

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

ROČNÍK 33 (LXI)
PRAHA
DUBEN 1988
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Rídí redakční rada: akademik Jaroslav Otto Vrtiak (předseda), akademik Koloman Boďa, prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., ing. MVDr. Radomír Hromádka, prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, DrSc., MVDr. Jaroslav Palásek, CSc., prof. MVDr. Mikuláš Pješčák, CSc., MVDr. Jozef Sokol, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Otto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavičková

OBSAH

Švastová A.: <i>Haemophilus somnus</i> jako původce bronchopneumonie telat	193
Halouzka J., Hubálek Z., Juřicová Z.: Srovnání tří sérologických testů pro detekci protilátek proti viru Bhandža u domácích přežvýkavců	201
Pástorová B., Arendarčík J., Molnárová M.: Vplyv hormonálnej stimulácie Folistimanom (FSH) a protrahovanej expozície gama-žiarenia na hladiny katecholamínov v hypotalame, hypofýze a v nadobličkách oviec v anestríckom období	209
Šemráková L.: Využitie ONPG-testu v rýchlej diagnostike niektorých rodov enterobaktérií	219
Noskovič P., Mozeš Š., Kuchár S., Koppel J.: Vplyv inzulínu na obsah RNK a proteínov v laterálnom a ventromediálnom hypotalame	225
Borošková Z., Benková M., Čech K., Pekárek J.: Imunostimulačný účinok nešpecifického transferového faktora na T a B dependentné lymfocyty morčiat v ochrannom efekte pri askarióze	241
Štěrba F.: Experimentální indukce spontánní brucelové infekce morčat kontaktem se subkutánně infikovanými morčaty <i>Brucella suis</i> , biovar 2	241

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

Pavlásek I.: Rozšíření <i>Giardia</i> sp. u jehňat v ČSSR	255
---	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Швастова А.: <i>Haemophilus somnus</i> в качестве возбудителя бронхопневмонии телят	193
Галоузка Й., Губалек З., Юржицова З.: Сравнение трех серологических тестов для детектирования антител против вируса Бханджа у домашних жвачных животных	201
Пасторова Б., Арендарчик Й., Молнарова М.: Влияние гормонального стимулирования фоллистиманом (ФСГ) и продолженной экспозиции гамма-облучения на уровни катехоламинов в гипоталамусе, гипофизе и в надпочечниках овец в анэстрическом периоде	209
Шемракова Л.: NOPG-тест в скорой диагностике некоторых родов энтеробактерий	219
Носкович П., Мозеш Ш., Кухар С., Коппел Ю.: Влияние инсулина на содержание РНК и протеинов в боковой и вентромедиальной частях мозга под зрительным бугром	225
Борошкова З., Бенкова М., Чех К., Пекарек Я.: Иммуностимулирующее действие неспецифического трансферного фактора на Т и В зависящие лимфоциты морских свинок в защитном эффекте при аскаридозе	233
Штерба Ф.: Экспериментальная индукция спонтанной бруцеллезной инфекции морских свинок контактом с подкожно инфицированными морскими свинками <i>Brucella suis</i> , biovar 2	241

HAEMOPHILUS SOMNUS JAKO PŮVODCE BRONCHOPNEUMONIE TELAT

A. Švastová

ŠVASTOVÁ, A. (Státní veterinární ústav, Pardubice): *Haemophilus somnus* jako původce bronchopneumonie telat. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 193-200.

Bakteriologické vyšetřování plicní tkáně telat s bronchopneumonií bylo rozšířeno o mikroaerofilní nebo anaerobní kultivaci. Vyšetřením 135 telat s onemocněním respiračního aparátu byly izolovány 32 kmeny (23,7 %) dosud u nás nepopsaného mikroorganismu, který byl na základě růstových, morfologických, biochemických a sérologických vlastností určen jako *Haemophilus somnus*. Ke kultivaci byl používán čokoládový agar suplementovaný kvasničným extraktem a krevní agar. Inkubace probíhala v prostředí mikroaerofilním s 10 % oxidu uhličitého nebo anaerobním. Pro sérologickou diagnostiku byla připravena séra proti sbírkovému kmeni *Haemophilus somnus* na králících. Získaná antiséra reagovala ve zkumavkové aglutinaci se všemi testovanými kmeny, ale nedávala zkřížené reakce s jinými bakteriálními druhy. Koagulační test, který byl ověřen, neposkytoval spolehlivé výsledky.

specifické antisérum; zkumavková aglutinace; koaglutinace

Respirační infekce telat, které postihují všechny věkové kategorie zvířat, patří ve velkochovech mezi nejzávažnější onemocnění. Ze známých původců se na těchto infekcích mohou podílet viry, mykoplazmata a bakterie.

Při diagnostice bakteriálních původců bronchopneumonie telat jsme v poslední době občas získávali negativní kultivační nálezy. Po zavedení mikroaerofilní nebo anaerobní kultivace jsme prokázali u nás nepopsaný bakteriální druh, v literatuře nazývaný *Haemophilus somnus*, který je původcem nejen bronchopneumonie telat, ale také infekční tromboembolické meningoencefalitidy skotu, artritid, otitid, konjunktivitid, endometritid, mastitid a abortů u krav.

Mikroorganismus byl poprvé izolován v Kalifornii (Kennedy aj., 1960) z mozku skotu s infekční tromboembolickou meningoencefalitidou (ITEME). Úspěšným přenosem tohoto agens byla potvrzena etiologie onemocnění. Baktérie byla nazvána „*Haemophilus-like*“. Bailie aj. (1966) užívali název „*Actinobacillus actinoides-like*“ a později byl mikroorganismus nazván *Haemophilus somnus* (Bailie, 1969). I když tento název nebyl validně publikován a není uveden v 9. vydání Bergey's Manual (1984), je všeobecně užíván v zahraniční literatuře.

Do určité doby se zdálo, že infekce vyvolané bakterií *Haemophilus somnus* mají význam pouze v USA. Ale časté izolace původce z plic telat ve Švýcarsku, začínající v roce 1973 (Corboz a Nicolet, 1975),

případ ITEMÉ u býka v NSR (Stöber a Pittermann, 1975) i náhlé úhyny telat ve Skotsku (Pritchard a Mac Leod, 1977) upozornily na výskyt infekčního agens také v Evropě.

Význam mikroorganismu *Haemophilus somnus* v etiologii onemocnění respiračního aparátu telat je nesporný. Corboz a Nicolet (1975) usuzovali, že působí jako primární patogen při vzniku hnisavé bronchopneumonie. Při sledování incidence infekcí *Haemophilus somnus* byly bronchopneumonie vyvolané tímto bakteriálním druhem prokázány v 10,1 % případů (Corboz, 1981).

Haemophilus somnus je gram-negativní polymorfní, kokoidní až vláknitá tyčinka, která roste v mikroaerofilním, anaerobním a opožděně také aerobním prostředí (Corboz a Nicolet, 1975). Vyrůstá na krevním a čokoládovém agaru po 24 hodinách, lépe po 48 hodinách inkubace při teplotě 37 °C v drobných šedavě nažloutlých koloniích. Na krevním agaru vytváří většina kmenů neúplnou hemolýzu. Biochemické vlastnosti nejsou příliš konstantní. Pro diagnostiku má význam průkaz oxidázy, katalázy, redukce nitrátů, tvorba indolu, test průkazu H₂S, štěpení urey a některých uhlohydrátů (Corboz a Nicolet, 1975; Garcia — Delgado aj., 1977; Corboz a Wild, 1981). Mikroorganismus je *in vitro* citlivý k antibiotikům běžně používaným ve veterinární praxi.

Haemophilus somnus byl také studován z antigenního hlediska. Protože byla zjištěna úzká antigenní příbuznost mezi jednotlivými kmeny, původce byl pokládán za sérologicky jednotný (Corboz a Nicolet, 1975; Garcia — Delgado aj., 1977). Později Canto a Biberstein (1982) při vysycování připravených antisér prokázali existenci amerického, švýcarského a společného antigenu. Také Corboz (1983) potvrdil u kmenů přítomnost nejen společného, ale i specifického antigenu.

K sérodiagnostice mikroorganismu *Haemophilus somnus* je užívána zkumavková aglutinace (Corboz a Nicolet, 1975; Canto a Biberstein, 1982), komplement-fixační test, Ouchterlonyho precipitace a GEDELISA (Corboz, 1981). Jednotliví autoři, kteří se zabývali sérologickou diagnostikou kmenů, se lišili v metodách získávání antisér, v přípravě antigenu k vlastní sérologické reakci i v titrech, kterých v antisérech dosahovali.

Cílem naší práce bylo ověřit možnost bakteriologické diagnostiky mikroorganismu *Haemophilus somnus* na základě růstových, morfologických, biochemických a sérologických vlastností.

MATERIÁL A METODY

BAKTERIÁLNÍ KMENY

Pracovali jsme se 32 kmeny, které jsme izolovali z plic při vyšetření 135 uhybnulých telat s bronchopneumonií. K ověření a srovnání vlastností jsme užili kmen *Haemophilus somnus* CCM 6023 z Čs. sbírky mikroorganismů. U všech kmenů jsme sledovali růst na živných médiích v aerobním, mikroaerofilním a anaerobním prostředí a posuzovali morfologii kolonií a buněk. K přípravě antisér jsme užili antigen sbírkového kmene. Sérodiagnostiku jsme dělali zkumavkovou aglutinací a ověřili jsme možnost použití koaglutinace. Specifitu antisér jsme testovali kmeny *Pasteurella haemolytica* CCM 5422, *Pasteurella multocida*, *Yersinia enterocolitica* (kmeny izolované v naší laboratoři), *Moraxella bovis* CCM 5620 a *Actinobacillus lignieresii* CCM 5784.

ŽIVNÁ MÉDIA

Ke kultivaci jsme používali krevní agar (KA) připravený ze základu pro krevní agar č. 4 (Imuna) s 10 % ovčí krve a čokoládový agar (ČA) obohacený 10 % ovčí krve a extraktem z pivovarských kvasnic (Švastová, 1986, 1987). Ověřili jsme také možnost suplementování agarových médií koňskou krví.

RŮSTOVÉ PODMÍNKY

Inkubace probíhala při teplotě 37 °C v aerobním prostředí 72 až 96 hodin, v mikroaerofilním prostředí s obsahem asi 10 % oxidu uhličitého ve fyzikálním anaerostatu a za anaerobních podmínek v chemickém anaerostatu (výrobce JZD Dukla Drahaný) při použití generátoru plynu 48 hodin. Citlivost ke kyslíku jsme sledovali u sbírkového kmene a devíti náhodně vybraných izolátů.

BIOCHEMICKÉ TESTY

Použili jsme testy, které u většiny autorů dávaly téměř jednoznačné výsledky. Katalázu jsme prokazovali v 3 % peroxidu vodíku skličkovou metodou, pro důkaz oxidázy jsme připravovali papírky napuštěné 1 % roztokem tetramethyl-p-phenyldiamin hydrochloridu. U testů pro průkaz redukce nitrátů, štěpení urey jsme bujónové médium (MPB nebo BHI) se základní ingrediencí obohacovali 0,5 % kvasničního extraktu a 10 % hovězího séra. Tvorbu sirovodíku jsme prokazovali v obohaceném bujónovém médiu na papírku s octanem olovnatým. Pro průkaz indolu jsme použili Hottingerův bujón suplementovaný stejným způsobem, jaký je popsán výše. Média jsme masívně inokulovali a inkubovali v anaerostatu při teplotě 37 °C po dobu 48 až 72 hodin. Štěpení sacharidů jsme prokazovali v 2 % pufrované peptonové vodě s 0,5 % určitého substrátu, 0,5 % kvasničního extraktu a 10 % hovězího séra. Jako indikátor byla v půdě fenolová červec.

SÉRODIAGNOSTIKA KMENŮ

Příprava antigenu k imunizaci králíků

1. Celobuněčný neošetřený antigen označený A

Z kmene *Haemophilus somnus* CCM 6023, narostlého na ČA, jsme připravili suspenzi ve vychlazeném 0,15 M NaCl, kterou jsme třikrát promyli. Kontrolu denzity jsme dělali fedičí metodou na ČA. Požadovaná koncentrace byla 10^4 až 10^5 CFU na mililitr. Připravený antigen jsme rozplnili do zkumavek a zmrazili při teplotě -18 až -20 °C do použití.

2. Rozpusťný zahřátý antigen (extrakt 100 °C) označený E

Kulturu *Haemophilus somnus* CCM 6023 ze tří ploten ČA jsme rozsuspendovali v 1 ml 0,15 M NaCl a třikrát promyli. Po 15minutovém povaření ve vodní lázni 100 °C teplé jsme suspenzi odstředili 20 minut při 4500 ot/min. Získaný supernatant — antigen jsme rozplnili a zmrazili. Před aplikací králíkům jsme antigen ředili v poměru 1 : 8 v 0,15 M chloridu sodného, abychom zabránili šoku.

IMUNIZACE

K imunizaci byli vybráni čtyři králíci o hmotnosti asi 2 kg, jejichž séra jsme nejprve vyšetřili zkumavkovou aglutinací na přítomnost protilátek proti *Haemophilus somnus*. Každý pátý den jsme i. v. aplikovali antigen A králíkům 1 a 2 a antigen E králíkům 3 a 4 ve stoupajícím množství od 0,2 ml — 0,5 ml — 1,0 ml — 1,5 ml — 2,0 ml — 2,5 ml a 2,5 ml. Za týden po poslední dávce jsme králíky vykrevili kardiální punkcí. Získaná antiséra jsme označili A1, A2, E1 a E2 a po inaktivaci jsme je uchovávali při teplotě -18 °C.

PŘÍPRAVA ANTIGENU KE ZKUMAVKOVÉ AGLUTINACI

Z kultury narostlé nejméně na třech plotnách ČA jsme připravili suspenzi v 0,15 M NaCl, třikrát promyli a získaný sediment jsme ponechali 90 minut ve vodní lázni o teplotě 60 °C, abychom vyloučili autoaglutinaci. K takto ošetřenému

antigenu jsme přidali stejné množství 1% fenolizovaného fyziologického roztoku. Standardizaci jsme dělali 0,5% fenolizovaným fyziologickým roztokem do optické denzity 0,39 při 550 nm na spektrofotometru.

ZKUMAVKOVÁ AGLUTINACE

Pracovali jsme metodou, kterou popsali Canto a Biberstein (1982). Reakce probíhala při teplotě 37 °C po dobu 18 hodin a pak následovala několika-hodinová inkubace při teplotě laboratoře. Antisérum jsme testovali imunizačním kmenem *Haemophilus somnus* a všemi suspektními kmeny. Specifitu jsme ověřili kmeny *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Moraxella bovis*, *Actinobacillus lignieresii* a *Yersinia enterocolitica*.

KOAGLUTINAČNÍ REAGENS

Reagens bylo připraveno podle Kronvalla (1973). Postupy zkumavkové aglutinace, přípravy koaglutinačního reagens a koaglutinaci jsme popsali v ústavní výzkumné práci (Švastová, 1987).

VÝSLEDKY

Po zavedení mikroaerofilní nebo anaerobní kultivace při vyšetřování plicního parenchymu telat s bronchopneumonií jsme prokázali u nás dosud neidentifikované bakteriální agens *Haemophilus somnus*. Ze 135 vyšetřených kadaverů jsme izolovali 32 kmeny (23,7 %). Mikroorganismus většinou vyrůstal masívně v čisté kultuře.

Všechny izolované kmeny i kmen sbírkový tvořily na agarových médiích za mikroaerofilních a anaerobních podmínek drobné nažloutlé kolonie, na KA s neúplnou hemolýzou. Všechny kmeny rostly na ČA jak s ovčí, tak s koňskou krví. Kromě jedné výjimky vyrůstaly po prodloužení inkubace ve velmi drobných koloniích také v aerobním prostředí. Kultury narostlé anaerobně nebo mikroaerofilně na ČA vytvářely drobné

I. Biochemické vlastnosti kmenů *Haemophilus somnus* — Biochemical properties of the strains of *Haemophilus somnus*

Test	CCM 6023	Izolované kmeny (32)	
		% +	% -
Kataláza	—	0	100
Oxidáza	+	100	0
NO ₃	+	100	0
H ₂ S	—	0	100
Ureáza	—	0	100
Indol	+	62,5	37,5
Glukóza	+	100	0
Mannóza	+	100	0
Raffinóza	—	0	100
Trehalóza	+	68,7	31,3
Salicin	—	0	100

II. Výsledky zkumavkové aglutinace s antisérem A1 — The results of test tube agglutination with antiserum A1

Kmen	Ředění séra							
	1 : 10	1 : 20	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 1000	1 : 2000
CCM 6023	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6280	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
7615	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
7739	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7843	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+
8214	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
8215	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
8216	+++	+++	+++	+	—	—	—	—
197	+++	+++	+++	+	—	—	—	—
917	+++	+++	+	—	—	—	—	—
913	+++	+++	+	—	—	—	—	—
899	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+
938	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+

+ až +++ intenzita aglutinační reakce
 ++++ hodnoceno jako pozitivní

III. Výsledky zkumavkové aglutinace s antisérem E1 — The results of test tube agglutination with antiserum E1

Kmen	Ředění séra							
	1 : 10	1 : 20	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 1000	1 : 2000
CCM 6023	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
6280	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
7615	+++	+++	++	++	+	—	—	—
7739	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
7843	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
8214	+++	+++	+	—	—	—	—	—
8215	+++	+++	++	++	—	—	—	—
8216	+++	+++	—	—	—	—	—	—
197	+++	+++	++	+	—	—	—	—
917	+++	+++	++	—	—	—	—	—
913	+++	—	—	—	—	—	—	—
899	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
938	+++	+++	+++	++	—	—	—	—

kokoidní nebo jemné, krátké, někdy polymorfní tyčinky. Na KA tvořily větší polymorfní až kyjovité útvary. Při testování citlivosti mikroorganismu ke kyslíku jsme zjistili, že kmeny v aerobním prostředí přežívají tři až pět dní. Prokázané biochemické vlastnosti ve srovnání s vlastnostmi sbírkového kmene uvádí tab. I.

Při přípravě antisér odpověděli všichni králíci na imunizaci tvorbou aglutinačních protilátek. Výsledky, které jsme získali ve zkumavkové aglutinaci u sér A1 a E1 s některými kmeny, jsou uvedeny v tab. II a III. Připravená antiséra proti sbírkovému kmeni *Haemophilus somnus* aglutinovala všechny naše izoláty v různých titrech, ale ani jedno z nich nedávalo reakci s antigeny jiných bakteriálních druhů, které jsme testovali.

Při hodnocení koaglutinace jsme pozorovali odlišné reakce jednotlivých kmenů, které se projevovaly v rozdílné struktuře koaglutinátu a v rychlosti reakce. Rozdíly byly zjištěny také v jednotlivých pasážích téhož kmene, kdy v některých případech nedocházelo k reakci.

DISKUSE

Přestože název *Haemophilus somnus* není uveden mezi platnými druhy hemofilů (Bergey's Manual, 1984), použili jsme tohoto názvu jako mnozí zahraniční autoři (Corboz a Pohlenz, 1976; Garcia — Delgado aj., 1977; Canto a Biberstein, 1982 a další).

Ve sledovaném období jsme podíl mikroorganismu *Haemophilus somnus* na respiračních infekcích telat prokázali ve 23,7 %, kdy jsme mikroorganismus izolovali většinou v čisté kultuře. Podobně jako Corboz a Nicolet (1975) se můžeme domnívat, že v těchto infekcích hraje velmi důležitou roli. Pokud nebyl *Haemophilus somnus* izolován, lze tuto skutečnost přisoudit kultivačním vlastnostem původce, které nebyly a někde dosud nejsou brány na zřetel.

Srovnáním vlastností izolovaných kmenů s vlastnostmi sbírkového kmene *Haemophilus somnus* a s literárními popisy (Corboz a Nicolet, 1975; Garcia — Delgado aj., 1977) jsme prokázali jejich morfologickou a kultivační identitu. Při hodnocení biochemických vlastností jsme zjistili stejné výsledky v pozitivní oxidáze, redukci nitrátů a v negativním štěpení urey, jaké jsou uváděny (Garcia — Delgado aj., 1977; Corboz a Wild, 1981). Přestože jsme tvorbu sirovodíku prokazovali podle autorů Garcia — Delgado aj. (1977), získali jsme opačné výsledky.

Při testaci citlivosti mikroorganismu ke kyslíku jsme potvrdili pozorování, které uvedli Corboz a Nicolet (1975).

Při volbě testu k sérologické diagnostice jsme přihlíželi k autoaglutinaci, kterou vykazovaly některé naše kmeny. Autoaglutinace nebyla pozorována u každé pasáže kmenů. Užili jsme jednoduchou zkumavkovou aglutinaci s tepelně ošetřeným antigenem podobně jako Corboz a Nicolet (1975), Garcia — Delgado aj. (1977), Canto a Biberstein (1982).

Připravená antiséra aglutinovala imunizační kmen *Haemophilus somnus* a všechny naše izoláty. Můžeme tedy předpokládat přítomnost společného antigenu a antigenní příbuznost kmenů. Homologní titry v získaných antisérech A1 a A2 dosahovaly hodnot, které uvádějí Can-

to a Biberstein (1982). Při zjišťování specifity sér jsme na rozdíl od Garcia — Delgado aj. (1977) nezjistili nespécifické aglutinační reakce s jinými bakteriálními druhy.

Na základě zkušeností s koaglutinačním testem v diagnostice jiných bakteriálních druhů (Švastová, 1986) jsme chtěli test využít k sérologické identifikaci kmenů *Haemophilus somnus*. Pro nespolehlivost reakcí, které jsme získali, nelze však tohoto testu užít jako jediného a je třeba ověřit jinou možnost, jak získat antisérum pro přípravu koaglutinačního reagens, popřípadě užít vhodnějšího kmene *Staphylococcus aureus* Cowan 1 k navázání antiséra.

Literatura

- BAILIE, W. E.: Characterisation of *Haemophilus somnus* (new species), a micro-organism isolated from infectious thromboembolic meningoencephalomyelitis of cattle. [Ph. D. Dissertation.] Kansas State Univ., Manhattan, 1969. Cit.: CORBOZ, L. — NICOLET, J.: Schweiz. Arch. Tierheilkd., 117, 1975, s. 493-502.
- BAILIE, W. E. — ANTHONY, H. D. — WEIDE, K. D.: Infectious thromboembolic meningoencephalomyelitis (sleeper syndrome) in feedlot cattle. J. Amer. veter. med. Assoc., 148, 1966, s. 162-166.
- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 1984, 9. vyd., sv. 1, s. 964.
- CANTO, G. J. — BIBERSTEIN, E. L.: Serological diversity in *Haemophilus somnus*. Clin. Microbiol., 15, 1982, s. 1009-1015.
- CORBOZ, L.: Epidemiology of *Haemophilus somnus* infection in cattle: Colonial variants of strains isolated from various sources. In: *Haemophilus, pasteurella and actinobacillus*. Ed.: KILIAN, M. — FREDERIKSEN, W. — BIBERSTEIN, E. L., 1981.
- CORBOZ, L.: Serologische Untersuchung von *Haemophilus somnus*-Isolaten aus verschiedenen Organen von Rindern. Proc. Third int. Symp., 1983, Ames, Iowa, USA.
- CORBOZ, L. — NICOLET, J.: Infektionen mit sogenannten *Haemophilus somnus* beim Rind: Isolierung und Charakterisierung von Stämmen aus Respirations und Geschlechtsorganen. Schweiz. Arch. Tierheilkd., 117, 1975, s. 493-502.
- CORBOZ, L. — POHLENZ, J.: Experimentelle Infektionen mit sogenannten *Haemophilus somnus* beim Kalb: Vergleich von Stämmen mit unterschiedlicher Virulenz. Schweiz. Arch. Tierheilkd., 118, 1976, s. 429-440.
- CORBOZ, L. — WILD, P.: Epidemiologie der *Haemophilus somnus*-Infektion beim Rind: Vergleich von Stämmen in der Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAGE). Schweiz. Arch. Tierheilkd., 123, 1981, s. 79-88.
- GARCIA-DELGADO, G. A. — LITTLE, P. B. — BARNUM, D. A.: A comparison of various *Haemophilus somnus* strains. Can. J. comp. Med., 41, 1977, s. 380-388.
- KENNEDY, P. C. — BIBERSTEIN, E. L. — HOWART, J. A. — FRAZIER, L. M. — DUNGWORTH, D. L.: Infectious meningoencephalitis in cattle, caused by a *Haemophilus*-like Organism. Amer. J. veter. Res., 21, 1960, s. 403-409.
- KRONVALL, G.: New method for the serological grouping of streptococci with specific antibodies adsorbed to protein A-containing staphylococci. Infect. Immun., 1973, s. 881-885.
- PRITCHARD, D. G. — MACLEOD, N. S. M.: The isolation of *Haemophilus somnus* following sudden deaths in suckler calves in Scotland. Veter. Res., 100, 1977, s. 126-127.
- STÖBER, M. — PITTERMANN, D.: Infektiöse, septikämisch-thrombosierende Meningoenzephalitis in einem Mastbullen-Bestand. Dtsch. tierärztl. Wschr., 82, 1975, s. 97-102.
- ŠVASTOVÁ, A.: Bakteriologická diagnostika hemofilové pleuropneumonie prasat. [Ústavní výzkumná práce.] Praha, ÚSVÚ 1986.
- ŠVASTOVÁ, A.: *Haemophilus somnus* jako původce bronchopneumonie telat. [Ústavní výzkumná práce.] Praha, ÚSVÚ 1987.

Došlo dne 2. 7. 1987

ШВАСТОВА, А. (Государственный ветеринарный институт, Пардубице): *Haemophilus somnus* в качестве возбудителя бронхопневмонии телят. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 193-200.

Бактериологическое исследование легочной ткани телят с бронхопневмонией было расширено о микроаэрофильное или анаэробное культивирование. Исследованием 135 телят с заболеванием респираторного аппарата были изолированы 32 штамма (23,7 %) до настоящего времени у нас не описанного микроорганизма который был на основании ростовых, морфологических, биохимических и серологических свойств определен как *Haemophilus somnus*. Для культивирования применялся шоколадный агар, суппленментированный дрожжевым экстрактом и кровяной агар. Инкубация проходила в среде микроаэрофильной с 10 % углекислой гидроокисью или анаэробной. Для серологической диагностики были приготовлены сыворотки против сборочному штамму *Haemophilus somnus* на кроликах. Полученные антисыворотки реагировали в пробирочной агглютинации со всеми тестируемыми штаммами, но не давали скрещенных реакций с другими бактериальными видами. Тест коаггулирования, который был проверен, не давал надежных результатов.

специфическая антисыворотка; пробирочная агглютинация; коаггутинация

ŠVASTOVÁ, A. (State Veterinary Institute, Pardubice): *Haemophilus somnus* as a Causative Agent of Bronchopneumonia in Calves. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 193-200.

A bacteriological examination of the pulmonary tissues of calves suffering from bronchopneumonia was complemented by a microaerophilous or anaerobic cultivation. Thirty-two strains (23.7 %) of a microorganism hitherto not described in Czechoslovakia were isolated during the examination of 135 calves with disorders of the respiratory system. On the basis of the growth, morphological, biochemical and serological properties, the microorganism was identified as *Haemophilus somnus*. Chocolate agar supplemented with yeast extract, and blood agar were used for the cultivation. Incubation took place in a microaerophilous medium with 10 % carbon dioxide or in an anaerobic medium. Serums against the collection strain of *Haemophilus somnus* were prepared in rabbits for the serological diagnosis. These antisera reacted with all tested strains during test tube agglutination but did not enter cross reactions with other bacterial species. The coagglutination test, which was verified, did not provide reliable results.

specific antiserum; test tube agglutination; coagglutination

ŠVASTOVÁ, A. (Staatliches veterinärmedizinisches Institut, Pardubice): *Haemophilus somnus* als Erreger der Bronchopneumonie bei Kälbern. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 193-200.

