaných králíků, kterým byla podána samotná krev a krev obsahující virus Aujeszkého choroby, uhynuli pouze ti králíci, kterým byla podána krev konzervovaná pouze 0,5 % $K_2S_2O_5$ nebo krev konzervovaná 0,5 % $K_2S_2O_5$ a HCl do koncentrace 2 %. Zdravotní stav králíků, kteří byli infikováni krví konzervovanou 0,5 % $K_2S_2O_5$ a 2,5 %, 2,75 % či dokonce 3 % HCl, se během pokusu nezměnil a žili i po skončení pokusu, a to bez rozdílu, který kmen viru Aujeszkého choroby byl v pokuse použit.

Ze zjištěných skutečností vyplývá, že koncentrace konzervancí krve 0,5 % $K_2S_2O_5$ a 3 % HCl jsou pro inaktivaci viru Aujeszkého choroby, přítomného v krvi prasat, plně dostačující a mohou se uplatnit při konzervaci krve jatečných prasat v provozních podmínkách.

Literatura

- ADAMCZYK, E.: Využití krve jatečných zvířat v Polsku. Veterinářství, 33, 1983, s. 299.
- ANDREWES, CH. — PEREIRA, G. H.: Viry obratlovců. Praha, Avicenum 1977, s. 238-239.
- BLÁŠKOVIČ, D. — SABÓ, A. — RAJČÁNI, J.: Experimentelle Pathogenese der Aujeszkyschen Krankheit beim Ferkel. Arch. exp. veter. Med., 24, 1970, s. 9-27.
- DVOŘÁK, P.: Možnosti zpracování krve jatečných zvířat. Zprav. mas. Prům. ČSR, 1982, č. 1-2, s. 81-84.
- JAMBOR, V. — VRCHLABSKÝ, J.: Chemische Konservierung zur Fütterung bestimmten Schachtblutes. Fleischwirtschaft, 50, 1970, s. 210-214.
- LENETTE, E. H. — SCHMIDT, N. J. a kol.: Laboratorní vyšetřovací metody virových a rickettsiálních nákaz. Praha, Avicenum 1974, s. 411-417.
- McFERRAN, J. B. — DOW, C.: The distribution of the virus of Aujesky's disease (pseudorabies virus) in experimentally infected swine. Amer. J. veter. Res., 26, 1965, s. 631-635.
- RAJČÁNI, J. — SABÓ, A. — BLÁŠKOVIČ, D.: Studies on the pathogenesis of Aujesky's disease. II. Distribution of virus after subcutaneous infection. Acta virol., 13, 1969, s. 52-59.
- SABÓ, A.: Aujeszkého choroba. Bratislava, Veda 1981. 269 s.
- SABÓ, A. — RAJČÁNI, J.: Latent pseudorabies virus infection in pigs. Acta virol., 20, 1976, s. 208-214.
- SHOPE, R. E.: Pseudorabies as a contagious disease in swine. Science, 80, 1934, s. 102-103.
- SHOPE, R. E.: Experiments on the epidemiology of pseudorabies. I. Mode of transmission of the disease in swine and their possible role in its spread to cattle. J. exp. Med., 62, 1935a, s. 85-89.
- SHOPE, R. E.: Experiments on the epidemiology of pseudorabies. II. Prevalence of the disease among Middle-Western swine and the possible role of rats in herd-to-herd infection. J. exp. Med., 62, 1935b, s. 101-107.
- VRCHLABSKÝ, J.: Chemische Konservierung zur Fütterung bestimmten Schlachtblutes. Fleischwirtschaft, 49, 1969, s. 1489-1492.

VRCHLABSKÝ, J.: Chemische Konservierung zur Fütterung bestimmten Schlachtplutes. Fleischwirtschaft, 50, 1970, s. 827-828.

ŽUFFA, A. — ŠKODA, R.: Niektoré biologické vlastnosti vírusu Aujeszkeho choroby. Veter. Čas., 11, 1962, s. 155-164.

Došlo dne 2. 12. 1983

ВЕЧЕРКА, П. — ДВОРЖАК, П. (Институт ветеринарии, Брно; НИИ мясной промышленности, Брно): Устойчивость вируса болезни Ауески в крови свиней к тиосульфату калия и хлористой кислоты. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 279-285.

Определяли восприимчивость находящегося в крови свиней вируса болезни Ауески к воздействию консервирующих веществ тиосульфата калий ($K_2S_2O_5$) и хлористой кислоты HCl). Чувствительность вируса определяли на кроликах, зараженных свиной кровью, которая содержала вирус болезни Ауески и добавку обоих консервирующих веществ. Как установлено, 0,5 % $K_2S_2O_5$ и 3 % HCl вполне достаточны для инактивирования всех содержащихся в крови вирусов. Консервированной таким образом кровью можно пользоваться в кормовых целях в свиноводстве без опасения завлечения в здоровые стада болезни Ауески из-за скармливания крови.

консервирование; концентрация консервирующих веществ; инактивация

VEČERKA, P. — DVOŘÁK, P. (University of Veterinary Medicine, Brno; Research Institute of Meat Industry, Brno): *The Resistance of Aujeszky Disease Virus in Pig Blood to Potassium Thiosulphate and Hydrogen Chloride*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 279-285.

A trial was conducted to study the sensitivity of the Aujeszky disease virus, present in the blood of pigs, to the effect of two preservatives: potassium thiosulphate ($K_2S_2O_5$) and hydrogen chloride (HCl). The sensitivity of the virus was determined on rabbits infected with pig blood containing Aujeszky disease virus with different additions of the two preservatives. As found, 0.5 % of $K_2S_2O_5$ and 3 % of HCl are concentrations fully sufficient for the inactivation of all the viruses present in the blood. Blood preserved in this way can be used for feeding purposes in pig stocks without the hazard of introducing Aujeszky disease in healthy stocks via the blood included in feed rations.

preservation; concentration of preservatives; inactivation

Adresy autorů:

MVDr. Pavel Večerka, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. Petr Dvořák, Výzkumný ústav masného průmyslu, Palackého 1-3, 612 00 Brno

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.

BARANOV, O. K.

D 72.854

Evoljucionnaja immunogenetika syvorotočnych belkov životnych.

Novosibirsk, Nauka 1981. 223 s., 50 obr. (Imunogenetika evoluční — savci — krevní sérum — bílkoviny — sborník — SSSR)

Molekuljarnyje faktory immuniteta.

D 57.823/33

Kijev, Naukova dumka 1982. 90 s., obr., tab. Molekuljarnaja biologija vyp. 33. (Imunita zvířat — faktory molekulární — sborník — SSSR-—USSR)

DI GIUSTO-MILLERIOUX, L.

C 28.222/327

Purification, caractérisation et identification d'un facteur immuno-suppresseur extrait de la rate de boeuf. Thèse présentée à l'université de Poitiers.

Poitiers, n. vl. 1981. 157 s., 26 obr., 42 tab. (Slezina — skot — imunologický výzkum — Francie — disertační práce)

BAUMANS, V.

D 51.973/129

Regulation of testicular descent in the dog. Proefschrift Rijksuniversiteit te Utrecht. Res. angl., hol., něm., franc., špan.

Utrecht, n. vl. 1982. 85 s., obr. (Psi — *gubernaculum testis* — funkce — výzkum — Holandsko — disertační práce)

DIJKHUIZEN, A. A.

D 51.973/136

Economische aspecten van ziekten en ziektebestrijding bij melkvee. — Economic aspects of diseases and disease control among dairy cattle. Proefschrift de Rijksuniversiteit te Utrecht.

Utrecht, n. vl. 1983. 166 s., 41 tab., 6 obr. (Veterinární prevence — skot mléčný — ekonomické otázky — výzkum / Dojnice — nemoci — ochrana a léčení — ekonomické otázky — výzkum — Holandsko — disertační práce)

SALMONELY V CHOVOCH OŠÍPANÝCH S LATENTNÝMI INFEKCIAMI A V OHNISKÁCH SALMONELÓZ

Š. Šimko

ŠIMKO, Š. (Krajské veterinárne zariadenie Štátnej veterinárnej správy MPVŽ SSR, Banská Bystrica): *Salmonely v chovoch ošípaných s latentnými infekciami a v ohniskách salmonelóz*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 287-291.

V práci je popísaný výskyt salmonel u ošípaných na Slovensku za obdobie rokov 1971 až 1980. V chovoch s latentnými infekciami bolo izolovaných 1430 kmeňov (11 sérologických typov) salmonel. Zastúpenie sérologických typov bolo takéto: *S. agona* 0,69 %, *S. anatum* 0,14 %, *S. arizona* 0,07 %, *S. bareilly* 0,14 %, *S. decatur* 0,07 %, *S. enteritidis* 1,12 %, *S. give* 0,28 %, *S. heidelberg* 0,07 %, *S. choleraesuis* 93,71 %, *S. panama* 0,07 % a *S. typhimurium* 2,45 %. V 1315 salmonelózných ohniskách bolo izolovaných 1333 kmeňov (šesť sérologických typov) salmonel. Zastúpenie sérologických typov bolo takéto: *S. agona* 0,37 %, *S. anatum* 0,07 %, *S. bareilly* 0,22 %, *S. enteritidis* 1,20 %, *S. choleraesuis* 90,59 % a *S. typhimurium* 5,30 %. Je popísaná ročná dynamika najčastejšie sa vyskytujúcich sérologických typov.

sérologické typy; ročná dynamika

Salmonelóza hospodárskych zvierat je jedným z ochorení, ktorého incidencia v posledných rokoch stúpa [Stellmacher, 1968; Sojka a i., 1975; Šimko, 1982]. Pritom ošípané a hydina patria k najčastejším nosičom salmonel [Götze, 1972; Šimko, 1984], ktoré sa najčastejšie podieľali na vzniku ohnisk salmonelóz hospodárskych zvierat aj na Slovensku [Šimko, 1982]. U týchto druhov zvierat najviac pokročila koncentrácia a špecializácia chovov, ako aj biologizácia a chemizácia ich výživy.

Súčasná epidemiologická [Černý, a i., 1977a, b; Havlík, 1978; Latová a i., 1978; Gaislerová a i., 1979; Šrámová a Šmejkalová, 1982] a epizootologická [Janíček, 1977; Zakopalová a Černovský, 1977; Vasil a Šeševičková, 1978; Šimko, 1982, 1983] situácia u nás z mnohých dôvodov nutne vyžaduje upozorniť na aktuálnosť problematiky salmonel aj u ošípaných.

Účelom tejto práce bolo posúdiť výskyt salmonel v chovoch pri latentných infekciách a v ohniskách salmonelóz ošípaných na Slovensku za dlhšie časové obdobie.

MATERIÁL A METÓDA

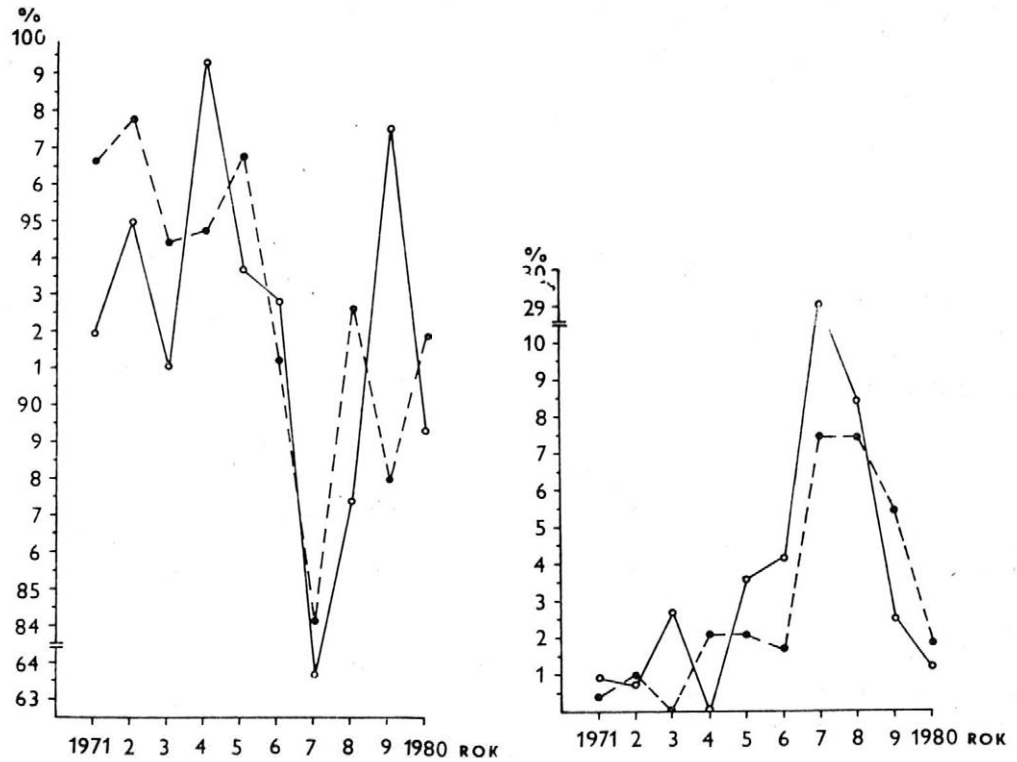
Podkladom práce boli údaje o výskyte salmonel v chovoch s latentnými infekciami a v ohniskách salmonelóz ošípaných na Slovensku, a to za roky 1971 až 1980. Tieto údaje boli spracované z podkladov Štátnej veterinárnej správy ministerstva poľnohospodárstva a výživy Slovenskej socialistickej republiky.

VÝSLEDKY

Za desaťročné obdobie bolo v 715 chovoch pri latentných infekciách izolovaných 1430 kmeňov salmonel. Najviac (444) kmeňov bolo izolovaných v roku 1971 a najmenej (36) v roku 1973. Z celkového počtu kmeňov bolo izolovaných 11 sérologických typov salmonel, ktorých zastúpenie bolo takéto: *S. agona* 10 (0,69 %), *S. anatum* 2 (0,14 %), *S. arizonae* 1 (0,07 %), *S. bareilly* 2 (0,14 %), *S. decatur* 1 (0,07 %), *S. enteritidis* 16 (1,12 %), *S. give* 4 (0,28 %), *S. heidelberg* 1 (0,07 %), *S. choleraesuis* 1340 (93,71 %), *S. panama* 1 (0,07 %) a *S. typhimurium* 35 (2,45 %). Netypizovaných bolo 17 (1,19 %) kmeňov.

V analyzovanom období bolo zaznamenaných 1315 salmonelózných ohnisk. Najviac (192) ohnisk sa vyskytlo v roku 1975 a najmenej (84) v roku 1980. Z celkového počtu 1333 kmeňov salmonel bolo izolovaných šesť sérologických typov, a to *S. agona* 5 (0,31 %), *S. anatum* 1 (0,07 %), *S. bareilly* 3 (0,21 %), *S. enteritidis* 16 (1,23 %), *S. choleraesuis* 1207 (90,55 %) a *S. typhimurium* 71 (5,33 %). Netypizovaných bolo 30 (2,24 %) kmeňov.

V chovoch s latentnými infekciami a v ohniskách salmonelóz boli najčastejšie izolované sérologické typy *S. choleraesuis* a *S. typhimurium*.