Die bakteriologische Untersuchung von Lungengewebe von Kälbern mit Bronchopneumonie wurde um mikroaerophile oder anaerobe Kultivierung erweitert. Anhand der Untersuchungen von 135 Kälbern mit Erkrankungen des Respirationsapparats wurden 32 Stämme (23,7 %) eines bei uns bisher noch nicht beschriebenen Mikroorganismus isoliert, der aufgrund der Wachstums-, der morphologischen, biochemischen und serologischen Eigenschaften als *Haemophilus somnus* identifiziert wurde. Zur Kultivierung wurde mit Hefeextrakt supplementiertes Schokoladeagar und Blutagar angewandt. Die Inkubation verlief in mikroaerophilem Milieu mit 10 % Kohlendioxid oder in anaerobem Milieu. Für serologische Diagnostik wurden Seren gegen den Stamm *Haemophilus somnus* an Kaninchen zubereitet. Die gewonnenen Antisera reagierten bei Prüfglasagglutination mit allen getesteten Stämmen, ergaben jedoch keine Kreuzreaktionen mit anderen bakteriellen Stämmen. Der Koagglutinationstest, der überprüft wurde, bot keine verlässlichen Ergebnisse.

spezifisches Antiserum; Prüfglasagglutination; Koagglutination

Adresa autorky:

MVDr. Alena Švastová, Státní veterinární ústav, Štrossova 57, 530 03 Pardubice

SROVNÁNÍ TŘÍ SÉROLOGICKÝCH TESTŮ PRO DETEKCI PROTILÁTEK PROTI VIRU BHANDŽA U DOMÁČÍCH PŘEŽVÝKAVCŮ

J. Halouzka, Z. Hubálek, Z. Juřicová

HALOUZKA, J. — HUBÁLEK, Z. — JUŘICOVÁ, Z. (Ústav systematické a ekologické biologie ČSAV, Brno, odd. Valtice): *Srovnání tří sérologických testů pro detekci protilátek proti viru Bhandža u domácích přežvýkavců*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 201-208.

Posuzovali jsme vhodnost tří sérologických testů (virus-neutralizačního testu — VNT, hemaglutinačně-inhibičního testu — HIT a testu radiální hemolýzy v gelu — RHG) pro detekci protilátek proti viru Bhandža (BHA). Podklad pro srovnávání poskytly výsledky vyšetření 867 domácích přežvýkavců — 772 ovcí, 35 koz a 60 krav. Vhodnost srovnávaných testů byla hodnocena několika statistickými metodami. Z dosažených výsledků vyplývá, že nejvyšší procento pozitivit bylo získáno VNT (5,7 %), méně testem HIT (5,2 %) a RHG pouze 3,8 %. Hodnoty χ^2 prokázaly vysoce signifikantní ($P < 0,001$) korelaci mezi výsledky všech použitých sérologických reakcí. Další statistická vyšetření — koeficienty podle Sokala a Michenera (C_{SM}) a Jaccarda (C_j) — ukazují na značnou podobnost mezi výsledky VNT a HIT, větší než mezi VNT a RHG. V celkovém srovnání se projevuje specifika každého z použitých testů. VNT je nejcitlivější a nejspecifičtější, ale velmi pracný a pomalý. HIT je rychlý, ale i dostatečně citlivý a specifický. RHG je sice velmi rychlý, lehce proveditelný a úsporný, ale méně citlivý a vyžaduje kvalitní séra, pokud možno i bakteriálně sterilní.

virus-neutralizační test (VNT); hemaglutinačně-inhibiční test (HIT); test radiální hemolýzy v gelu (RHG); srovnání testů

Mají-li nově vyvíjené a zaváděné sérologické diagnostické testy pro stále širší spektra vyšetřovaných agens splňovat nároky na ně kladené, je nutné je ověřovat a porovnávat s výsledky dlouhodobě a standardně používaných metod. Ve své práci jsme tomuto ověření podrobili test RHG, který byl vyvinut a použit pro detekci protilátek proti viru chřipky (Schild aj., 1975a, b) a potom rozpracován pro použití s mnoha dalšími agens, včetně arbovirů (Duca aj., 1979; Gajdamovičová a Melnikovová, 1979; Gajdamovičová aj., 1980, 1981; Málková aj., 1983). Test RHG pro detekci protilátek proti viru BHA dosud nebyl použit. Pro ověření a srovnání výsledků dosažených tímto testem jsme zde použili dat současně získaných standardními testy VNT a HIT, které se běžně používají v sérologické diagnostice.

MATERIÁL A METODA

Vyšetřovaná séra 867 savců — pasených domácích přežvýkavců — pocházela: od 772 ovcí ze 43 farem sedmi okresů a tří krajů ČSSR, 35 koz ze dvou okresů a 60 krav (ročních až dvouletých) ze tří farem jednoho okresu (tab. I). Všechna domácí zvířata se pásla nejméně po jednu sezónu. Vzorky krve byly odebírány z krční žíly (*vena jugularis*).

I. Přehled vyšetřených a séropozitivních zvířat podle okresů — A survey of the examined and serum-positive animals according to the districts

Zvíře	Okres	n	VNT		HIT		RHG	
			ex.	%	ex.	%	ex.	%
Ovce	Rožňava	91	30	33,0	29	31,9	27	29,7
	Trebišov	137	3	2,2	4	2,9	1	0,7
	Michalovce	244	1	0,4	0	0,0	0	0,0
	Vranov nad Topľou	15	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	Humenné	239	4	1,7	4	1,7	4	1,7
	Olomouc	35	1	2,9	1	2,9	0	0,0
	Hradec Králové	11	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	celkem	772	39	5,1	38	4,9	32	4,1
Koza	Rožňava	7	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	Svidník	28	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	celkem	35	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Kráva	Rožňava	60	10	16,7	7	11,7	1	1,7
Souhrn		867	49	5,7	45	5,2	33	3,8

VIRUSNEUTRALIZAČNÍ TEST (VNT)

Testovací dávka (100 CD₅₀) kmene Bg 326 (SM₅) viru Bhandža byla smíchána se sérem inaktivovaným (30 minut při teplotě 56 °C) a ředěným dvojnásobně od 1 : 8, inkubována 90 minut při teplotě 37 °C. Směs byla dávkována po 0,2 ml na dvou-denní vrstvu buněk Vero v Leightonových zkušavkách po odsátí růstového média (MEM s 10⁰% inaktivovaného telecího séra Bioveta). Po inkubaci trvající 60 minut při teplotě 37 °C bylo do zkušavkových kultur přidáno 1,5 ml MEM a 2⁰% telecího séra, které bylo po dvou dnech vyměněno za MEM-GaPy s 2⁰% telecího séra. Do testů byly zařazeny kontroly neinfikovaných buněk, testovací dávky viru a její titrace, pozitivní a negativní ovčí séra. Výsledky byly hodnoceny po osmidení až desetidení inkubaci při teplotě 37 °C podle CPE. Ředění séra vyvolávající 50% inhibici CPE bylo označeno jako titr tohoto séra (Hubálek aj., 1982, 1985; Hubálek a Juřicová, 1984). Pro přehled byly jako pozitivní hodnoceny titry až od 1 : 16.

HEMAGLUTINAČNĚ-INHIBIČNÍ TEST (HIT)

Vyšetřovaná séra byla extrahována acetonem a vysycena houseřimi erytrocyty (0,1 ml sedimentovaných krvinek na 5 ml séra ředěného v poměru 1 : 10). Antigen kmene Bg 335/6 (SM₆) byl připraven sacharózo-acetonovou extrakcí (Clarková a Casals, 1958) infekčních SMM. Sériová dvojnásobná ředění (počínaje 1 : 10) vyšetřovaných sér byla v mikrodětičkách smíchána s 4 HA jednotkami antigenu, inkubována 18 hodin při teplotě 4 °C a do jamek byla potom přidána suspenze houseřích erytrocytů (o optické denzitě 0,75 při vlnové délce 490 nm) ve fosfátovém pufru pH 6,0; výsledky byly odečítány po 60minutové inkubaci při teplotě 4 °C. Na každou plotničku byly zařazeny všechny potřebné kontroly a jako pozitivní (úplná nebo téměř úplná zábrana hemaglutinace) byly hodnoceny titry od 1 : 10 (Hubálek a Juřicová, 1984).

TEST RADIÁLNÍ HEMOLÝZY V GELU (RHG)

Postup RHG byl v zásadě zachován stejný, jaký použily Gajdamaovičová a Melniková (1979). Beraní erytrocyty (Bioveta) byly třikrát promyty centrifugací (10 min. při 600 X g) v Dulbeccově PBS (bez vápníku a hořčíku) o pH 7,2. Krvinky byly resuspendovány na 10% objem v borátovém PBS pH 6,0 (BPBS), a k 1,3 ml této suspenze bylo přidáno 0,36 ml koncentrovaného sacharózo-acetonného antigenu (Clarková a Casals, 1958) kmene Bg 335/6. Adsorpce probíhala 20 minut při teplotě 37 °C; nenávaný antigen byl potom odstraněn promytím suspenze 10–15násobným objemem PBS (po 10 minut při 600 X g); erytrocyty byly resuspendovány v 1,3 ml BPBS. K této suspenzi bylo přidáno 0,40 ml komplementu (Alexin ÚSOL) a 8,5 ml 1% gelu agarózy (Fluka č. 05070) ve veronolovém pufru (Sevatest BNT) pH 7,2 temperovaného na teplotu 42 °C; směs byla vylita na Petriho misky o průměru 10 cm a po ztuhnutí byly v gelové vrstvě (o výšce asi 1,5 mm) vyraženy jamky o průměru 3 mm. Zcela analogickým postupem byla připravena kontrolní agarózní plotna, v níž ovšem namísto virového antigenu byly použity erytrocyty s adsorbovaným „antigenem“ normálních myších mozků extrahovaných sacharózo-acetonovou metodou. Do jamek v obou plotnách byly paralelně dávkovány po 6 µl vzorky neředěných a inaktivovaných (30 minut při teplotě 56 °C) sér. Inkubace probíhala 18 až 24 hodin při teplotě 37 °C. Výsledky byly hodnoceny měřením průměru vytvořených hemolytických zón pomocí posuvného měřítka se speciálně upravenými hroty (s přesností ± 0,1 mm); od průměru zóny byl odečten průměr jamky (3,0 mm) a zůstatek dělen dvěma. Jako pozitivní byla hodnocena séra poskytující hemolytické zóny o periférii nejméně 0,8 mm a netvořící přitom hemolýzu v kontrolní plotně (bez virového antigenu). Do testů byla jako kontroly zařazena pozitivní a negativní séra.

VÝSLEDKY

Tab. I ukazuje frekvenci séropozitivity pasených přežvýkavců v osmi okresech ČSSR: BHA-protilátky byly nejčastěji detekovány na okrese Rožňava (přibližně u 1/3 ovcí ve všech třech testech) a jen sporadicky (méně než 3 % vyšetřených zvířat) v jiných okresech (Třebíšov, Michalovce, Humenné a Olomouc); přitom VN titry větší než 1 : 32 byly zjištěny

II. Soulad výsledků (ko-reaktivita) tří sérologických testů v diagnostice infekcí přežvýkavců virem Bhandža (na základě paralelního vyšetření 772 ovcí, 35 koz a 60 krav — tab. I) — The agreement of the results (co-reactivity) of three serological assays for the diagnostics of the Bhandža virus infections of ruminants (on the basis of parallel examination of 772 sheep, 35 goats, and 60 cows — Tab. I)

	VNT		HIT		RHG		
	+	–	+	–	+	–	
VNT	a	b	42	7	31	18	+
	c	d	3	815	2	816	–
HIT χ^2	684,330				31	14	+
C_{SM}	0,988		1,000				
C_J	0,808		1,000		2	820	–
RHG χ^2	501,480		549,100				+
C_{SM}	0,977		0,982		1,000		
C_J	0,608		0,660		1,000		–

$$\chi^2 = \frac{(a + b + c + d)(ad - bc)^2}{(a + b)(c + d)(a + c)(b + d)} \quad C_{SM} = \frac{a + d}{a + b + c + d} \quad C_J = \frac{a}{a + b + c}$$

III. Soupis zvířat s protilátkami (ovce: M = merino, C = cigaja) — A list of animals with antibodies (sheep: M = Merino, C = Tsigai)

Číslo protilátky	Zvíře	Věk (let)	Lokalita (farma)	Datum odběru	Titř (reakce)		
					VNT	HIT	RHG
RV 47	ovce M	3	JRD Silická Brezová	6. 10. 82	4	10±	0
RV 48	ovce M	4	JRD Silická Brezová	6. 10. 82	128	80	2,4
RV 50	ovce M	8	JRD Silická Brezová	6. 10. 82	128	80	2,3
RV 51	ovce M	8	JRD Silická Brezová	6. 10. 82	64	10	2,6
RV 53	ovce M	6	JRD Dlhá Ves	7. 10. 82	32	10	3,1
RV 62	ovce M	5	JRD Dlhá Ves	7. 10. 82	64	10±	0
RV 63	ovce M	6	JRD Dlhá Ves	7. 10. 82	512	80	2,7
RV 64	ovce M	7	JRD Dlhá Ves	7. 10. 82	256	80	2,4
RV 65	ovce M	1	JRD Kečovo	7. 10. 82	8	10±	0
RV 66	ovce M	1	JRD Kečovo	7. 10. 82	128	160	2,1
RV 67	ovce M	1	JRD Kečovo	7. 10. 82	32	160	2,5
RV 69	ovce M	1	JZD Kečovo	7. 10. 82	512	160	2,3
RV 70	ovce M	3	JRD Kečovo	7. 10. 82	1024	320	2,8
RV 71	ovce M	3	JRD Kečovo	7. 10. 82	512	20	4,8
RV 72	ovce M	3	JRD Kečovo	7. 10. 82	512	80	3,1
RV 74	ovce M	6	JRD Kečovo	7. 10. 82	1024	320	3,5
RV 75	ovce M	8	JRD Kečovo	7. 10. 82	128	40	2,6
RV 76	ovce M	8	JRD Kečovo	7. 10. 82	256	40	2,5
RV 89	ovce M	2	JRD Kečovo	14. 4. 83	128	20	5,2
RV 90	ovce M	2	JRD Kečovo	14. 4. 83	8	10±	4,2
RV 91	ovce M	2	JRD Kečovo	14. 4. 83	1024	40	4,3
RV 92	ovce M	4	JRD Kečovo	14. 4. 83	64	40	4,5
RV 93	ovce M	5	JRD Kečovo	14. 4. 83	32	20	3,8
RV 95	ovce M	6	JRD Kečovo	14. 4. 83	256	40	4,2
RV 96	ovce M	6	JRD Kečovo	14. 4. 83	16	20	3,8
RV 97	ovce M	7	JRD Kečovo	14. 4. 83	32	20	4,1
RV 102	ovce M	1	JRD Kečovo	14. 4. 83	32	20	0
RV 103	ovce M	1	JRD Kečovo	14. 4. 83	16	20	2,6
RV 105	ovce M	3	JRD Kečovo	14. 4. 83	64	40	3,3
RV 107	ovce M	3	JRD Kečovo	14. 4. 83	32	40	4,5
RV 109	ovce M	4	JRD Kečovo	14. 4. 83	256	40	4,7
RV 110	ovce M	6	JRD Kečovo	14. 4. 83	128	20	0
RV 111	ovce M	6	JRD Kečovo	14. 4. 83	64	20	0
RV 119	kráva	2	JRD Kečovo	14. 4. 83	64	20	1,6
RV 123	kráva	2	JRD Kečovo	14. 4. 83	32	20	0
RV 225	kráva	2	JRD Kečovo	12. 9. 83	8	10	0
RV 231	kráva	2	JRD Kečovo	12. 9. 83	8	10	0

Číslo protilátky	Zvíře	Věk (let)	Lokalita (farma)	Datum odběru	Titř (reakce)		
					VNT	HIT	RHG
RV 233	kráva	2	JRD Kečovo	12. 9. 83	8	10	0
RV 237	kráva	2	JRD Kečovo	12. 9. 83	8	10	0
RV 242	kráva	2	JRD Dlhá Ves	12. 9. 83	64	10±	0
RV 243	kráva	2	JRD Dlhá Ves	12. 9. 83	32	10±	0
RV 245	kráva	2	JRD Dlhá Ves	12. 9. 83	32	10±	0
RV 247	kráva	2	JRD Dlhá Ves	12. 9. 83	128	10–20	0
RV 250	kráva	2	JRD Dlhá Ves	12. 9. 83	512	20	0
RV 251	kráva	2	JRD Dlhá Ves	12. 9. 83	256	10	0
RV 252	kráva	2	JRD Dlhá Ves	12. 9. 83	64	10	0
RV 254	kráva	2	JRD Dlhá Ves	12. 9. 83	256	20	0
MI 102	ovce M	3	JRD Bracovce, farma Kečanov	7. 3. 83	8	10	0
MI 131	ovce M	3–4	JRD Vyšná Rybnica, farma Jasenov	7. 3. 83	16	10	0
MI 145	ovce M	3–4	JRD Vyšná Rybnica, farma Jasenov	7. 3. 83	8	10	0
HU 139	ovce C	6	JRD Karpaty, farma Čertižné	9. 3. 83	8	10	0
HU 172	ovce C	3	JRD Verchovina, farma Sterkovce	24. 3. 83	4096	10	5,8
HU 173	ovce C	3	JRD Verchovina, farma Sterkovce	24. 3. 83	4	10	0
HU 181	ovce C	4	JRD Verchovina, farma Sterkovce	24. 3. 83	1024	10	5,1
HU 229	ovce C	3	JRD Nový život, farma Svetlice	24. 3. 83	32	10	5,4
HU 230	ovce C	4	JRD Nový život, farma Svetlice	24. 3. 83	64	10–20	5,5
TR 66	ovce M	5	JRD Velaty, farma Byšta	1. 4. 83	8–16	10	0
TR 112	ovce M	2	ŠM Nový Dvor	7. 9. 83	16	10–20	0
TR 125	ovce M	2	ŠM Ladmovce	7. 9. 83	4	10	1,6
TR 131	ovce M	2	ŠM Streda n. B.	7. 9. 83	64	80	0
TR 133	ovce M	2	ŠM Streda n. B.	7. 9. 83	NT	40	0
TR 135	ovce M	2	ŠM Streda n. B.	7. 9. 83	64	10±	0
OL 11	ovce M	2	JZD Velká Bystřice, farma Mřsklesy	18. 1. 83	16	20	0

mimo Rožňavsko jen u tří ovcí z okresu Humenné a dvou ovcí z okresu Trebišov. Na některých farmách z okresu Rožňava byla promořenost ovcí velmi značná (Kečovo — 64%), s protilátkami vyskytujícími se ve vysokých titrech i u jehňat pasených v jediné sezóně. To dokazuje recentní cirkulaci viru Bhandža v jižních částech Silické planiny (Hubálek aj., 1985).

Sérologické vyšetření 867 domácích přežvýkavců paralelně třemi metodami (VNT, HIT, RHG) umožňuje vzájemně porovnat efektivitu těchto testů při detekci protilátek vůči viru Bhandža. Nejvyšší podíl pozitivity poskytl VNT (5,7 %), poněkud menší HIT (5,2 %) a RHG (3,8 %). Tab. II představuje „ko-reaktivitu“ (soulad) metod, vyhodnocenou χ^2 testem (kontingenční tabulky 2×2) a koeficienty podle Sokala a Michenera (C_{SM}) a Jaccarda (C_J). Hodnoty χ^2 prokázaly vysoce signifikantní ($P < 0,001$) korelaci mezi výsledky všech sérologických reakcí a hodnoty obou koeficientů ukazují na značnou podobnost mezi výsledky VNT a HIT, větší než mezi VNT a RHG. Výsledky RHG jsou přitom bližší testu HI než VN. Koeficient C_{SM} určuje míru ko-reaktivitu, tj. podíl shodných výsledků (kdy obě reakce jednoho séra jsou současně negativní) z celkového počtu výsledků, zatímco hodnoty koeficientů C_J jsou silněji ovlivněny podílem diskrepantních výsledků mezi testy (není brán ohled na počet současně negativních reakcí). Rozsah hodnot obou koeficientů je 0 až 1 a s klesajícím podílem diskrepantních výsledků se hodnoty obou koeficientů zvyšují.

Pearsonův korelační koeficient mezi titry 63 sér (tab. III) jsme vypočítali po logaritmické ($\log_2$) transformaci titrů u VNT a HIT, zatímco hodnoty RHG převáděny nebyly. Ve VNT byla negativní séra (8) vyjádřena hodnotou 1 ($\log_2 2$), v HIT 1,3 (10^+ — bylo klasifikováno jako 2,3) a v RHG 0,5 (mm). Korelace v titrech mezi testy byla: r (VNT . HIT) = 0,591; r (VNT . RHG) = 0,465; r (HIT . RHG) = 0,359.

Všechny hodnoty Pearsonova koeficientu jsou signifikantní ($P < 0,01$); opět je zřejmá dosti značná podobnost mezi výsledky VNT a HIT (větší než mezi VNT a RHG, nebo HIT a RHG).

DISKUSE

Srovnání vhodnosti testů VNT, HIT a RHG pro séroepidemiologické přehledy s virem Bhandža, uskutečněné na detekci protilátek u domácích přežvýkavců, ukazuje, že každý z nich má své výhody i nevýhody.

VNT je znám svou specifičností a citlivostí, a proto byl vzat za základ. Specifičnost (tj. podíl „falešně pozitivních“ reakcí ve vztahu k VNT) testů je vysoká: téměř nebyl zaznamenán výsledek VNT — HIT⁺ nebo VNT — RHG⁺.

U RHG byly zaznamenány falešně pozitivní reakce v několika případech bakteriálně kontaminovaných nebo silně chylózních sér, které ovšem byly eliminovány pravidelným používáním kontrolní agarózové plotny bez inkorporovaného virového antigenu (na nichž docházelo k tvorbě nespecifických hemolytických zón — u těchto sér a reakce byla hodnocena jako negativní).

Citlivost testů lze určit podílem „falešně negativních“ reakcí (ve vztahu k VNT). HIT nedetekoval protilátky zjištěné ve VNT u sedmi sér (přitom naopak VNT ve třech případech nezachytil v dostatečném titru specifické protilátky prokázané v HIT) a RHG obdobně v 18 případech. Lze proto usoudit, že citlivost testů na průkaz BHA-protilátek klesá v pořadí VNT — HIT — RHG.

Dále lze konstatovat, že VNT je tedy nejspecifičtější i nejcitlivější, ale současně nejpracnější a vzhledem k rychlosti získání výsledků nejpomalejší. HIT je rychlý, specifický i dostatečně citlivý a je vhodný zejména pro diagnostické laboratoře nevybavené pro práci s tkáňovými

kulturami. RHG je sice rovněž velmi pohodový, snadno proveditelný, specifický a úsporný, ale poněkud méně citlivý a vyžaduje navíc séra pokud možno kvalitní a bakteriálně sterilní.

Poděkování

Autoři děkují MVDr. J. Mitterpákovi, CSc. (ŠVÚ Michalovce), MVDr. J. Kilíkovi (OVZ Rožňava), MVDr. K. Seidlovi, CSc. (SVÚ Hradec-Králové) a MUDr. T. Mittermayerovi, CSc. (KÚNZ Košice) za laskavé dodání sér domácích přežvýkavců.

Literatura

- CLARKE, D. H. — CASALS, J.: Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. Amer. J. trop. Med. Hyg., 7, 1958, s. 561-573.
- DUCA, M. — DUCA, E. — IONESCU, L. — HAYDAR, A.: Evaluation of the single radial haemolysis test in the serological diagnosis of arbovirus infections. Rev. Med. Chir., 83, 1979, s. 321-328.
- GAIDAMOVICH, S. YA. — MELNIKOVA, E. E.: Radial haemolysis in gel with arboviruses. Vop. Virusol., 24, 1979, s. 550-553.
- GAIDAMOVICH, S. YA. — MELNIKOVA, E. E. — OBUKHOVA, V. R.: Radial haemolysis in gel used in serological studies on VEE virus. Acta virol., 25, 1981, s. 36-41.
- GAIDAMOVICH, S. YA. — MELNIKOVA, E. E. — VÄÄNÄNEN, P. — PENTTINEN, K.: Radial haemolysis in gel: A comparative study with Chikungunya, Japanese encephalitis and Rubella viruses, representatives of three genera of Togaviridae family. Arch. Virol., 64, 1980, s. 339-347.
- HUBÁLEK, Z. — JURICOVÁ, Z.: A serological survey for Bhanja virus in Czechoslovakia. Zbl. Bakt., R. A. 258, 1984, s. 540-543.
- HUBÁLEK, Z. — MITTERPÁK, J. — PROKOPIČ, J. — JURICOVÁ, Z. — KILÍK, J.: A serological survey for Bhanja and tick-borne encephalitis viruses in sheep of eastern Slovakia. Folia parasit. (Praha), 32, 1985, s. 279-283.
- HUBÁLEK, Z. — ČERNÝ, V. — MITTERMAYER, T. — KILÍK, J. — HALOUZKA, J. — JURICOVÁ, Z. — KUHN, I. — BÁRDOŠ, V.: Arbovirological survey in Silica plateau area, Rožňava district, Czechoslovakia. J. Hyg. Epidemiol., 29, 1985, s. 87-98.
- MÁLKOVÁ, D. — KRPEŠOVÁ, N. — HOLUBOVÁ, J. — KOLMAN, J. M.: Radial haemolysis in gel for detection of antibodies to bunjavirus Lednice (Turlock group). Acta virol., 27, 1983, s. 439-442.
- SCHILD, G. C. — OXFORD, J. S. — VIRELIZIER, J. L.: Immunity to influenza. Int. Symp. Immun. Infect. resp. Syst. Man Anim., Dev. Biol. Stand., 28, 1975a, s. 253-272.
- SCHILD, G. C. — PEREIRA, M. S. — CHAKRAVERTY, P.: Single radial-haemolysis. A new method for the assay of antibody to influenza haemagglutination. Bull. WHO, 52, 1975b, s. 43-50.

Došlo dne 8. 7. 1987

ГАЛОУЗКА, И. — ГУБАЛЕК, З. — ЮРЖИЦОВА, З. (Институт систематической и экологической биологии ЧСАН, Брно, отд. Вальтице): Сравнение трех серологических тестов для детектирования антител против вируса Бханджа у домашних жвачных животных. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 201-208.

Оценивалась пригодность трех серологических тестов (вирус-нейтрализационный тест — ВНТ, гемагглютинационный-ингибирующий тест — ГИТ и тест радиального гемолиза в геле — РГГ) для детектирования антител против вируса Бханджа (БГА). Первичный материал для сравнения предоставили результаты исследования 867 домашних жвачных животных — 772 овцы, 35 коз и 60 коров. Пригодность сравниваемых тестов оценивалась с помощью нескольких статистических методов. Из достигнутых результатов вытекает, что наиболее высокий процент положительных результатов был получен у ВНТ (5,7%), меньший тестом ГИТ (5,2%) и РГГ лишь 3,8%. Оценки χ^2 показали высоко значимую корреляцию ($P < 0,001$) между результатами всех использованных серологических реакций. Дальнейшие статистические исследования — коэффициенты по Сокалу и Михенеру (C_{SM}) и Якарду (C_J) — указывают на значительное сравнение между результатами ВНТ и ГИТ, большее, чем между ВНТ и РГГ.

В общем сравнении проявляется специфика каждого из примененных тестов. ВНТ является наиболее чувствительным и специфическим, но очень трудоемким и медленным. ГИТ является быстрым, но и достаточно чувствительным и специфическим. РГГ хотя и является довольно быстрым, легко проводится и является экономным но является менее чувствительным и требует качества сыворотки, если есть возможность даже бактериально стерильной.

вирус-нейтрализационный тест (ВНТ); гемагглютинационный-ингибирующий тест (ГИТ); тест радиального гемолиза в геле (РГГ); сравнение тестов

HALOUZKA, J. — HUBÁLEK, Z. — JURICOVÁ, Z. (Institute of Systematic and Ecological Biology, Czechoslovak Academy of Sciences, Brno, Valtice Department): *Comparing Three Serological Assays for the Detection of Antibodies to Bhanja Virus in Domestic Ruminants*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 201-208.