1. Zastúpenie *S. choleraesuis* pri latentných infekciách ●—● a v ohniskách salmonelóz ○—○ — The presence of *S. choleraesuis* in latent infections ●—● and in the foci of salmonellosis ○—○

2. Zastúpenie *S. typhimurium* pri latentných infekciách ●—● a v ohniskách salmonelóz ○—○ — The presence of *S. typhimurium* in latent infections ●—● and in the foci of salmonellosis ○—○

Na obr. 1 je znázornené zastúpenie *S. choleraesuis* podľa jednotlivých rokov. V chovoch s latentnými infekciami mal tento sérologický typ zastúpenie od 84,14 % v roku 1977 do 97,84 % v roku 1972; v ohniskách salmonelóz od 63,70 % v roku 1977 do 99,33 % v roku 1974.

Na obr. 2 je znázornené zastúpenie *S. typhimurium* podľa jednotlivých rokov. V chovoch s latentnými infekciami mal tento sérologický typ zastúpenie od 0,00 % v roku 1973 do 7,47 % v roku 1977; v ohniskách salmonelóz od 0,00 % v roku 1974 do 29,03 % v roku 1977.

DISKUSIA

Incidencia salmonelóz ošipaných na Slovensku za roky 1971 až 1980 mala charakteristický priebeh s najväčším výskytom ohnisk v roku 1975. Na vzniku ohnisk salmonelóz hospodárskych zvierat sa v tomto období ošipané podieľali až 49,11 %, takže chovy ošipaných predstavujú dôležitý zdroj salmonelových infekcií. Zdôvodnenie nepriaznivej epizootologickej situácie salmonelóz na Slovensku (ale aj v celom štáte) z niektorých aspektov hygieny výživy zvierat uverejnil Šimko (1982).

Za najčastejšieho pôvodcu salmonelózy ošipaných býva považovaný druhovo adaptovaný sérologický typ *S. choleraesuis*. Tento sérologický typ sa najčastejšie nachádzal aj v našom súbore. *S. choleraesuis* bola v rovnakom období najčastejšie izolovaná na Slovensku aj z mäsa, t. j. zo všetkých požívateľných častí jatočných ošipaných (Šimko, 1983). V humánnej medicíne patrí tento sérologický typ k vzácnym pôvodcom nákazy. V prípade, že k nej dôjde, je to obvykle forma tyfoidná či septická, s veľmi vážnou prognózou. Gastroenteritídy vyvolané týmto sérologickým typom sú však vzácné. V anamnéze postihnutých obvykle nezistíme pravdepodobnú cestu nákazy. Nevyskytuje sa u osôb, ktoré pracujú s ošipanými, a nevyskytuje sa v epidémiách (Havlík, 1978).

S. typhimurium sa pravidelne, ale v menšom zastúpení vyskytovala v chovoch s latentnými infekciami a v ohniskách salmonelóz. Jej stála prítomnosť aj v mäse jatočných ošipaných vyžaduje dôslednú kontrolu salmonelóz, a to nielen z dôvodov epizootologických, ale najmä v nadväznosti na epidemiologické dôsledky. Tento sérologický typ je patogénny aj pre ľudí. Podľa údajov Surveillance zoonóz Komisie vlády SSR pre koordináciu práce na úseku boja proti ochoreniam prenosným zo zvierat na ľudí (1971—1980) sa často podieľal na salmonelózach ľudí aj na Slovensku.

Vysoký podiel *S. typhimurium* v chovoch s latentnými infekciami a v ohniskách salmonelóz v roku 1977, ako aj prítomnosť ojedinele sa vyskytujúcich sérologických typov, ktoré sú dôležité z hľadiska epidemiologického, vyžaduje pozeráť sa na salmonely u ošipaných nielen vo vzťahu k druhove adaptovanému sérologickému typu *S. choleraesuis*, ale aj vo vzťahu k iným sérologickým typom latentných alebo klinicky zjavných salmonelóz.

Vykonané analýzy, najmä v chovoch s latentnými infekciami, nedávajú dostatočný obraz o skutočnom stave salmonelových infekcií, pretože sú výrazne ovplyvňované kvalitou epizootologického screeningu. Situácia nie je o nič lepšia ani v humánnej populácii, v ktorej je podľa Steeleho (1969) v bežnej praxi zachytené len asi 1 % skutočného množstva salmonelóz.

V zažívacom trakte, najmä v slepom čreve, pečeni a mezenterických miazgových uzlinách, sa salmonely vyskytujú pravidelne (Dražan a i., 1967; Stellmacher, 1968; Götze, 1972; McCaughey a i., 1973; Jonová a i., 1981; Keteran a i., 1982). Tieto subklinické infekcie sú hlavnou príčinou toho, že sa nákaza — zvlášť u druhe adaptovaných sérologických typov — v chovoch dlho udržuje. Navyiac je dôležitá skutočnosť, že všetky hospodárske zvieratá sú vnímavé na väčšinu sérologických typov salmonel. Pri črevnom priebehu infekcie býva imunologický podnet k tvorbe protilátok malý, sérologická odpoveď sa dostavuje neskoro, alebo je nevýrazná. Vylučovanie salmonel trusom môže byť stále alebo intermitentné.

Predložené analýzy výskytu salmonel potvrdili, že je nutné vystupňovať boj proti salmonelózam. Predovšetkým je nevyhnutné sústavne vyhľadávať zdroj nákazy, aby sa zabránilo vzniku nových ohnisk. Tomu treba prispôsobiť diagnostiku, prevenciu a výskum. Komplexnosť boja vyžaduje rozšíriť poznatky aj o výskyte sérologických typov salmonel v danej oblasti a poznatky o ich biologických vlastnostiach. Táto práca mala aspoň sčasti prispieť k splneniu tejto požiadavky.

Literatúra

- ČERNÝ, Z. — NEZVAL, J. — LATOVÁ, Ž. — SEDLÁČKOVÁ, D. — JEŽEK, P.: Salmonelóza u dospelých. Výskyt a klinické prejavy na klinice infekčných chorôb v Brně v letech 1970—1975. Čas. Lék. čes., 116, 1977a, č. 12, s. 373-377.
- ČERNÝ, Z. — NEZVAL, J. — LATOVÁ, Ž. — JEŽEK, P.: Klinické prejavy salmonelózy infantis u dospelých. Čas. Lék. čes., 116, 1977b, č. 45, s. 1389-1396.
- DRAŽAN, J. a kol.: Nakažlivé choroby hospodárskych zvierat 1. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1967. 429 s.
- GAISLEROVÁ, V. — JANOUŠKOVÁ, I. — SVOBODA, K. — ČERNOVSKÝ, J. — NÁVRAT, K.: Epidemiologie salmonelóz v Jihomoravském kraji v roce 1975. Čs. Epidem., 28, 1979, č. 4, s. 207-214.
- GÖTZE, U.: Das hygienische Problem der latenten Salmonella-Infektionen bei Schlachttieren. Fleischwirtschaft, 1972, č. 9, s. 1154-1157.
- HAVLÍK, J.: K současné problematice nákaz vyvolaných shigelami a salmonelami. Čas. Lék. čes., 117, 1978, č. 10, s. 292-295.
- JANIČEK, J.: Aktuální problém alimentárních toxikoinfekcí — salmonelózy. Veterinářství, 27, 1977, č. 12, s. 543-545.
- JONOVA, I. — MONOV, G. — KONEV, Ž. a kol.: Nositelstvo i topografsko razpredelenie na salmonelni bakterii v trupa i organite na zdraví svine i telata. Veter.-med. Nauki, 18, 1981, č. 7, s. 98-104.
- KETERAN, K. — BROWN, J. — SHOTTS, E. B.: Salmonella in the mesenteric lymph nodes of healthy sows and hogs. Amer. J. veter. Res., 43, 1982, č. 4, s. 706-707.
- LATOVÁ, Ž. — NEZVAL, J. — ČERNÝ, Z. — SEDLÁČKOVÁ, D. — HEJLOVÁ, A. — JEŽEK, P.: Vývoj infekčních střevních onemocnění u pacientů kliniky infekčních chorob v Brně v letech 1970—1975. Čas. Lék. čes., 117, 1978, č. 10, s. 295-299.
- MCCAUGHEY, W. J. — MCCLELLAND, T. G. — RODDY, R. M.: Salmonella isolations in pigs. Veter. Rec., 92, 1973, č. 8, s. 191-194.
- SOJKA, W. J. — WREY, C. — HUDSON, E. B. — BENSON, J. A.: Incidence of salmonella infection in animals in England and Wales, 1968—73. Veter. Rec., 96, 1975, č. 13, s. 280-284.
- STEELE, J. H.: Salmonellosis. A major zoonosis. Arch. Environm. Health, 19, 1969, č. 19, s. 875.
- STELLMACHER, W.: Opatření proti výskytu salmonel u zvířat, v potravinách a v krmivech. (Překlad.) Praha, Ústav vědeckotechnických informací 1968. 95 s.
- SURVEILLANCE ZOONÓZ — SALMONELÓZA Slovensko. Bratislava, Komisia vlády SSR pre koordináciu práce na úseku boja proti ochoreniam prenosným zo zvierat na ľudí 1971—1980.

ŠIMKO, Š.: Epizootologický rozbor výskytu salmonelóz hospodárskych zvierat na Slovensku pred vylúčením antibiotík a chemoterapeutik z doplnkov biofaktorov a po ňom. Biol. chem. Vet. (Praha), XVIII (XXIV), 1982, č. 6, s. 539-546.

ŠIMKO, Š.: K súčasnému výskytu salmonel v mäse ošipaných. In: Zbor. Štátnej veterinárnej správy MPVŽ SSR. Bratislava, Štátna veterinárna správa MPVŽ SSR 1983, č. 14, s. 71-80.

ŠIMKO, Š.: Výskyt salmonel u kúr domácich na Slovensku v rokoch 1971—1980. Veter. Med. (Praha), 29, 1984, č. 2, s. 113-119.

ŠRÁMOVÁ, H. — SMEJKALOVÁ, H.: K súčasnej situácii v alimentárnych nákazách bakteriálneho pôvodu. Čs. Epidem., 31, 1982, č. 4, s. 214-220.

VASIL, M. — ŠEŠEVIČKOVÁ, A.: Frekvencia salmonel v chovoch hospodárskych zvierat v centre Východoslovenskej nížiny. In: Zbor. Štátnej veterinárnej správy MPVŽ SSR. Bratislava, Štátna veterinárna správa MPVŽ SSR 1978, č. 3, s. 15-31.

ZAKOPALOVÁ, N. — ČERNOVSKÝ, J.: Frekvencia výskytu salmonel u jatečných zvierat v juhomoravskej oblasti v lete 1970—1977. Veterinářství, 27, 1977, č. 12, s. 546-547.

Došlo dňa 4. 10. 1983

ШИМКО, Ш. (Областная ветеринарная лаборатория при Госветуправлении МСХПд ССР — Банска Быстрица): Сальмонеллы в свиноводческих объектах с латентными заражениями и в очагах сальмонеллез. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 287-291.

Описан диагноз сальмонелл у свиней в Словакии в период 1971—80 гг. В стадах с латентным заражением изолировали 1430 штаммов (11 серологических типов) сальмонелл, их участие следующее: *S. agona* 0,69 %, *S. anatum* 0,14 %, *S. arizona* 0,07 %, *S. bareilly* 0,14 %, *S. decatur* 0,07 %, *S. enteritidis* 1,12 %, *S. give* 0,28 %, *S. heidelberg* 0,07 %, *S. choleraesuis* 93,71 %, *S. panama* 0,07 %, *S. typhimurium* 2,45 %. В 1315 сальмонеллезных очагах изолировали 1333 штамма (6 серологических типов) сальмонелл, их участие следующее: *S. agona* 0,37 %, *S. anatum* 0,07 %, *S. bareilly* 0,22 %, *S. enteritidis* 1,20 %, *S. choleraesuis* 90,59 %, *S. typhimurium* 5,30 %. Описана годовая динамика наиболее распространенных типов.

серотипы; годовая динамика

ŠIMKO, Š. (Regional Veterinary Centre, State Veterinary Administration, Ministry of Agriculture and Food of the Slovak Socialist Republic, Banská Bystrica): *Salmonellae in Pig Stocks with Latent Infections and in Salmonellosis Foci*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 287-291.

The occurrence of salmonellae in pigs in Slovakia is described for the period from 1971 to 1980. On the whole, 1430 strains (11 serological types) of salmonellae were isolated in stocks with latent infections. The proportions of the serological types were as follows: *S. agona* 0.69 %, *S. anatum* 0.14 %, *S. arizona* 0.07 %, *S. bareilly* 0.14 %, *S. decatur* 0.07 %, *S. enteritidis* 1.12 %, *S. give* 0.28 %, *S. heidelberg* 0.07 %, *S. choleraesuis* 93.71 %, *S. panama* 0.07 % and *S. typhimurium* 2.45 %. In 1315 salmonellosis foci 1333 strains (six serological types) of salmonellae were isolated. The proportions of the serological types were as follows: *S. agona* 0.37 %, *S. anatum* 0.07 %, *S. bareilly* 0.22 %, *S. enteritidis* 1.20 %, *S. choleraesuis* 90.59 % and *S. typhimurium* 5.30 %. The annual pattern of the occurrence of the most frequent serological types is described.

serological types; annual pattern of occurrence

Adresa autora:

MVDr. Štefan Šimko, CSc., Krajské veterinárne zariadenie Štátnej veterinárnej správy MPVŽ SSR, Kollárova 28, 975 90 Banská Bystrica

Oznamujeme čtenářům,

že Výzkumná stanice pro chov koní ve Slatiňanech publikovala v bulletinu č. 37 tři práce vztahující se i k veterinární problematice. První z nich pojednává o odhadech genetických parametrů reprodukce a o aspektech na biologické vztahy některých vlastností koní. Druhá práce je zaměřena na hodnocení sedimentačního procesu erytrocytů u koní a třetí na změny sedimentační rychlosti erytrocytů u koní z hlediska pracovní zátěže.

Uvedený bulletin je možné objednat ve VSCHK Slatiňany. Jeho cena je Kčs 10,—.

IMPREGNOARCHITEKTONICKÉ ŠTÚDIUM ROSTRÁLNEJ ČASTI HYPOTALAMU OVIEC

V. Rajtová

RAJTOVÁ, V. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Impregnoarchitektonické štúdium rostrálnej časti hypotalamu oviec*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 293-300.