Three serological assays (virus-neutralization test — VNT, haemagglutination-inhibition test — HIT, and the test of radial haemolysis in gel — RHG) were evaluated as to their suitability for the detection of antibodies to the Bhanja virus (BHA). The data were provided by the results of the examination of 867 domestic ruminants, including 772 sheep, 35 goats and 60 cows. The suitability of the compared tests was evaluated by several statistical methods. It is shown by the results that the highest percent positivity was obtained by the VNT (5.7 %), followed by the HIT (5.2 %); in the case of the RHG test the percent positivity was only 3.8 %. The χ^2 values exhibited a highly significant ($P < 0.001$) correlation between the results of all serological reactions. Other statistical evaluations — coefficients after Sokal and Michener (C_{SM}) and Jaccard (C_J) — demonstrate the great similarity between the VNT and HIT results, whereas the similarity between the VNT and RHG results is smaller. The specificity of each test was proved by an overall comparison. VNT is the most sensitive and most specific assay, but a very laborious and lengthy one. HIT is prompt and at the same time sufficiently sensitive and specific. RHG is very quick, expeditious and economical, but less sensitive; it also requires high-quality serums, bacterially sterile if possible.

virus-neutralization test (VNT); haemagglutination-inhibition test (HIT); test of radial haemolysis in gel (RHG); comparison of tests

HALOUZKA, J. — HUBÁLEK, Z. — JURICOVÁ, Z. (Institut für systematische und ökologische Biologie der ČSAV, Brno, Abteilung Valtice): *Vergleich dreier serologischer Tests für Detektion der Antikörper gegen das Virus Bhandža bei Hauswiederkäuern*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 201-208.

Wir beurteilten die Eignung dreier serologischer Tests (Virusneutralisationstest — VNT; Hämagglutinations-Inhibitionstest — HIT; Test der radialen Hemolyse im Gel — RHG) für Detektion der Antikörper gegen das Virus Bhandža (BHA). Dabei gingen wir von der Ergebnissen der Untersuchung von 867 Hauswiederkäuern — 772 Schafen, 35 Ziegen und 60 Kühen aus. Die Eignung der verglichenen Tests wurde mit Hilfe von mehreren statistischen Methoden bewertet. Den ermittelten Ergebnissen ist zu entnehmen, dass der höchste Prozentsatz der Positiva durch den VNT (5,7 %), weniger schon durch den HIT (5,2 %) und durch den RHG nur 3,8 % ermittelt werden konnte. Die Werte χ^2 wiesen eine hochsignifikante ($P < 0,001$) Korrelation zwischen den Ergebnissen aller angewendeten serologischen Reaktionen auf. Die anderen statistischen Untersuchungen — die Koeffizienten nach Sokal und Michener (C_{SM}) und Jaccard (C_J) — deuten auf eine grosse Ähnlichkeit zwischen den VNT- und HIT-Ergebnissen hin, die viel grösser als diejenige zwischen den VNT- und RHG-Ergebnissen ist. Im Gesamtvergleich finden wir die Spezifik eines jeden der angewendeten Test. Der VNT ist am empfindlichsten und am spezifischsten, aber auch sehr arbeitsaufwendig und langsam. Der HIT ist schnell und genügend empfindlich und spezifisch. Der RHG ist zwar sehr schnell, leicht durchführbar und ökonomisch, aber weniger empfindlich und erfordert Qualitätsseren, die möglichst auch bakteriell steril sind.

Virus-Neutralisationstest (VNT); Hämagglutinations-Inhibitionstest (HIT); Test der radialen Hemolyse im Gel (RHG); Testvergleich

Adresa autorů:

RNDr. Jiří Halouzka, RNDr. Zdeněk Hubálek, DrSc., RNDr. Zinočka Juricová, CSc., Ústav systematické a ekologické biologie ČSAV, Brno, odd. ERP, Klášterní 2, 691 42 Valtice

VPLYV HORMONÁLNEJ STIMULÁCIE FOLISTIMANOM (FSH) A PROTRAHOVANEJ EXPOZÍCIE GAMA-ŽIARENIA NA HLADINY KATECHOLAMÍNŮV V HYPOTALAME, HYPOFÝZE A V NADOBLÍČKÁCH OVIEC V ANESTRICKOM OBDOBÍ

B. Pástorová, J. Arendarčík, M. Molnárová

PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČÍK, J. — MOLNÁROVÁ, M. (Vysoká škola veterinárská, Košice): *Vplyv hormonálnej stimulácie Folistimanom (FSH) a protrahovanej expozície gama-žiarenia na hladiny katecholamínov v hypotalame, hypofýze a v nadobličkách oviec v anestrickom období*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 209-217.

Študovali sme účinok hormonálneho preparátu Folistiman a protrahovanej expozície gama-žiarenia na koncentráciu katecholamínov v hypotalame, hypofýze a v nadobličkách oviec so synchronizovaným estrom. Peczorovania sme vykonali na 15 ovciach plemena slovenské merino v období fyziologického anestr. Prvá skupina oviec bola kontrolná ($n = 5$). Ovce druhej skupiny boli ožarované gama-žiarením počas piatich dní celkovou dávkou 2,48 Gy. Po skončení ožarovani sme ich hormonálne stimulovali FSH v celkovej dávke 450 I.U. Tretiu skupinu oviec sme hormonálne stimulovali FSH bez ožarovania. Katecholové amíny sme po izolácii z tkanivových supernatantov metódou adsorpčnej chromatografie stanovili v eluátoch spektrofotometricky. Celotelová protrahovaná expozícia gama-žiarenia a hormonálna stimulácia FSH výrazne znižuje koncentrácie norepinefrínu v skúmaných oblastiach hypotalamu oviec (v priemere o 70 %) v porovnaní s kontrolnými hodnotami. Epinefrín sa v mediálnom hypotalame oviec znižuje o 63 %. Zaznamenali sme pokles koncentrácií epinefrínu a norepinefrínu v nadobličkách (o 32,9 % a 16 %) a v hypofýze (o 35 a 43,1 %) ožiarených a hormonálne stimulovaných oviec. Hormonálne ovplyvnenie oviec FSH bez ožarovania nespôsobuje tak výrazné zníženie hladín katecholamínov v hypotalame oviec, ale významne znižuje ich zastúpenie v hypofýze, kde sme pozorovali zníženie koncentrácií norepinefrínu o 82 % a epinefrínu o 67,3 %. V nadobličkách sa znížil epinefrín u tejto skupiny oviec o 63,9 % a hladina norepinefrínu sa v porovnaní s kontrolnými hodnotami nemenila. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že gama-žiarenie a hormonálna stimulácia FSH výrazne znižuje koncentrácie katecholamínov v oblastiach cerebroneurálneho systému (CNS), zapojených do regulácie reprodukčných procesov.

biogénne amíny hypotalamu; sekrécia gonádotropných hormónov; reprodukcia

Superovuláciu ako jednu z podmienok intenzifikácie chovu oviec (Gordon, 1975; Arendarčík a i., 1985) je možné vyvolať podaním gonádotropných hormónov (MSG, FSH a HCG) vo vhodnej fáze estrálneho cyklu. Variabilita superovulačnej odozvy po podaní MSG je príčinou toho, že väčšina autorov dáva prednosť stimulácii FSH vzhľadom na krátku dobu rozpadu tohto hormónu v organizme a na stabilnejší gonádotropný efekt.

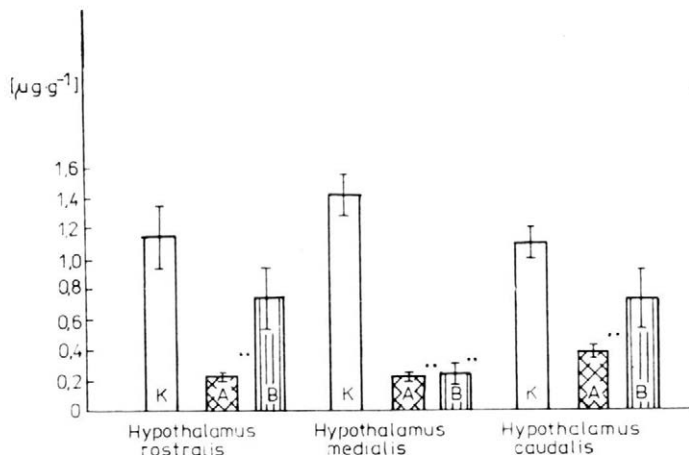
V našej práci sme sa zamerali na štúdium účinku hormonálneho prípravku Folistiman a gama-žiarenia na katecholaminergický systém hypotalamu a hypofýzy podieľajúci sa na regulácii pohlavných funkcií (Meites a i., 1977; Negro — Vilar a i., 1982), na regulácii osi hypofýza — nadoblička v adrenokortikálnej stresovej odozve (Kvetňanský, 1981). V našich predchádzajúcich prácach (Pástorová a i., 1982, 1985) sme zistili, že celotelové proťahované ožarovanie oviec dávkou 6,7 Gy spôsobuje výrazný pokles koncentrácií katecholamínov a prekursora pre ich syntézu L-DOPA a súčasne zvyšuje i aktivitu ich degradačného enzýmu monoamínoxidázy v hypotalame oviec (Pástorová a i., 1982). Aby nebola poškodená reprodukčná schopnosť oviec, zvolili sme v tejto práci celkovú dávku gama žiarenia 2,48 Gy a zvieratá sme po ožarení stimulovali FSH.

MATERIÁL A METÓDY

Pozorovania sme vykonali na 15 ovciach plemena slovenské merino, priemernej živej hmotnosti 41 kg, vo veku dva až tri roky, v období fyziologického anestrus. Do krmnej zmesi sme pridávali 25 g Roboranu Spofa a 1 g Celaskonu na jednu ovcu denne. Estrus oviec sme synchronizovali intravaginálnymi agelinovými hubkami s obsahom 20 mg chlórsuperlutínu, ktoré sme im instilovali po dobu desiatich dní. Prvá skupina (päť oviec) bola kontrolná. Ovce druhej skupiny (päť oviec) boli ožiarené počas piatich dní celkovou dávkou 2,48 Gy. Zdroj žiarenia bol ^{60}Co a dozimetria bola robená filmovými dozimetrami. Celodenný expozičný prikon gama-žiarenia bol 0,48 Gy. Ovce boli umiestnené v klietkach vo vzdialenosti 4,6 m od zdroja žiarenia. Po skončení ožarovania sme ovce prvej pokusnej skupiny stimulovali FSH (Folistiman, NDR) ôsmimi frakcionované podávanými dávkami (dvakrát denne) v celkovej dávke 450 I. U. Tretiu skupinu oviec sme stimulovali rovnakým podaním 450 I. U. Ovce všetkých pokusných skupín boli usmrtené po 150 hodinách od vybratia agelinových hubiek. Po usmrtení zvierat sme do troch minút odobrali vzorky hypotalamu, ktorý sme pričným rezom rozdelili na časť rostrálnu, mediálnu a kaudálnu. Ďalšie vzorky sme odobrali z hypofýzy a nadobličiek. Aby sme zabránili degradačným zmenám, ponorili sme tkanivá ihneď po vybratí do kvapalného dusíka. Katecholamíny (norepinefrín a epinefrín) sme z tkanivových supernatantov separovali stĺpcovou chromatografiou na aktivovanom oxide hlinítom za pomoci testu Catecholamines fy Biorad. Oxidované fluoreskujúce lutíny katecholamínov sme merali na spektrofluorimetri Perkin Elmer fy Hitachi. Výsledky sme štatisticky spracovali Studentovým *t*-testom a udávame ich v μg katecholamínov na gram vlhkej hmotnosti tkaniva.

VÝSLEDKY

Výsledky udávame na obr. 1—4. Po päťdňovom kontinuálnom celotelovom ožarení bahníc dávkou 2,48 Gy a hormonálnej stimulácii FSH sme zistili štatisticky významný pokles koncentrácií norepinefrínu v hypotalame (obr. 1) najvýraznejší v jeho rostrálnej (o 80 %) a mediálnej (o 80,5 %) časti. V kaudálnom hypotalame sa koncentrácie norepinefrínu v porovnaní s kontrolnou skupinou znižujú len o 68,1 %. Hladiny epinefrínu sa po ožarení a hormonálnom ovplyvnení v rostrálnom a mediálnom hypotalame oviec nemenia, ale v kaudálnom hypotalame sme pozorovali signifikantné zníženie (o 63 %). V hypofýze a nadobličkách ožiarенých a hormonálne stimulovaných oviec sme zaznamenali zmeny koncentrácie norepinefrínu a epinefrínu (obr. 3 a 4). V hypofýze sa znížili koncentrácie norepinefrínu o 43,1 % a epinefrínu o 35 %. Hladiny



1. Vplyv synchronizácie, gama-žiarenia a hormonálnej stimulácie FSH na koncentrácie norepinefrínu v rostrálnom, mediálnom a kaudálnom hypotalame oviec. Výsledky sú vyjadrené v μg norepinefrínu na gram vlhkej hmotnosti tkaniva, v aritmetických priemeroch $\pm$ S.E.M. (K — kontrolná skupina oviec so synchronizovaným estrom 20 mg chlórsuperlutínu na hubku; A — skupina oviec so synchronizovaným estrom, kontinuálne ožarovaná gama-žiarením po dobu piatich dní v celkovej dávke 2,48 Gy a stimulovaná 450 I. U. FSH; B — skupina oviec so synchronizovaným estrom hormonálne stimulovaná 450 I. U. FSH, bez ožiarovania ++ — $P < 0,001$) — The effect of synchronization, gamma radiation and hormonal stimulation by FSH on norepinephrine concentrations in the rostral, medial and caudal hypothalamus of ewes. The results are given in μg of norepinephrine per 1 gramme of wet weight of tissues, as arithmetical means $\pm$ S.E.M. (K — control group of ewes with oestrus synchronized by 20 mg of chlorsuperlutin in a tampon; A — group of ewes with synchronized oestrus continuously exposed to gamma radiation for five days — total radiation dose 2,48 Gy, and stimulated by 450 I. U. of FSH; B — group of ewes with synchronized oestrus and hormonally stimulated by 450 I. U. FSH, without irradiation ++ — $P < 0.001$)

K — kontrola, Agelin

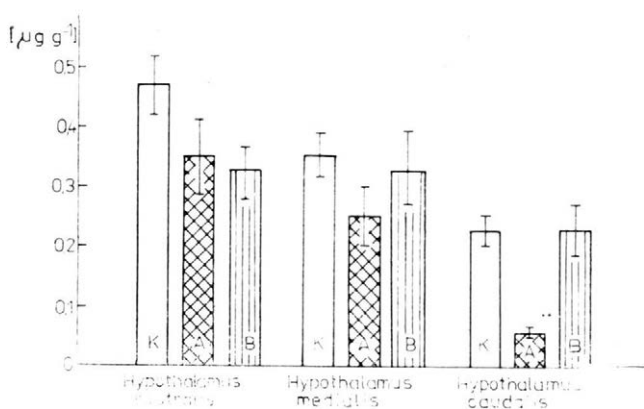
A — 2.48 Gy, Agelin, FSH

B — Agelin, FSH

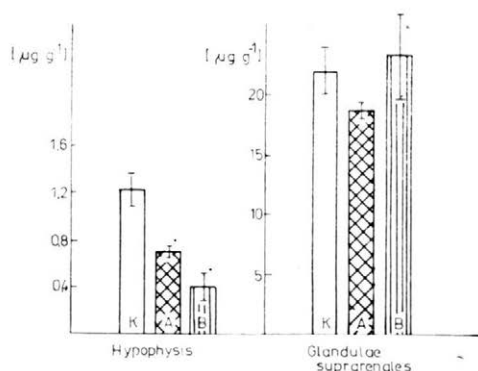
epinefrínu v nadobličkách uvedenej pokusnej skupiny oviec klesli o 32,9 % a norepinefrínu o 16 % (obr. 3 a 4). Po podaní Folistimanu ovciam so synchronizovaným estrálnym cyklom bez ožiarovania sme zistili zníženie koncentrácií norepinefrínu v rostrálnom a kaudálnom hypotalame, priemerne o 30 % (obr. 1) v porovnaní s kontrolnou skupinou, ale tieto zmeny nie sú štatisticky významné. Signifikantný pokles norepinefrínu (o 80 %) sme zaznamenali v oblasti mediálneho hypotalamu. Koncentrácie epinefrínu po hormonálnej stimulácii FSH sa v hypotalame bahníc neodlišujú od hodnôt kontrolnej skupiny (obr. 2). Na rozdiel od hypotalamu má v hypofýze hormonálna stimulácia FSH vplyv na zníženie hladiny katecholamínov. Zaznamenali sme štatisticky významné zníženie epinefrínu (o 82,1 %) a norepinefrínu (o 67,3 %), ako je to uvedené na obr. 3 a 4. V nadobličkách po hormonálnom ovplyvnení FSH klesajú koncentrácie epinefrínu o 63,9 % a hladiny norepinefrínu sa v porovnaní s kontrolnou skupinou nemenia.

DISKUSIA

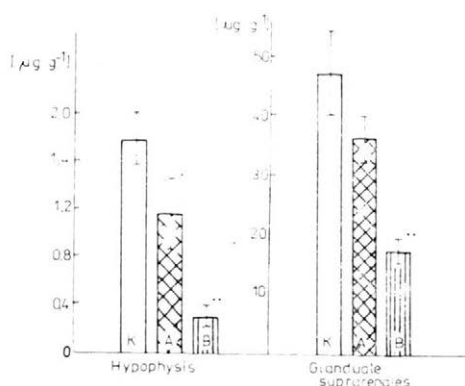
Biogénne amíny hypotalamu zasahujú do sekrécie gonádotropných hormónov hypofýzy tak, že sa podieľajú na regulácii uvoľnenia hypotalamických releasing hormónov do hypofyzárneho portálneho krvného



2. Vplyv synchronizácie, gama-žiarenia a hormonálnej stimulácie FSH alebo len stimulácie FSH bez ožiarenia na koncentrácie epinefrínu v hypothalamu oviec (symboly ako na obr. 1; ++ — $P < 0.001$) — The effect of synchronization, gamma radiation and hormonal stimulation by FSH, or FSH stimulation alone without irradiation, on the concentrations of epinephrine in the hypothalamus of ewes (the symbols of Fig. 1; ++ — $P < 0.001$)



3. Koncentrácie norepinefrínu v hypofýze a v nadobličkách oviec po synchronizácii, proťahovanej expozícii gama-žiarenia a hormonálnej stimulácii FSH alebo po podaní FSH bez ožiarenia (symboly ako na obr. 1; + — $P < 0.01$) — The concentrations of norepinephrine in the pituitary and adrenal glands of ewes after synchronization, protracted exposure to gamma radiation, and hormonal stimulation by FSH or after the administration of FSH without irradiation (the symbols cf. Fig. 1; + — $P < 0.01$)



4. Koncentrácie epinefrínu v hypofýze a v nadobličkách oviec po synchronizácii, proťahovanej expozícii gama-žiarenia a hormonálnej stimulácii FSH alebo po podaní FSH bez ožiarenia (symboly ako na obr. 1; + — $P < 0.01$, ++ — $P < 0.001$) — Epinephrine concentration in the pituitary and adrenal glands of ewes after synchronization, protracted exposure to gamma radiation, and hormonal stimulation by FSH, or after administration of FSH without irradiation (the symbols cf. Fig. 1; + — $P < 0.01$, ++ — $P < 0.001$)

obeahu (Crowley a i., 1978). I keď je v súčasnosti mnoho vedeckých poznatkov o vzťahu hypothalamických katecholamínov k regulácii reprodukčných procesov (Advis a i., 1980; Gallo, 1980; Bahr a Ben — Jonathan, 1981), vzťah jednotlivých neuromediátorov k produkcii gonádotropných hormónov nie je jednoznačne stanovený. Podľa súčasných vedeckých poznatkov sa predpokladá (Meites a i., 1977; Negro — Vilar a i., 1982), že sekrécia LH a FSH je pod kontrolou alfa-adrenergických receptorov hypothalamu (Davies a i., 1975; Leung a i., 1982), pričom koncentrácia 17-beta-estradiolu v krvi moduluje alfa adrenergický účinok na sekréciu gonádotropných hormónov (Simpins

a i., 1977). Naopak zmeny v hladinách gonádotropných hormónov v krynej plazme spätne pôsobia na hladiny a funkciu katecholamínov v hypotalame (Gallo, 1980).

Hypofyzárny hormón FSH vyvoláva 48 hodín od podania luteolýzu, po ktorej nasleduje polyovulačná ruja. V súčasnej dobe dáva väčšina autorov pred PMSG prednosť prípravkom FSH, u ktorých sa predpokladá lepšia regulovateľnosť superovulačného procesu. Táto regulovateľnosť je podmienená krátkou dobou biologického rozpadu FSH v organizme, a tým aj stabilnejším gonádotropným efektom. Pri porovnaní účinku PMSG a FSH na zmeny koncentrácií katecholamínov v hypotalame oviec v našich pokusoch je zrejmé, že PMSG vyvoláva výraznejšie zmeny katecholamínov (Pástorová a i., 1987). Súvisí to pravdepodobne s tým, že PMSG spôsobuje dlhodobý vzostup estrogénov v krvnej plazme (Soper a Weich, 1980). Estrogény pôsobia na adrenergne receptory hypotalamu, pričom dochádza k výraznému poklesu koncentrácie hypotalamického norepinefrínu (Donoso a Cukier, 1969; Simpkins a i., 1977). Po podaní Folistimanu v dávke 450 I. U. ovciam v anestrickom období sme zaznamenali pokles koncentrácie norepinefrínu v celom hypotalame oviec, najvýraznejší v jeho mediálnej oblasti ($P < 0,001$). Bahr a Ben — Jonathan (1981) zistili po podaní FSH potkanom signifikantné zníženie hladín norepinefrínu v bunkách granulózy.

Epinefrín, ktorému sa v poslednom období pripisuje významná úloha pri regulácii sekrécie LH a indukcii ovulácie (Sawyer, 1979; Saavedra a i., 1979), sa po hormonálnej stimulácii s FSH v hypotalame oviec nemení, alebo sa nesignifikantne znižuje. Podobný obraz v koncentracii hypotalamického norepinefrínu sme pozorovali i po hormonálnej stimulácii PMSG (Pástorová a i., 1987). Najvýraznejšie zmeny v zastúpení katecholamínov po hormonálnom ovplyvnení sme zaznamenali v hypofýze oviec, v ktorej došlo k poklesu koncentrácie norepinefrínu o 82 % a epinefrínu o 67 %. Mechanizmus účinku exogénnych hormónov na zmeny koncentrácie katecholamínov v hypofýze je bez štúdia ich obratu ťažko definovať. Je pravdepodobné, že pôsobením cez adrenergne receptory dochádza k pozmenenému uvoľňovaniu katecholamínov (Holzbauer a i., 1981) alebo k zvýšenej degradácii prostredníctvom enzýmov katechol-o-metyltransferázy, resp. monoamínoxidázy (Sawyer, 1979).

Po protrahanom pôsobení ionizujúceho žiarenia v dávke 2,48 Gy po dobu piatich dní a po následnom hormonálnom ovplyvnení Folistimanom sme zistili signifikantný pokles koncentrácie norepinefrínu v študovaných oblastiach hypotalamu oviec. Najvýraznejšie zmeny hladín norepinefrínu sme zaznamenali v rostrálnom a mediálnom hypotalame (pokles o 80 %). V kaudálnej oblasti hypotalamu sa v porovnaní s kontrolnými hodnotami koncentrácie norepinefrínu znížili o 60 %. Iní autori (Mazunda a i., 1978; Stepanovic a i., 1981; Bazanova a Prokudina, 1982) zistili, že ionizujúce žiarenie redukuje koncentrácie norepinefrínu v hypotalame, v celom mozgu a v iných tkanivách laboratórnych zvierat. V súlade s literárnymi údajmi sme pozorovali (Johnson a i., 1970; Stepanovic a i., 1981) i zníženie katecholamínov v hypofýze a v nadobličkách oviec.

Pozorované zmeny katecholamínov v našom pokuse po ožiarení a hormonálnej stimulácii pravdepodobne súvisia s porušením metabo-

lických procesov v organizme (Stepanovic a i., 1981) ako i so vzostupom aktivity ich degradačných enzýmov, pozorovanej po expozícii gama-žiarenia (Prignitz a i., 1976; Mazunda, 1978; Pástorová a i., 1982). Obrat a aktuálne hladiny katecholamínov v nervovom tkanive závisia od mnohých faktorov, akými sú syntéza a degradácia, uskladnenie a extracelulárne vychytávanie, transneuronálny tok a interakcie s autoreceptormi (Saavedra, 1979). Porušenie niektorého z uvedených faktorov žiarením alebo hormonálnou stimuláciou vedie k zmene koncentrácií a funkcie katecholamínov v nervovom tkanive.

Domnievame sa, že sa v našom pokuse uplatnil kombinovaný účinok gama-žiarenia a hormonálnej stimulácie FSH, ktorý spôsobil výrazný pokles norepinefrínu v hypotalame a v hypofýze tejto pokusnej skupiny oviec napriek tomu, že celková dávka žiarenia bola 2,48 Gy.

Dosiahnuté výsledky je potrebné posudzovať i z hľadiska poznania účinku žiarenia a hormonálnych preparátov bežne používaných na vyvolanie superovulácie u hospodárskych zvierat na katecholaminergický systém hypotalamu a hypofýzy, ktorý má dôležitú funkciu v regulácii viacerých neuroendokrínologických procesov.

Literatúra

- ADVIS, J. P. — MC CANN, S. M. — NEGRO-WILAR, A.: Evidence that catecholaminergic and peptidergic (luteinizing hormone releasing hormone) neuron in suprachiasmatic medial basal hypothalamus and median eminence is involved in estrogen-negative feedback. *Endocrinology*, 107, 1980, s. 892-901.
- ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — STANÍKOVÁ, A. — HALAGAN, J. — PÁSTOROVÁ, B.: Fyziologické mechanizmy ovplyvňujúce reprodukciu hospodárskych zvierat. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1985.
- BAZANOVA, W. V. — PROKUDINA, E. A.: Issledovanie perioda deficita katecholamínov v gipotalamuse krysa v oddaleniye sroki posle lučevogo vozdeystviya. *Radiobiologia*, 22, 1982, s. 19-24.
- BAHR, J. M. — BEN-JONATHAN, N.: Preovulatory depletion of ovarian catecholamines in the rat. *Endocrinology*, 108, 1981, s. 1815-1819.
- CROWLEY, W. R. — DOHUL, T. L. — JACOBOWITZ, D. A.: Changes in catecholamine content in discrete nuclei during the estrous cycle of the rat. *Brain Res.*, 147, 1978, s. 315-326.
- DAVIES, J. J. — NAFTOLINI, F. K. — RYAN, J. — FISHMAN, A. — SIN, J.: The affinity of catechol estrogens for estrogen receptor in the pituitary and anterior hypothalamus of the rat. *Endocrinology*, 97, 1975, s. 554-558.
- DONOSO, A. O. J. — CUKIER, I.: Estrogen as depressor of noradrenaline content in the hypothalamus of castrated rats. *Neuroendocrinology*, 4, 1969, s. 72-77.
- GALLO, R. V.: Neuroendocrine regulation of pulsative luteinizing hormone release in the rat. *Neuroendocrinology*, 30, 1980, s. 122-131.
- GORDON, I.: Hormonal control of reproduction. *Proc. Brit. Soc. anim. Prod.*, 4, 1975, s. 79-93.
- HOLZBAUER, M. — SHARMAN, D. F. — STEPHENS, D. B.: Pituitary catecholamines. In: Catecholamines and stress. Recent advances. E. USDIN, R. KVETŇANSKÝ, J. KOPIN (Eds). Elsevier North Holland, 1981, s. 137-146.
- JOHNSON, J. E. — OWMAN, C. H. — SJÖBERG, N. O.: Tissue content of noradrenaline and 5-HT in the rat after ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 18, 1970, s. 311-316.
- KVETŇANSKÝ, R.: Recent progress in catecholamines under stress. In: Catecholamine and stress. Recent advances. E. USDIN, R. KVETŇANSKÝ, J. KOPIN (Eds). Elsevier North Holland, 1981, s. 7-20.
- LEUNG, P. C. K. — ARENDASH, G. V. — WHITMOGER, D. I. — GORSKI, R. A. — SAWYER, C. H.: Differential effects of central adrenoreceptor agonist on luteinizing hormone release. *Neuroendocrinology*, 34, 1982, s. 207-214.
- MEITES, J. J. — SONNTAG, J. — SIMPKINS, J. — BRUNI, J. — ADVIS, J.: Role

- of biogenic amine in the control of anterior pituitary hormone. *J. med. Sci.*, 5, 1977, s. 1-20.
- MAZUNDA, R. S. — PRASAD, G. G. — PANT, G. C. — HDUPA, K. N.: Response of brain monoamines and its enzymes to Co-irradiation. *Strahlentherapie*, 154, 1978, s. 349-354.
- NEGRO-VILAR, A. — ADVIS, J. P. — OJEDA, S. R. — MC CANN, S. M.: Involvement of norepinephrine and dopamine in the release of LH-releasing hormone and LH. *Endocrinology*, 111, 1982, s. 932-938.
- PRIGNITZ, R. — SAUBIER, B. — HOFFMEISTER, G.: Untersuchungen über den Einfluß von Röntgenstrahlen auf Elektrolytverschiebungen und Stoffwechsel des Herzmuskels. VI. Strahlenbedingte Veränderungen des Katecholamines Gehaltes. *Strahlentherapie*, 151, 1976, s. 53-60.
- PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M.: Zmeny hladín katecholaminov a aktivity monoaminoxidázy po ožiarení. In: Zbor. prác z celoštátnej rádiobiologickej konferencie, Starý Smokovec 1982.
- PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M.: Hladiny katecholových aminov v hypotalame, hypofýze a nadobličkách oviec po celotelovej expozícii gama-žiarenia. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985, s. 485-492.
- PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — STANÍKOVÁ, A.: Hladiny katecholaminov v hypotalame oviec v estrickom období po hormonálnej stimulácii s PMSG v kombinácii s vitamínom A. *Veter. Med. (Praha)*, v tlači.
- STEPANOVIC, S. R. — NIKOLIC, J. V. — VARAGIC, V. M.: The effect of L-DOPA and benserazide on the amount of catecholamines and heart atria, hypothalamus and corpus striatum of x-irradiated rats. In: Catecholamines and stress. Recent Advances. E. USDIN, R. KVETNANSKÝ, J. KOPIN (Eds). Elsevier North Holland, 1981, s. 137-146.
- SAAVEDRA, J. M.: Microquantitation of neurotransmitters in specific areas of the central nervous system. *Int. Rev. Neurobiol.*, 21, 1979, s. 259-274.
- SAWYER, R. C. H.: Brain amines and pituitary gonadotrophin secretion. Seventh J. A. E. Stevenson Memorial Lecture. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 57, 1979, s. 667-680.
- SIMPINS, J. W. — MUELLER, G. P. — HUANG, H. H. — MEITES, J.: Evidence for depressed catecholamines and enhanced serotonin metabolism in aging male rats: possible relation to gonadotrophin secretion. *Endocrinology*, 100, 1977, s. 1672-1679.
- SOPER, B. D. — WIECH, R. F.: Hypothalamic and extrahypothalamic mediation of pulsative discharges of luteinizing hormone in ovariectomized rat. *Endocrinology*, 106, 1980, s. 348-355.