Študovali sme impregnoarchitektonický obraz neurónov v jadrách rostrálnej časti hypotalamu u dvojmesačných a dospelých merinových oviec oboch pohlaví metódou podľa Ramón-Molinera a Golgi-Coxa. V každej hypotalamickej štruktúre uvádzame typy neurónov, morfológiu synaptických spojov a priestorovú orientáciu neurónových výbežkov. Najčastejším typom neurónov v *regio hypothalamica rostralis* je neurón oválny až vretenovitý; ide výlučne o multipolárne bunky. V jadrách *nucleus supraopticus* a *nucleus paraventricularis* sa na rozdiel od iných jadier hypotalamu impregnovalo len málo neurónov z toho dôvodu, že sú to pravé neurosekretorické jadrá.

rostrálny hypotalamus; impregnoarchitektonika; ovca

Štúdiu hypotalamických jadier, ich topografii a stavbe vo fyziologických a experimentálnych podmienkach sa u hospodárskych zvierat začala venovať väčšia pozornosť až v posledných desaťročiach. Podrobné údaje o stavbe hypotalamických jadier hovädzieho dobytku v Nisslovom obraze uvádzajú Dellmann (1959), Gadamski a Lakomy (1972, 1973), Junge (1977) a Grützeová (1978). Vývoj hypotalamických jadier u ovce sledoval Diepen (1941). Welento a i. (1969) opisujú zasa stavbu hypotalamu ovce a pre ich štruktúry udávajú zároveň stereotaxické súradnice. Topografické pomery a cytoarchitektoniku vzhľadom na vekové zmeny v Nisslovom obraze u ovce opisujú Rajtová a Horáková (1980, 1982) a Horáková a Rajtová (1981b).

Štúdiom nervovej sústavy hospodárskych zvierat pomocou impregnačných metód sa zaoberalo doteraz len veľmi málo autorov. Napr. Veggetti a Callegari (1973) študovali metódou podľa Golgi-Coxa a Cajal de Castru amygdalový komplex u koňa, hovädzieho dobytku, ovce a ošípanej. Impregnoarchitektonikou hypotalamu a iných štruktúr CNS — najmä u potkana — sa zaoberali viacerí autori (Gurdjianová, 1927; Krieg, 1932; Ferčáková a Maršala, 1972, 1973; Ferčáková, 1974 a iní).

MATERIÁL A METÓDA

Použili sme 15 mozgov z čerstvo vykrvených dvojmesačných a dospelých oviec oboch pohlaví. Platničky tkaniva, hrubé asi 5 mm, sme impregnovali podľa Ramón-Molinera (1957) a Golgi-Coxa (Dvořák, 1973) a rezali na priečne 60–90 μ m hrubé rezy.

VÝSLEDKY

REGIO (AREA) PREOPTICA (APO) predstavuje neostro ohraničenú rozsiahlu oblasť, ktorá začína ventrálne od *area septalis* a *commissura rostralis*, približne v úrovni rostrálneho pólu *nucl. paraventricularis* (NPV). U ovce, podobne ako u mnohých iných cicavcov, možno túto oblasť rozdeliť na *nucl. preopticus medialis et lateralis*. Mediálne jadro tvoria menšie a laterálne väčšie neuróny; bez zreteľnej hranice prechádza do *area hypothalamica lateralis* (AHL).

a. *Nucl. preopticus medialis* (NPM) tvoria malé a stredne veľké neuróny, väčšinou pretiahleho tvaru, menej je nervových buniek s oválnym a okrúhlym telom (obr. 1, 2). Majú dva až tri výbežky. Na somatickej ploche sú len ojedinelé nízke trníky. Dendrity (d), odstupujúce z pólův tela, tvoria silné kmene, ktoré sa v bezprostrednej blízkosti tela dichotomicky vetvia. Sekundárne vetvy sa rozbiehajú na všetky strany, sú mierne zvlnené, varikózne rozšírenia v nich sú zriedkavé a na ich povrchu je veľmi málo trňov. Axón (a) odstupuje z tela alebo z dendritického kmeňa a dá sa sledovať len na krátku vzdialenosť.



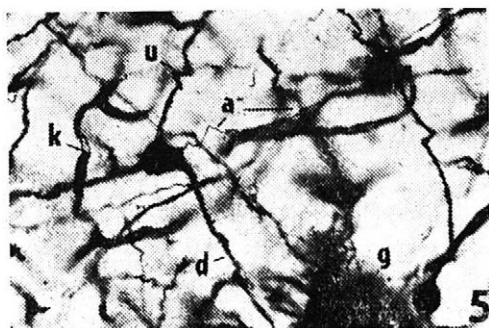
1, 2. Neuróny z *nucleus preopticus medialis* (obr. 2 je fotomontáž). Golgi-Cox, 100 : 1 — Neurons from *nucleus preopticus medialis* (Fig. 2 is a composition photograph). Golgi-Cox, 100 : 1

3, 4. Rôzne typy neurónov z *nucleus preopticus lateralis*. Golgi-Cox, 160 : 1; a — axón, d — dendrit, t — trníky, u — uzlíkovité slučky — Different types of neurons in *nucleus preopticus lateralis*. Golgi-Cox, 160 : 1; a — axon, d — dendrite, t — prominences, u — nodular loops

b. *Nucl. preopticus lateralis* (NPL) tvoria stredné až veľké neuróny, malé sú len ojedinelé. Ich telo je nepravidelne oválne alebo vretenovité, zriedkavejšie triangulárne alebo okrúhle (obr. 3, 4). Majú tri až päť výbežkov, ktoré sa rozbiehajú všetkými smermi. Ide zreteľne o multipolárne neuróny.

Somatický povrch je väčšinou hladký, nesie len ojedinelé nízke alebo dlhšie vláknité i hrubšie trňovité výrastky. Dendrity (d) sú silné — najmä ich kmene, ktoré sa vetvia v blízkosti bunecného tela, spravidla dichotomicky. Sú mierne zvlnené. Do ich priebehu sú vložené varikózne rozšírenia a uzlíčkovité slučky (u). Na povrchu majú početné trňovité výrastky, podobne ako to bolo v NPM. Jemný axón (a) odstupuje z tela alebo dendritu a jeho preterminálny úsek sa dá sledovať len na krátku vzdialenosť. Na terminálnych axónoch vidieť drobné, nerovnomerne rozložené varikozity. V neuropile sú len ojedinelé voľné zakončenia axónov vo forme kyjovitého rozšírenia.

NUCL. HYPOTHALAMICUS ROSTRALIS (NHR) aj v impregnoarchitektonickom obraze predstavuje zreteľný, od okolia dobre ohraničený

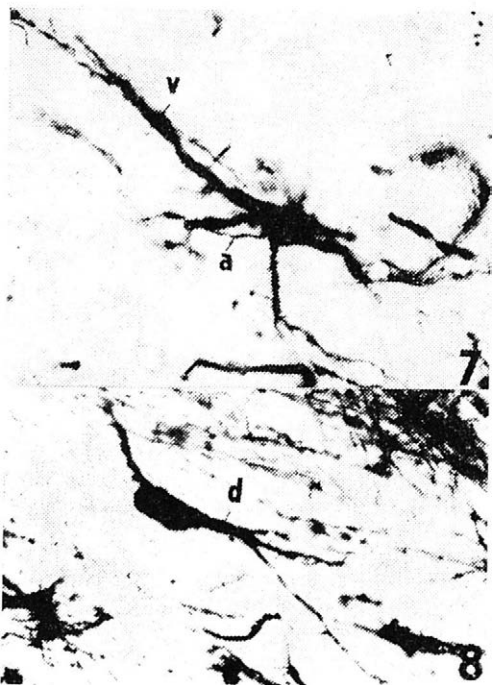


5, 6. Neuróny z *nucleus hypothalamicus rostralis* (obr. 6 je fotomontáž). Ramón-Moliner, 160 : 1; a — axón, d — dendrit, g — gliová bunka, k — krvná cieva, o — somatické oblúkové vyvýšenia, t — trníky, u — uzlíčkovité slučky — Neurons from *nucleus hypothalamicus rostralis* (Fig. 6 is a composite photograph). Ramón-Moliner, 160 : 1; a — axon, d — dendrite, g — glial cell, k — blood vessel, o — arch-shaped somatic eminences, t — prominences, u — nodular loops

bunečný zhluk. Tvoria ho malé, väčšinou vo ventrálnej časti jadra uložené neuróny a stredne veľké bunky, ktoré sú sústredené viac do dorzálnej a mediálnej časti jadra. Ich telo je okrúhle, oválne až vretenovité, zriedka aj triangulárne (obr. 5, 6). Majú dva až štyri výbežky, ktoré smerujú na všetky strany. Výbežky niektorých neurónov idú šikmo dorzolaterálne do AHL.

Somatický povrch je prevažne hladký, zriedka sa na ňom vyskytujú trňovité výrastky a oblé vyvýšeniny (o). Dendrity (d) odstupujú silným a krátkym kmeňom, ktorý sa rozvetvuje blízko bunecného tela. Periférne sa iba nepatrne zužujú, sú rovné alebo mierne zvlnené, pri tele môžu tvoriť uzlíčkovité slučky (u). Ich povrch je väčšinou hladký, prítomnosť varikozít je zriedkavá, rovnako aj výskyt nízkych trníkov (t). Axón (a) odstupuje z tela, zriedkavejšie pri koreni dendritického kmeňa. Kužeľovité rozšírenie jeho odstupeu nie je vždy zreteľné. Preterminálny úsek axónov sa dá sledovať len na krátku vzdialenosť, niekedy sú v ňom ojedinelé jemné varikózne rozšírenia, výraznejšie sú až v terminálnych axónoch. Na niektorých z nich sme našli aj odstup sekundárnych vetvičiek a voľné zakončenia na spôsob kyjovitého rozšírenia.

NUCL. SUPRAOPTICUS (NSO). Aj keď je toto jadro (podobne ako jadro na preparátoch farbených podľa Nissla) tvorené z husto usporiadaných buniek, impregnovali sa z nich len ojedinelé neuróny. Tieto neuróny majú nepravidelný oválny až vretenovitý tvar s dvoma až piatimi výbežkami, ktoré prebiehajú skoro súbežne s *chiasma opticum* (obr. 7, 8). Ich somatický povrch nesie rôzne vysoké oblé vyvýšeniny. Opozitopolne odstupujúce dendrity (d) sú silné a v blízkosti tela vznikajú z nich dve až tri sekundárne vetvy. Pre prítomnosť nerovnomerne rozložených varikozít (v) majú hrboľatý povrch. Dajú sa sledovať len na krátku vzdialenosť. Zo všetkých impregnovaných neurónov sme axón



7, 8. Neuróny z *nucleus supraopticus*. Golgi-Cox, 160 : 1; a — axón, d — dendrit, v — varikózne rozšírenie — Neurons from *nucleus supraopticus*. Golgi-Cox, 160 : 1; a — axon, d — dendrite, v — varicose dilation

(a) našli len na jednom z nich. Odstupoval z tela kuželovitým rozšírením, bol mierne zvlnený a dal sa sledovať len na krátku vzdialenosť.

NUCL. PARAVENTRICULARIS (NPV). V tomto neurosekretorickom jadre se impregnovalo viac neurónov ako v NSO, ale ich impregnácia nebola vždy rovnomerná a úplná. Najlepšie sa neuróny impregnovali v rostrálnom póle, v strednom úseku a v kaudálnom póle boli impregnované len ojedinelé bunky a *pars accessoria* sa vôbec neimpregnovala.

Neuróny, ktoré tvoria NPV, sú malé, stredné až veľké, posledné dve veľkosti sú prevažne v strednej a kaudálnej časti jadra. Tvar nervových buniek je vretenovitý až oválny, zriedkavejšie okružný alebo triangulárny (obr. 9—12). Dlhá os neurónov je orientovaná zväčša šikmo. Bunky majú dva až päť výbežkov.

Dendrity v rostrálnom póle sú väčšinou tenké, mierne zvlnené, príp. tvoria uzlíčkovité slučky. Iba niektoré z nich majú opozitopólne odstupujúce silné kmene, ktoré sa nevetvia v blízkosti bunky. Dendritické kmene v strednej tretine jadra nie sú silné a dosahujú rôznu dĺžku. V každom prípade sa vetvia dichotomicky. Do priebehu dendritov (d) sú vložené nie vždy pravidelne rozložené rôzne veľké varikozity (v). Na povrchu dendritov sa objavujú ojedinelé vláknité alebo nízke trníky (t). Možno nájsť aj okrúhle vyvýšenie s tromi až štyrmi kužeľovite zakončenými, radiálne usporiadanými trňmi. Takýto útvar vzhľadom pripomína akúsi korunku (ko). Axón (a) odstupuje z bunčného tela alebo z koncového úseku dendritického kmeňa. Je jemný, mierne zvlnený a do jeho priebehu sú vložené drobné varikozity (v). Voľné zakončenia terminálnych axónov v neuropile sú zriedkavé.

NUCL. PERIVENTRICULARIS predstavuje neostro ohraničený úzky pruh buniek, ktorý sa ťahne po laterálnej strane ependýmu III. mozgovej komory v rozsahu celého hypotalamu. Má rostrálnu a kaudálnu časť, a pretože ich stavba je podobná, obidve časti budeme opisovať spoločne.

Skladá sa výlučne z malých okrúhlych alebo pretiahlych buniek, ktorých dlhá os je vždy orientovaná súbežne s povrchom ependýmu. Tieto bunky sú skoro v celom rozsahu roztrúsené medzi výbežkami ependýmových buniek, ktoré ich prekrývajú a z toho dôvodu sa dajú aj ťažšie sledovať. Majú dva až tri výbežky. Dendrity odstupujú opozitopólne, sú

9.—12. Typy neurónov zo strednej a kaudálnej časti *nucleus paraventricularis*. Golgi-Cox, 160 : 1, a — axón, d — dendrit, ko — korunka, o — somatické oblúkové vyvýšenie, t — trníky, v — varikózne rozšírenie — Types of neurons from the central and caudal parts of *nucleus paraventricularis*. Golgi-Cox, 160:1; a — axon, d — dendrite, ko — crown, o — arch-like somatic eminence, t — prominences, v — varicose dilation



dost slabé a orientované v smere dlhej osi bunečného tela. Obsahujú nerovnomerne rozložené varikózne rozšírenia a na povrchu majú len ojedinelé jemné vláknité trníky. Niektoré dendrity vznikajú dichotomickým vetvením silnejšieho bazálneho kmeňa. Axón odstupuje z tela skoro kolmo, je jemný, mierne zvlnený, jeho preterminálny úsek sa dá sledovať niekedy na veľkú vzdialenosť. Zreteľnejšie sú terminálne axóny, v ktorých sú perličkovité varikozity. Výbežky týchto buniek sa miešajú s výbežkami endodermálnych buniek, v oblasti infundibula zasahujú aj medzi bazálne výbežky tanycytov.

DISKUSIA

V rostrálnom hypotalame bola impregnačnými metódami málo študovaná APO a z cicavcov jej bola venovaná pozornosť najmä u potkana. Raismán a Field (1971) sa ňou zaoberali vzhľadom na sexuálny dimorfizmus, avšak za použitia elektrónového mikroskopu. Podľa nich neuropil APO potkana je pohlavne dimorfný. Toto konštatovanie založili na pomere jedného typu synáps k inému. APO je podľa týchto autorov dôležitá pre začiatok predovulačnej vlny gonadotropínov. Jacobson a Gorski (1981) i Conrad a Pfaff (1976) hovoria o tom, že neuróny, najmä v NPM, pôsobia na sexuálne správanie sa samíc potkanov a zodpovedajú za uvoľňovanie cyklického hypofýzotropného hormónu z predného laloka hypofýzy. Podľa nich sú axóny neurónov v NPM veľmi jemné a ťažko sa impregnujú redukčnými striebriacimi metódami. Fasolo a Franzoni (1977) poukazujú u mloka a žaby aj na rozdiely v typoch neurónov a APO. U mloka v nej našli aj veľké neuróny, ktoré by mohli zodpovedať magnocelulárnym neurosektorickým bunkám.

APO ovce v Nisslovom obraze (Rajtová, 1979) sa dá po impregnácii na základe topografie a veľkosti neurónov rozlíšiť na mediálne jadro zložené z menšieho typu buniek a na laterálne preoptické jadro, ktoré tvoria bunky väčšieho typu. V porovnaní s ostatnými hypotalamickými jadrami sú ich axóny veľmi tenké, podobne ako to napr. uvádzajú u potkana Conrad a Pfaff (1976).

Neuróny v NHR nie sú rovnorodé. Tak ako u potkana (Ferčáková a Maršala, 1972) alebo u morčáka (Szabóová, 1973), aj u ovce je v ňom viac typov buniek.

Bunky v NSO a v NPV u cicavcov sa ťažko impregnujú soľami ťažkých kovov. Napr. Cajalovi (1911, cit. Fox a Zabors, 1960) sa Golgiho metódou nepodarilo demonštrovať bunky v NSO a NPV. Ako prvá ich demonštrovala Gurdjianová (1927). Aj Krieg (1932) zaznamenal u potkana málo impregnovaných neurónov v NSO a NPV. Fox a Zabors (1960) podotýkajú, že nimi použitá Golgiho metóda pri impregnácii NSO u makaka bola vo väčšine prípadov nedostačujúca. Ani Szentágothai a i. (1962) v NSO a NPV mladých a dospelých potkanov, mačiek a psov nenašli nijaké neuróny, čo by podľa nich poukazovalo na skutočnosť, že ide o pravé magnocelulárne jadrá, ktoré nie je možné impregnovávať. Avšak Lefranc (1960) u morčáka, Ferčáková a Maršala (1972) u potkana, Felten a Cashner (1979) u králika opisujú po použití Golgiho metódy a jej modifikácií neuróny aj v NSO a NPV.

Keď porovnáваме naše nálezy týkajúce sa neurónov v NSO s údaj-

mi autorov, o ktorých už bola zmienka, môžeme konštatovať, že aj u ovce sa v NSO impregnuje iba málo neurónov, ktorých tvar i počet dendritov a ich orientácia sú skoro rovnaké, ako to bolo zistené u králika alebo u makaka. U ovce sú to ojedinelé somatické tréne, častejšie je somatický povrch nerovný, hrboľatý. Dendrity majú málo varikozít, dendritické tréne u ovce sú — napr. na rozdiel od králika — zasa ojedinelé.

Podobný problém je aj s impregnáciou neurónov v NPV. Po trojitej impregnácii ich u morčata a mačky znázornil Lefranc (1966), metódou Golgi-Bubenaiteovej ich demonštrujú u potkana Ferčáková a Maršala (1972) a metódou podľa Ramón — Molinera (1957) aj Szabóová (1973) u morčata.

V NPV ovce sa impregnovalo podstatne viac neurónov ako v NSO, najhustejšie boli v rostrálnom a kaudálnom póle jadra. Od ostatných hypotalamických neurónov sa líšia tým, že majú jeden až dva nápadne krátke silné dendritické kmene, pričom z ich konca môže odstupovať jemný axón.

Aj impregnoarchitektonické štúdium ukázalo, že v NSO a NPV ovce, tak ako je to aj u mnohých iných cicavcov, sa vyskytuje najbohatšie kapilárne riečište zo všetkých hypotalamických jadier. Bola preto vyslovená domienka (Fox a Zaborš, 1960), že neuróny týchto jadier sú aktivované chemickými a tepelnými zmenami krvi vo väčšej miere ako ostatné neuróny.

Literatúra

- CONRAD, L. C. A. — PFAFF, D. W.: Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat. I. An autoradiographic study of the medial preoptic area. *J. comp. Neurol.*, 169, 1976, s. 185-220.
- DELLMANN, H. D.: Beitrag zur Kenntnis des Hypothalamus-Hypophysen Systems bei Rind. I. Mitteilung: Zytoarchitektonische Gliederung des Hypothalamus mit besonderer Berücksichtigung der *Nuclei supraopticus* und *paraventricularis* sowie hypophysennahen Formationen des *Tuber cinereum*. *Anat. Anz.*, 106, 1959, s. 202-253.
- DIEPEN, R.: The hypothalamic nuclei and their ontogenetic development in ungulates (*Ovis aries*). [Med. Diss.] Amsterdam 1941.
- DVOŘÁK, K.: Úvod do neurohistologickej metodiky. Brno, Vysoká škola veterinární 1973.
- FASOLO, A. — FRANZONI, M. F. A.: Golgi study on the hypothalamus of amphibia. *Cell and Tissue Res.*, 178, 1977, s. 341-354.
- FELTEN, D. L. — CASHNER, K. A.: Cytoarchitecture of the *supraoptic nucleus*. A Golgi study. *Neuroendocrinology*, 29, 1979, s. 221-230.
- FERČÁKOVÁ, A.: Priestorová orientácia dendritov a ich vetvenie v niektorých jadrách hypotalamu potkana. In: Zbor. LF UPJŠ, Košice, XVIII, 1974, s. 207-213.
- FERČÁKOVÁ, A. — MARŠALA, J.: Príspevok k impregnoarchitektonike hypotalamu potkana. In: Zbor. LF UPJŠ, Košice, XIV, 1972, s. 219-236.
- FERČÁKOVÁ, A. — MARŠALA, J.: Príspevok k morfológii synaptických spojov v hypotalame potkana. In: Zbor. LF UPJŠ, Košice, XV, 1973, s. 37-43.
- FOX, C. A. — ZABORS, T. E.: Neurons of the *supraoptic nucleus* in Golgi preparations. *Anat. Rec.*, 136, 1960, s. 335-336.
- GADAMSKI, R. — LAKOMY, M.: The nuclei of the posterior part of the hypothalamus of the cow. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.*, 86, 1972, s. 244-256.
- GADAMSKI, R. — LAKOMY, M.: The nuclei of the anterior part of the hypothalamus of the cow. *J. Hirnforsch.*, 14, 1973, s. 27-41.
- GRÜTZE, I.: Über die Kerne des *Corpus mamillare* und ihre Faserverbindungen beim Rind (*Bos taurus dom.*). I. Mitteilung: Kerne des *Corpus mamillare* beim Rind (*Bos taurus dom.*). *Z. mikrosk.-anat. Forsch.*, 92, 1978, s. 46-80.
- GURDJIAN, E. S.: The diencephalon of the albino rat. *Studies of the brain of the rat. J. comp. Neurol.*, 43, 1927, s. 1-114.

- HORÁKOVÁ, A. — RAJTOVÁ, V.: *Regio hypothalamica caudalis* bei *Ovis aries* L. I. *Nuclei corporis mamillaris*. Geg. morphol. Jb., 127, 1981a, s. 39-51.
- HORÁKOVÁ, A. — RAJTOVÁ, V.: *Regio hypothalamica caudalis* bei *Ovis aries* L. II. *Nucl. premamillaris*. Zool. Jb., Abt. Anat., 105, 1981b, s. 497-507.
- JACOBSON, C. D. — GORSKI, R. A.: Neurogenesis of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in the rat. J. comp. Neurol., 196, 1981, s. 519-529.
- JUNGE, D.: Die Topographie und Zytoarchitektonik des *Diencephalon* vom weiblichen Rind (*Bos taurus* var. *domesticus* L.). II. Die innere Struktur des *Diencephalon* vom weiblichen Rind (*Bos taurus* var. *domesticus* L.). Anat. Anz., 141, 1977, s. 478-497.
- KRIEG, W. J. S.: The hypothalamus of the albino rat. J. comp. Neurol., 55, 1932, s. 19-39.
- LEFRANC, G.: Étude neurohistologique des noyaux supraoptique et paraventriculaire chez cobaye et le chat par la technique de triple imprégnation de Golgi. C. R. Acad. Sci., Ser. D, 263, 1966, s. 976-979.
- RAISMAN, G. — FIELD, P. M.: Sexual dimorphism in the preoptic area in the rat. Science, 173, 1971, s. 731-733.
- RAJTOVÁ, V.: The preoptic region of the merino sheep. Folia morphol. (Praha), 27, 1979, s. 329-333.
- RAJTOVÁ, V. — HORÁKOVÁ, A.: Beitrag zu einigen magnocellulären Kernen des Hypothalamus bei Merino-Schafen. Geg. morphol. Jb., 126, 1980, s. 735-752.
- RAJTOVÁ, V. — HORÁKOVÁ, A.: *Regio hypothalamica intermedia* bei *Ovis aries* L. III. *Nucl. tuberomamillaris*. Anat. Anz., 151, 1982, s. 126-136.
- RAMÓN-MOLINER, E.: A chloralhydrate modification of the Golgi method. Stain Technol., 32, 1957, s. 105-116.
- SZABÓOVÁ, O.: Mikrotopografia a impregnoarchitektonika niektorých jadier hypotalamu morčata. [Kandidátska dizertácia.] Košice, Lekárska fakulta UPJS 1973.
- SZENTÁGOTHAJ, J. — FLERKÓ, B. — MESS, B. — HALÁSZ, B.: Hypothalamic control of the anterior pituitary. Budapest, Akadémiai Kiadó 1962.
- VEGETTI, A. — CALLEGARI, E.: Il complesso amigdaloidale in alcuni ungulati. Folia veter. Lat., III, 1973, s. 3-37.
- WELENTO, J. — SZTEYN, S. — MILART, V.: Observations on the stereotaxic configuration of the *hypothalamus nuclei* in the sheep. Anat. Anz., 124, 1969, s. 1-27.

Došlo dňa 4. 10. 1983

РАЙТОВА, В. (Институт ветеринарии, Кошице): Импрегно-архитектоническое изучение роstralного гипоталамуса овец. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 293-300.

Определяли импрегно-архитектоническую картину нейронов в ядрах роstralной части гипоталамуса у 2-месячных и взрослых меринских овец обоего пола по методу Рамон-Молинера и Гольги-Кокса. В каждой гипоталамической структуре приносятся типы нейронов, морфология синаптических узелков и пространственная ориентировка нейронных выступов. Самый частый тип нейронов в *regio hypothalamica rostralis* — это овальный или веретенообразный нейрон, так что все клетки мультиполярные. В ядрах *nucleus supraopticus* и *p. paraventricularis* импрегнируется — в отличие от других ядер гипоталамуса — лишь мало нейронов именно потому, что вопрос касается нейросекреторных ядер.

роstralный гипоталамус; импрегно-архитектура; овца

RAJTOVÁ, V. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Impregnoarchitectonic Study of the Rostral Part of Hypothalamus in Sheep*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 293-300.

The impregnoarchitectonic picture of neurons in the nuclei of the rostral part of hypothalamus was studied by the method after Ramón-Moliner and Golgi-Cox in two months old and adult Merino sheep of both sexes. Neuron types, morphology of synaptic linkages and the spatial orientation of neuron processes are indicated in each hypothalamic structure. The most frequent type of neurons in the *regio hypothalamica rostralis* is an oval to spindle-shaped neuron, and the cells are exclusively multipolar. As distinct from other hypothalamus nuclei, only a small number of neurons were impregnated in the nuclei of *nucleus supraopticus* and *nucleus paraventricularis* because these were true neurosecretory nuclei.

rostral hypothalamus; impregnoarchitecture; sheep

Adresa autorky:

MVDr. Viera Rajtová, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

HROMADNÝ VÝSKYT MYKOTICKÉ TRACHEITIDY KUŘAT

M. Veselský, M. Otčenášek, J. Duba, O. Ditrich

VESELSKÝ, M. — OTČENÁŠEK, M. — DUBA, J. — DITRICH, O. (Státní veterinární ústav; Parazitologický ústav ČSAV, Praha): *Hromadný výskyt mykotické tracheitidy kuřat*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 301-306.

Je popsána enzootie mykózy kuřat, způsobená spórami houby *Aspergillus fumigatus*. Mykotická infekce postihla respirační trakt ptáků, patologické změny byly lokalizovány především v oblasti průdušnice. Změny měly charakter difteroidně nekrotického zánětu, který destruoval sliznici a působil téměř obstrukci průdušnice. V peritracheální tkáni a u ojedinělých ptáků také v plicích byla zjištěna ložiska granulomatózního zánětu, obsahující elementy houby. Zdrojem infekce byla aspergilem kontaminovaná podestýlka.

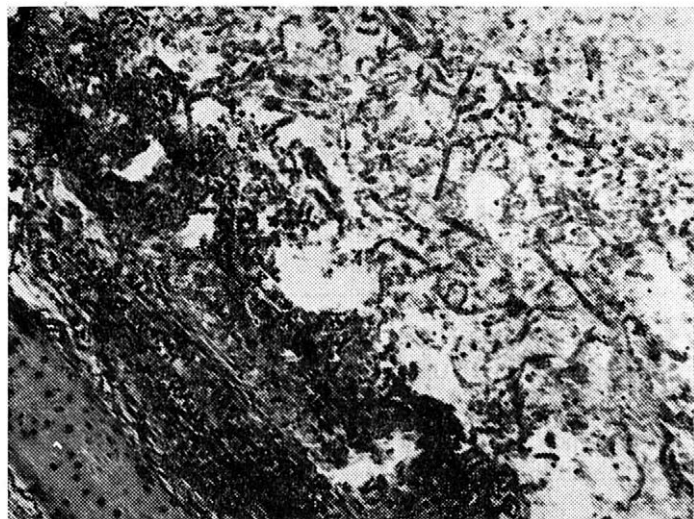
mykotická infekce; *Aspergillus fumigatus*; respirační trakt

Nejrozšířenější mykózu respiračního systému domestikovaných ptáků představuje aspergilóza. Akutní forma onemocnění postihuje především mladé ptáky, u kterých má výskyt mykózy často charakter enzootie. Podle zahraničních údajů (Ainsworth a Austwick, 1973) způsobuje aspergilóza až 10 % úhynů kuřat do 14 dní věku. Také chovy kachen, hus a krůt mohou být touto mykotickou infekcí decimovány. V kazuistických příspěvcích je nejčastěji popisováno poškození plic a vzdušných vaků ptáků (např. Szpakowski, 1967; Rao aj., 1982). Sami jsme měli příležitost diagnostikovat méně obvyklou formu onemocnění, manifestující se především patologickými změnami v oblasti průdušnice. Popis této mykózy je předmětem předloženého sdělení.

MATERIÁL A METODY

V zimních měsících let 1981 a 1982 se v odchovných kuřat pro velkokapacitní drůbežárnu v obci Ch. (okres Pardubice) opakovaně vyskytly respirační afekce, postihující kuřata pět týdnů stará. U ptáků bylo pozorováno obtížné dýchání s oteviráním zobáku, kuřata byla apatická, nepřijímala potravu a hynula. Postiženo bylo asi 500 jedinců z celkového počtu 20 000 kuřat. K podestýlce bylo použito pilin, kuřata byla krmena standardní krmnou směsí, zoohygienické poměry v odchovně byly na dobré úrovni.