Došlo dňa 23. 4. 1987

ПАСТОРОВА, Б. — АРЕНДАРЧИК, Й. — МОЛНАРОВА, М. (Ветеринарный институт, Кошице): Влияние гормонального стимулирования фоллистиманом (ФСГ) и продолженной экспозиции гамма-облучения на уровни катехоламинов в гипоталамусе, гипофизе и в надпочечниках овец в анестрическом периоде. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1983 (4) : 209-217.

Изучалось действие гормонального препарата Фоллистимана и продолженной экспозиции гамма-облучения на концентрацию катехоламинов в гипоталамусе, гипофизе и в надпочечниках овец со синхронизированным эстром. Наблюдения проводились на 15 овцах породы словацкий меринос в период физиологического анэстра. Первая группа овец была контрольная ($n = 5$). Овцы второй группы облучались гамма-облучением в течение пяти дней общей дозой 2,48 Гр. После окончания облучения их гормонально стимулировали ФСГ общей дозой 450 I.U. Третью группу овец гормонально стимулировали ФСГ без облучения. Катехоловые амины после изолирования из тканевых супернатантов при помощи метода адсорбционной хроматографии устанавливали в элюатах спектрофлуориметрически. Продолженная экспозиция гамма-облучения на целостный организм и гормональная стимуляция ФСГ выразительно понижает концентрацию норэпинефрина в исследуемых областях гипоталамуса овец (в среднем на 70 %) в сравнении с контрольными значениями. Эпинефрин в медиальном гипоталамусе овец понижается на 63 %. Отмечалось снижение концентрации эпинефрина и норпинефрина в надпочечниках (на 32,9 % и 16 %) и в гипофизе (на 35 и 43,1 %) облученных и гормонально стимулированных овец. Гормональное влияние на овцы ФСГ без облучения не вызывает так выразительное понижение уровня ка-

техоламинов в гипоталамусе овец, но выразительно понижает их представление в гипофизе, где наблюдалось понижение концентрации норэпинефрина на 82% и эпинефрина на 67,3%. В надпочечниках понизился эпинефрин у этой группы овец на 63,9%, а уровни норэпинефрина в сравнении с контрольными значениями не изменились. Из достигнутых результатов исходит, что гамма-облучение и гормональное стимулирование ФСГ выразительно понижает концентрации катехоламинов в областях церебронеуральной системы (ЦНС), включенных в регулировку воспроизводственных процессов.

биогенные амины гипоталамуса; секреция гонадотропных гормонов; воспроизводство

PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Effect of Hormonal Stimulation by Folistiman (FSH) and Protracted Exposure to Gamma Radiation on the Contents of Catecholamines in the Hypothalamus, Pituitary, and Adrenal Glands of Ewes in the Anoestral Period*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 209-217.

The administration of the Folistiman hormonal preparation and protracted exposure to gamma radiation were studied as influencing the concentration of catecholamines in the hypothalamus, pituitary, and adrenal glands of ewes in the synchronized-oestrus programme. The trials were performed with 15 ewes of the Slovak Merino breed in the period of physiological anoestrus. The first group was used as control ($n = 5$). The ewes of the second group were exposed to gamma radiation for five days (total dose 2.48 Gy). After irradiation, they were given the total dose of 450 I. U. FSH for hormonal stimulation. The third group was hormonally stimulated by FSH without irradiation. Having been isolated from the tissue supernatants by the adsorption chromatography method, the catecholamines were determined spectrofluorimetrically in the eluates. Protracted exposure of the whole body to gamma radiation and the hormonal stimulation by FSH significantly reduce the concentrations of norepinephrine in the studied hypothalamus regions of the ewes (by 70%, on an average, compared with the control values). The content of epinephrine in the medial hypothalamus of the ewes decreased by 63%. The concentrations of epinephrine and norepinephrine in the adrenal glands of the irradiated and hormonally stimulated ewes decreased by 32.9% and 16%, respectively, and in their pituitary glands by 35% and 43.1%, respectively. The hormonal treatment of the ewes without irradiation does not induce any great reduction in catecholamine concentration in the hypothalamus of ewes, but significantly reduces their proportions in the pituitary glands, where the concentrations of norepinephrine and epinephrine were observed to have decreased by 82% and 67.3%, respectively. In the adrenal glands of this group of ewes, the concentration of epinephrine decreased by 63.9%, but the concentrations of norepinephrine did not change, compared with the control values. It follows from the results that gamma radiation and hormonal stimulation by FSH significantly reduce the concentrations of catecholamines in the cerebrateuronal system (CNS) regions involved in the control of the reproduction processes.

biogenic amines of hypothalamus; secretion of gonadotrophic hormones; reproduction

PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Einfluss hormonaler Stimulation durch Folistiman (FSH) und protrahierter Exposition der Gamma-Strahlung auf den Spiegel von Katecholaminen im Hypothalamus, in der Hypophyse und in den Nebennieren der Schafe im Anöstrus*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 209-217.

Wir untersuchten den Einfluss des hormonalen Präparates Folistiman und der protrahierten Exposition der Gamma-Strahlung auf die Konzentration von Katecholaminen im Hypothalamus, in der Hypophyse und in den Nebennieren der Schafe mit synchronisiertem Östrus. Unsere Beobachtungen machten wir an 15 slowakischen Merinoschafen im physiologischen Anöstrus. Die erste Gruppe von Schafen diente als Kontrolle ($n = 5$), die Schafe der zweiten Gruppe wurden fünf Tage lang der Gamma-Strahlung in einer Gesamtgabe von 2,48 Gy ausgesetzt. Nach Beendigung der Bestrahlung wurden die Schafe mit FSH mit einer Gabe von

450 I. E. hormonal stimuliert. Die Schafe der dritten Gruppe wurde ohne jede Bestrahlung mit FSH hormonal stimuliert. Die Katecholamine wurden nach der Isolierung aus Gewebeüberständen mit Hilfe der Methode der Adsorptionschromatographie in den Eluaten spektrofluorimetrisch bestimmt. Die gesamtkörperliche protrahierte Exposition der Gamma-Strahlung und die hormonale Stimulation mit FSH vermindern bedeutend die Konzentration von Norepinefrin in den untersuchten Hypothalamuspartien der Schafe (im Durchschnitt um 70 %) im Vergleich zur Kontrolle. Epinefrin wird im medialen Hypothalamus der Schafe um 63 % vermindert. Wir verzeichneten einen Abfall der Konzentration von Epinefrin und Norepinefrin in den Nebennieren (um 32,9 % bzw. um 16 %) und in der Hypophyse (um 35 bis um 43,1 %) der bestrahlten und hormonal stimulierten Schafe. Die hormonale Behandlung der Schafe mit Hilfe von FSH ohne Bestrahlung verursacht keine auffallende Verminderung des Spiegels von Katecholaminen im Hypothalamus der Schafe, sie setzt aber bedeutend ihre Vertretung in der Hypophyse herab, wo wir eine Verminderung der Konzentration von Norepinefrin um 82 % und von Epinefrin um 67,3 % beobachten konnten. In den Nebennieren verminderte sich der Spiegel von Epinefrin bei den Schafen dieser Gruppe um 63,9 % und derjenige von Norepinefrin blieb im Vergleich zur Kontrolle konstant. Den ermittelten Ergebnissen ist zu entnehmen, dass die Gamma-Strahlung und die hormonale Stimulation mit FSH die Konzentration von Katecholaminen im zerebroneuralen System (CNS), die die Regelung der Reproduktionsprozesse mitbestimmen, bedeutend vermindern, biogene Amine des Hypothalamus; Sekretion der gonadotropen Hormone; Reproduktion

Adresa autorov:

RNDr. Bernádetta Pástorová, CSc., prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc.,
ing. Marie Molnárová, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81
Košice

Vybrané nejnovější tituly z oboru veterinární medicína ve fondu ÚZLK

- STROHMAIER, W.: Experimentelle Untersuchung zur Wirkung von Druckdifferenzen in Melkzeugen mit periodischem und kontinuierlichem Lufteinlass auf Merkmale der Melkbarkeit und Zitzenbeschaffenheit. Diss.
Hohenheim 1987. D 35.181 550
- SUPRIATNA, I.: Tiefgefrierversuche mit Mäuseembryonen. Diss.
Giessen 1987. E 39.500 1091
- Tagung der Fachgruppe „Bakteriologie“. Schloss Rauischolzhausen
4.—6. Juni 1986. D 79.626
Giessen 1986.
- Tagung der Fachgruppe „Fischkrankheiten“ in Verbindung mit der deutschen Sektion der Europ. Assoc. of Fish Pathologists, München,
28.—29. Oktober 1986. D 79.625
Giessen 1986.
- Tierarzneimittelverzeichnis.
Jena 1987. E 45.795
- TRAGER, W.: Living together. The Biology of animal parasitism.
New York 1986. D 79.166
- ULBRICH, M.: Fütterungsregime und Tiergesundheit.
Jena 1987. E 46.068
- Veterinární farmaka z hlediska hygieny potravin. Sborník přednášek
z I. celostátního semináře.
Brno 1986. D 79.697
- Das Veterinärwesen der DDR.
Eberswald 1986. D 79.666
- VODRÁŽKA, J.: Veterinárská medicína a farmakológia.
Bratislava 1986. D 78.719

VYUŽITIE ONPG-TESTU V RÝCHLEJ DIAGNOSTIKE NIEKTORÝCH RODOV ENTEROBAKTÉRIÍ

L. Šemráková

ŠEMRÁKOVÁ, L. (Štátny veterinárny ústav, Michalovce): *Využitie ONPG-testu v rýchlej diagnostike niektorých rodov enterobaktérií*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 219-224.

Účelom práce bolo overiť využitie ONPG-testu v diferenciálnej diagnostike niektorých rodov *Enterobacteriaceae* (*Salmonella*, *Citrobacter*, *Proteus*), u ktorých sme ho považovali za rozhodujúci marker, keďže mnohé biochemické testy sú u nich totožné. Výsledky boli hodnotiteľné od niekoľkých minút, definitívne do šiestich hodín po naočkovaní, čo umožnilo jeho efektívne využitie v dvoch smeroch: — ako doplnok ku klasickým testom na rozlíšenie salmonel od citrobakterov (u ktorých dával 100% výsledky), — pri usmerňovaní diferenciálnej diagnostiky, kde nadväzne na jeho výsledok bolo možné orientovať ďalšie sérologické vyšetrenia alebo jeho využitie v screeningu podľa Ewingovej taxonómie, ktorá je zaužívaná na tunajšom pracovisku. Výsledky typizácie sú k dispozícii už v priebehu pracovného dňa, čo má veľký význam zvlášť pri vyšetrovaní potravín živočíšneho pôvodu, keď ide o rozhodnutie medzi patogénom a podmieneným patogénom. Tento test sa dá využívať aj na ďalších úsekoch racionálnych bakteriologických postupov. Značnú časovú úsporu predstavuje samotné prevedenie, lebo sa robí priamo z izolovaných kolónií.

Enterobacteriaceae; diferenciálna diagnostika; potraviny

V bežnej morfolologickej diagnostike enterobaktérií pri posudzovaní ich rastových a fermentačných vlastností sa vychádza zo skvasovania laktózy, respektíve tvorby určitých chemických substancií na diagnostických a selektívnych pôdach. Výsledok ataku laktózy v živnom médiu dovoľuje orientačne rozdeliť bakteriálne kmene na laktózo-pozitívne a laktózo-negatívne, ale existujú i intermediálne kmene, ktoré laktózu skvasujú oneskorene. Sem patria diagnosticky významné podmienené patogény, ktoré podľa našich poznatkov majú stúpajúcu tendenciu vo vyšetrovaných vzorkách potravín, surovín, krmív i v sekčnom, prípadne klinickom materiáli.

Práve tieto kmene môžu spôsobiť diagnostické ťažkosti; preto na ich rozlíšenie bol navrhnutý test na dôkaz beta-galaktozidázy (Furrowicz a i., 1968). Jeho hlavnou zložkou je o-nitrofenyl-beta-D-galaktopyranozid (ONPG), ktorý vplyvom galaktozidázy uvoľňuje farebnú žltú zložku o-nitrofenol (Baldwin, 1963; Dixon a Webb, 1964 — cit. Furrowicz a i., 1968). Enzým tvoria baktérie fermentujúce laktózu nezávisle od jej časového rozkladu. Beta-galaktozidáza — transacetyláza podmieňuje prenikanie laktózy do vnútra bakteriálnej bunky a konečnými produktami enzymatickej reakcie z laktózy je alkohol a D-galaktoza. Súčasne pôsobí aj ako katalyzátor galakto-transferázy, a preto sa nazýva aj induktívnym enzýmom.

I. Prehľad výsledkov diferenciálnej diagnostiky biochemicky príbuzných rodov en-
Survey of the results of the differential diagnosis of biochemically related genera

Rok	Počet kmeňov s označením	Test alebo substrát							
		L	H ₂ S	Sc	indol	urea	pohyb	plyn	ONPG
1981	16	—	+	+	—	—	+	+	—
	164	×	+	+	—	×	+	+	+
	231	×	+	+	+	+	+	+	—
1982	59	—	+	+	—	—	+	+	—
	97	×	+	+	—	×	+	+	+
	174	×	+	+	+	+	+	+	—
1983	23	—	+	+	—	—	+	+	—
	128	×	+	+	—	×	+	+	+
	153	×	+	+	+	+	+	+	—
1984	77	—	+	+	—	—	+	+	—
	254	×	+	+	+	×	+	+	+
	503	×	+	+	+	+	+	+	—
1985	167	—	+	+	—	—	+	+	—
	321	×	+	+	+	×	+	+	+
	404	×	+	+	+	+	+	+	—
Spolu	342	—	+	+	—	—	+	+	—
	964	×	+	+	+	×	+	+	+
	1465	×	+	+	+	+	+	+	—

Legenda: + väčšina kultúr pozitívnych — väčšina kultúr negatívnych
—
+

Za neprítomnosti substrátu laktózy je tvorba enzýmu minimálna; doplnok výrazne indikuje syntézu. Nástup syntézy je veľmi rýchly. Uvádza sa, že kmene neprodujúce beta-galaktózidázu nefermentujú laktózu. Laktóza, ktorá je v živných pôdach, je vo vzťahu k tvorbe beta-galaktózidázy u *E. coli* rastúcich na živnej pôde súčasne enzymatickým indikátorom i substrátom (Frunton a Simonds, 1958; Rowiński, 1964). Preto Le Minor a Ben Hamida (1962), Carpenter (1963 — cit. Furowicz a i., 1968), Kalužewski (1963) a Tyc (1963) považujú ONPG za vhodný a rýchly test pri rozlišovaní črevných

terobaktérii izolovaných z potravín živočíšneho pôvodu za päťročné obdobie —
of enterobacteria isolated from foodstuffs of animal over a five-year period

Predbežná typizácia rodov	Doplňujúce testy	Definitívna typizácia rodov	Počet typizovaných kmeňov	Výsledok typizácie %
<i>Salmonella</i>	LD —	<i>Salmonella</i>	16	100,0
<i>Citrobacter</i>	LD + PD —	<i>Citrobacter</i>	164	100,0
<i>Proteus</i>	PD +	<i>Proteus</i>	228	98,7
<i>Salmonella</i>	LD —	<i>Salmonella</i>	59	100,0
<i>Citrobacter</i>	LD + PD —	<i>Citrobacter</i>	97	100,0
<i>Proteus</i>	PD +	<i>Proteus</i>	166	95,1
<i>Salmonella</i>	LD —	<i>Salmonella</i>	23	100,0
<i>Citrobacter</i>	LD + PD —	<i>Citrobacter</i>	128	100,0
<i>Proteus</i>	PD +	<i>Proteus</i>	141	92,1
<i>Salmonella</i>	LD —	<i>Salmonella</i>	77	100,0
<i>Citrobacter</i>	LD + PD —	<i>Citrobacter</i>	254	100,0
<i>Proteus</i>	PD +	<i>Proteus</i>	460	91,4
<i>Salmonella</i>	LD —	<i>Salmonella</i>	167	100,0
<i>Citrobacter</i>	LD + PD —	<i>Citrobacter</i>	321	100,0
<i>Proteus</i>	PD +	<i>Proteus</i>	382	94,5
<i>Salmonella</i>	LD —	<i>Salmonella</i>	342	100,0
<i>Citrobacter</i>	LD + PD —	<i>Citrobacter</i>	964	100,0
<i>Proteus</i>	PD +	<i>Proteus</i>	1377	93,9

— väčšina kultúr negatívnych
× alebo oneskorene pozitívnych

× väčšina kultúr oneskorene pozitívnych
+

baktérií. Ako uvádzajú Mollaret a Chevalier (1964), dá sa tento test využiť aj pri rodovej diferenciacii iných zárodkov (pasteurel).

V našej práci sme z dôvodov racionalizácie diagnostických postupov overili využiteľnosť ONPG-testu pri detekcii salmonel, citrobakterov, proteov, ale aj iných enterobaktérií.

MATERIÁL A METÓDA

Ako materiál nám slúžili laktózo-negatívne bakteriálne kmene izolované pri bežnej diagnostike z rôznych surovín a potravín živočíšneho pôvodu. ONPG-test sme overili v dvoch smeroch:

— ako doplnok skríningu pri detekcii patogénov a podmienených patogénov u enterobaktérií, pri ktorej je tento rýchlotest využiteľný v orientačnej diferenciálnej diagnostike kmeňov s blízkymi biochemickými vlastnosťami;

— ako doplnok konvenčných testov pri špecifikácii biochemických vlastností testovaných kmeňov.

Pri taxonomickom zatriedovaní rodov sme použili taxonómiu podľa Ewinga (Ewing, 1973) so selektovaným biogramom pre základné testy (tvorba H_2S , indolu, plynu, utilizácia citrátu, pohyblivosť, hydrolýza urey).

Doplňujúce testy tvorili: lyzín-dekarboxyláza, fenylalanín-deamináza; ďalej sa používali: VP-test, želatinolýza a iné testy odporúčené pre enterobaktérie. ONPG-test sme použili v modifikácii, ktorú uviedol Patáky (1978) — vo forme testáčnych diskov v nasledovnom zložení: ONPG subst. 0,2 g, destilovaná voda 10 ml, fosfátový pufr (pH 7) 3,3 ml.

PREVEDENIE TESTU

Do skúmavky napipetujeme 0,1 ml destilovanej vody, pripravíme v nej mlieč-ne skalenú suspenziu priamo z 18-hodinovej kultúry vyrastenej na niektorej zo selektívno-diagnostických pôd (Endo-agar, DC agar, agar s brilantovou zeleňou — Christensenova pôda) a pridáme disk ONPG; inkubujeme jednu hodinu. Ak do jednej hodiny nezožltne, je test negatívny. V prípade náznaku žltnutia sa čas pôsobenia predlži na šesť hodín.

V skríningu sme použili len štyri skúmavky s testami, resp. substrátmi, a to Hajnovu pôdu kombinovanú TSI a MIU, v ktorej sa detekovali: indol, urea, pohyb, plyn a H_2S (Pejchovská, 1975). Ďalej bola použitá Simons-citrátová pôda a ONPG-test.

PRÍPRAVA FOSFÁTOVÉHO PUFRU

Do 60 ml 0,1 M KH_2PO_4 (0,680 g KH_2PO_4) sa pridá toľko 0,1 M NaOH, aby sa dosiahlo pH 7. Pripraveným roztokom zvlhčíme filtračný papier Whatman 4, na ktorý sme si nakreslili mriežku tak, aby na 1 ml roztoku pripadlo 36 štvorcových veľkostí približne 0,4 cm. Po zvlhčení necháme uschnúť v termostate, rozstriháme na malé disky a uchováваме v chladničke.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V diagnostickej praxi sme ONPG-test overovali od roku 1981 v priemere na piatich — desiatich kmeňoch; slúžil nám ako diagnostický test v spomínanom skríningu medzi biochemicky príbuznými rodmi (tab. I), alebo ako vylučovací test u izolovaných kmeňov, ktoré bolo potrebné podrobiť rozsiahlejšej biochemickej testácii. V nadväznosti na výsledok testu sme mohli pristúpiť k sérotypizácii aspoň s polyvalentnými sérami (salmonely, citrobaktérie), alebo sme ho použili ako doplnok do konvenčných testov.

V tab. I uvádzame len tri bakteriálne rody, pri ktorých pre biochemickú príbuznosť bol ONPG-test obzvlášť využiteľný. Išlo o kmene salmonel, *Citrobacter freundii* a proteov. V rámci týchto rodov bola spoľahlivosť rozlišovania medzi rodmi *Salmonella* a *Citrobacter freundii* 100%. Kmene rodov *Citrobacter freundii* a *Proteus* ureáza pozitívne opätovne rozlíšil ONPG-test viac ako v 90 % prípadov, a tým nemuseli byť nasadené doplňujúce testy. Podľa našich poznatkov beta-galaktozidázový test ako samotný nie je dostačujúci pre kompletnú diagnostiku všetkých rodov v rámci *Enterobacteriaceae*. Naše skúsenosti ďalej ukazujú, že ako rýchlotest dáva v skríningu pri potravinárskej diagnostike za použitia uvedených testov spoľahlivé doplňujúce informácie o niektorých vlastnostiach testovaného kmeňa, a tým umožňuje jeho rýchlejšie zara-

denie do vyselektovaného alebo klasického biogramu v skupine ONPG-pozitívnych alebo ONPG-negatívnych kmeňov.

Testovací systém s akceptovaním základných znakov taxonómie, ktoré uviedol Ewing (1973), dovoľoval teda správne identifikovať väčšinu izolovaných kmeňov nad 90 %, u citrobakterov a salmonel až 100%. Ostatné izolované kmene boli dotypizované konvenčnými testami na pestrom rade cukrov tak, ako to uvádzajú aj iní autori, ktorí pracujú so selektovaným biogramom (Fey, 1972; Paučková, 1974).

Využitie testu je opodstatnené najmä pri rozlišovaní biochemicky príbuzných kmeňov. Týmto rýchlotestom sa salmonely a citrobaktérie dajú rozlíšiť už od 15 minút do šiestich hodín. Vzhľadom na rýchlosť vizuálneho prejavu dáva diagnostickú informáciu v deň, kedy identifikácia kmeňa začala, preto ho považujeme za rýchlotest racionalizujúci typizačné postupy. To má výhodu najmä pri vyšetrovaní potravín a surovín živočíšneho pôvodu, ale i v ostatnej bakteriologickej diagnostike, kde sa vyžaduje rýchlosť laboratórneho nálezu. Pri rýchlotestoch sa hodnotia výsledky od 15 minút do štyroch až šiestich hodín, nakoľko sa nimi detekujú iba enzymatické a fermentačné reakcie — na rozdiel od konvenčných testov, pri ktorých musia prebehnúť rastové fázy testovaných baktérií, a ktoré sú preto časovo náročnejšie.

Beta-galaktozidázový test, ktorý navrhli Le Minor a Ben Hamida (1962), zaznamenal niekoľko modifikácií — od skúmavkových až po papierikové; líšia sa iba v časovom vyhodnocovaní: od niekoľkých minút až po 48 hodín (Záhradnícky a i., 1980; Pataky, 1978). Modifikácie prinášali okrem časových úspor aj úspory ekonomické. Návrhy sa týkali aj kombinácií uvedeného testu. Pataky (1978) kombinovali ONPG-test s tryptofán-deaminázou, Hoszowski a Truscynski (1977) s fenylalanínom.

Podľa našich dlhoročných skúseností odporúčame beta-galaktozidázový test pre rutinnú a rýchlu bakteriologickú diagnostiku.

Literatúra

- BALDWIN, E.: Dynamic aspects of biochemistry. 4th Ed. Cambridge, University Press 1963.
- EWING, W. H.: Biochemical reactions given by *Enterobacteriaceae* in commonly used test. Phev. PHSCDC, Atlanta, Georgia, 30, 1973, s. 333.
- FEY, H. 1972. Cit. BAER, H. — WASHINGTON, L.: Numerical diagnostic key for the identification of *Enterobacteriaceae*. Appl. Microbiol., 23, 1972, s. 108-112.
- FRUNTON, G. S. — SIMONDS, S.: General biochemistry. New York, L. Wiley-Sons Inc. 1958.
- FUROWICZ, A. — MADEJSKI, J. — URBANŠKA, L.: Ocena testu na beta-galaktozydaze (galaktohydrolaze beta-D-galaktozydów) w szybkiej diagnostyce bakteriologicznej. Med. wet., 1968, s. 526-529.
- HOSZOWSKI, A. — TRUSZCZYNSKI: Skracona identyfikacja pałeczek *Salmonella* przy zastosowaniu metody czterech probówek. Med. wet., 32, 1977, s. 738-740.
- KALUŽEWSKI, S.: Wykrywanie i rożnicowanie drobnoust. rodz. *Enterobacteriaceae*. Cz. IV. Podłoża i odczyny. Wyd. Met., PZH 1963.
- LE MINOR, I. — BEN HAMIDA, F.: Avantages de la recherche de la beta-galactosidase sur celle de la fermentation du lactose en milieu complexe dans le diagnostic bactériologique en particulier des *Enterobacteriaceae*. Ann. Inst. Pasteur, 121, Tom 102, 1962, s. 267-277.
- MOLLARET, H. H. — CHEVALIER, A.: Contribution a l'étude d'un nouveau groupe de germes proches du bacille de malassez et vignal. Onn. Inst. Pasteur, 121, Tom 106, 107, 1964, s. 4124.
- PATAKY, A.: Diagnostika gram-negatívnych paličiek a rýchlotesty. Materiály zo seminára. Prešov 1978.