K laboratornímu vyšetření bylo dodáno celkem 76 uhynulých nebo utracených kuřat. Pitvou získané vzorky tkání jsme fixovali v 10% formolu a zpracovali běžnou parafinovou technikou. Histologické řezy jsme barvili hematoxylin-eozínem a podle Grocotta. Vzorky s makroskopicky zjevnými změnami jsme inokulovali na Sabouraudův dextrózový agar s chloramfenikolem a kultivovali při teplotě 27 °C.

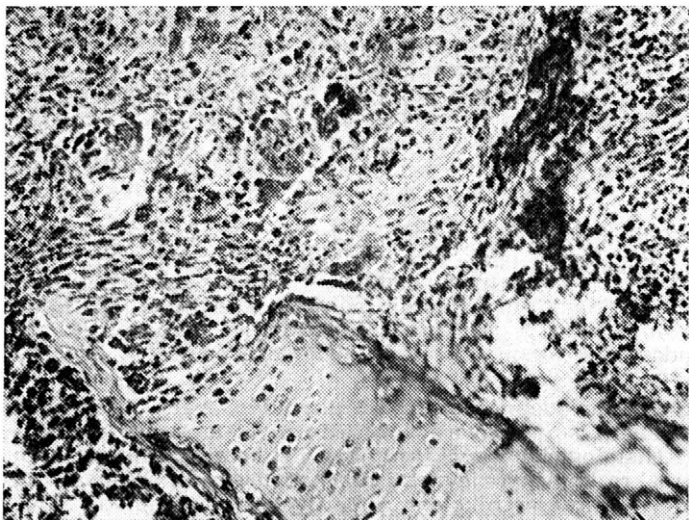


1. Houbová vlákna v pabláně průdušnice (hematoxylin-eozín) — Fungus fibres in the pseudomembrane of the trachea (haematoxylin-eosine)

VÝSLEDKY

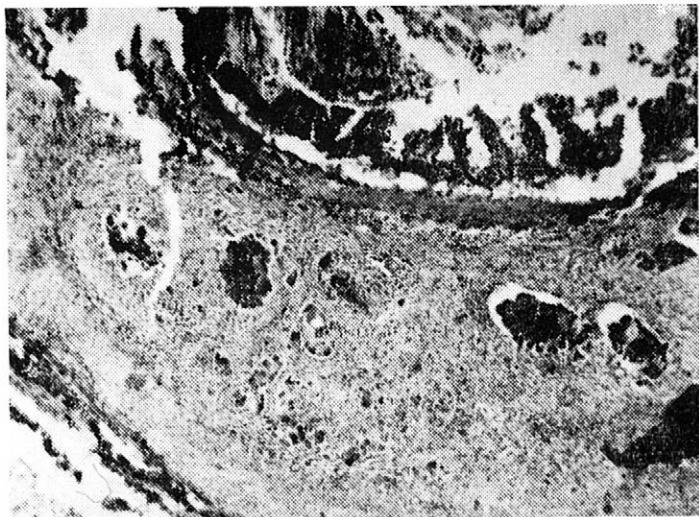
Při pitvě kuřat jsme zjistili difteroidně nekrotické ložiskové nálepy na sliznicích průdušnice. Změny byly lokalizovány především v proximální části trachey, měly charakter žlutavých prominujících výrůstků pevně lpících na sliznici, v některých případech způsobovaly téměř obstrukci průdušnice. Plíce postižených kuřat byly překrvené a edematózní. U ojedinělých ptáků, zejména s protrahovaným průběhem onemocnění, jsme v plicích zjišťovali miliární žlutavé uzlíky.

Na příčných řezech tracheou a okolní tkáni byla pozorována hyperémie a zánětlivá infiltrace sliznice. Kromě těchto základních změn jsme zjistili difteroidně nekrotický zánět s destrukcí sliznice. Zánětlivě změněná tkáň, zejména pablány, byly prostoupeny septovanými houbovými vlákny s naznačeným dichotomickým větvením (obr. 1). V pokročilých



2. Zánětlivý infiltrát v submukóze zasahující do chrupavky průdušnice (hematoxylin-eozín) — Inflammatory infiltrate in submucosa penetrating the cartilage of the trachea (haematoxylin-eosine)

3. Ložiska granulomatózního zánětu v peritracheální tkáni (hematoxylin-eozín) — Deposits of granulomatous inflammation in peritracheal tissue (haematoxylin-eosine)

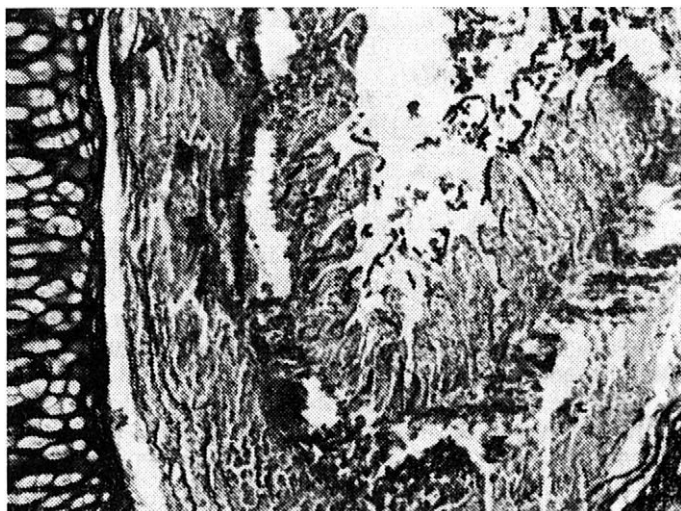


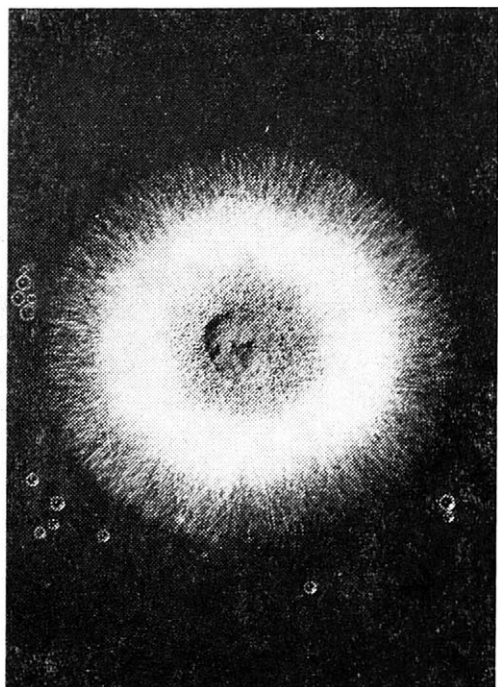
stadiích onemocnění byl prokázán infiltrativní růst houby do submukózy, zasahující i chrupavčité prstence průdušnice (obr. 2). Postižena byla také peritracheální tkáň, v níž se objevovala ložiska chronického granulomatózního zánětu (obr. 3). V případech s plicními afekcemi se vyskytovaly také granulomy s centrální nekrózou, obsahující elementy houby. Ve všech těchto afekcích byla houbová vlákna zřetelně znázorněna především při speciálním barvení podle Grocotta (obr. 4).

Výsledkem mykologické kultivace byl záchyt houby, jejíž makromorfologické i mikromorfologické vlastnosti jednoznačně odpovídaly popisu druhu *Aspergillus fumigatus* Fresenius (obr. 5 a 6). Toto agens bylo izolováno v čisté kultuře ze všech inokulovaných tkáňových vzorků.

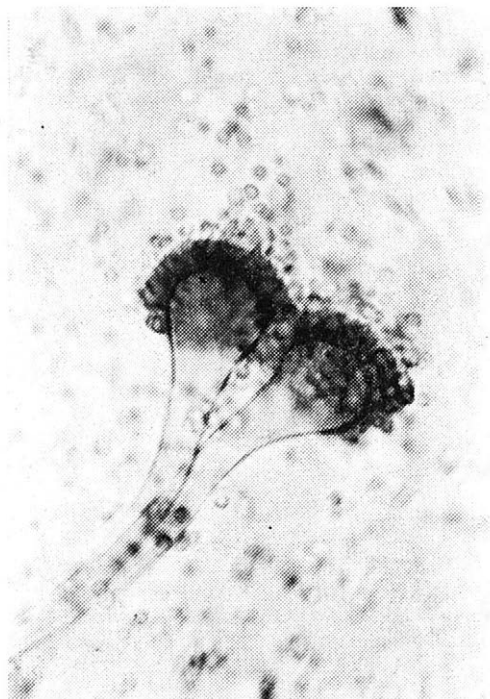
Diagnostikované mykotické onemocnění se vyskytlo v chovu kuřat, u kterých nebyla zjištěna jiná alterace. Zdrojem infekce byla s velkou pravděpodobností podestýlka, ve které bylo agens kultivačně prokázáno. Nápadný byl výskyt onemocnění v zimních měsících, kdy v chovu zřej-

4. Fragmenty houbových vláken ve sliznici a v lumenu průdušnice (Grocott) — Fragments of fungus fibres in the mucous membrane and in the lumen of the trachea (Grocott)





5. Kolonie *Aspergillus fumigatus* na Sabouraudově dextrózovém agaru po pěti dnech inkubace při teplotě 27 °C — Colonies of *Aspergillus fumigatus* on the Sabouraud dextrose agar after five days of incubation at the temperature of 27 °C



6. Typické konidiální hlavice *A. fumigatus* z téže kultury (laktofenolový preparát) — Typical conidial heads of *A. fumigatus* from the same culture (lactophenol preparation)

mě docházelo ke kolísání teplotních a vlhkostních hodnot ve standardním mikroklimatickém režimu.

Před výskytem onemocnění byli ptáci podrobeni sprayové aplikaci vakcíny proti pseudomoru drůbeže. Přímou souvislost vakcinace a vzniku onemocnění jsme neprokázali. K léčbě nemocných kuřat byl použit přípravek Antiasper (Bioveta Nitra). Preparát se osvědčil pouze u ptáků v počáteční fázi onemocnění, rozvinutou infekci se již nedařilo zvládnout.

DISKUSE

Popisované onemocnění je pozoruhodné tím, že většina patologických změn měla extrapulmonální lokalizaci; ložiska granulomatózního zánětu v plicích jsme pozorovali pouze u ojedinělých kuřat. Případy izolovaných postižení trachey ptáků jsou v poslední době hlášeny i jinými autory: o onemocnění kuřat informoval Corkish (1982), o mykotické tracheitidě jediného exempláře kachny psali Greval a Gill (1982). Posledně uvedení autoři popisují jako hlavní patologický projev uzlíkovité léze vyplněné hyfami původce po celé délce průdušnice. Tkáňová infiltrace byla charakterizována přítomností granulocytů a mo-

nonukleárních fagocytů. Tracheální forma aspergilózy je také uváděna jako jedna z pěti poznaných forem u volně žijících ptáků — dravců (Redig, 1981).

V našem případě nepochybně postihla aspergilová infekce kuřata vdechováním spór houby, která kontaminovala piliny použité jako podestýlka. Podle některých autorů (Szpakowski, 1967) představují piliny zvláště nebezpečný zdroj mykózy. Faktory predisponující k vzniku aspergilózy dosud nebyly zcela objasněny. Kromě oslabení ptáků jinou nemocí je vnímavost k nákaze zvyšována také stresem vyvolaným změnou klimatických podmínek, zejména z náhlého poklesu teploty nebo zvýšení vlhkosti ovzduší (Rajan a Sividas, 1973; Ditrich aj., 1979). Tento faktor se pravděpodobně uplatnil i při propuknutí námi popisované enzootie. Zajímavé je také zjištění, že k rozvoji infekce může přispět předchozí antibiotická terapie (Stankiewicz, 1976). V našem případě preventivní zákrok — očkování proti pseudomoru drůbeže — mohl při sprayové aplikaci způsobit strhávání spór *A. fumigatus*, přítomných v kontaminovaném ovzduší, s kapénkami spraye do horních cest dýchacích kuřat. Tuto možnost, na kterou v souvislosti s aerosolovou vakcinací kuřat upozornil také Černík (1980), můžeme pouze teoreticky připustit, nikoliv prokázat. Jiný mechanismus predisponujícího působení vakcinace lze těžko předpokládat.

Literatura

- AINSWORTH, G. C. — AUSTWICK, P. K. C.: Fungal diseases of animals. Commonw. agric. Bul., 1973, s. 216.
- CORKISH, J. D.: Mycotic tracheitis in chickens. Avian Path., 11, 1982, s. 627-629.
- ČERNÍK, K.: Aktuální otázky pseudomoru drůbeže a problém intervence infekční bursitidy. Imunoprofylaxia, 3, 1980, s. 6-27.
- DITRICH, O. — OTČENÁŠEK, M. — VESELSKÝ, M. — KOUBEK, P.: Diseminovaná aspergilóza potáplice. Veter. Med. (Praha), 24, 1979, s. 633-639.
- GREVAL, G. S. — GILL, B. S.: Mycotic tracheitis in a domestic duck. Indian J. Poult. Sci., 17, 1982, s. 88-90.
- RAJAN, A. — SIVIDAS, C. G.: Incidence of mycotic infection in domestic animals and poultry in Kerala. Kerala J. veter. Sci., 4, 1973, s. 106-108.
- RAO, M. R. — CHOUDARY, C. — KHAN, D. In: An outbreak of acute aspergillosis in chicks. Indian veter. J., 59, 1982, s. 341-342.
- REDIG, P. T.: Aspergillosis in raptors. In: COOPER, J. E.: Recent advances in the study of raptors diseases. Keighley, Chiron. Publ., Ltd. 1981, s. 117-122.
- STANKIEWICZ, J.: Enzootia grzybicy u indyków w przebiegu mykoplasmozy leczonej antybiotykami. Med. wet., 31, 1976, s. 740-741.
- SZPAKOWSKI, J.: Aspergiloza płuc u kurcząt typu broiler. Med. wet., 23, 1967, s. 534-535.

Došlo dne 23. 10. 1983

ВЕСЕЛСКИ, М. — ОТЧЕНАШЕК, М. — ДУБА, Й. — ДИТРИХ, О. (Государственный институт ветеринарии, Пардубице; Паразитологический институт, Прага): Массовое появление микотического трахеита у цыплят. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5): 301-306.

Описана энзоотия микоза у цыплят, вызываемая спорами гриба *Aspergillus fumigatus*, миконфекция поражала дыхательный тракт пернатых, а патологические изменения локализованы, главным образом, в области трахеи. Изменения носили характер дифтероидно-некротического воспаления, которое разрушало слизистую и почти обструктировало трахею.

В перитрахеальной ткани, а у отдельных птиц и в легких находили очаги гранулематозного воспаления, содержащего элементы гриба. Источником инфекции оказалась загрязненная аспергиллием подстилка.

микробиоинфекции; *Aspergillus fumigatus*; дыхательный тракт

VESELSKÝ, M. — OTČENÁŠEK, M. — DUBA, J. — DITRICH, O. (State Veterinary Institute, Pardubice; Parasitological Institute, Czechoslovak Academy of Sciences, Praha): *Mass Occurrence of Mycotic Tracheitis in Chickens*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 301-306.

An enzootic of chick mycosis, caused by the spores of the fungus *Aspergillus fumigatus*, is described. The mycotic infection affected the respiratory tract of the birds; pathological changes were located mainly in the region of the trachea. The changes had the nature of diphtheroid necrotic inflammation destroying the mucous membrane and causing almost an obstruction of the trachea. Deposits of granulomatous inflammation, containing fungus elements, were detected in the peritracheal tissue, and in individual birds also in the lungs. Litter contaminated with *Aspergillus* was the source of infection.

mycotic infection; *Aspergillus fumigatus*; respiratory tract

Adresy autorů:

MVDr. Miroslav Veselský, MVDr. Josef Duba, Státní veterinární ústav, Štrossova 57, 530 02 Pardubice

RNDr. Miloš Otčenášek, DrSc., RNDr. Oleg Ditrich, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Flemingovo nám. 2, 166 32 Praha 6

DETEKCE SARKOCYSTÓZY SKOTU A PRASAT METODOU NEPŘÍMÉ IMUNOFLUORESCENČNÍ REAKCE A TRYPSINACÍ SVALOVÉ TKÁNĚ

D. Lukešová, M. Nevole

LUKEŠOVÁ, D. — NEVOLE, M. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Detekce sarkocystózy skotu a prasat metodou nepřímé imunofluorescenční reakce a trypsinací svalové tkáně*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 307-312.

Studovali jsme incidenci sarkocystózy u skotu a prasat různých věkových kategorií metodou trypsinace svalové tkáně a metodou nepřímé imunofluorescenční reakce (NFR). Vyšetřili jsme celkem 173 kusy skotu a 107 prasat. V kategorii telat jsme zjistili v 75 % pozitivní sérologickou reakci a pouze u 15 % pozitivitu při trypsinaci svalové tkáně. V kategorii žirných býků bylo sérologicky pozitivních 64 % a trypsinací 96 % zvířat. V kategorii krav bylo sérologicky pozitivních 70,84 % a trypsinací 85,42 %. U žirných prasat jsme prokázali sérologickou pozitivitu v 10,53 %, ale přímý průkaz sarkocyst se nezdařil ani v jednom případě. U prasnic byla naopak trypsinace pozitivní v 8 % a NFR negativní ve všech případech. Diskuse se zabývá vzájemnou korelací výsledků dosažených použitými diagnostickými metodami.

telata; krávy; žirní býci; žirná prasata; sérologická reakce; diagnostické metody

Z veterinárně hygienického hlediska musíme sarkocystóze věnovat zvýšenou pozornost, neboť existuje reálná možnost přenosu některých druhů z rodu *Sarcocystis* Lankaster, 1882, ze zvířete na člověka a naopak.

V našich podmínkách přicházejí v úvahu dvě možné cesty přenosu. Jedna z invadovaného a nedostatečně tepelně či jiným účinným způsobem opracovaného masa a orgánů, druhá spórocystami z výkalů lidí a masožravců.

Vzhledem k tomu, že se u nás v převážné míře konzumuje hovězí a vepřové maso, zaměřili jsme pozornost v naší práci na sledování problémů sarkocystózy u skotu a prasat.

V ČSSR nebyl výskyt sarkocystózy hospodářských zvířat dlouho systematicky zkoumán. Teprve v 70. letech se několik autorů danou problematikou začalo zabývat (např. Koudela aj., 1972; Černá a Červa, 1979; Nevole a Lukešová, 1979 a jiní). Přesto však zůstává mnoho otázek nedorozřešených jak v oblasti teoretické, tak i v praktickém uplatnění získaných poznatků. Vzhledem k závažnosti výskytu mezipřenosných druhů (skot, prase) a současně její úlohy v parazitologii se do popředí dostává otázka, zda existuje korelace mezi procentem pozitivních sérologických nálezů a přímým průkazem sarkocyst ve svalovině, jež slouží jako zdroj potravy pro člověka a masožravce.

V práci jsme se zaměřili na rozšíření poznatků o průkaz a interpretaci výsledků imunologické odezvy v souvislosti s působením invazního agens v organismu přirozeně invadovaných zvířat, a to využitím nepřímé imunofluorescenční reakce (NFR) pro diagnostiku sarkocystózy.

MATERIÁL A METODY

Vzorky svaloviny skotu a prasat jsme získávali na jatkách Jihomoravského průmyslu masného v Brně. Zpracovávali jsme především svalovinu jícnu, kterou jsme před vlastním mikroskopickým vyšetřením zbavili tukové a vazivové tkáně. Svalovinu jsme potom stříhali nebo rozemleli na mixéru.

Sarkocysty jsme získávali použitím trávicí metody pomocí trypsinu, kterou popsal Erber (1977). Probíhá v zásaditém prostředí PBS pufru (pH = 7,4) za přítomnosti 0,25 % trypsinu. Mikroskopicky jsme vyšetřovali sediment při malém zvětšení mikroskopem (objektiv 6X, 10X). Zjišťovali jsme cysty i zoity (Nevolet a Lukešová, 1981).

Obdobným způsobem jsme použili trávicí metody pomocí pepsinu, kterou popsal Lunde a Fayer (1977). Touto metodou jsme získávali antigen pro sérologickou diagnostiku. V systému kolon s gelovou náplní jsme dostali relativně čistou suspenzi zoitů. Podložní skla s antigenem — zoity jsme fixovali 1% formalinem v mrazicím boxu při teplotě -18°C .

K vyšetření metodou nepřímé imunofluorescenční reakce (NFR) jsme odebírali vzorky krevního séra skotu a prasat na jatkách JmPM v Brně. Označené vzorky jsme uchovávali v mrazicím boxu při teplotě -18°C až do vlastního sérologického vyšetření. Použili jsme antigamaglobulinové konjugáty RAB/FITC a RASw/FITC, značené fluoresceinizothiocyanátem (výrobce Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané) a také negativní konjugáty od stejného výrobce. Po celou dobu experimentální práce jsme používali pufrovaný fyziologický roztok (PFR o pH = 7,2–7,5) a pufrovaný 80% glycerol p. a.

Spolehlivost sérologické reakce jsme ověřovali několika kontrolami: s pozitivním sérem získaným z experimentální invaze, s negativním fetálním sérem a bez séra, pouze s vlivem konjugátu.

K hodnocení fluorescenční reakce jsme použili luminiscenční mikroskop ML 2 (podle Kramáře, 1964).

Celkově jsme vyšetřili 173 vzorky sér skotu, 107 vzorků sér prasat a stejný počet vzorků žíhané svaloviny těchto zvířat.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Použitím metody NFR jsme sérologicky vyšetřili 100 vzorků krevního séra telat ve věku od dvou do pěti měsíců. Protilátkovou odezvu jsme prokázali u 75,00 % vzorků krevního séra. Z celkového počtu sérologicky pozitivních telat byla přítomnost protilátek zjištěna ve 40,00 % v základním ředění séra a pouze v jediném případě (1,33 %) jsme prokázali nejvyšší titer 80 (tab. I).

Hladinu protilátek — jako odpověď na parazitární antigen — jsme sledovali u 48 jatečných krav a 25 býků. V souboru 73 sér byla zjištěna pozitivní reakce u krav v 70,84 % a u býků v 64,00 %, s nejvyšším titrem 40 v šesti případech.

Dále jsme srovnávali výsledky mikroskopického průkazu sarkocyst v jícnové svalovině s protilátkovou odezvou ve vzorku séra téhož kusu skotu (tab. II).

U 75 telat sérologicky pozitivních nebyly v 81,25 % případů prokázány sarkocysty ve svalové tkáni, naopak u býků a krav byly sarkocysty přítomny již v 60,00 % a 70,50 %. U býků a krav se většinou jednalo o případy, kdy při výskytu cyst přetrvávaly protilátky. U poměrně

I. Výsledky vyšetření skotu metodou nepřímé imunofluorescenční reakce (NFR) — Results of the examination of cattle by the method of indirect immunofluorescence reaction (IFR)

Kategorie skotu	Vyšetřeno kusů	Ředění séra					Sérologicky pozitivní
		1 : 4	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80	celkem
		‰					
Telata 2—5 měs.	100	30 40,00	20 26,67	15 20,00	9 12,00	1 1,33	75 75,00
Býci	25	8 50,00	3 18,75	2 12,50	3 18,75	0 0	16 64,00
Krávy	48	14 41,18	11 32,36	6 17,65	3 8,83	0 0	34 70,84
Celkem	173	52 41,60	34 27,20	23 18,40	15 12,00	1 0,80	125 72,26

vysokého procenta (36,00 a 22,70) při existenci cyst však již protilátky vymizely a pouze v ojedinělých případech (4,00 % a 6,80 %) patrně došlo k čerstvým invazím, které se projeví přítomností protilátek a chybějícími cystami. U telat tyto případy tvořily 81,25 %. Jednalo se u nich zřejmě o první akutní fázi onemocnění, při níž invadovaná zvířata reagovala tvorbou protilátek, ale sarkocysty, které ke svému vývoji potřebují dva až tři měsíce, se zatím nevyvinuly. O tom svědčí nález sarkocyst pouze u 15,00 % telat.

Je tedy možné vyslovit názor, že v první fázi invaze sarkocystami reaguje skot tvorbou protilátek, jejichž hladina se postupně v chronické fázi nemoci snižuje až vymizí, přičemž se mohou nacházet, a tedy prokázat, sarkocysty ve svalovině.

II. Porovnání výsledků dvou metod detekce sarkocystózy u skotu — Comparison of the results of two methods of sarcocystosis detection in cattle

Kategorie zvířat	Vyšetřeno kusů	Trypsinace pozitivní ‰	Sérologicky pozitivní ‰	Sérologicky		
				pozitivní		negativní
				trypsinace pozitivní ‰	trypsinace negativní ‰	trypsinace pozitivní ‰
Telata 2—5 měs.	100	15,00	75,00	12,50	81,25	6,25
Býci	25	96,00	64,00	60,00	4,00	36,00
Krávy	48	85,42	70,84	70,50	6,80	22,70

III. Porovnání sérologického vyšetření s nálezem sarkocyst u prasat — Comparison of serological examination with the finding of sarcocysts in pigs

Kategorie prasat	Vyšetřeno kusů	Sérologicky pozitivní	Ředění séra			Trypsinace pozitivní
			1 : 4	1 : 10	1 : 20	
		0/0				
Žirná	57	6	3	3	0	0
		10,53	50,00	50,00	0	0
Prasnice	50	0	0	0	0	4
		0	0	0	0	8,00
Celkem	107	6	3	3	0	4
		5,61	50,00	50,00	0	3,74

Obdobně jsme sérologicky vyšetřili jatečná prasata a prasnice. V souboru 107 kusů byly protilátky zjištěny v 5,61 %, ale sarkocysty jsme prokázali pouze ve 3,74 %. Mikroskopické zjištění u 50 prasnic bylo úspěšné pouze v 8,00 % případů za současného negativního sérologického vyšetření. Opačná situace nastala u žirných prasat: u 57 kusů byl průkaz sarkocyst negativní, ale protilátková odpověď byla zjištěna u šesti kusů (10,53 %) s nejvyšším titrem 10 (tab. III).

Za kritérium přítomnosti sarkocyst v organismu zvířete bývá považována určitá hraniční výška titrů protilátek. Tento ukazatel není u všech druhů zvířat stejný, neboť průkaz sarkocyst se zdařil i při nejnižších pozitivních sérologických nálezech v ředění séra 1 : 4. Ztotožňujeme se s názorem Černé a Červy (1979), neboť u sérologických reakcí jsme často zjistili anamnestické titry, které indikovaly, že se organismus zvířete dostal do kontaktu s parazitárními původci, i když v době sérologického vyšetření již v organismu nebyli přítomni. Pozitivní sérologické nálezy u parazitologicky negativních zvířat lze vysvětlit tím, že se jedná o ranou invazi (průkaz cyst je negativní), popřípadě o dlouhotrvající invazi, při níž svalové cysty již byly rozrušeny, ale protilátky ještě přetrvávají. Obtížně lze interpretovat negativní sérologickou reakci u parazitologicky pozitivních zvířat. Objasnění tohoto jevu bude třeba dále studovat (Lukešová, 1982).

Z výsledků dosažených metodou nepřímé imunofluorescenční reakce (NFR) a z jejich srovnání s trypsinací svalové tkáně je patrné, že NFR je vhodná v diagnostice sarkocystózy u živých zvířat, zvláště u skotu a prasat. U mladých věkových kategorií zvířat prokáže tato sérologická reakce i časná stadia invaze. Pozitivně reagující zvířata je třeba považovat za invadovaná, za nosiče sarkosporidiózních cyst, které se vytvoří za dva až tři měsíce *p. i.* ve svalovině hospodářských zvířat.

Z hlediska sérologické diagnostiky považujeme NFR za velmi vhodnou a cennou metodu, na což upozorňují mnozí autoři (Díez-Baños, 1980; Reiterová aj., 1981 a jiní). Lze jí prokázat především protilátky rodu *Sarcocystis* (Tadrosová aj., 1979; Černá, 1983). Této možnosti jsme využili při přípravě antigenu, protože ovčí zoity (*S. ovi-*

felis) se projevovaly citlivěji než zoity získané trávicí metodou ze svaloviny skotu.

Použití této diagnostické metody při průkazu protilátek v sérech zvířat se v posledních letech velmi rozšířilo. Metoda nepřímé imuno-fluorescenční reakce je velmi citlivá, rychlá a většinou spolehlivá, vyžaduje však fluorescenční mikroskop. Značnou výhodou je využití jediného kvalitního a standardního značeného konjugátu FITC. Pro standardizaci výsledků laboratoří, které této metody využívají, nestačí pouze vyrábět značená antiséra, ale je třeba, aby měly k dispozici i standardizované antigenní substráty, pozitivní a negativní séra. Proto v její diagnostické spolehlivosti i v interpretaci dosažených výsledků ještě zřejmě existují rezervy.

Literatura

- ČERNÁ, Ž.: Kokcidie některých domácích a užitkových zvířat a kokcidie člověka. Praha, Academia 1983. 144 s.
- ČERNÁ, Ž. — ČERVA, L.: Sérologická pozitivita na sarkocystózu u meziphostitelských lidských druhů rodu *Sarcocystis*. Zpr. Českoslov. Společ. parazit., 19, 1979, č. 3/4.
- DIEZ-BAÑOS, P.: Sarcocystis infection of sheep in León, Spain, with a comparative study of various diagnostic technique. An. Fac. Veter., León, 24, 1980, č. 1, s. 195-199.
- ERBER, M.: Möglichkeiten des Nachweises und Differenzierung von zwei Sarcocystic-Arten des Schweines. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 90, 1977, s. 480-482.
- KOUDELA, K. — TREFNÝ, D. — BLAŽEK, K. — FREUDL, A.: Sarkocystóza jaťečného skotu. Veter. Med. (Praha), 17, 1972, č. 7, s. 407-411.
- KRAMÁŘ, J.: Použití fluoreskujících protilátek v sérologické diagnostice toxoplasmózy. Českoslov. Parazit., XI, 1964, s. 159-164.
- LUKEŠOVÁ, D.: Parazitologická problematika sarkocystózy v chovech skotu a prasat. [Kandidátská disertační práce.] Brno 1982. 144 s. — Vysoká škola veterinární.
- LUNDE, M. N. — FAYER, R.: Serologic tests for antibody to sarcocystis in cattle. J. Parasit., 63, 1977, č. 2, s. 222-225.
- NEVOLE, M. — LUKEŠOVÁ, D.: Sarkosporidióza skotu. Veterinářství, 29, 1979, č. 3, s. 127-128.
- NEVOLE, M. — LUKEŠOVÁ, D.: Metody přímé detekce sarkocyst a jejich diagnostická spolehlivost. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, č. 10, s. 581-583.
- REITER, I. a kol.: Versuche zum serologischen Nachweis der Sarkosporidiose an experimentell mit Sarkosporidien infizierten Rindern und Schafen. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 94, 1981, s. 425-430.
- TADROS, W. a kol.: The demonstration of antibodies to *Sarcocystis fusiformis* antigen in sera of *Iso spora hominis* carriers, using the indirect fluorescence technique. Z. Parasitenkunde, 43, 1974, s. 221-224.