PAUČKOVÁ, V.: Gram-negativní kvasící paličky. Minisymposium Identifikace bakterií. Gottwaldov 1974.

PEJHOVSKÁ, M. — BARTUŠKOVÁ, M.: Ověřování některých kombinovaných testů na půdách pro enterobakterie. Veterinářství, 25, 1975, č. 8, s. 363-365.

ROWIŃSKI, S.: Genetyczny mechanizm regulacji metabolizmu drobnoustrojow. Post. Hig. Med. doświad., 18, 1964, s. 193.

TYC, Z.: Pozycja klasyfikacyjna pałeczek *Hafnia* w rodzinie *Enterobacteriaceae*. Med. Doświad. Mikrobiol., 3, 1965, s. 185.

ZÁHRADNÍCKÝ, A. a kol.: Mikrobiologické vyšetřovací metody. Bratislava, Osveta 1975.

Došlo dňa 23. 2. 1987

ШЕМРАКОВА, Л. (Государственный ветеринарный институт, Михаловце): **ONPG-тест в скорой диагностике некоторых родов энтеробактерий.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 219-224.

Цель работы состояла в проверке ONPG-теста в дифференциальной диагностике некоторых родов *Enterobacteriaceae* (*Salmonella*, *Citobacter*, *Proteus*), у которых считали его решающим маркером, хотя и многие биохимические тесты у них одинаковы. Результаты можно было оценить через несколько минут, а окончательно — через 6 час. после прививки, что позволило эффективно пользоваться тестом в двух направлениях: как дополнение к классическим тестам для различения сальмонелл от цитобактеров (у которых он дает 100% результат) и как средство регулировки дифференциальной диагностики, где в сопряжении с результатом можно было ориентировать дальнейшие серологические исследования или использовать в скрининге на основе таксономии, применяемой в данном рабочем месте (Эвингова, 1973). Данные типизации поступают в распоряжение уже в течение рабочего дня, что важно при исследовании продуктов питания животного происхождения, когда нужно принять решение между патогеном и условным патогеном. Тестом можно пользоваться и в других областях рациональных бактериологических приемов. Сам перевод значительно экономит время, так как осуществляется прямо из изолированных колоний.

Enterobacteriaceae; дифференциальная диагностика; продукты питания

ŠEMRÁKOVÁ, L. (State Veterinary Institute, Michalovce): **Use of the ONPG Test in the Rapid Diagnosis of Certain Genera of Enterobacteria.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 219-224.

The purpose of the work was to test the use of the ONPG test in the differential diagnosis of some genera of *Enterobacteriaceae* (*Salmonella*, *Citrobacter*, *Proteus*) in the case of which we considered it to be a decisive marker, as many biochemical tests give identical results for them. It was possible to evaluate results after a few minutes and definitively within 6 hours after inoculation, which enabled it to be used effectively in two directions: — as an accessory to the classic test for differentiating *Salmonellas* and *Citrobacteria* (with which it gave 100% results), — in indicating the direction for differential diagnosis, where it was possible on the basis of its result to orientate further serological investigation or its use in screening according to the taxonomy which is used in this institute (Ewing, 1973). The results of the typing are available within the course of a single working day, which is especially important in the examination of foods of animal origin, when it is a matter of deciding between a pathogen and a conditional pathogen. This test can also be used in other areas of rational bacteriological procedures. The very presentation represents a saving of time as it is produced directly from isolated colonies.

Enterobacteriaceae; differential diagnosis; foodstuffs

Adresa autorky:

MVDr. Ľubica Šemráková, Štátny veterinárny ústav, 071 01 Michalovce

VPLYV INZULÍNU NA OBSAH RNK A PROTEÍNOV V LATERÁLNOH A VENTROMEDIÁLNOH HYPOTALAME

P. Noskovič, Š. Mozeš, S. Kuchár, J. Koppel

NOSKOVIČ, P. — MOZEŠ, Š. — KUCHAR, S. — KOPPEL, J. ((Prirodovedká fakulta P. J. Šafárika, Košice; Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice): *Vplyv inzulínu na obsah RNK a proteínov v laterálnom a ventromediálnom hypotalame*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 225-231.

V pokuse sme sledovali vplyv podávania inzulínu (Pur Insulin Neutral, 20 U. kg^{-1} ž. h., s. c.) na obsah ribonukleovej kyseliny a proteínov v laterálnej oblasti hypotalamu (LHA) a vo ventromediálnom jadre hypotalamu (VMH) dospelých samcov potkanov Wistar za podmienok kŕmenia *ad libitum* alebo bez prístupu ku krmivu. Tri hodiny (9.00—12.00 h.) po aplikácii inzulínu sme zaznamenali u zvierat s voľným prístupom ku krmivu signifikantné zvýšenie obsahu RNK a proteínov v LHA ako i zvýšenie spotreby krmiva v porovnaní s kontrolnou skupinou, ktorej sa podával izotonický roztok chloridu sodného. U zvierat bez prístupu ku krmivu neboli zmeny v obsahu RNK a proteínov v LHA zaznamenané. Vo VMH neboli signifikantné zmeny obsahu RNK a proteínov zistené ani u jednej skupiny. Výsledky poukazujú na súvislosť medzi príjmom potravy a aktivovaním LHA. Naznačujú, že inzulín priamo nenavodzuje zmeny obsahu RNK a proteínov v LHA, ale že jeho efekt je sprostredkovaný zvýšeným príjmom krmiva.

centra príjmu potravy; potkan; spotreba krmiva

Aplikácia inzulínu navodzuje hyperfágiu a zvýšenie telesnej hmotnosti u mnohých druhov zvierat i človeka (Silverstone a Besser, 1971; Booth, 1972; Bodá a i., 1973; Mozeš a Kuchár, 1977). Toto zvýšenie príjmu potravy sa prisudzuje sprievodnej hypoglykémii a následnej celulárnej glukopénii (Gieselman a Novin, 1982). Predpokladá sa tiež centrálné pôsobenie inzulínu, na čo poukazuje prítomnosť inzulínu a inzulínových receptorov v CNS, obzvlášť v hypotalame (Havráňková a i., 1978; Sakamoto a i., 1980).

Prítomnosť glukózo-senzitívnych neurónov vo ventromediálnom (VMH) a laterálnom (LHA) hypotalame svedčí o spojitosti metabolizmu glukózy s funkciou týchto štruktúr (Anand a i., 1964). Na možnosť priameho vplyvu inzulínu na hypotalamické „centrá“ príjmu potravy poukazuje aj zvýšená elektrická aktivita neurónov vo VMH a znížená aktivita v LHA po jeho aplikácii (Anand a i., 1964; Hernandez a Gottberg, 1980).

Z literárnych údajov je známe, že obsah ribonukleovej kyseliny (RNK) v neurónoch je vo všeobecnosti ukazovateľom neurálnej aktivity (Hyden a Egyhasi, 1964; Pevzner, 1966; Nováková a i., 1971). Čiže zmena množstva RNK v neurónoch odráža zmenu ich funkč-

nej aktivity (Hyden, 1964; Křeček a i., 1972; Nováková a i., 1974).

Cieľom našej práce bolo sledovať vplyv podania inzulínu na obsah RNK a proteínov vo VMH a LHA u potkanov s voľným prístupom ku krmivu a bez prístupu ku krmivu po aplikácii.

MATERIÁL A METÓDY

Experiment sme robili na dospelých potkanoch samcoch (300–350 g) kmeňa Wistar. Pokusnej skupine ($n = 26$), ktorá bola rozdelená na dve podskupiny A a B, sme aplikovali inzulín 20 U.kg⁻¹ ž. h., s. c. (Pur Insulin Neutral, Léčiva, Praha, 40 U/ml) o 9.00 hodine. A skupina mala po celý čas voľný prístup ku krmivu a vode, skupine B bolo po aplikácii odobraté krmivo a mala k vode voľný prístup. Kontrolnej skupine, ktorá mala celý čas voľný prístup ku krmivu a vode, sme aplikovali s. c. 0,2 ml izotonického roztoku chloridu sodného. Tri hodiny po aplikácii sme všetky zvieratá dekapitovali, mozgy do jednej minúty vybrali, zamrazili (–20 °C) a vo frontálnej polohe 1 mm od kaudálneho konca skríženia optického nervu sme kaudálnym smerom narezali (4 × 400 µm rezy). Oblasť VMH, LHA a cortexu sme z uvedených rezov separovali pomocou preparačného stereomikroskopu a mikrodisekčnej metódy.

Histologickú kontrolu správnosti separácie príslušnej oblasti sme robili po fixácii Carnoyovým roztokom a ofarbení hematoxylin-eozínom. RNK a DNK sme stanovili metódou, ktorú opisali Karsten a Wollenberger (1977) a modifikovali Koppel a i. (1981) pri excitačnej vlnovej dĺžke 330 nm a emisnej dĺžke 585 nm.

Proteíny sme stanovili spektrofotometricky Lowryho metódou v modifikácii podľa Petersona (1977).

Obsah RNK bol vyjadrený pomerom RNK/DNK a obsah bielkovín pomerom proteín/DNK.

Spoireba vody a krmiva bola meraná po troch hodinách od aplikácie s presnosťou ± 0,1 g, resp. 0,1 ml.

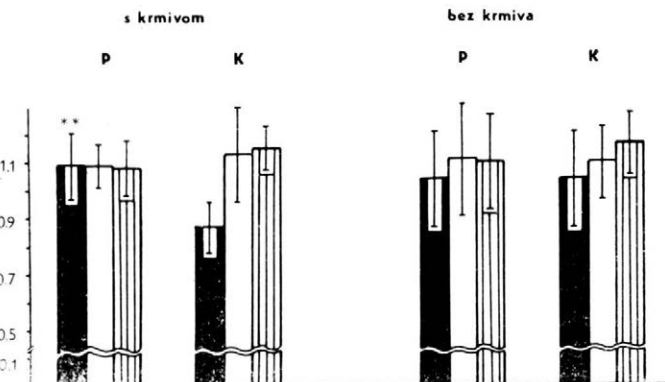
VÝSLEDKY

U pokusných zvierat s voľným prístupom ku krmivu a vode sme zaznamenali signifikantné zvýšenie príjmu potravy ($p < 0,001$) po aplikácii inzulínu v porovnaní s kontrolnou skupinou zvierat (tab. I). Zistili sme signifikantne ($p < 0,01$) zvýšený obsah RNK (vyjadrený pomerom RNK/DNK) a proteínov ($p < 0,01$) (vyjadrený pomerom proteín/DNK) v laterálnej hypotalamickej oblasti u experimentálnej podskupiny A (s voľným prístupom ku krmivu po aplikácii inzulínu) v porovnaní s kontrolnou skupinou (obr. 1, 2). U experimentálnej podskupiny B

I. Spotreba krmiva a vody meraná tri hodiny po aplikácii inzulínu (9.00–12.00 hodín) (20 U.kg⁻¹ ž. h.) a izotonického roztoku chloridu sodného (výsledky sú udávané ako aritmetické priemery ± S.E.M.; +++ = $p < 0,001$) — Feed and water consumption measured three hours after the administration of insulin (9.00–12.00 h) (20 U per kg l. w.) and the isotonic solution of sodium chloride (the results are given as arithmetical means ± S.E.M.; +++ = $p < 0,001$)

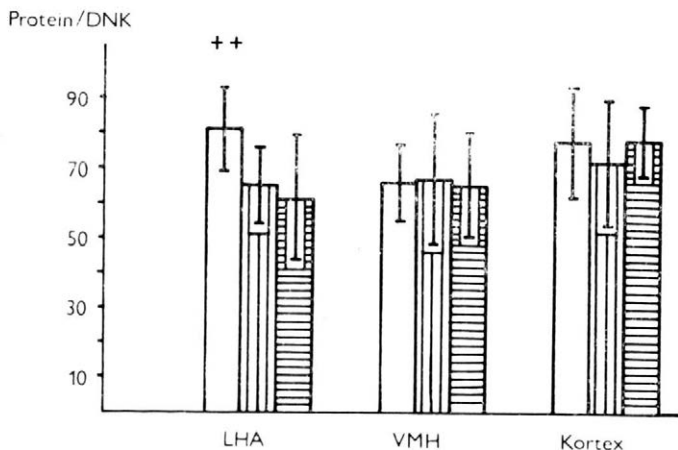
	Spotreba krmiva (g)	Spotreba vody (ml)
Pokusné	1,445 ± 0,79 ⁺⁺⁺	5,0 ± 1,732 ⁺⁺⁺
Kontrolné	0,3 ± 0,304	2,461 ± 1,56

1. Obsah RNK (vyjadrený pomerom RNK/DNK v laterálnej oblasti hypotalamu ■, vo ventromediálnom jadre hypotalamu □ a v corteze □) po troch hodinách od s. c. aplikácie inzulínu (20 U . kg⁻¹ ž. h.) a izotonického roztoku chloridu sodného (výsledky sú udávané ako aritmetické priemery ± S. E. M.; P — aplikácia inzulínu, K — aplikácia izotonického roztoku chloridu

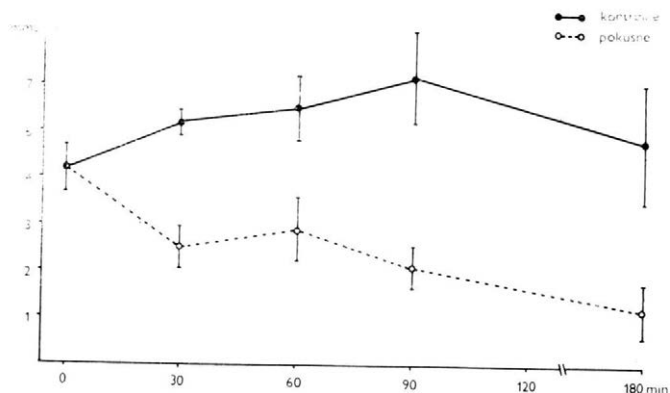


sodného, ++ = $p < 0.01$) — The content of RNA (expressed by the RNA/DNA ratio) in the lateral part of hypothalamus ■, in the ventromedial hypothalamus nucleus □, and in the cortex □) three hours after s. c. administration of insulin (20 U per kg of live weight) and the isotonic solution of sodium chloride (the results are given as arithmetical means ± S. E. M.; P — insulin administration, K — administration of isotonic sodium chloride solution, ++ = $p < 0.01$)

2. Obsah proteínu (vyjadrený pomerom proteín/DNK) po aplikácii inzulínu (20 U . kg⁻¹ ž. h.) za podmienok kŕmenia *ad libitum* □, bez prístupu ku krmivu □ a po aplikácii izotonického roztoku chloridu sodného □ (výsledky sú udávané ako aritmetické priemery ± S. E. M.; ++ = $p < 0.01$) — The content of protein (expressed as the protein/DNA ratio) after insulin administration (20 U per kg l. w.) in rats with *ad libitum* access to feed □, without access to feed □ and after administration of isotonic sodium chloride solution □ (the results are given as arithmetical means ± S. E. M.; ++ = $p < 0.001$)



3. Hladina krvnej glukózy po aplikácii inzulínu (20 U . kg⁻¹ ž. h.) za podmienok *ad libitum* (výsledky sú udávané ako aritmetické priemery ± S. E. M.) — The contents of blood glucose after the administration of insulin (20 U per kg l. w.) in rats with *ad libitum* access to feed (the results are given as arithmetical means ± S. E. M.)



{krmivo odobraté po aplikácii inzulínu} sa obsah RNK a proteínov v LHA oproti kontrole nezvýšil.

Vo VMH a v cortexe neboli zistené významné rozdiely v obsahu RNK a proteínov medzi pokusnými podskupinami a kontrolnou skupinou zvierat.

Výsledky naznačujú, že aplikácia inzulínu zvýšenie obsahu RNK a proteínov v študovaných hypotalamických oblastiach priamo nena-
vodzuje, ale že tento efekt je len sekundárny a súvisí s následnou hyperfágiou.

DISKUSIA

Subkutánna aplikácia inzulínu v priebehu prvej polovice dennej periódy navodila hyperfágiu, čo je v súlade s literárnymi údajmi (P a n k - s e p p, 1973; M o z e š a i., 1977). Zvýšenie príjmu potravy ako i hĺbka hypoglykémie závisia od podanej dávky (M o z e š a i., 1977). Nami použitá dávka ($20 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h.) bola už dostatočná na navodenie oboch efektov (obr. 3, tab. I). Po podaní inzulínu zvieratám držaným za podmienok kŕmenia *ad libitum* sme oproti kontrolnej skupine zvierat zaznamenali zvýšenie obsahu RNK a proteínov v LHA. Zdá sa, že táto oblasť, predstavujúca súčasť štruktúr CNS zapojených do kontroly príjmu potravy, reaguje (v interakcii s inými štruktúrami) na aktuálne nutričné zmeny organizmu. Avšak efekt inzulínu na obsah RNK je zrejme sekundárny. Potvrdzuje to skutočnosť, že jeho bezprostrednú reguláciu transportu a metabolizmu v mozgu vylučuje veľmi pomalý prítok inzulínu mozgovomiešnou tekutinou (M a r g o l i s a A l t s z u l e r, 1976; W o o d s a P o r t e, 1977). Sú dôkazy o tom, že inzulín môže pôsobiť na metabolizmus glukózy v mozgu (M e l l e r u p a R a f a e l s e n, 1969), syntézu glykogénu a aminokyselín (D a n i e l a i., 1977) pri prechode cez mozgovo-krvnú bariéru.

Skutočnosť, že zvýšenie obsahu RNK a proteínov bolo zistené len u skupiny s voľným prístupom ku krmivu, zatiaľ čo u pokusných zvierat, ktoré mali po aplikácii inzulínu odobraté krmivo, sa hladina RNK a proteínov prakticky nezmenila, hovorí v prospech nepriameho pôsobenia.

Zvýšenie obsahu RNK v LHA následkom hyperfágie je v súlade s našimi predchádzajúcimi výsledkami (nepublikované údaje). Zistili sme najvyšší obsah RNK v LHA v čase prirodzene najvyššej spotreby krmiva v priebehu cirkadiálneho režimu. Teda obsah RNK v LHA je v pozitívnej korelácii s príjmom potravy.

Zvýšenie obsahu proteínov v LHA je v súlade so zistením, že obsah RNK v tkanivách odráža v podstate ich intenzitu proteosyntézy (M u n - r o, 1972). Avšak trojhodinový časový interval sa zdá byť príliš krátkym časovým úsekom, aby mohlo dôjsť k významne zvýšenej syntéze proteínov. Do úvahy by prichádzala možnosť vyplavenia určitých frakcií proteínov z tejto oblasti alebo jej inhibícia. Vo VMH sme rozdiely v obsahu RNK a proteínov medzi pokusnými skupinami navzájom a v porovnaní s kontrolnou skupinou zvierat nezistili. Predpokladáme, že táto oblasť je zapojená do regulácie príjmu potravy s dlhším časovým intervalom, čo je v súlade s Kennedyho teóriou (K e n n e d y, 1972), že primárnou funkciou VMH je stabilizácia telových tukových zásob. Nasvedčuje tomu i zistenie autorov Š i m k o v á a i. (1979), ktorí zaznamenali

zmeny elektrickej amplitúdy vo VMH a LHA u potkanov kŕmených vysokotukovou a vysokoproteínovou diétou. LHA reagovalo na vysoký obsah proteínov a VMH na vysoký obsah tukov v diéte. To súčasne naznačuje aj ich rozdielnú úlohu v chemošpeciálnej kontrole príjmu potravy. O špeciálnej súvislosti zmien obsahu RNK a proteínov v LHA s kontrolou príjmu potravy svedčí i relatívne stály obsah RNK v cortexe, ktorý predstavuje oblasť, ktorá nie je priamo zapojená do kontroly príjmu potravy.

Výsledky experimentu naznačujú, že podanie inzulínu priamo nevyvoláva zmeny obsahu RNK a proteínov v hypotalamických oblastiach (zapojených do kontroly príjmu potravy), ale že tento efekt je navodený cestou zvýšeného príjmu potravy. Potvrdzuje sa tiež predpoklad, že laterálna oblasť hypotalamu reaguje na aktuálne nutričné zmeny organizmu, kdežto ventromediálne jadro reaguje na podnety dlhodobjšieho charakteru (zvýšenia obsahu RNK vo VMH po 24 a 48 hodinách hladovania — nepublikované údaje).

Literatúra

- ANAND, B. K. — CHHINA, G. S. — SHARMA, K. N. — DUA, S. — SINGH, B.: Activity of single neurons of hypothalamic feeding centers: Effect of glucose. *Amer. J. Physiol.*, 207, 1964, s. 1146-1154.
- BOĎA, K. — KUCHÁR, S. — RYBOŠOVÁ, E.: Vplyv odstupňovaných dávok inzulínu na váhové prírastky u husí. *Veter. Čas.*, 15, 1973, s. 79-85.
- BOOTH, D. A.: Modulation of the feeding response to peripheral insulin, 2-deoxyglucose or 3-O-methyl glucose injection. *Physiol. Behav.*, 8, 1972, s. 1069-1076.
- DANIEL, P. M. — LOVE, E. R. — PRATT, O. E.: The influence of insulin upon the metabolism of glucose by the brain. *Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B, Biol. Sci.*, 196, 1977, s. 85-104.
- GIESELMAN, P. — NOVIN, D.: Sugar infusion can enhance feeding. *Science*, 218, 1982, s. 409-491.
- HAVRÁNKOVÁ, J. — SCHMECHEL, D. — ROTH, J. — BROWNSTEIN, M.: Identification of insulin in rat brain. *Proc. nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 75, 1978, s. 5737-5741.
- HERNANDEZ, L. — GOTTBORG, E.: Systemic insulin decreases lateral hypothalamic unit activity. *Physiol. Behav.*, 25, 1980, s. 981-984.
- HYDEN, H.: RNA-A functional characteristic of the neuron and its glia. *Brain function*, Vol. 2. RNA and brain function, memory and learning. Ed M. A. B. BRAZIER. Berkeley and Los Angeles, Univ. of California Press 1964, s. 29-68.
- HYDEN, H. — EGYHÁSI, E.: Changes in RNA content and base composition in cortical neurons of rats in a learning experiment involving transfers of handedness. *Proc. nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 52, 1964, s. 1030-1035.
- KENNEDY, G. C.: The regulation of food intake. *Adv. psychosom. Med.*, 7, 1972, s. 91-99.
- KOPPEL, J. — KUCHÁR, S. — MOZEŠ, Š. — BOĎA, K.: Nucleic acids and protein content of some fetal neonatal rat organs after insulin treatment. *Endocrinologie*, 77, 1981, s. 95-100.
- KŘEČEK, J. — NOVÁKOVÁ, V. — STIBRAL, E.: Sex differences in the taste preference for a salt solution in the rat. *Physiol. Behav.*, 8, 1972, s. 183-188.
- MELLERUP, E. T. — RAFAELSEN, O. J.: Brain glycogen after intracisternal insulin injection. *J. Neurochem.*, 16, 1969, s. 771-781.
- MOZEŠ, Š. — KUCHÁR, S.: Prírastky hmotnosti krýs v rozdielnom veku po podávaní inzulínu. *Veter. Med. (Praha)*, 22, 1977, s. 569-572.
- MOZEŠ, Š. — KUCHÁR, S. — BOĎA, K.: Hypoglycaemia and food intake in rats given graduated doses of insulin. *Physiol. bohemoslov.*, 26, 1977, s. 159-164.
- MARGOLIS, R. U. — ALTSZULER, N.: Insulin in the cerebrospinal fluid. *Nature*, 215, 1967, s. 1375-1376.

MUNRO, H. N.: Amino acid requirements and utilization by individual mammalian tissues. In: Protein and amino acid functions. Ed. BIOWOOD, E. J. Oxford, Pergamon Press 1972, s. 166-178.

NOVÁKOVÁ, V. — SANDRITTER, W. — KŘEČEK, J. — OŠTADALOVÁ, J.: Sexual differences in total RNA content of rat brain cells of medial hypothalamus and hippocampus. *Beitr. Path.*, 143, 1971, s. 295-300.

NOVÁKOVÁ, V. — FLANDERS, V. — SANDRITTER, W.: Aggressive rats: some properties of learning, memory and of the limbic system. *Pharmac. Biochem. Behav.*, 2, 1974, s. 729-733.

PANKSEPP, J.: A reanalysis of feeding patterns in the rat. *J. comp. Physiol. Psychol.*, 82, 1973, s. 78-94.

PETERSON, G. L.: A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analyt. Biochem.*, 83, 1977, s. 346-356.

PEVZNER, L. Z.: Nucleic acid changes during behavioral event. In: *Macromolecules and Behavior*. Ed. J. GAITO. New York, Appleton-Century-Crofts 1966, s. 43-70.

SAKAMOTO, Y. — OOMURA, Y. — KITA, H. — SHIBATA, S. — SUZUKI, S. — KUZUYA, T. — YOSHIDA, S.: Insulin content and insulin receptors in the rat brain. Effect of fasting and streptozotocin treatment. *Biomed. Res.*, 1, 1980, s. 334-340.

SILVERSTONE, T. — BESSER, M.: Insulin, blood and hunger. *Postgrad. Med. J.*, 47, 1971, s. 427-429 (suppl.).

SIMKOVÁ, D. — KOSTA, K. — BOŇA, K.: Study of electrical activity in the area of the hypothalamic ventromedial nucleus and the lateral hypothalamus of rats fed on a high proteins and high fat diet. *Physiol. bohemoslov.*, 28, 1979, s. 11-16.

WOODS, S. C. — PORTE, D.: Relationship between plasma and cerebrospinal fluid insulin levels of dogs. *Amer. J. Physiol.*, 233, 1977, s. E331-E334.

Došlo dňa 22. 6. 1987

НОСКОВИЧ, П. — МОЗЕШ, Ш. — КУХАР, С. — КОППЕЛ, Ю. (Биологический факультет П. И. Шафарика, Кошице; Институт физиологии сельскохозяйственных животных САН, Кошице): Влияние инсулина на содержание РНК и протеинов в боковой и вентромедиальной частях мозга под зрительным бугром. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (4) : 225-231.

В опыте мы наблюдали влияние дозировки инсулина (Pur Insulin Neutral, 20 U. кг⁻¹ ж. м., п. к.) на содержание РНК и протеинов в латеральной области гипоталамуса (ЛГА) и в вентромедиальном ядре гипоталамуса (ВМГ) взрослых самцов серых крыс Wistar в условиях *ad libitum* или без доступа к корму. Три часа (9.00—12.00 час.) после назначения инсулина мы отметили у животных со свободным доступом к корму значительное повышение содержания РНК и протеинов в ЛГА как и повышение потребления кормов в сравнении с контрольной группой, которой назначался изотонический раствор хлористого натрия. У животных без доступа к корму изменения в содержании РНК и протеинов не были обнаружены. В ВМГ не было значительных изменений содержания РНК и протеинов обнаружено ни у одной из групп. Результаты указывают на зависимость между приемом пищи и активированием ЛГА. Назначают, что инсулин прямо не вызывает изменений содержания РНК и протеинов в ЛГА, но что его эффект обусловлен повышением приема кормов.

центры приема пищи; серая крыса; потребление корма

NOSKOVIČ, P. — MOZES, Š. — KUCHÁR, S. — KOPPEL, J. (Faculty of Science of P. J. Šafárik University, Košice; Institute of Farm Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice): *The Effect of Insulin on RNA and Protein Contents in the Lateral and Ventromedial Hypothalamus*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (4) : 225-231.

A trial was conducted to study the effect of the administration of insulin (Pur Insulin Neutral, 20 U per kg l. w., s. c.) on the contents of ribonucleic acid and proteins in the lateral hypothalamus part (LHA) and in the ventromedial hypothalamus nucleus (VMH) of the adult Wistar rats under the conditions of *ad libitum*

access to feed or without access to feed. Three hours after insulin administration (9.00—12.00 h), significant increases of RNA and protein contents in LHA were recorded in the animals with the free access to feed, and their feed intake was also higher than in the control group, where the animals were given an isotonic solution of sodium chloride. No changes in the content of RNA and protein in LHA were found in the animals having no access to feed. As for RNA and protein contents in the VMH, no significant changes were recorded in any of the groups. The results suggest that there is a relationship between feed intake and LHA activity. The insulin does not directly induce changes in RNA and protein contents in LHA: its effect is mediated by increased feed intake.

centres for feed intake; Norway rat; feed consumption

NOSKOVIČ, P. — MOZEŠ, Š. — KUCHÁR, S. — KOPPEL, J. (Naturwissenschaftliche Fakultät der P. J. Šafárik-Universität, Košice; Institut für Physiologie landwirtschaftlicher Nutztiere der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Košice): *Einfluß von Insulin auf den Gehalt der RNS und Proteine im lateralen und ventromedialen Hypothalamus*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 225-231.