Došlo dne 2. 2. 1984

ЛУКЕШОВА, Д. — НЕВОЛЕ, М. (Ветеринарный институт, Брно): Установление саркоцистоза крупного рогатого скота и свиней методом косвенной иммунофлуоресцентной реакции и методом растирки мышечной ткани. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 307-312.

В работе изучали поражение саркоцитозом крупного рогатого скота и свиней разных возрастных категорий методом растирки мышечной ткани и методом косвенной иммунофлуоресцентной реакции (NFR). Обследовали общим числом 173 головы крупного рогатого скота и 107 свиней. В категории телят у 75 % установили положительную серологическую реакцию и только у 15 % положительные результаты при растирке мышечной ткани. В категории нагульных быков серологически положительных было 64 %, а методом растирки — 96 % животных. В категории коров серологически положительных было 70,84 % и методом растирки 85,42 %. У откормочных свиней установили серологическую позитивность у 10,53 %, а

однако непосредственное доказательство наличия саркоцист не удалось ни в одном случае. У свиноматок, напротив, растирка оказалась положительной в 8 0/0 случаев, тогда как NFR была во всех случаях отрицательной. Дискуссия посвящена взаимной корреляции результатов, достигнутых с помощью примененных диагностических методов.

телята; нагульные быки; откормочные свиньи; серологическая реакция; диагностические методы

LUKEŠOVÁ, D. — NEVOLE, M. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Detection of Bovine and Porcine Sarcocystosis by the Methods of Indirect Immunofluorescence Reaction and Trypsinization of Muscular Tissue*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (5) : 307-312.

The incidence of sarcocystosis was studied in cattle and pigs of different age categories by means of the methods of muscular tissue trypsinization and indirect immunofluorescence reaction (IFR). On the whole, 173 head of cattle and 107 pigs were examined. In the category of calves, a positive serological reaction was proved in 75 0/0 of cases, and positivity in the trypsinization of muscular tissue was found only in 15 0/0 of cases. In the category of beef bulls 64 0/0 of cases were serologically positive and 96 0/0 were positive in the trypsinization test. In the category of cows 70.84 0/0 of cases were positive serologically and 85.42 0/0 by trypsinization. In fattened pigs serological positivity was demonstrated in 10.53 0/0 of cases but the direct determination of sarcocysts failed in all cases. On the other hand, trypsinization of sows was positive in 8 0/0 and IFR was negative in all cases. The discussion deals with the correlations of all results obtained by the above diagnostic methods. calves; beef bulls; fattened pigs; serological reaction; diagnostic methods

Adresa autorů:

MVDr. Daniela Lukešová, CSc., doc. MVDr. Miloslav Nevole, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

SOUHRNNÝ PŘEHLED

HYGIENICKÝ VÝZNAM AEROBNÍCH SPORULUJÍCÍCH MIKROBŮ

Početná kazuistika z různých zemí, podložená bakteriologickými nálezy, prokazuje, že někteří příslušníci aerobních sporulujících mikrobů (*genus Bacillus*), mezi nimi zejména *Bacillus cereus*, vyvolávají střevní onemocnění lidí. Tento názor je dnes odbornou veřejností už všeobecně uznáván. Proto také byl hygienickou komisí Světové zdravotnické organizace *Bacillus cereus* zařazen do oficiálního seznamu původců těchto onemocnění.

Střevní onemocnění lidí, vyvolané aerobními sporulujícími mikroby (ESM) po požití kontaminované potravy, probíhají většinou lehčeji za příznaků nevolnosti, zvracení, kolikových bolestí a průjmů. Teplota nebývá obvykle zvýšena. Onemocnění se dostavuje za čtyři až šest hodin po požití potravy a končí ve většině případů za dva až tři dny uzdravením. Případy s vážnějším průběhem, zejména u dětí, je třeba hospitalizovat. Tato skutečnost byla známa už delší dobu, ale teprve po druhé světové válce byla této problematice věnována větší pozornost. Alarmující bylo sdělení norského autora H a u g a, který v období let 1947 až 1950 zaznamenal čtyři hromadná onemocnění celkem 600 osob po požití vanilkového vaječného krému, masívně kontaminovaného kulturou *Bacillus cereus*. Další zprávy přicházely z Dánska, Holandska, ze Skandinávských zemí a z Německa. V Maďarsku shromáždil N i k o d e m u s z (1965) údaje z let 1958 až 1964 o 51 případě hromadných střevních onemocnění, u nichž příčinou onemocnění 1400 lidí byly aerobně sporulující mikroorganismy, nejčastěji *Bacillus cereus*. Ve výčtu dalších sdělení by bylo možné pokračovat. U nás máme v poválečných letech zachycen jen jeden prokázaný případ hromadného střevního onemocnění způsobeného aerobně sporulujícími mikroorganismy. V červnu roku 1965 onemocnělo po požití malkaa silně kontaminovaného kulturou *Bacillus cereus* ($1,8 \times 10^4/g$) 196 osob. Onemocnění se projevilo nevolností, zvracením a průjemem. Deset osob, u kterých se dostavily příznaky kolapsu, bylo nutné hospitalizovat.

To, že máme zachyceno jen tak málo případů hromadného střevního onemocnění způsobeného aerobně sporulujícími mikroorganismy, by nás mohlo jen těšit a svědčilo by to, mezi jiným, také o naší vyspělé hygienické úrovni, ale asi zde budou hrát svou úlohu ještě jiné okolnosti. Možná, že pro tuto skutečnost přispívá i okolnost, že u nás není v oblibě požívání polosyrových masných výrobků. Přirozeně, že jsou evidovány jen případy hromadného onemocnění, zatímco onemocnění jednotlivých osob nebo malých skupin nejsou obvykle hlášena, a proto unikají evidenci. Odhaduje se, že takových případů může být ročně i několik tisíc. Statistiky ukazují, že salmonely se podílejí poměrně malým procentem na vzniku těchto onemocnění, ale účast stafylokoků, aerobních sporulujících mikrobů, fekálních streptokoků a dalších podmíněně patogenních mikrobů je vysoká. Jsou-li tedy salmonelózy závažné svým

těžším průběhem onemocnění, je skupina střevních onemocnění s lehčím průběhem závažná svou početností (Emberger, 1963).

Zarážející skutečností však je, že třetina až polovina všech evidovaných hromadných střevních onemocnění zůstává etiologicky neobjasněna. Případy jsou diagnostikovány pouze klinicky a epidemiologicky, anebo se vykultivují bakterie zahrnované pod pojmem saprofytická mikroflóra, aniž by byly toxonomicky blíže zařazeny. To vykazují všechny publikované statistiky. V roce 1965 bylo na území našeho státu evidováno při hromadných střevních onemocněních 3835 osob, z čehož u 1640 postižených nebyla etiologie známa; do tohoto počtu patří i případ hromadného onemocnění 867 lidí údajně po požití uzeniny a nevhodně skladovaného masa. Mezi faktory, kterým se přičítá tento stav v diagnostické praxi, se uvádějí nedostatky při odběru vzorků, nedostatečná odborná znalost, použití nevhodné metodiky a izolačního postupu, přerůstání doprovodnou mikroflórou a další.

Vyšetřovací laboratoře se dříve zaměřovaly především na nález salmonel. Dost dlouho byl například bagatelizován v těchto případech nález stafylokoků. Nad tím by se měli pracovníci vyšetřovacích laboratoří zamyslet. Naproti tomu je nutné přiznat, že úloha diagnostických laboratoří není lehká. Není vždy snadné rozlišit etiologického činitele od doprovodné kontaminující mikroflóry. Zkušený mikrobiolog musí také počítat s tím, že například stupeň sporulace populace *Bacillus cereus* v potravinách může být nízký. Zahřátím suspenze vyšetřovaného vzorku potravin za účelem eliminace nežádoucí doprovodné mikroflóry na relativně vysokou teplotu (75 °C) může vést k devitalizaci většiny bacilů. Doporučuje se nepřekračovat inaktivační teplotu 65 °C. Pro enumeraci mikrobů *Bacillus cereus* se osvědčuje selektivní půda podle Mossela aj. (1967). Je třeba také připomenout, že některé patogenní bakterie mohou při perorálním vstupu do organismu měnit své vlastnosti. Erudovaný mikrobiolog musí prostě počítat se všemi možnostmi a správně hodnotit nález.

Příčinou střevního onemocnění lidí je požití kontaminované potravy. Aerobní sporulující mikrobi kontaminují potraviny poměrně snadno, protože jsou značně rozšířeni v přírodě a také proto, že tvorbou spór se stávají značně rezistentní k zevním činitelům. Vyznačují se také odolností vůči kuchyňské soli, neboť snášejí až 10% koncentraci chloridu sodného. Ke kontaminaci dochází všude tam, kde se získávají a připravují potraviny, především živočišného původu, tedy na jatkách a v masné výrobě, ve stájích, mlékárnách a jinde. Ke kontaminaci v exponovaných provozovnách může také dojít synantropními mouchami. Jak bylo zjištěno, celkový počet ESM na jednu mouchu dosahoval v průměru hodnoty 10⁶.

Polské prameny uvádějí některé průměrné hodnoty ESM, zjištěné při opracování masa na jatkách. Tak na povrchu syrového masa bylo zjištěno několik tisíc až několik miliónů těchto bacilů v jednom gramu. To jistě nejsou specifické polské poměry, spíše se domnívám, že tyto nálezy můžeme zobecnit v tom smyslu, že na jatkách jsou kontaminovány povrchové části masa. Kontaminace se pak může přenášet dál do masa zpracovaného na různé výrobky. Z toho lze vyvodit obecný závěr, že ESM jako zevní kontaminanti masa jsou současně ukazatelem hygienické úrovně pracovního procesu na jatkách. Mezi oběma kvalitami platí nepřímý vztah, že čím větší je kontaminace, tím menší je hygienická

úroveň a naopak. To platí o všech dalších provozovnách, ve kterých se získávají a zpracovávají potraviny živočišného původu.

Ale také jiné potraviny, např. zeleninové konzervy, mohou obsahovat ESM. Silně kontaminováno bývá také koření. Je-li už nutné počítat s tím, že ke kontaminaci může dojít, pak je třeba pečovat o to, aby byla co nejmenší. Pokud je kontaminace omezena na zcela malé množství mikrobů, nemusí být tato okolnost ještě považována za závažný hygienický nedostatek. Nebezpečná je masivní kontaminace nebo taková situace, kdy se za příznivých okolností dodatečně značně pomnoží původně malé množství mikrobů. Za těchto okolností značně záleží na veterinární službě, aby tomu účinnými hygienickými opatřeními a jejich důslednou kontrolou zabránila. Podle mínění většiny odborníků je v současné době považováno za limitující pro dospělé osoby množství 10^5 ESM v 1 gramu potraviny, pro děti o dva řády nižší. Záleží také na individuální citlivosti lidí. Je známo, že někteří lidé onemocní, zatímco jiní za týchž okolností zůstávají zdraví. Dodržováním všech hygienických opatření a stálým účinným chlazením je možné onemocnění preventivně čelit.

Třebaže kazuistika je početná, není etiologie střevních onemocnění lidí, vyvolaných erobními sporulujícími mikroby, dosud dostatečně objasněna. Protože v těchto případech bývá nejčastěji izolován *Bacillus cereus*, bude dále hovořeno o jeho biochemických vlastnostech. Dnes se už v odborném světě prosadil názor, že *Bacillus cereus* je třeba považovat za podmíněného patogena.

Jedno víme určitě. Aby se jeho patogenní účinek mohl projevit, je třeba masivní infekce. Proto je třeba nález *Bacillus cereus* v potravinách vždy hodnotit kvantitativně nejen se zřetelem na vyšetřovanou potravinu, ale zejména na věkovou kategorii konzumentů. Bacily produkují velké množství proteázy, která štěpí bílkovinu. Stará německá škola pokládala štěpné produkty tohoto rozkladu za příčinu střevních onemocnění. Tato možnost se sice nevylučuje, ale všeobecně je považována za málo pravděpodobnou. S proteolytickou aktivitou souvisí i vznik různých vad masných a mléčných výrobků. Tak jsme mohli sledovat při prověřování kvality párkových polokonzerv kalení láku a měknutí párků bez příznaků bombáže. Příčinou této vady byla přítomnost *Bacillus subtilis*, převážně v čisté kultuře. Kontaminace byla někdy tak masivní, že vedla až ke ztekucení určitých částí náplně párků.

Převážná většina cereových kmenů produkuje ferment fosfolipázu (lecitinázu). Biochemicky se fosfolipázy rozlišují podle toho, kterou vazbu v molekule lecitinu štěpí. Fosfolipáza C, kterou vytváří *Bacillus cereus*, štěpí lecitin na fosforylcholin a diglycerid. Schopnost produkovat fosfolipázu C je u cereových kmenů celkem stálá, ale některé kmeny vykazují produkci podstatně větší; je třeba takové kmeny považovat za možné původce střevních onemocnění. Nygren (1961) ve své experimentální práci prokázal farmakodynamický účinek fosforylcholinu na sliznici střevní; tento účinek se projevoval zvýšeným tonusem a zvětšeným počtem kontrakcí. V pokuse na dobrovolnících vyvolal obdobné příznaky onemocnění, jaké jsou popisovány při střevním onemocnění lidí. Ze stanovení cholinu můžeme přepočtem zjistit množství fosforylcholinu podle vzorce: n mg cholinu se rovná $n \times 1,77$ mg fosforylcholinu. Z množství cholinu je také možné přepočtem stanovit,

kolik bylo v potravě lecitinu (n mg cholinu se rovná $n \times 7,6$ mg lecitinu). Podle Nygrenovy teorie je možné připustit, že v potravině bohaté na lecitin (různé krémy a pudinky s vaječným žloutkem), silně kontaminované *Bacillus cereus*, může za příznivých okolností dojít působením fosfolipázy C ke značnému uvolnění fosforylcholinu s následným střevním onemocněním. Bylo zjištěno, že syntetický fosforylcholin, zahřátý na teplotu 120 °C, si ještě uchovává svoje toxické vlastnosti. Proto nelze ani zahřátí na vysokou teplotu považovat za postačující k detoxikaci potravin, ve které mikrobiální činností došlo k produkci fosforylcholinu.