In unserem Versuch studierten wir den Einfluß der Applikation von Insulin (Pur Insulin Neutral, 20 U.kg⁻¹ Lebendmasse, s. c.) auf den Gehalt der Ribonukleinsäure und der Proteine in der lateralen Area des Hypothalamus (LHA) und im ventromedialen Kern des Hypothalamus (VMH) bei geschlechtsreifen Männchen der Wistar-Ratten u. zw. unter Bedingungen *ad libitum* oder ohne Zugang zum Futter. Drei Stunden nach der Insulinapplikation (9.00—12.00 Uhr) verzeichneten wir bei den Tieren mit freiem Zugang zum Futter eine signifikante Erhöhung des RNS- und Proteingehalts in der LHA sowie einen erhöhten Futterverbrauch gegenüber der Kontrollgruppe, der nur eine isotonische Natriumchloridlösung verabreicht wurde. Bei den Tieren mit verhinderter Zutritt zum Futter wurden keine Veränderungen des RNS- und Proteingehalts in der LHA festgestellt. Im VMH wurden signifikante Veränderungen des RNS- und Proteingehalts in keiner der Gruppen festgestellt. Die Ergebnisse weisen auf einen Zusammenhang zwischen der Futteraufnahme und der Aktivierung der LHA hin. Sie deuten an, daß das Insulin Veränderungen des RNS- und Proteingehalts in der LHA nicht direkt veranlaßt, sondern daß sein Effekt durch erhöhte Futteraufnahme vermittelt wird.

Zentren der Futteraufnahme; Ratte; Futterverbrauch

Adresy autorov:

MVDr. Peter Noskovič, Prírodovedecká fakulta univerzity P. J. Šafárika, Moyzesova ul. č. 11, 040 00 Košice

MVDr. Štefan Mozeš, CSc., MVDr. Stanislav Kuchár, CSc., MVDr. Juraj Koppel, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Dukelských hrdinov 1 B, 040 00 Košice

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 5/1988 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- D. Gajdošík: Koncentrácia acetónu v mlieku kráv po otelení v chovoch Západoslovenského kraja
- J. Sabo, A. Hudač, E. Fendtová: Ekológia nesporujúcich baktérií vo vzťahu k *dermatitis digitalis* u hovädzieho dobytku
- J. Raszyk, J. Mašek, H. Dočekalová: Obsahy chemických prvků ve štětinách výkrmových prasat
- B. Pástorová, J. Arendarčík, M. Molnárová, A. Staníková: Hladiny katecholamínů v hypotalame oviec v estrickom období po hormonálnej stimulácii PMSG v kombinácii s vitamínom A
- M. Baran: Bachorová fermentácia oviec pri súčasnom podávaní monenzínu a pektinázy
- V. Jambor, E. Keňová: Hladiny těkavých mastných kyselin a aktivita celulázy v bachorové tekutině při zkrmování substrátu po pěstování hlívy ušticné (*Pleurotus ostreatus*)
- M. Tokošová, J. Pleva: Vplyv stimulatorov rastu na zdravotný stav a rastovú aktivitu brojlerov
- M. Zeman, J. Šaulič, J. Benková: Farmakologické prerušenie kvokania moriek aplikáciou antiestrogénu klomifén citrátu

IMUNOSTIMULAČNÝ ÚČINOK NEŠPECIFICKÉHO TRANSFEROVÉHO FAKTORA NA T A B DEPENDENTNÉ LYMFOCYTY MORČIAT V OCHRANNOM EFEKTE PRI ASKARIDÓZE

Z. Borošková, M. Benková, K. Čech, J. Pekárek

BOROŠKOVÁ, Z. — BENKOVÁ, M. — ČECH, K. — PEKÁREK, J. (Helmintologický ústav SAV, Košice; Ústav sér a očkovacích látok, Praha): *Imunostimulačný účinok nešpecifického transferového faktora na T a B dependentné lymfocyty morčiat v ochrannom efekte pri askaridóze*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 233-240.

Sledovali sme imunomodulačný účinok nešpecifického bovinného transferového faktora (TF; výrobca: ÚSOL, Praha) na T a B dependentné lymfocyty v lymfoidných orgánoch morčiat (slezina, hepatálne, mediastinálne, mezenterálne lymfatické uzliny) pri experimentálnej askaridóze. Zistili sme, že skúmaná látka signifikantne zvyšuje hladinu T bunkovej populácie vo všetkých lymfoidných orgánoch ($P < 0,01$) a B bunkovej populácie v troch lymfoidných orgánoch (slezina pri $P < 0,01$, hepatálne pri $P < 0,05$, mezenterálne lymfatické uzliny pri $P < 0,01$) už v ranej fáze invázneho procesu. Ochranný efekt (OE) nešpecifického transferového faktora, hodnotený redukciou počtu migrujúcich lariev askaríd v pľúcach hostiteľov, bol 37,2 % (pri špecifickom TF možno očakávať zvýšenie OE).

lymfoidné orgány; experimentálna askaridóza; *Ascaris suum*

Jednou z perspektívnych ciest imunoprofylaxie a imunoterapie helmintóz je zvyšovanie reaktivity hostiteľov imunomodulačnými látkami. Spomedzi nich sa stále väčší význam pripisuje transferovému faktoru (TF). Účinok tohto nízkomolekulárneho dialyzátoru z leukocytov spočíva hlavne v pôsobení na imunitné reakcie sprostredkované bunkami. Okrem pôsobenia TF na chemotaxiu a blastogénu lymfoidných buniek, produkciu aktívnych mediátorov a iné účinky má táto látka schopnosť regulovať hladiny T a B dependentných lymfocytov (Sherwood, 1974; Platz a i., 1976; Kleisius a Kirpatrick, 1983). Priaznivo ovplyvňuje i kooperáciu medzi týmito dvoma bunkovými populáciami (Sherwood, 1974).

Imunomodulačné vlastnosti transferového faktora boli potvrdené aj pri niektorých helmintózach zvierat. Pri enterostrongylátach prežúvavcov a morčiat študovali účinok tohto imunologicky aktívneho mediátora Ross a i. (1979), Ross a Halliday (1979, 1982), Mackenzie a i. (1982), Hunter a i. (1983) a ďalší. Uvedení autori dokázali, že preventívna aplikácia transferového faktora (pred experimentálnou inváziou zvierat) znižuje u hostiteľov (oviec a hovädzieho dobytku) intenzitu invázie týmito helmintami a redukuje počet vajčiek vo fekáliách. Pri aplikácii imunoglobulínov zo séra imúnnych hostiteľov a špecifických antigénov sa účinok transferového faktora zintenzívnil. Efektívnosť TF potvrdili aj Maddison a i. (1976) pri experimentálnej schistozomóze opíc.

Účinok uvedenej látky na T a B dependentné lymfocyty pri helmintózach doteraz nebol širšie skúmaný. Hunter a i. (1983) opísali špecifické imunocelulárne zmeny v sleze po aplikovaní TF pri experimentálnej hemonchóze jahniat. Imunitnú odpoveď spojenú s podaním tohto mediátora charakterizovali ako neskorú lokálnu hypersenzitívnu reakciu, pri ktorej okrem zmnoženia eozinofilov, bazofilov a žirných buniek dochádza ku kumulácii lymfocytov v sleze.

Cieľom práce bolo overiť nešpecifický účinok bovinného transferového faktora na hladinu T a B dependentných lymfocytov v lymfoidných orgánoch morčiat pri experimentálnej askaridóze.

MATERIÁL A METÓDY

ZVIERATÁ A USPORIADANIE POKUSOV

Pre pokusy sme použili 70 morčiat o priemernej hmotnosti 250 g (VELAZ, Praha Lysolaje), rozdelených na pokusnú skupinu (30 morčiat) a kontrolnú skupinu (30 morčiat), v ktorých sme T a B lymfocyty sledovali v týchto lymfoidných orgánoch: slezina — S; lymfatické uzliny: hepatálne — H, mediastinálne — Md, mezenterálne — Mz, a to bezprostredne pred aplikovaním TF (nultý deň) a v 1., 2., 5., 7., 9., 12., 15., 19. a 22. dni po invadovaní. Na zostávajúcich desiatich morčatách (druhá pokusná a kontrolná skupina) sme vyhodnotili ochranný efekt bovinného transferového faktora (vývojový výrobok ÚSOL, Praha).

Pokusnej skupine zvierat (30 ks) sme 24 hodín pred experimentálnou inváziou vajíčkami *Ascaris suum* (3000 vajíčok na morča) aplikovali jednorazovo s. c. transferový faktor získaný zo 150 miliónov buniek lymfatických uzlín zdravého hovädzieho dobytká.

Kontrolná skupina predstavovala morčatá (30 ks) experimentálne invadované vajíčkami *A. suum* (bez aplikovania TF).

Ochranný efekt transferového faktora, t. j. vplyv na redukcii počtu migrujúcich lariev v pľúcach, sme vyhodnotili u piatich morčiat experimentálne invadovaných 3000 vajíčkami *A. suum* na jedno morča (po predchádzajúcom podaní transferového faktora v už uvedenej dávke). Kontrolnú skupinu pritom tvorilo päť morčiat (experimentálne invadovaných vajíčkami toho istého druhu helminta bez aplikácie TF). Siedmy deň po invázii sme všetkých desať morčiat zabili a larvy z pľúc sme získali Baermannovou metódou.

PRÍPRAVA NEŠPECIFICKÉHO BOVINNÉHO TRANSFEROVÉHO FAKTORA

(Čech a Pekárek, 1986 — nepublikované)

Transferový faktor bol pripravený z uzlín zdravých jatočných zvierat. Po predchádzajúcej homogenizácii a deštrukcii tkaniva opakovaným zmrazovaním a rozmrazovaním bola bunková suspenzia dialyzovaná a zahustená lyofilizáciou. Po resuspendovaní a sterilizácii filtráciou bol preparát upravený tak, že jedna dávka odpovedala 1×10^9 leukocytov.

IZOLÁCIA MONONUKLEÁRNYCH BUNIEK Z ORGÁNOV

(Procházková, 1979)

Bunkovú suspenziu sme získali zhomogenizovaním vzoriek jednotlivých orgánov (o hmotnosti 1 až 2 g) vo vychladenom médiu (M 199) o pH 7,2.

E-ROZETOVÁ METÓDA (Stadecker a i., 1973)

0,1 ml čistej suspenzie izolovaných lymfoidných buniek v koncentrácii 10^6 sme zmiešali s rovnakým objemom bovinného fetálneho séra (Vysoká škola veterinárni, pracovisko špeciálnych kultivačných sér, Brno) a s dvojnásobným objemom suspenzie králičích erytrocytov stabilizovaných päť dní v Alseverovom roztoku. Pomer králičích erytrocytov a lymfocytov bol upravený na 50 : 1.

Pri stanovení B lymfocytov na základe ich receptorov pre komplement sme dodržiavali postup uvedeného autora s tým rozdielom, že namiesto myšacieho komplementu sme pracovali s čerstvým morčacím komplementom v titrovej hodnote 1 : 320, ktorá sa nám osvedčila v predchádzajúcej práci (Borošková a i., 1982).

Štatistickú významnosť priemerných hodnôt T a B lymfocytov v pokusnej a kontrolnej skupine morčiat sme hodnotili testom rozdielu relatívnych hodnôt (Reisenauer, 1970).

VÝSLEDKY

Hodnoty percentuálneho zastúpenia obidvoch bunkových populácií (T a B) detekovaných rozetovými metódami (E a EAC) v pokusnej a kontrolnej skupine morčiat uvádzame v tab. I. Priemerné hodnoty týchto imunocelulárnych elementov pri každom dni sú výsledkom testovania vždy troch morčiat.

POKUSNÁ SKUPINA

a) Veľmi nápadné zvýšenie hodnôt buniek formujúcich E rozety (T bunky) sme oproti nultému dňu (= čitateľ zlomkov) zaznamenali už v prvom dni po invázii (= menovateľ zlomkov), a to vo všetkých testovaných orgánoch (S — 35/72 %, uzliny: H — 25/80 %, Md — 30/55 %, Mz — 30/67 %), ktoré pokračovalo aj v ďalšom, t. j. druhom dni odberu a dosiahlo maximálne hodnoty v piatom dni po invázii v hepatálnych (87 %) a v mezenterických uzlinách (91 %), v siedmom dni v slezine (83 %) a mediastinálnych uzlinách (86 %).

Po tomto maxime sme zaznamenali pri ďalších dvoch odberoch — v 9. a 12. dni po invázii — mierny pokles hodnôt vo všetkých orgánoch. Výraznejší pokles hodnôt tejto bunkovej populácie sa prejavil v ďalších odberoch — v 15. a 19. dni po invázii — a pokračoval aj v poslednom odbere, t. j. v 22. dni po invázii. Pri poslednom odbere bolo percentuálne zastúpenie buniek v porovnaní s nultým dňom oveľa vyššie (S — 50 %, uzliny: H — 50 %, Md — 36 %, Mz — 40 %), takže T lymfocyty sa na konci sledovania nevrátili k východiskovým hodnotám.

b) Mierne „zvýšenie“ B bunkovej populácie s receptormi pre komplement (EAC rozety) sme zaznamenali v prvom dni po invázii v slezine (17/20 %) a v mezenterických uzlinách (20/21 %), v druhom dni v hepatálnych (18/20 %) a v mediastinálnych uzlinách (19/22 %).

Percentuálne zastúpenie týchto buniek sa zreteľne zvýšilo v ďalších dvoch odberoch, t. j. v piatom a siedmom dni po invázii. Išlo o maximálne hodnoty v H-uzlinách (18/30 %) a v Mz-uzlinách (20/32 %), zatiaľ čo v slezine a v mediastinálnych uzlinách sme maximálne hodnoty zistili v 12. dni po invázii (S — 17/34 %, uzliny Md — 19/35 %).

V 19. a 22. dni po invázii hodnoty B buniek poklesli vo všetkých orgánoch, pričom podobne ako pri T bunkách bez návratu k východiskovým hodnotám.

KONTROLNÁ SKUPINA

a) U kontrolnej skupiny invadovaných morčiat (bez aplikácie transferového faktora) sme zistili miernejšie zvyšovanie hladiny T buniek vo

I. Priemerné percentuálne hodnoty T a B lymfocytov (detekovaných E a EAC rozetovými metódami) v lymfoidných orgánoch morčiat po aplikácii hovädzieho transferového faktora a po experimentálnej invázii vajíčkami *Ascaris suum* — The average percentual values of the T and B lymphocytes (detected by the E and EAC rosette methods) in the lymphoid organs in guinea pigs after the administration of the bovine transfer factor after experimental invasion by the eggs of *Ascaris suum*

Metódy	Vyšetrované orgány	Deň odberu																			
		0	1	2	5	7	9	12	15	19	22	1	2	5	7	9	12	15	19	22	
		Hodnoty buniek pokusnej skupiny v ‰										Hodnoty buniek kontrolnej skupiny v ‰									
E rozety (T bunky)	H	25	80	84	87	79	78	75	60	60	50	25	30	36	49	47	35	30	26	26	
	S	35	72	75	81	83	82	80	70	55	50	36	37	39	48	37	36	36	36	36	
	Md	30	55	65	81	86	84	81	55	45	36	30	33	34	46	42	40	40	41	33	
	Mz	30	67	78	91	80	75	75	67	50	40	32	35	35	48	36	32	32	32	32	
EAC rozety (B bunky)	H	18	18	20	23	30	30	33	30	25	25	18	20	25	26	29	20	20	18	18	
	S	17	20	22	27	31	33	34	33	33	28	18	20	20	21	22	19	20	20	20	
	Md	19	19	22	24	26	31	35	30	32	25	23	22	23	27	33	22	22	22	22	
	Mz	20	21	21	30	32	30	30	29	27	27	20	23	23	24	22	20	20	20	20	

H — hepatálne miazgové uzliny

S — slezina

Md — mediastinálne miazgové uzliny

Mz — mezenteriálne miazgové uzliny

Experimentálna invázia: vajíčka *A. suum* v dávke 3000 na morča (pokusná skupina a kontrolná skupina)

Aplikácia transferového faktora: jednorazová aplikácia transferového faktora získaného zo 150 miliónov buniek (pokusná skupina)

všetkých testovaných orgánoch do siedmeho dňa po invázii (S — 36/48 %, uzliny: H — 25/49 %, Md — 30/46 %, Mz — 30/48 %).

b) Mierne zvyšovanie hodnôt B buniek s receptormi pre komplement (EAC rozety) sme zaznamenali v prvom dni — v slezine (17/18 %) a mediastinálnych uzlinách (19/23 %) a v druhom dni po invázii — v hepatálnych (18/20 %) a v mezenterálnych uzlinách (20/23 %).

Maximálne hodnoty B buniek sme zistili v siedmom dni po invázii v uzlinách Mz (20/24 %) a v deviatom dni po invázii v ostatných testovaných orgánoch (S — 17/22 %, uzliny: H — 18/29 %, Md — 19/33 %).

Po kulminácii nastúpila fáza poklesu hodnôt týchto imunocelulárnych elementov, ktorá pokračovala až do 19. dňa po invázii (S — 17/20 %, uzliny: H — 18/18 %, Mg — 19/22 %, Mz — 20/20 %). Posledný deň pokusu, t. j. 22. deň po invázii, sme nezaznamenali ďalší pokles hodnôt B buniek.

Ako vyplýva z údajov uvedených v tab. I, priemerné hodnoty T lymfocytov v pokusnej skupine morčiat v porovnaní s kontrolnou skupinou boli vo všetkých lymfoidných orgánoch signifikantne vyššie ($P < 0,01$). Hladina B lymfocytov v pokusnej skupine zvierat bola signifikantne vyššia v troch lymfoidných orgánoch (S — $P < 0,01$, H — $P < 0,05$, Mz — $P < 0,01$) v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Pri hodnotení ochranného efektu hovädzieho transferového faktora (na základe redukcie počtu migrujúcich lariev škarkaviek v pľúcach invadovaných morčiat) sme zistili, že bol 37,2%.

Redukcia larválnej migrácie v pľúcach morčiat v pokusnej skupine sa v porovnaní s kontrolnou skupinou prejavila i kvantitatívnym znížením patologicko-anatomických zmien pľúcneho tkaniva. Išlo hlavne o menší výskyt petéchií a ekchymóz.

DISKUSIA

Práca sa zamerala na sledovanie imunomodulačného účinku nešpecifického bovinného transferového faktora na T a B dependentné lymfocyty v priebehu migračnej fázy experimentálnej askaridózy morčiat. Vyhodnotil sa tiež ochranný efekt skúmanej látky, t. j. vplyv na redukciu počtu lariev askaríd v pľúcach nešpecifických hostiteľov.

V porovnaní s našimi predchádzajúcimi pokusmi (Benková a i., 1984, 1986), pri ktorých sme sledovali kvantitatívny výskyt obidvoch druhov mononukleárných buniek (T a B) v rovnakých časových intervaloch pri tej istej modelovej helmintóze po podaní vitamínu A a BCG vakcíny, sú hodnoty percentuálneho zastúpenia T buniek prezentované v tejto práci vyššie.

Z toho vyplýva i pomerne široké využitie transferového faktora v terapii primárnych a sekundárnych imunodeficiencií v humánnej medicíne. V tejto súvislosti treba upozorniť na konštatovanie autorov Kleisius a i. (1980), že v doterajších prácach pri experimentálnych helmintózach nie je zmienka, či išlo o stavy imunologickej nedostatočnosti. Ako je známe, askarídy (podobne ako iné druhy helmintov) narúšajú u hostiteľov funkčnú integritu imunitného systému, v dôsledku čoho sa rozvíja sekundárny imunodeficit (Crandall a i., 1978). V našich pokusoch však ani pomerne veľké dávky vajíčok *A. suum* u morčiat nevyvolali imunodeficitný účinok.

Oproti predtým skúšaným imunomodulačným látkam (Benková a i., 1984, 1986) sme zaznamenali rozdiely i v ochrannom efekte TF. Tento efekt bol v porovnaní s TF (37,2 %) pri BCG vakcíne vyšší (50 %) a pri vitamíne A o niečo nižší (36 %).

Je známe, že efektívnosť TF je vyššia, ak má špecifickú povahu. Tak pri experimentálnych enterostromylných prežívavcov overovali Ross a Halliday (1979), Mackenzie a i. (1982) a Hunter a i. (1983) efektívnosť špecifického transferového faktora pripraveného z imunitných donorov. Jeho aplikáciu kombinovali s podaním špecifických imunoglobulínov a antigénov (Mackenzie a i., 1982; Hunter a i., 1983). Uvedené látky zintenzívnili účinok počtu vajčiek helmintov vo fekáliách zvierat a v znížení intenzity invázie. Ross a Halliday (1979) uvádzajú pri experimentálnej hemonchóze oviec po podaní TF zníženie intenzity invázie od 30 do 72 %. Z výsledkov autori dedukovali, že profylaktická aplikácia TF indukuje ochranu mladých jahniat proti enterostromylnému parazitujúcim v sleze. Aktivita TF pritom nápadne pripomína efektorový mechanizmus, ktorý vzniká pri fenoméne self-cure (Stoll, 1929). Jeho podstatou je lokálna neskorá hypersenzitívna reakcia (Hunter a i., 1983).

I keď citovanými autormi dosiahnuté výsledky so špecifickým TF sú zaujímavé, treba poznamenať, že príprava tohto faktoru je ďaleko nákladnejšia ako v prípade nešpecifického a navyše heterológneho prípravku, s ktorým sme dosiahli (podľa našich úvah) tiež pozoruhodné výsledky.

Možnosti prípravy veľkých kvánt nami skúmaného TF (nešpecifického) z lymfatických uzlín hovädzieho dobytku odporazeného na bitúnkoch vytvárajú širšie predpoklady pre jeho výskum a využitie v praxi.

Potencujúci účinok homológneho špecifického bovinného TF na imunitnú reaktivitu bol overený v celom rade prác. Z hľadiska parazitárnych ochorení bol potvrdený jeho protektívny efekt pri experimentálnej ostertagióze hovädzieho dobytku (Ross a i., 1979). Indukoval tiež ochranu proti invázii pri experimentálnej kokcidióze myši (Kleisius a i., 1979), kde jeho profylaktická aplikácia, okrem redukcie počtu oocýst vo fekáliách, znižovala mortalitu a zvyšovala hmotnostné prírastky u hostiteľov. V prípade, ak sa uvedený mediátor podal v deň invázie alebo niekoľko dní po invázii, bola jeho efektívnosť v tomto smere negatívna.

Z výsledkov prezentovaných v tejto práci vyplýva, že skúmaná imunomodulačná látka má stimulačný vplyv na T bunkovú populáciu a v menšej miere i na B bunky. V porovnaní s kontrolnou skupinou (zvieratá len invadované, bez podania transferového faktora) boli hodnoty obidvoch imunocelulárnych elementov v pokusnej skupine vyššie. Uvedené poznatky sú zhodné s prevažne jednoznačne kladnými údajmi o imunopotenčnom efekte tohto mediátora na imunokompetentné bunky pri ochoreniach iného pôvodu (vírusových, bakteriálnych, nádorových a ďalších).

Stimulačný vplyv TF po aplikácii pred experimentálnou inváziou sa prejavil ihneď na začiatku invázneho procesu (prvý resp. druhý deň po invázii). Zvýšené hodnoty buniek v lymfoidných orgánoch sme zaznamenali v celej sledovanej lymforetikulárnej osi (slezina, hepatálne, mediastinálne a mezenterálne uzliny). To svedčí o tom, že po invázii *A. suum* sú aktivizované orgány, ktoré sa prvých 10 až 12 dní zúčast-

ňujú primárnych imunohostiteľských interakcií najväčšou mierou. Tieto interakcie majú podľa autorov K h o u r y a S o u l s b y (1977) pri askaridóze v tomto období výrazne lokálny charakter.

Hlbšie štúdium transférového faktora môže značne prispieť k poznaniu cielenej regulácie imunitnej odpovede pri migračnej fáze askaridózy prasiat. Tento časový úsek sa vyznačuje nielen najpatogénnejším pôsobením pôvodcu danej helmintózy na organizmus hostiteľa, ale aj najvýraznejšími prejavmi získanej imunity.

Literatúra

- BENKOVÁ, M. — BOROŠKOVÁ, Z. — POPLUHÁR, L.: Non-specific increase of cellular immunity by BCG-vaccine during experimental ascaridosis of guinea pigs. *Folia veter.*, 30, 1986, s. 59-70.
- BENKOVÁ, M. — BOROŠKOVÁ, Z. — ROSIVAL, I. — TÓTH, G.: Vplyv vitamínu A na aktiváciu T a B lymfocytov pri helmintózach. In: Zbor. ved. konf. Veterinárne vedy a prax, Košice 5.—6. IX. 1984, č. 1, s. 54-56.
- BOROŠKOVÁ, Z. — BENKOVÁ, M. — ALEXANDER, R.: Celulárne reakcie imunokompetentných sústav nešpecifického hostiteľa pri askaridóze. [Záverečná správa.] Košice, Helmintologický ústav SAV 1982.
- CRANDALL, R. B. — CRANDALL, C. A. — JONES, J. F.: Analysis of immunosuppression during early acute infection of mice with *Ascaris suum*. *Clin. exp. Immunol.*, 33, 1978, s. 30-37.
- HUNTER, A. R. — MACKENZIE, G. — ROSS, J. G.: The effect of transfer factor, parasitic antigen and precipitated immunoglobulin treatments in lambs infected with *Haemonchus contortus*. *Veter. Parasit.*, 13, 1983, s. 45-53.
- HUNTER, A. R. — MACKENZIE, G. — ROSS, J. G.: A comparison of the effect of dialysed and non-dialysed transfer factor preparations on *Haemonchus contortus* infections in young lambs. *Veter. Res. Commun.*, 6, 1983, s. 227-234.
- KHOURY, P. B. — SOULSBY, E. J. L.: *Ascaris suum*: Immune response in the guinea pig. I. Lymphoid cell responses during primary infections. *Exp. Parasit.*, 41, 1977, s. 141-159.
- KLEISIUS, P. H. — KIRPATRICK, CH. H.: Dialyzable leukocyte extract containing transfer factor — its future veterinary medicine. *Immunobiology*, 1983, s. 129-141.
- KLEISIUS, P. H. — FUDENBERG, H. H. — SMITH, C.: Comparative studies on dialyzable leukocyte extracts containing transfer factor. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 3, 1980, s. 247-260.
- KLEISIUS, P. H. — ELSTON, A. L. — CHAMBERS, W. H. — FUDENBERG, H. H.: Resistance to coccidiosis (*Eimeria ferrisi*) in C57BL/6 mice: Effects of immunization and transfer factor. *Clin. Immun. Immunopathol.*, 12, 1979, s. 143-149.
- KOMÁREK, J.: EAC rozetový test. *Imunol. Zprav.*, 2, 1979, s. 29-31.
- MACKENZIE, G. — HUNTER, A. R. — ROSS, J. G.: The effects of treatment with transfer factor, parasitic antigen and precipitated immunoglobulin on the parasitological and histopathological responses in *Haemonchus contortus* infection in lambs under six months of age. *J. Helminth.*, 56, 1982, s. 305-313.
- MADDISON, S. E. — HICKLIN, M. D. — KAGAN, I. G.: *Schistosoma mansoni*: Reduction in clinical manifestations and in worm burdens confined by serum and transfer factor from immune or normal Rhesus monkeys. *Exp. Parasit.*, 39, 1976, s. 29-39.
- PLATZ, P. — GROB, P. J. — JONSSON, V. — LORENZEN, I. — THOMSEN, M.: Transfer factor, sarcoidosis and cellular immunity. *Acta path. microbiol. scand.*, 84, 1976, s. 68-70.
- PROCHÁZKOVÁ, J.: Separace lymfocytů verografinem. *Imunol. Zprav.*, 2, 1979, s. 17-19.
- REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace. Praha, SNTL 1970.
- ROSS, J. G. — HALLIDAY, W. G.: Investigations of transfer factor activity in the transfer of immunity to *Trichostrongylus axei* infections in sheep. *Res. veter. Sci.*, 26, 1979, s. 41-46.
- ROSS, J. G. — HALLIDAY, W. G.: Investigations of transfer factor activity in immunity to *Ostertagia circumcinata* and *Trichostrongylus colubriformis* infection in sheep. *J. Parasit.*, 4, 1979, s. 281-284.

ROSS, J. G. — HALLIDAY, W. G.: Investigations of transfer factor activity in resistance to *Trichostrongylus colubriformis* infections in guinea pigs. J. Helminth., 56, 1982, s. 27-35.

ROSS, J. G. — DUNCAN, J. L. — HALLIDAY, W. G.: Investigations of *Haemonchus contortus* infections in sheep. Comparison of irradiated larvae and transfer factor treatment. Res. veter. Sci., 27, 1979, s. 258-259.

SHERWOOD, L. H.: Transfer factor in cellular immunity. In: The Harvey lectures, series 69. New York, San Francisco, London, Academic Press 1974, s. 239-350.

STADECKER, M. J. — BISHOP, G. — WORTIS, H. H.: Rosette formation by guinea pig thymocytes and thymus derived lymphocytes with rabbit red blood cells. J. Immunol., 3, 1973, s. 1834-1937.

STOLL, N. R.: Studies with the strongyloid nematode *Haemonchus contortus*. I. Acquired resistance of host in natural reinfection conditions out- of doors. Amer. J. Hyg., 10, 1929, s. 384-418.

Došlo dňa 1. 5. 1987

БОРОШКОВА, З. — БЕНКОВА М. — ЧЕХ, К. — ПЕКАРЕК, Я. (Гельминтологический институт САН, Кошице; Научно-исследовательский институт сывороток и прививочного материала, Прага): Иммуностимулирующее действие неспецифического трансферного фактора на Т и В зависящие лимфоциты морских свинок в защитном эффекте при аскаридозе. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 233-240.

Мы наблюдали иммуномодуляционное действие неспецифического трансферного фактора для крупного рогатого скота (ТФ; производитель ИСПМ, Прага) на Т и В зависящие лимфоциты в лимфоидных органах морских свинок (селезенка; печеночные, средостеночные, брыжеечные лимфатические узлы) при экспериментальном аскаридозе. Мы установили, что исследуемое вещество значительно повышает уровень Т клеточной популяции во всех лимфоидных органах ($P < 0,01$) и В клеточной популяции в трех лимфоидных органах (селезенка при $P < 0,01$, печеночные при $P < 0,05$, средостеночные лимфатические узлы при $P < 0,01$) уже в ранней степени процесса инвазии. Защитный эффект (ЗЭ) неспецифического трансферного фактора, оценивающийся reduцированием количества мигрирующих личинок аскарид в легких хозяев, был 37,2% (при специфическом ТФ можно ожидать повышение ЗЭ)

лимфоидные органы; экспериментальный аскаридоз; *Ascaris suum*

BOROŠKOVÁ, Z. — BENKOVÁ, M. — ČECH, K. — PEKÁREK, J. (Helminthological Institute of the Slovak Academy of Sciences, Košice; Institute for Serums and Inoculants, Praha): The Immunostimulative Action of the Non-specific Transfer Factor on the T and B Dependent Lymphocytes of Guinea Pigs in the Protection Effect of the Factor in Cases of Ascariasis. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 233-240.

The immunomodulating action of the non-specific bovine transfer factor (TF, produced by the Institute for Serums and Inoculants, Praha) on the T and B dependent lymphocytes in the lymphoid organs of guinea pigs (spleen, hepatal, mediastinal, mesenterial lymph nodes) was investigated in the cases of experimental ascariasis. The studied substance was found to increase significantly the level of the T cell population in all lymphoid organs ($P < 0,01$) and the B cell population in three lymphoid organs (spleen at $P < 0,01$, hepatal lymph nodes at $P < 0,05$, mesenterial lymph nodes at $P < 0,01$) already in the early stages of the invasion process. The protection effect of the non-specific transfer factor, evaluated by the reduction in the number of migrant *Ascaris* larvae in the lungs of the hosts, was 37,2% (an increase in the protection effect can be expected at a specific TF).

lymphoid organs; experimental ascariasis; *Ascaris suum*

Adresa autorov:

MVDr. Zora Borošková, CSc., MVDr. Magda Benková, CSc., Helminthologický ústav SAV, ul. Dukelských hrdinov 3, 040 00 Košice

RNDr. Karel Čech, RNDr. Ján Pekárek, Ústav sér a očkovacích látok, o. p., tŕ. Wilhelma Piecka 108, 100 00 Praha 10

EXPERIMENTÁLNÍ INDUKCE SPONTÁNNÍ BRUCELOVÉ INFEKCE MORČAT KONTAKTEM SE SUBKUTÁNNĚ INFIKOVANÝMI MORČATY *BRUCELLA SUIIS*, BIOVAR 2

F. Štěrba

ŠTĚRBA, F. (Státní veterinární ústav, Jihlava): *Experimentální indukce spontánní brucelové infekce morčat kontaktem se subkutánně infikovanými morčaty Brucella suis, biovar 2*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 241-254.

Na základě patologicko-morfologického a sérologického vyšetření jsme prokázali vznik spontánní brucelózy morčat, která byla v kontaktu s morčaty subkutánně infikovanými *Brucella suis*, biovar 2 ($13,8 \cdot 10^9$ brucel v 1 ml fyziologického roztoku), při společném ustájení — od 10. a 38. dne po infekci. V období od 28. do 141. dne jsme patomorfologicky zjistili specifické brucelózní změny v orgánech spontánně infikovaných morčat. Nejvýraznější změny byly indukovány v játrech za 107 dní, ve slezině za 46 až 84 dní a v plicích za 84 dní. Zjistili jsme neúplnou korelaci mezi výsledky sérologického, morfologického a zejména histopatologického vyšetření. U spontánně infikovaných morčat jsme zaznamenali rozdílnou sérologickou reaktivitu i rozdíly v morfologickém obrazu, které souvisejí s individuální vnímavostí morčat k infekci.

Cavia cobaya; subkutánní infekce; kontaktní infekce; bakteriologické a sérologické vyšetření; morfologické změny

Při brucelóze morčat experimentálně vyvolané subkutánní infekcí *Brucella suis* byly především sledovány otázky patogeneze brucelózního procesu v organismu a morfologické změny (Godglück, 1952; Zdrovskij, 1953; Juskovec, 1955; Kersten, 1955; Nikolov, 1973; Ryžkova, 1974; Štěrba, 1983, 1984).

Sérologickými a bakteriologickými aspekty při brucelóze morčat subkutánně vyvolané *B. suis*, biovar 2, se zabývali Nikolov (1973) a Štěrba aj. (1985).

Morfologickými změnami při experimentální infekci morčat *B. suis*, biovar 2 — vaginálně, perorálně, intranazálně a konjunktiválně — se zabýval Štěrba (1984); sérologickou a bakteriologickou problematikou při uvedených různých způsobech infekcí Štěrba aj. (1985).

Otázka možnosti vzniku brucelózy kontaktem nebyla dosud u morčat sledována vůbec.

Cílem práce bylo proto experimentálně ověřit možnost vzniku brucelózy u zdravých morčat jejich kontaktem s morčaty subkutánně infikovanými.

MATERIÁL A METODY

Možnost vzniku spontánní brucelové infekce kontaktem jsme ověřovali ve dvou skupinách (I a II) morčat subkutánně infikovaných typizovaným kmenem *B. suis*, biovar 2, izolovaným z brucelózního zajíce. Inokulum obsahovalo $13,8 \cdot 10^9$ brucel v 1 ml fyziologického roztoku.

V první skupině (I) bylo celkem infikováno 14 pohlavně dospělých morčat

(6 samců a 8 samic) tak, že každému morčeti jsme do podkoží levé předkolenní řasy injekčně aplikovali 1 ml suspenze brucel ve fyziologickém roztoku. K infikovaným morčatům jsme 38. den po infekci (dále jen p. i.) přidali pět zdravých morčat (2 samce a 3 samice). Pokus trval 73 dní. Subkutánně infikovaná morčata jsme v počtu jeden až tři kusy 7., 14., 21., 28., 35., 41., 49., 66. a 73. den p. i. vykrvili intrakardiální punkcí a neinfikovaná morčata, která s nimi byla v kontaktu, jsme stejným způsobem vykrvili v počtu jeden až tři kusy 49., 66. a 73. den p. i. Všechna morčata jsme detailně vyšetřovali patologicko-morfologicky, dále sérologicky a bakteriologicky v příslušných laboratořích ústavu.

Ve druhé skupině (II) jsme stejným způsobem infikovali 26 pohlavně dospělých morčat (13 samců a 13 samic) za účelem dlouhodobého sledování vývoje patomorfologických změn, protilátkové odezvy a výsledků bakteriologického vyšetření. K infikovaným morčatům jsme k ověření vzniku spontánní brucelózy kontaktem přidali desátý den p. i. deset neinfikovaných zdravých morčat (5 samců a 5 samic). Pokus trval 151 den. V časovém intervalu 27., 56., 94., 117. a 151. den p. i. jsme morčata, která byla infikovaná, vykrvili stejným způsobem jako ve skupině I a dále jsme stejně vykrvili i neinfikovaná morčata, která s nimi byla v kontaktu, a to 56., 94., 117. a 151. den od začátku pokusu v počtu dva až čtyři kusy. Všechna morčata jsme vyšetřovali stejným způsobem jako ve skupině I.

Třetí skupina (III) morčat byla kontrolní v počtu pěti kusů, která byla utracena stejným způsobem a vyšetřena stejně jako morčata ve skupinách I a II — 151. den, tj. na konci pokusu.

Všechna morčata ve skupinách I až III byla před pokusem sérologicky vyšetřena na brucelózu metodami: rychlé aglutinace se sérem (RAS), pomalé aglutinace (PA), povrchově fixačním testem (PFT) a reakcí vazby komplementu (RVK).

Jednotlivé skupiny morčat (I až III) byly ustájeny odděleně v boxech. Ke krmení byly použity granule pro morčata a seno *ad libitum*, k napájení čerstvá voda, která byla každý den vyměňována a doplňována.

K identifikaci infikovaných a neinfikovaných morčat (I a II) jsme použili výrazně odlišného zbarvení a dále jsme je označili zástřihem v srsti, který jsme stále obnovovali.

Neinfikovaná morčata ve skupinách I a II měla zajištěn společný přístup i ke krmení a napájení s morčaty infikovanými.

Po vykrvení morčat byla krev sérologicky vyšetřována stejnými metodami jako před pokusem — RAS, PA, PFT a RVK. Při sérologickém vyšetření jsme sledovali protilátkovou odezvu a dynamiku protilátek proti antigenu *B. suis*. Výsledky byly hodnoceny analogicky s posuzováním sérologických reakcí při brucelóze prasat v chovech zaměřených brucelózou, neboť pro hodnocení sérologických reakcí při brucelóze morčat není ve Veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodikách stanovena výše pozitivního titru.

Každé morče jsme ihned po utracení vyšetřovali patologicko-morfologicky. K histologickému vyšetření jsme odebírali excize z plic, jater, sleziny, ledvin, pohlavních orgánů a mizních uzlin, které jsme okamžitě fixovali v roztoku podle Bodiana a zpracovali běžnou histologickou technikou. Preparáty jsme barvili haematoxylin-eozinem (HE), podle Van Giesona, Kossy a Sudanem III.

Orgány morčat byly souběžně vyšetřovány i bakteriologicky. Ke kultivaci byl použit baktotryptózový agar, baktotryptózový agar s 5 až 10 % beraní krve, 5 % krevní agar a dále bylo kultivováno na Endův agar. Plotny byly inkubovány při teplotě 37 °C ve vlhké komůrce po dobu dvou až pěti dní. Při nárůstu drobných bělavých kolonií na krevním agaru a drobných průhledných kolonií s namodralým leskem na baktotryptózovém agaru byl zhotoven preparát obarvený podle Gramma a dále sklíčková aglutinace s ředěným králíčím antibrucelózním sérem. Z biochemických testů byla sledována tvorba sirovodíku, ureázová aktivita, růst na půdách s bazickým fuchsinem při koncentraci 1 : 50 000, 1 : 100 000 a růst na půdách s thioninem při koncentraci 1 : 25 000, 1 : 50 000 a 1 : 100 000. Jako pomocné metody bylo použito zhotovení otiskových preparátů barvených podle Gramma a Stamp-Mitcherlicha.

Veškeré laboratorní vyšetřování vycházelo ze standardních Veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik.

Výsledky vyšetření subkutánně infikovaných morčat (SI) uvádíme pro srovnání, ale jen ve stejném časovém období jako u neinfikovaných morčat, která s nimi byla v kontaktu (K). U SI morčat také neuvádíme morfologické změny podrobně ve všech orgánech a dále nejsou uvedeny morfologické změny v mizních uzlinách. Tyto výsledky jsou obsaženy v jiných pracích (Štěrba, 1984; Štěrba aj., 1985).

VÝSLEDKY

1. SÉROLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Sérologické vyšetření všech morčat před infekcí metodami RAS, PA, PFT a RVK bylo na brucelózu negativní.

2. EXPERIMENTÁLNÍ INFEKCE

Výsledky sérologického a bakteriologického vyšetření morčat při délce pokusu 73 dní (skupina I) jsou přehledně uvedeny v tab. I a výsledky patologicko-morfologického vyšetření v tab. III.

Výsledky sérologického a bakteriologického vyšetření morčat při délce pokusu 151 den (skupina II) jsou přehledně shrnuty v tab. II a výsledky patologicko-morfologického vyšetření v tab. IV.

Z tab. I vyplývá, že morče č. 2 (K), které bylo v kontaktu se SI morčaty 11 dní, bylo sérologicky všemi metodami negativní, přičemž kultivačně byly z jater, sleziny a plic izolovány brucely. Histologicky byla v játrech a slezině zjištěna aktivace RES a v plicích se nacházela ložisková intersticiální histiocytární pneumonie (tab. III). Morče č. 1 (SI) bylo sérologicky všemi metodami na brucelózu pozitivní a pozitivní bylo i kultivační vyšetření (tab. I). Patomorfologicky jsme zjistili výrazné brucelózní granulomatózní změny v játrech, slezině a plicích (tab. III).

Z tab. I je patrné, že morče č. 4 (K), které bylo v kontaktu se SI morčaty 28 dní, bylo sérologicky pozitivní všemi metodami, stejně jako morče č. 3 (SI), u kterého byl titr aglutinačních a komplementfixačních protilátek vyšší. Bakteriologické vyšetření bylo u obou morčat negativní. Z tab. III je zřejmé, že histologickým vyšetřením byla u morčete č. 4 (K) zjištěna v játrech iniciační stadia brucelózních granulomů a drobné granulomy tvořené epiteloidními a histiocytárními buněčnými elementy. Iniciační stadia granulomů byla tvořena lymfoplazmocytárními a epiteloid-

I. Výsledky sérologického a bakteriologického vyšetření morčat skupiny I — Results of the serological and bacteriological examination of the guinea pigs of group I

Den odběru materiálu p. i.	Číslo morčete/ /pohlaví	Sérologické vyšetření				BV	Délka expozice ve dnech (u kontaktu)
		RAS	PA	PFT	RVK		
49.	1/♀	+	1 : 20	+	1 : 20	+	/
	2/♂K	—	—	—	×	+	11
66.	3/♀	+	1 : 40	+	1 : 160	—	/
	4/♂K	+	1 : 20	+	1 : 40	—	28
73.	5/♀K	+	1 : 20	+	—	—	35
	6/♀K	—	—	—	—	—	
	7/♀K	—	—	—	—	—	

Text k tab. I a II: BV — bakteriologické vyšetření; K — kontaktní infekce (neinfikované morče); + pozitivní; ± dubiální; — negativní; × antikomplementarita séra; 0 nehodnoceno (hemolýza)

II. Výsledky sérologického a bakteriologického vyšetření morčat skupiny II —
Results of the serological and bacteriological examination of the guinea pigs of
group II

Den odběru materiálu <i>p. i.</i>	Číslo morčete/ /pohlaví	Sérologické vyšetření				BV	Délka expozice ve dnech (u kontaktu)
		RAS	PA	PFT	RVK		
56.	1♂	+	1:320	+	1:640	—	/
	2♂	0	0	0	0	—	/
	3♂K	+	1:20	+	1:80	—	46
	4♀	+	1:160	+	1:1280	—	/
	5♀	+	1:40	+	1:160	—	/
	6♀K	+	1:20	+	1:80	—	46
94.	7♂	0	0	0	0	—	/
	8♂	+	1:20	+	1:80	—	/
	9♂K	+	1:10	+	1:80	—	84
	10♀	0	0	0	0	—	/
	11♀	+	1:20	+	1:80	—	/
	12♀K	+	1:10	+	1:80	—	84
117.	13♂	±	1:10	±	1:5	—	/
	14♂	—	—	±	1:5	—	/
	15♂	±	—	±	1:20	—	/
	16♂K	+	1:10	+	1:10	—	107
	17♂K	—	—	—	—	—	107
	18♀	+	1:10	+	1:5	—	/
	19♀	—	—	±	1:5	—	/
	20♀	±	—	±	1:20	—	/
	21♀K	+	1:10	+	1:10	—	107
	22♀K	—	—	—	—	—	107
151.	23♂	+	1:10	+	1:160	—	/
	24♂	+	1:10	+	1:80	—	/
	25♂	+	1:10	+	1:20	—	/
	26♂K	—	—	—	1:10	—	141
	27♀	—	—	—	1:5	—	/
	28♀	+	1:10	+	1:40	—	/
	29♀	+	1:20	+	1:40	—	/
	30♀K	—	—	—	—	—	141

ními buňkami, histiocyty a ojedinělými neutrofilními leukocyty. V centru docházelo k nekróze a karyorektickému rozpadu buněk, především neutrofilů (obr. 1). U morčete č. 3 (SI) byly morfologické změny výraznější, zejména v játrech a plicích.

III. Výsledky patologicko-morfologického vyšetření morčat — skupina I — Results of the pathomorphological examination of the guinea pigs — group I

Den odběru materiálu p. i.	Číslo morčete/ /pohlaví/délka expozice ve dnech - ukontaktu(K)	Játra		Slezina		Plíce	
		PA	H	PA	H	PA	H
49.	1♀	++++	++++/K	SZ	++++/K	—	LHP/++++
	2♂K/11	—	+	—	+	—	LHP
66.	3♀	++	++++	MZ	+	—	LHP/++++
	4♂K/28	+	+++	—	+	—	LHP
73.	5♀K/35	++	+++	SZ	LH/+++	—	LHP
	6♀K/35	+	+++	—	+	—	LHP
	7♀K/35	+	+++	—	+	—	LHP

Text k tab. III a IV:

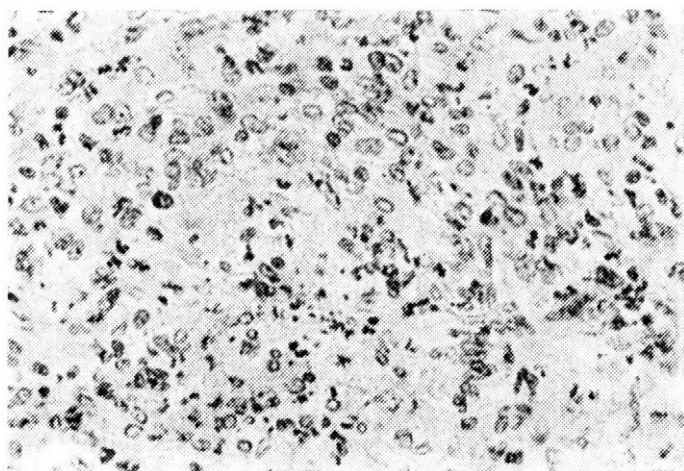
PA — patologicko-anatomický nále; H — histopatologický nále

PA: — negativní; + ojedinělé submiliární až miliární brucelózní granulomy; ++ četné submiliární až miliární granulomy; +++ ve změnách i výskyt ojedinělých granulomů větších velikostí, ++++ ve změnách výskyt četných větších granulomů (nad 2 mm); SZ — orgán silně zvětšený; MZ — orgán mírně zvětšený; T — orgán tužší konzistence

H: — negativní; + aktivace RES; ++ výskyt iniciačních stadií brucelózních granulomů; +++ výskyt ojedinělých epitelioidních a histiocytárních granulomů; ++++ výskyt četných granulomů; LHP — ložisková intersticiální histiocytární pneumonie; CHHP — chronická histiocytární pneumonie; LH — lymfatická hyperplazie sleziny; K — centrální kolikace granulomů; Ca — kalcifikace v centrálních nekrotických granulomů; F — fibróza; MLH — mírná lymfatická hyperplazie sleziny

Z tab. I dále vyplývá, že u morčat č. 5 až 7 (K), která byla v kontaktu s infikovanými morčaty 35 dní, bylo sérologické vyšetření pozitivní metodami RAS, PA a PFT pouze u morčete č. 5. Bakteriologické vyšetření bylo ve všech případech negativní. Z tab. III je patrné, že histologickým vyšetřením jsme zjistili u všech tří morčat brucelózní změny

1. Epitelioidní granulom v játrech s centrální karyorexi buněčných elementů, zejména neutrofilů (HE, 160X) — An epithelioid granuloma in the liver with central karyorexis of cell elements, especially neutrophils (HE, 160X)

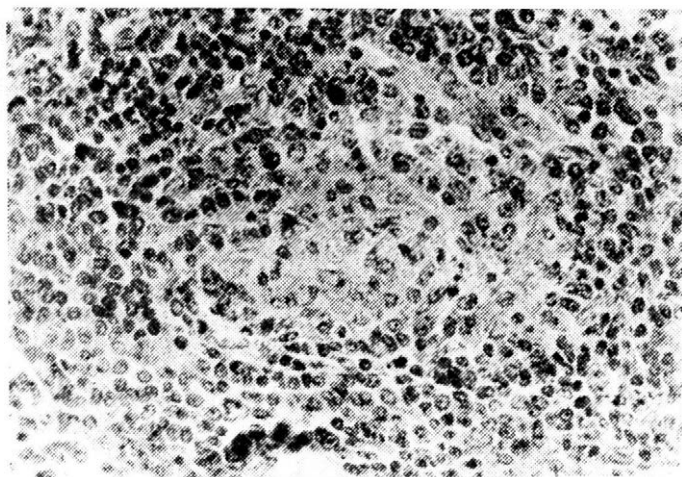


IV. Výsledky patologicko-morfologického vyšetření morčat — skupina II — Results of the pathomorphological examination of the guinea pigs — group II

Den odběru materiálu p. i.	Číslo morčete/ pohlaví/délka expozice ve dnech - ukontaktu(K)	Játra		Slezina		Plíce	
		PA	H	PA	H	PA	H
56.	1♂						
	2♂	+++	+++ /K	MZ	LH/+++	—	LHP/+++
	3♂K/46	—	+++	MZ	LH/+++	—	LHP
	4♀						
	5♀	+++	+++ /K	MZ	LH/+++	—	LHP/+++
	6♀K/46	+	+++	MZ	LH/+++	—	LHP
94.	7♂						
	8♂	+	+++		F		LHP/+++
	9♂K/84	+	+++		MLH		LHP/+++
	10♀						
	11♀	+++	+++	SZ	LH/+++	—	LHP/+++
	12♀K/84	+++	+++	SZ	LH/+++	—	LH /+++
117.	13♂						
	14♂	+++	+++ /K	T	F	T	LHP/+++ /F
	15♂	+	+++	T	F	T	LHP/+++ /F
	16♂						
	17♂K/107	+	+++				LHP
	18♀						
	19♀	+	+++	T	F	T	LHP/+++ /F
	20♀						
	21♀K/107	+++	+++	—	—	—	LHP
	22♀	+++	+++ /K	—	—	—	LHP
151.	23♂	+	+++	—	F	T	CHHP/+++
	24♂	+++	+++ /Ca	—	F	T	CHHP/+++
	25♂	+	+++	—	F	T	CHHP/+++
	26♂K/141	+	+++	—	F	T	CHHP/+++
	27♀						
	28♀	+	+++	—	F	T	CHHP/+++
	29♀	+++	+++ /Ca	—	F	T	CHHP/+++
	30♀K/141	+	+++	—	F	T	CHHP/+++

v játrech a u morčete č. 5 jsme zaznamenali drobné granulomy v játrech i patologicko-anatomicky a dále histologicky i ve slezině. Brucelózní afekce měly při patologicko-anatomickém vyšetření jater (č. 5, ♀) charakter submiliárních až miliárních uzlíků šedobílé barvy s predilekční

2. Tvorba epiteloidního granulomu na periférii Malpighiova tělíska (HE, 160X) — Formation of the epitheloid granuloma in the periphery of the Malpighian corpuscle (HE, 160X)

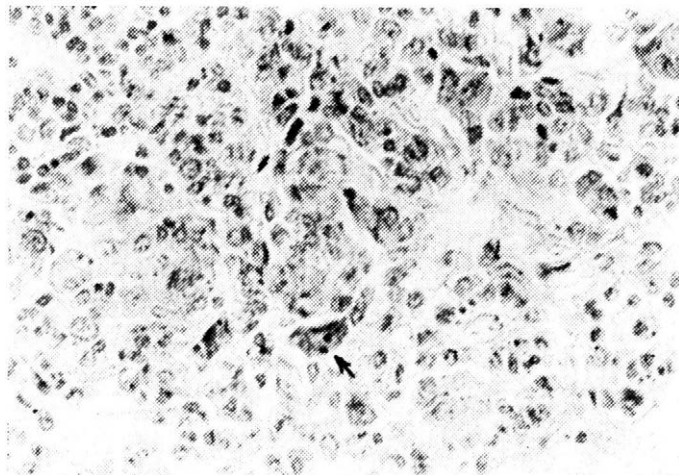


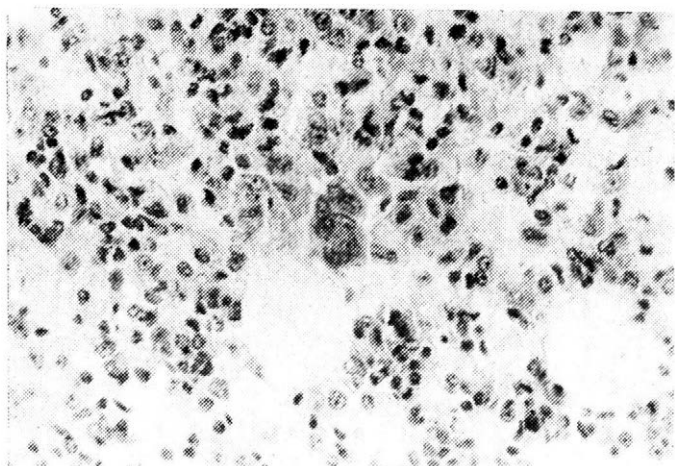
lokalizací pod pouzdrém. Tato samice byla březí se čtyřmi plody v děloze. V místě spojení chlovia s dělohou byly fibrinózně hněsivé nálepy, placentomy měly průměr 30 mm, byly silně překrvené, prostoupané hemoragiemi a nekrotickými ložisky. V děloze a v orgánech plodů se změny nevyskytovaly.

Jak vyplývá z tab. II, bylo sérologické vyšetření morčat č. 3 a 6 (K), která byla v kontaktu se SI morčaty 46 dní, pozitivní všemi metodami. Zjištěné titry aglutininů a komplementfixačních protilátek byly podstatně nižší než u SI morčat. Bakteriologické vyšetření bylo u všech morčat (SI a K) negativní. Morfologicky byly u obou morčat (č. 3, 6) zjištěny v orgánech stejné změny. Jejich podstatou byly granulomy v játrech a slezinách, tvořené epiteloidními buňkami a histiocyty. Výskyt granulomatózních změn ve slezinách morčat jsme zaznamenali na základě histologického vyšetření poprvé. Drobné epiteloidní granulomy se nacházely hlavně na periférii zvětšených Malpighiových tělískách (obr. 2). U SI morčat byly změny výraznější, zejména v játrech a plicích (tab. IV).