Už několik roků je známé, že se *Bacillus cereus* vyznačuje toxickou aktivitou endotoxinové povahy. Tato aktivita je pravděpodobně vázána na mukopeptidy buněčné stěny. Endotoxinovou aktivitu lze nejlépe prokázat parenterální aplikací (*i.p.*, *i.v.*) živé cereové kultury vnímavým pokusným zvířatům (morčata, králíci). Za několik hodin po inokulaci se dostavuje fenomén letálního šoku, provázený při intraperitoneálním podání typickým peritoneálním syndromem. Z hlediska enteropatogenního účinku *Bacillus cereus* zaujaly zprávy maďarských autorů (Nikodemusz, 1965; Nikodemusz a Gonda, 1963; Ormay a Novotny, 1970). V pokusech na laboratorních hlodavcích krmených krátkodobě potravou silně kontaminovanou cereovou kulturou nezjistili příznaky střevního onemocnění. Teprve když byly krmené pokusy provedeny na mladých kočkách a psech, podařilo se reprodukovat symptomy střevního onemocnění (inkubace tři až sedm hodin). Kultura *Bacillus cereus* ze střeva byla nacházena tři až šest dní. V jiném pokusu byly mladé kočky krmeny potravou silně kontaminovanou cereovou kulturou delší dobu. Zvířata reagovala průjmem a ztrátou hmotnosti. Během tří týdnů uhynula polovina pokusných zvířat. Maďarská škola proto považuje za vhodná pokusná zvířata k průkazu enteropatogenního účinku *Bacillus cereus* při perorálním podání mladé masožravce, nikoliv obvykle používané laboratorní hlodavce. Tyto výsledky potvrdily práce dalších autorů i naše pokusy (Prokůpek, 1972). Důležité je také zjištění, že *Bacillus cereus* se vylučuje střevem po několik dní a že jej lze vhodnými metodami izolovat. Tím odpadají námitky trádované některými laboratorními pracovníky, že *Bacillus cereus* se střevem nevylučuje, a proto jej nelze při vyšetřování zachytit.

Dosud se nepodařilo zjistit, jak se endotoxin uvolňuje z buňky. Je proto zajímavé sdělení německého autora Hellmanna (1972), že digesce cereové kultury trypsinem vedla k podstatnému zvýšení toxicity. Natrávenou kulturou vyvolal příznaky intoxikace u mladých koček a psů nejen populací *Bacillus cereus*, ale i některými dalšími příslušníky ESM. K perorálnímu účinku bylo třeba dávky stokrát větší. Toxická látka je podle autora endotoxinové povahy. Snad si touto digescí můžeme vysvětlit zajímavý jev, že v některých případech můžeme malým podílem živých mikrobů ve směsi s velkým podílem devitalizovaných týčů mikrobiálních buněk vyvolat výraznější projev onemocnění nebo letálního šoku, než stejnou dávkou samotné živé kultury. Někteří pracovníci vysvětlují tento jev působením agresinů.

Je prokázáno, že činností degradačních proteolytických fermentů se rozpustí u *Bacillus megaterium* během jednoho dělení asi 20 % buněčné stěny. Je-li možné tento poznatek zobecnit, pak dochází u ESM při procesu pomnožování ke značnému stupni odbourání buněčné stě-

ny, což by mohlo v některých případech hrát významnou úlohu při uvolňování endotoxinu.

Experimentálně bylo prokázáno, že parenterálně aplikovaný izolovaný endotoxin usmrcoval pokusná zvířata šokem, zatímco perorálně podaný byl bez účinku. Novorozená selata nebyla usmrcena ani dávkou 50 mg endotoxinu. Nebylo dosud objasněno, proč perorálně podaný endotoxin neprojevuje svou aktivitu. Jak bylo zjištěno, není inaktivován žaludeční ani střevní šťávou a udržuje si svou účinnost po několik hodin. Důvod, proč je perorálně podaný endotoxin neúčinný, bude asi v podmínkách resorpce ze sliznice střevní. Je pravděpodobné, že zdravá nenarušená sliznice resorpci některých toxinů zabraňuje. Proto je třeba prokázat, že resorpce endotoxinů ze střevního traktu je aktuálně podporována oslabením sliznice vyvolaným invazí mikrobů nebo jinými faktory (tělesná únava a jiné).

Pokusy na dobrovolnících, pokud jejich účelem bylo reprodukovat příznaky onemocnění lidí, byly někdy úspěšné, jindy zase dopadly nepříznivě. Neúspěšné pokusy, které provedl Dack (1954), na dlouhou dobu negativně ovlivnily angloamerické odborné mínění o možnosti střevního onemocnění lidí aerobními sporulujícími mikrobi. Není vždy snadné vytvořit optimální podmínky pro příznivý průběh pokusu. Taková optimalizace je někdy shodou náhodných příznivých okolností. Proto všechny experimentální práce, třebaže provedené *in vivo*, jejichž výsledky odporují praktickým zkušenostem, nelze pokládat za plnohodnotné a přesvědčující.

Problém střevních onemocnění po požití kontaminovaných potravin je vysloveně hygienický. Prevence je závislá na přísném dodržování všech hygienických zásad. Osobní a pracovní hygieně je třeba věnovat soustavnou péči a důsledně ji kontrolovat, dbát na účinné chlazení a na hygienu při každé další manipulaci a přepravě potravin a hotových jídel. Rovněž je třeba, aby se znalost podmíněně patogenních mikrobů prohlubovala. V podstatě jde o dvojí: zabránit přímé masívní kontaminaci potravin patogenními mikrobi a nedopustit, aby došlo k jejich následnému pomnožení. Vysoká úroveň naší hygienické veterinární služby na jatkách zaručuje, že orální přenos spojený s intravitální infekcí zvířat, a tím i masa, je dnes téměř vyloučen. Zůstává však dosud možnost orálního přenosu infekce po požití dodatečně kontaminovaných potravin.

Mezinárodní konference o významu aplikované mikrobiologie pro ekologii lidí, konaná v roce 1969 v Bombaji, ve své rezoluci v jednom z bodů na úseku veterinární mikrobiologie doporučuje státním orgánům, aby v zájmu zdraví spotřebitelů přijaly přísnější opatření při stanovení hygienických norem potravin živočišného původu.

*MVDr. Kamil Prokůpek, CSc.
Státní veterinární ústav, Gottwaldov*

Literatura

- DACK, G. M.: J. infect. Diseases, 94, 1954, s. 34-38.
- EMBERGER, O.: Studium hygienického významu aerobních sporulujících mikrobů. Českoslov. Hyg., 8, 1963, s. 137-146.
- HANGE, S.: Matforgiftninger fremkalt av *Bacillus cereus*. Nord. hyg. T., 31, 1950, s. 189.
- HELLMANN, E.: Enthalten aerobe Sporenbildner durch Trypsinverdauung aktivierbare Endotoxine. Zbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 221, 1972, s. 206-220.
- MOSSEL, D. A. — KOOPMAN, M. J. — JONGERIJUS, E.: Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. Appl. Microbiol., 15, 1967, s. 650-653.
- NIKODEMUSZ, J.: Die Reproduzierbarkeit der von *Bacillus cereus* verursachten Lebensmittelvergiftungen bei Katzen. Zbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 196, 1965, s. 81-87.
- NIKODEMUSZ, J. — GONDA, G.: Die enteropathogene Wirkung aerober Sporenbildner bei Nagentieren. Zbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 190, 1963, s. 237-242.
- NYGREN, B.: Phospholipase C-producing bacteria and food poisoning. Acta path. microbiol. scand., 160, 1961, s. 1-89.
- ORMAY, L. — NOVOTNY, T.: Über sogenannte unspezifische Lebensmittelvergiftungen in Ungarn. Zbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 215, 1970, s. 84-89.
- PROKÚPEK, K.: Letální šok vyvolaný živou kulturou *Bacillus cereus*. Veter. Med. (Praha), 17, 1972, s. 225-232.

Došlo dne 22. 9. 1983

KRANKHEITEN DER KANINCHEN UND HASEN

NEMOCI KRÁLÍKŮ A ZAJÍCŮ

W. Kötche, C. Gottschalk

Gustav Fischer Verlag, Jena 1983. 355 s., 57 foto, 8 obr., 12 tab., cena 25,80 M

Zájem o chov králíků v posledních letech vzrůstá. Ve velkochovech i u drobných chovatelů je zaměřen na poměrně rychlou produkci masa, jehož předností je dietetická kvalita. Nezanedbatelným vedlejším produktem jsou i nadále králíčí a zaječí kůže, jejichž sběru a zpracování je věnována značná péče. Základem úspěchu chovu králíků je jejich dobrý zdravotní stav, který bývá poměrně často ohrožován různými parazitárními, infekčními i neinfekčními chorobami. I když o nemocnosti králíků je dost literárních pramenů, má tato publikace, ve třetím vydání přepracovaná a doplněná, přednost v tom, že v devíti kapitolách uceleně shrnuje dosavadní vědecké a praktické poznatky o etiologii, klinických příznacích, patologickém obrazu, diagnostice, tlumení a prevenci nemocí králíků.

V úvodu jsou k vymezení správných zásad pro zabezpečení zdraví zdůrazněny anatomické a fyziologické zvláštnosti králíků, které je nutné v prevenci nemocnosti brát v úvahu. Také stručně, ale jasně stanovené požadavky na ustájení králíků ve speciálních velkochovech a požadavky na organizaci a vlastní řízení chovu (včetně využití inseminace) jsou koncipovány se zaměřením na prevenci nemocnosti králíků a rentabilitu chovu. Výstižně jsou popsány požadavky na správnou výživu, na použití antibiotik a kokcidostatik v krmivech.

Vlastnímu popisu chorob předchází návod na postup klinického vyšetření s tabelárním přehledem hlavních příznaků, popřípadě jim odpovídajícím nemocem. V souboru popisovaných virových a bakteriálních nákaz a mykotických onemocnění jsou uvedeny nejen náказы nejdůležitější, v chovech nejčastěji se vyskytující, ale i takové, pro které je králík používán jako pokusné laboratorní zvíře (Bornaská choroba, vezikulární stomatitida aj.).

Parazitární choroby králíků a zajíců jsou systematicky popsány podle původců (Protozoa, Trematoda, Cestoda, Nematoda, Acanthocephala a Arthropoda), text je doplněn četnými schematickými obrazy o invazních cyklech parazitů a fotografiemi orgánových změn. Instruktivní popis klinických projevů jednotlivých orgánových chorob, poruch látkové výměny a nejčastějších otrav králíků je vhodným podkladem pro stanovení terapie a preventivních opatření.

Nemoci a ztráty zajíců jsou uvedeny podle jejich frekvence v terénu. Při ztrátách zajíců jsou brány v úvahu i vlivy zevního prostředí, zejména mechanizace a chemizace v zemědělství, koncentrace kultur, nepříznivé zimní období apod. V závěru jsou uvedeny podmínky pro export zajíců, zásady profylaktických opatření při zakládání velkochovů

králíků, čištění, dezinfekce, zvláštní opatření k ochraně velkochovů a nejdůležitější údaje o králících chovaných pro pokusné účely.

Svým zhuštěným obsahem, výstižným popisem celé problematiky příčin a projevů nemocí králíků a zásadami jejich tlumení i svým příhodným formátem (12 X 19 cm) je tato publikace vhodnou odbornou příručkou pro veterinární lékaře.

Doc. MVDr. Jaroslav Král, CSc.

OBSAH

Blahová I., Ryšánek D.: Shoda a opakovatelnost elektronického stanovení počtu somatických buněk mléka v diagnostických laboratořích	257
Rýc M., Jelínková J., Bícová R., Grabovská K. B., Tótoljan A. A.: Submikroskopické aspekty adherence streptokoků skupiny B k vaginálním epiteliálním buňkám	263
Staník J., Ižariková A.: Chromozomální analýza býků v souvislosti s poruchami pohlavní činnosti	271
Večerka P., Dvořák P.: Rezistence viru Aujeszkeho choroby, přítomného v krvi prasat, na disinfekční draslíkový a kyselý chlorovodíkový roztok	279
Šimko Š.: Salmonely v chovech ošipovaných s latentními infekcemi a v ohniskách salmonelóz	287
Rajtová V.: Impregnoarchitektonické štúdium rostrálnej časti hypotalamu oviec	293
Veselský M., Otčenášek M., Duba J., Ditrich O.: Hromadný výskyt mykotické tracheitidy kuřat	301
Lukešová D., Nevole M.: Detekce sarkocystózy skotu a prasat metodou nepřímé imunofluorescenční reakce a trypsinací svalové tkáně	307

Souhrnný přehled

Prokúpek K.: Hygienický význam aerobních sporulujících mikrobů	313
--	-----

Recenze

Král J.: W. Kötche — C. Gottschalk: Krankheiten der Kaninchen und Hasen	319
---	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Благова И., Рышанек Д.: Схожесть и повторяемость электронного определения количества соматических клеток молока в диагностических лабораториях	257
Рыц М., Елинькова Я., Бицова Р., Грабовская К. Б., Тотолян А. А.: Субмикроскопические аспекты адгезии стрептококков группы В к вагинальным клеткам эпителия	263
Станик Я., Ижарикова А.: Хромозомный анализ быков с точки зрения расстройств половой активности	271
Вечерка П., Дворжак П.: Устойчивость вируса болезни Ауески в крови свиней к тиосульфату калия и хлористой кислоте	279
Шимко Ш.: Сальмонеллы в свиноводческих объектах с латентными заражениями и в очагах сальмонеллез	287
Райтова В.: Импрегно-архитектоническое изучение роstralного гипоталамуса овец	293
Веселски М., Отченашек М., Дуба Й., Дитрих О.: Массовое появление микотического трахеита у цыплят	301
Лукешова Д., Неволе М.: Установление косвенной иммунофлуоресцентной реакции и методом растирки мышечной ткани	307

CONTENTS

Blahová I., Ryšánek D.: The Congruence and Repeatability of the Electronic Determination of Somatic Cell Counts in Milk in Diagnostic Laboratories	257
Rýc M., Jelínková J., Bícová R., Grabovská K. B., Tótoljan A. A.: Submicroscopic Aspects of the Adherence of Group B Streptococci to Vaginal Epithelial Cells	263
Staník J., Ižariková A.: Chromosomal Analysis of Bulls in relation to Disorders of Sexual Activity	271

Večerka P., Dvořák P.: The Resistance of Aujeszky Disease Virus in Pig Blood to Potassium Thiosulphate and Hydrogen Chloride	279
Šimko Š.: Salmonellae in Pig Stocks with Latent Infections and in Salmonellosis	287
Rajtová V.: Impregnoarchitectonic Study of the Rostral Part of Hypothalamus in Sheep	293
Veselský M., Otčenášek M., Duba J., Ditrich O.: Mass Occurrence of Mycotic Tracheitis in Chickens	301
Lukešová D., Nevoľe M.: Detection of Bovine and Porcine Sarcocystosis by the Methods of Indirect Immunofluorescence Reaction and Trypsinization of Muscular Tissue	307

Rukopisy odevzdány k tisku 6. 2. 1984 — Podepsáno k tisku 3. 4. 1984

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