U morčat č. 9 a 12 (K), která byla se SI morčaty v kontaktu 84 dní,

3. Epiteloidní granulom v plicích. Ve změnách se vyskytují velké buňky s obšírnou a tmavě se barvící plazmou a s velkým jádérkem, které se podobají Sternbergovým buňkám (šipka) (HE, 160X) — Epitheloid granuloma in the lungs. The changes include large cells with wide and darkening plasma and with a large nucleolus; these cells are similar to the Sternberg cells (arrow) (HE, 160X)





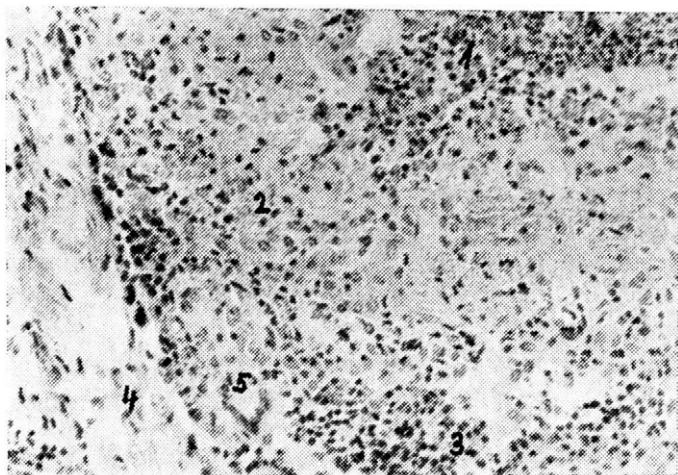
4. Ložisková intersticiální histiocytární pneumonie s tvorbou epitelioidního granulomu a obrovskou vícejadernou buňkou, která svým „penízkovitým“ uspořádáním jader připomíná obrovskou vícejadernou buňku Sternbergova typu (HE, 160X) — Focal interstitial histiocytic pneumonia with the formation of epithelioid granuloma with a large multinuclear cell is similar, with its “scaly” arrangement of nuclei, to a large multinuclear cell of the Sternberg type (HE, 160X)

bylo sérologické vyšetření pozitivní metodami RAS, PFT a RVK, přičemž titr komplementfixačních protilátek v jejich krvi byl stejný jako u morčat č. 3 a 6, která byla se SI morčaty v kontaktu 46 dní (tab. II). U obou morčat byl výsledek metodou PA dubiozní (titr 1:10). Dále je z tab. II zřejmé, že titry protilátek metodou PA a RVK u SI morčat 94. den *p. i.* byly podstatně nižší než 56. den *p. i.* Bakteriologické vyšetření bylo ve všech případech (č. 7 až 12) negativní. Z tab. IV je patrné, že u morčete č. 9 (K) byly zjištěny brucelózní léze v játrech a plicích; u morčete č. 12 (K) byly změny výraznější — v játrech byly zjištěny patologicko-anatomicky a v plicích byly poprvé zjištěny granulomy histologickým vyšetřením (obr. 3). Brucelózní afekce v plicích byly tvořeny epitelioidními a histiocytárními buněčnými elementy. V granulomech byly přítomny i obrovské buňky, které připomínaly obrovské buňky Sternbergova typu (obr. 4). V plicích byla charakteristická ložisková intersticiální histiocytární pneumonie. V alveolách se vyskytovaly četné makrofágy, některé s fagocytovaným hemosiderinem — siderofágy, interalveolární septa byla zesílená, infiltrovaná histiocyty, kulatobuněčnými elementy a ojedinělými neutrofily, které se v malém množství nacházely i v alveolech. Ve slezině byla výrazná lymfatická hyperplazie a ve zvětšených Malpighiových tělíscích byly drobné epitelioidní granulomy. U SI morčat (č. 7, 8, 10, 11) byly změny méně výrazné než 56. den *p. i.*, jak je zřejmé z tab. IV.

Z tab. II vyplývá, že ze čtyř morčat (K) — č. 16, 17, 21 a 22, která byla se SI v kontaktu 107 dní, byla metodami RAS, PFT a RVK pozitivní dvě morčata — č. 16 a 21, přičemž výsledek metodou PA byl dubiozní. Morčata č. 17 a 22 byla všemi metodami negativní. Nízké titry metodami PA a RVK byly i u SI morčat (č. 13 až 15; 18 až 20), ale také kvalitativní sérologické metody — RAS a PFT — byly pozitivní jen u jednoho morčete — č. 18. Bakteriologické vyšetření bylo ve všech případech negativní (č. 13 až 22). Z tab. IV je zřejmé, že u obou morčat (č. 16 a 17 — ♂, K) jsme brucelózní změny histologickým vyšetřením zjistili pouze v játrech. U morčat č. 21 a 22 (♀, K) byly změny výraznější a vyskytovaly se také jen v játrech. U samice č. 22 jsme v játrech zjistili i jeden velký uzel o velikosti 6 mm, žlutobílé barvy, který výrazně promínoval nad

5. Skladba brucelózního granulomu v játrech:

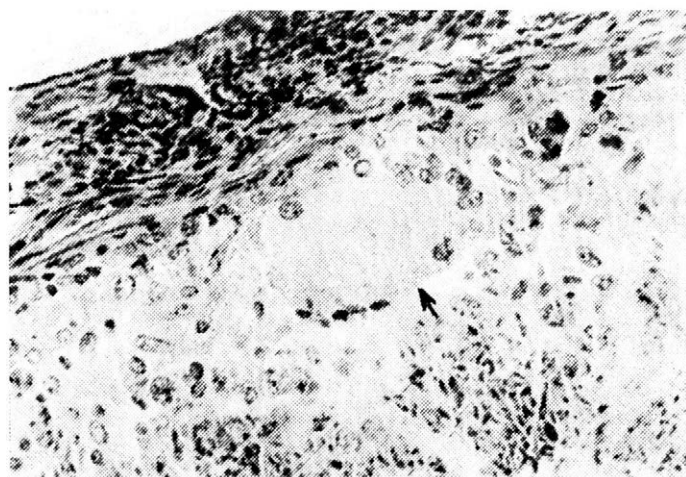
1 — centrální nekróza s karyorexi a sekundární kolikvaci; 2 — zóna epitelioidních a histiocytárních buněčných elementů; 3 — vrstva lymphoplasmocytárních buněk; 4 — vrstva fibroblastů na periferii granulomu; 5 — v histiocytární vrstvě se nekonstantně vyskytovaly obrovské buňky Langhansova typu (HE, 160X) — Composition of a Brucella-induced granuloma in the liver: 1 — central necrosis with karyorrhexis and secondary colliquation; 2 — zone of epithelioid and histiocytic cell elements; 3 — layer of lymphoplasmocytic cells; 4 — layer of fibroblasts in the periphery of the granuloma; 5 — large cells of the Langhans type occurred inconstantly in the histiocytic layer (HE, 160X)



pouzdro, jež bylo v okolí granulomu silně svrašťelé. Histologicky bylo centrum granulomu tvořeno rozsáhlou nekrózou, která obsahovala velké množství jaderného detritu a neutrofilních leukocytů. Periferně kolem nekrózy byla vrstva epitelioidních buněk a histiocytů, na kterou směrem k zevnímu okraji granulomu navazovala nepřítis výrazná zóna lymphoplasmocytárních buněk (obr. 5). Zcela na okraji granulomu byla zřetelná vrstva fibroblastů, která vytvářela jeho periferní fibrotizaci. Pouzdro jater nad granulomem bylo fibrózně zesílené (obr. 6). U SI morčat byly výrazné změny v játrech morčat č. 13 a 14 (♂), dále byly histologicky zjištěny granulomatózní změny u všech morčat v játrech a plicích.

Z tab. II dále vyplývá, že ze dvou morčat (K — č. 26 a 30), která byla v kontaktu se SI zvířaty 141 den, bylo metodou RVK sérologicky pozitivní jen jedno morče (č. 26). Ze SI morčat reagovalo 151. den jedno

6. Charakteristická subkapsulární lokalizace brucelózního granulomu v játrech. Pouzdro nad granulomem je fibrózně zesílené. V histiocytární zóně je šipkou označena obrovská buňka Langhansova typu (HE, 160X) — Characteristic subcapsular localization of a Brucella-induced granuloma in the liver. The capsule over the granuloma is fibrously swollen. The arrow points to a large cell of the Langhans type in the histiocytic zone (HE, 160X)



morče (č. 27) dubiálně metodou RVK a morčata č. 23 až 25; č. 28 a 29 reagovala pozitivně metodami RAS, PFT a RVK, přičemž metodou PA reagovala dubiálně. Jen morče č. 29 reagovalo PA pozitivně. Výsledek bakteriologického vyšetření byl ve všech případech negativní. Z tab. IV je dále zřejmé, že brucelózní změny byly u morčat č. 26 a 30 (K) zjištěny jen histologicky v játrech a plicích, podobně jako u SI morčat, ale v játrech těchto morčat byly změny podstatně výraznější. U jednotlivých morčat (SI) se makroskopický i mikroskopický obraz v orgánech dosti lišil.

3. VÝSLEDKY U KONTROLNÍCH MORČAT

U skupiny neinfikovaných kontrolních morčat bylo ve všech případech sérologické, bakteriologické a patologicko-morfologické vyšetření negativní.

DISKUSE

Údaje o vzniku spontánní brucelózy morčat kontaktem s infikovanými morčaty baktériemi *Brucella suis* v dostupné literatuře nejsou. Nelze proto porovnat námi zjištěné výsledky se závěry jiných autorů. Pouze Mráz (1956) experimentálně prokázal, že po perorální infekci holubů a králíků *B. suis* došlo k infekci morčat, která s nimi byla společně ustájena po dobu 9 až 18 dní.

Z výsledků vyplývá, že u neinfikovaných morčat (K), která byla v kontaktu se subkutánně infikovanými morčaty (SI) při jejich společném ustájení, byl v obou skupinách (I a II) prokázán na základě morfologického a sérologického vyšetření vznik spontánní brucelové infekce.

Tato skutečnost je z epizootologického hlediska velmi závažná, zejména z hlediska přirozeného způsobu infekce u zajíců, kteří jsou všeobecně považováni za zdroj brucelózy v chovech prasat. Z našich výsledků lze analogicky usuzovat na vznik brucelózy zajíců, především však na její šíření v ohniscích této nákazy v přírodě kontaktem s infikovanými zajíci. V našich podmínkách dosud nebyl spolehlivě zjištěn jiný vektor a rezervoár brucelózy (*B. suis*) než zajíc (Štěrba, 1985). Vzhledem k ekologii a etologii zajíce polního (*Lepus europaeus* Pall.) dochází ke kontaminaci přírodního prostředí brucelami vylučovanými z organismu nakažených zajíců, zejména na společných stanovištích, na kterých je jejich koncentrace zvýšená. Ke zvýšené koncentraci zajíců dochází při vyhledávání dnes omezených potravních možností v důsledku intenzivního zemědělského obhospodařování krajiny a také při pohlavním rozmnožování.

Z výsledků vyplývá, že ve skupině I (tab. I a III) z pěti neinfikovaných morčat byly indukovány ve čtyřech případech specifické brucelózní změny v játrech 28. a 35. den. Na základě sérologického vyšetření byl ve stejném časovém období kontaktu těchto morčat zjištěn pozitivní výsledek ve dvou případech. Ve skupině II (tab. II a IV) jsme prokázali morfologickým a sérologickým vyšetřením vznik spontánní brucelové infekce u všech čtyř morčat (K), která byla se SI morčaty v kontaktu 46 a 84 dní. Při délce kontaktu 46 dní byly morfologickým vyšetřením zjištěny brucelózní změny u jednoho morčete v játrech, slezině a plicích

a u druhého morčete v játrech a slezině. Při délce kontaktu 84 dní byly morfologickým vyšetřením zjištěny brucelózní afekce v jednom případě v játrech a plicích, ale ve druhém případě navíc ještě ve slezině. Při délce kontaktu při společném ustájení morčat (K, SI) 107 dní jsme zjistili ve všech čtyřech případech brucelózní léze pouze v játrech neinfikovaných morčat (K), ale sérologicky byl pozitivní výsledek jen u dvou morčat. Při délce kontaktu 141 den byly indukovány brucelózní změny v játrech a plicích u obou morčat (K), ale sérologické vyšetření bylo v jednom případě negativní (č. 30).

Z výsledků sérologického a morfologického vyšetření vyplývá, že byla zjištěna neúplná korelace mezi vývojem morfologických, zejména histopatologických změn a sérologickou reaktivitou morčat (K). Obdobné výsledky jsme zaznamenali i u SI morčat, což souhlasí se závěry dalších autorů (Godglück, 1952; Kersten, 1955; Nikolov, 1973; Štěrba aj., 1985).

Z výsledků sérologického vyšetření dále vyplývá, že sérologická reaktivita se u jednotlivých morčat (K i SI) vyšetřovaných ve stejném časovém období lišila, což vysvětlujeme individuální vnímavostí morčat k brucelové infekci. Stejně výsledky u subkutánně infikovaných morčat *B. suis* také uvádějí Štěrba aj. (1985). Podobně i Halačková a Štěrba (1986) zjistili rozdílnou sérologickou reaktivitu u brucelózních zajíců, kterou u brucelózy zajíců experimentálně prokázal Štěrba (1983).

Z výsledků morfologického vyšetření vyplývá, že mikroskopickou podstatou brucelózních změn byl histiocytární granulom, což je v souladu se závěry i dalších autorů (Godglück, 1952; Juskovec, 1955; Kersten, 1955; Nikolov, 1973; Štěrba, 1984; Štěrba aj., 1985). V centrální nekróze granulomů pravidelně docházelo k hnisavé kolikvaci, kterou v souladu s dalšími autory (Juskovec, 1955; Štěrba, 1984) považujeme za charakteristický morfologický znak brucelózních změn u morčat. Ve vývoji morfologických změn v orgánech neinfikovaných (K), ale i infikovaných (SI) morčat jsme zjistili rozdíly v makroskopickém i mikroskopickém obrazu, což souhlasí s výsledky, které u infikovaných morčat zjistili také Juskovec (1955), Štěrba (1984) a Štěrba aj. (1985). Tyto rozdíly v morfologickém obrazu podle našeho názoru souvisejí s individuální vnímavostí morčat k infekci. Největší počet případů brucelových infekcí jsme zjistili histopatologickým vyšetřením, a to i v době, kdy bylo sérologické vyšetření negativní. Obdobné výsledky zaznamenali u SI morčat i další autoři (Nikolov, 1973; Štěrba aj., 1985). V játrech jsme již v iniciačním stadiu infekce pozorovali aktivaci RES, což odpovídá závěrům, které uvádějí i jiní autoři (Godglück, 1952; Juskovec, 1955; Kersten, 1955; Ryžkovová, 1974). Z výsledků dále vyplývá, že morfologické změny u SI morčat odpovídaly nálezům, které zjistili také Godglück (1952), Juskovec (1955), Kersten (1955), Nikolov (1973), Ryžkovová (1974) a Štěrba aj. (1985).

Z morfologického vyšetření dále vyplývá, že nejvýraznější změny jsme u neinfikovaných morčat (K) zjistili v játrech za 107 dní, ve slezině za 46 až 84 dní a v plicích za 84 dní. U jednotlivých morčat jsme zjišťovali rozdíly v morfologickém obrazu v závislosti na délce jejich expozice při kontaktu se SI morčaty. Dále jsme zjistili i rozdíly v lokalizaci

zaci brucelózních změn v orgánech u jednotlivých morčat, podobně jako u SI morčat. Z výsledků dále vyplývá, že v šíření brucelózního procesu v organismu morčat má prioritní význam hematogenní propagace, což potvrzují i závěry dalších autorů [Godglück, 1952; Juskovec, 1955; Nikolov, 1973; Štěrba aj., 1985].

Z výsledků bakteriologického vyšetření vyplývá, že pozitivní izolace brucel z orgánů neinfikovaných morčat (K) se podařila pouze ve skupině I za 11 dní. Štěrba aj. (1985) uvádějí, že průkaz brucel z orgánů infikovaných morčat vzhledem k chronicitě procesu a intracelulární lokalizaci brucel je problematický. Podle údajů, které zjistili Šergin a Voždajev (1973), bývá izolace brucel z orgánů infikovaných zvířat úspěšná pouze ve fázi baktériemie, která trvá do 30. dne *p. i.*

Otázka vylučování brucel z organismu infikovaných morčat nebyla cílem práce a bude zkoumána samostatně. Lze předpokládat, že ke konvancím z organismu SI morčat došlo především trusem, ale i močí. Taminací společného zdroje potravy, vody a prostředí brucelami vylučování bakterií i z plic tracheálním sekretem, i když jsme klinicky kašel, ale ani další klinické příznaky onemocnění v žádném případě nepozorovali.

Poděkování

Autor děkuje za pomoc při laboratorním vyšetřování MVDr. M. Halačkové a MVDr. V. Kralíkové a za technickou spolupráci MVDr. O. Vávrovi.

Literatura

GODGLÜCK, G.: Die pathologisch-anatomischen und histologischen Veränderungen bei mit Brucellosebakterien infizierten Meerschweinchen und ihre diagnostische Bedeutung. Zbl. Bakt., 159, 1952, s. 63-70.

HALAČKOVÁ, M. — ŠTĚRBA, F.: Ověření diagnostické účinnosti Rose bengal testu v sérodiagnostice brucelózy zajíců. [Ústavní výzkumná práce.] Praha, Ústřední státní veterinární ústav 1986. 15 s.

JUSKOVEC, M. K.: Brucelosa hospodářských zvířat. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1955. 288 s.

KERSTEN, W.: Zur Pathologie und Histologie der *Brucella suis* Infektion des Meerschweinchen und ihre diagnostische Bedeutung. Zbl. Veter.-Med., 11, 1955, s. 667-673.

MRÁZ, O.: Význam drobných hospodářských zvířat v šíření brucelózy. Veterinářství, VI, 1956, s. 79-82.

NIKOLOV, N.: Proverka na serologičnite reakcii pri brucelozni svine čerez patomorfologični izsledovanija i I. soobščeniye. Opit s morski svinčeta, eksperimentalno zarazeni s *Br. suis*. Nauč. tr. Vysš. veter. med. Inst. I. P. Pavlova, 23, 1973, s. 329-339.

RYŽKOVA, L. P.: Morfologičeskije i gistochimičeskije izmijeneniya v organach laboratornyh živojnyh zaražennyh R-formoj brucell. Sbor. nauč. Rab. (Omsk), 21, 1974, s. 74-76.

ŠERGIN, J. K. — VOŽDAJEV, N. S.: Patomorfologija pri eksperimentalnom brucelozje jakov. Veterinarija, 49, 1973, s. 56-58.

ŠTĚRBA, F.: Brucelóza zajíců — morfologická studie. [Kandidátská disertace.] Brno 1983. 246 s. — Vysoká škola veterinární.

ŠTĚRBA, F.: Morfologické změny u brucelózy morčat, vyvolané experimentální infekcí zárodky *Brucella suis*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984, s. 359-372.

ŠTĚRBA, F.: Brucelóza zajíců. Veterinářství, 35, 1985, s. 277-280.

ŠTĚRBA, F. — ZÁMEK, L. — HALAČKOVÁ, M. — KRACLÍKOVÁ, V.: Vývoj morfologických změn a protilátkové odezvy morčat experimentálně infikovaných bakteriemi *Brucella suis*, biotyp 2. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, s. 611-628.

ZDRODOVSKIJ, P. F.: Brucellez. Moskva, AMN 1953.

Došlo dne 21. 5. 1987

ШТЕРБА, Ф. (Государственный ветеринарный институт, Йиглава): Экспериментальная индукция спонтанной бруцеллезной инфекции морских свинок контактом с подкожно инфицированными морскими свинками *Brucella suis*, biovar 2. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 241-254.

На основании патологическо-морфологического и серологического исследования мы доказали возникновение спонтанного бруцеллеза морских свинок, которые находились в контакте с подкожно инфицированными морскими свинками *Brucella suis*, biovar 2 ($13,8 \cdot 10^9$ бруцелл в 1 мл физиологического раствора), при совместном содержании — от 10 и 38 дня после инфекции. В период от 28 по 141 день мы патоморфологически определили специфические бруцеллезные изменения в органах спонтанно инфицированных морских свинок. Наиболее выразительные изменения были индуцированы в печени через 107 дней, в селезенке через 46—84 дня и в легких через 84 дня. Мы определили неполное соотношение между результатами серологического, морфологического и главным образом гистологического исследования. У спонтанно инфицированных морских свинок мы отметили разную серологическую реактивность и различия в морфологической картине, которые зависят от индивидуальной чувствительности морских свинок к инфекции.

Cavia cobaya; подкожная инфекция; бактериологическое и серологическое исследование; морфологические изменения

ŠTĚRBA, F. (State Veterinary Institute, Jihlava): *Experimental Induction of Spontaneous Brucella Infection of Guinea Pigs by Contact with Other Guinea Pigs Subcutaneously Infected with Brucella suis, Biovar 2*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 241-254.

The rise of spontaneous brucellosis was demonstrated by pathomorphological and serological examination of guinea pigs which had been in contact with guinea pigs subcutaneously infected with *Brucella suis*, biovar 2 ($13,8 \times 10^9$ *Brucella* organisms per 1 ml of physiological solution); all guinea pigs were kept jointly from the 10th and 38th day after infection. Specific *Brucella*-induced changes were detected by the pathomorphological examination in the organs of the spontaneously infected guinea pigs in the period between the 28th and 141st day. The greatest changes were induced after 107 days in liver, after 46—48 days in spleen, and after 84 in lungs. An incomplete correlation was observed between the results of the serological, morphological, and especially the histopathological examination. Differences were observed in the serological reactivity of the spontaneously infected guinea pigs and in their morphological picture, and these differences can be ascribed to the individual susceptibility of the guinea pigs to infection.

Cavia cobaya; subcutaneous infection; contact infection; bacteriological and serological examination; morphological changes

ŠTĚRBA, F. (Staatliches veterinärmedizinisches Institut, Jihlava): *Experimentelle Induktion spontaner Brucelleninfektion von Meerschweinchen durch Kontakt mit subkutan mit Brucella suis, Biovar 2, infizierten Meerschweinchen*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (4) : 241-254.

Aufgrund pathologisch-morphologischer und serologischer Untersuchungen konnten wir das Entstehen einer spontanen Brucellose bei Meerschweinchen, die im Kontakt mit mittels *Brucella suis*, Biovar 2 ($13,8 \cdot 10^9$ Brucellen in 1 ml physiologischer Kochsalzlösung) infizierten Meerschweinchen u. zw. bei gemeinsamer Haltung vom

10. und 38. Tag waren, nachweisen. Im Zeitraum zwischen dem 28. bis 141. Tag stellten wir pathomorphologisch spezifische brucellöse Veränderungen in Organen der spontan infizierten Meerschweinchen fest. Die markantesten Veränderungen wurden in der Leber nach 107 Tagen, in der Milz nach 46 bis 84 Tagen und in den Lungen nach 84 Tagen induziert. Wir stellten eine unvollständige Korrelation zwischen den Ergebnissen der serologischen, morphologischen und insbesondere der histopathologischen Untersuchung fest. Bei den spontan infizierten Meerschweinchen wurde eine unterschiedliche serologische Reaktivität sowie Unterschiede im morphologischen Bild verzeichnet, die mit der individuellen Sensibilität des einzelnen Meerschweinchens zur Infektion im Zusammenhang stehen.

Cavia cobaya; subkutane Infektion; Kontaktinfektion; bakteriologische u. serologische Untersuchung; morphologische Veränderungen

Adresa autora:

MVDr. František Štěrba, CSc., Státní veterinární ústav, Rantířovská 93, 586 05 Jihlava

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

ROZŠÍŘENÍ *GIARDIA* SP. U JEHŇAT V ČSSR

Bičikovci rodu *Giardia* (řád *Diplomonadida*) jsou střevní prvoci, kteří parazitují nejen u člověka, ale i u různých zvířat. Doposud bylo popsáno více než 40 druhů giardií, ale jejich taxonomie a hostitelská specifita není stále ještě s definitivní platností dořešena.

O výskytu giardií u ovci jsou jen velmi sporadické údaje. Vůbec poprvé našel tohoto prvoka u ovci Grassi v roce 1881. Nieschulz popsal v roce 1924 v Nizozemsku druh *Giardia caprae*. Roku 1932 informovali Turner a Murnane o nálezech giardií v Austrálii u uhynulého berana. Ryšavý a Erhardová popsali v knize Parazitů ovci, která vyšla v roce 1953, v přehledu protozoárních infekcí druh *G. caprae* a uvedli, že u ovci v Československu nebyl tento prvek nalezen. V Anglii detekoval roku 1959 Deas giardie v roztěrech a histologických řezech různých částí tenkého střeva jednoho jehněte, u kterého se objevil dva měsíce po preventivním podání anthelmintika velmi silný průjem. Padmavathi a kol. informovali v roce 1978 o výskytu *G. caprae* v Indii u deseti jednoměsíčních až dvouměsíčních jehňat trpících průjmy. V USA našli Kiorpes a kol. (1986) poprvé cysty giardií u čtyř sedmiměsíčních jehňat, která byla po celé letní období na pastvině. Všichni citovaní autoři uvádějí, že giardiemi infikovaná jehňata byla ve velmi slabé tělesné kondici, měla suchou vlnu, byla anemická, vyhublá, s nízkými hmotnostními přírůstky. Střídavě se u nich vyskytoval průjem, nebo jejich výkaly byly pastovité až tekuté konzistence a byly pokryté hlenem. Domnívají se rovněž, že tyto střevní paraziti mohou hrát určitou patogenní úlohu, neboť kromě giardií nebyl u nemocných jehňat prokázán výskyt ani oocyst kokcií, ani vajíček helmintů.

V tomto krátkém sdělení informujeme o prvních nálezech *Giardia* sp. u jehňat v ČSSR a o některých základních metodách diagnostiky těchto protozoí.

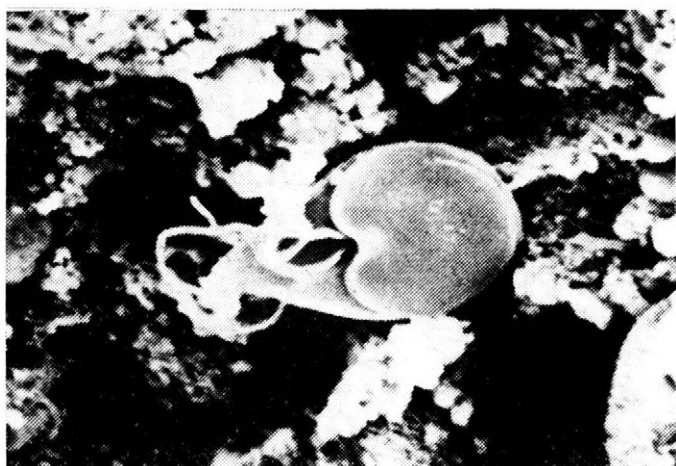
V rámci výzkumu rozšíření kokcií rodu *Cryptosporidium* v různých technologiích odchovu ovci jsme v roce 1985 v době zimního bahnění ovci a po něm nalezli cysty giardií v jednom tradičním malochovu ve Středočeském kraji v trusu jednoměsíčních až dva a půlměsíčních jehňat. V roce 1986 jsme nálezy výskytu giardií u jehňat potvrdili v některých velkochovech ovci v Jihočeském a Severomoravském kraji. Systematickým vyšetřováním jehňat různých věkových kategorií (Pavlásek a kol., 1987) jsme zjistili, že giardióza, podobně jako eimerií a kryptosporidií, patří mezi velmi časté protozoární infekce ovci.

Giardia sp. jsme nacházeli u jehňat, která měla průjem, nebo u kterých bylo evidentní, že průjem prodělala. Velmi často byla tímto prvokem infikována jehňata slabá a zaostávající v růstu. Společně s giardiemi se většinou vyskytovaly, zejména u jehňat do 25 dnů věku, kokcií rodu *Cryptosporidium*, u starších (jeden až dva a půl měsíce) různé druhy kokcií rodu *Eimeria* a střevní hlístice *Strongyloides papillosus*. Zmíněné kokcií a helmintózní infekce mohou být samy o sobě, v monoinfekcích, příčinou závažných onemocnění zažívacího traktu. Objektivně proto není možné jednoznačně konstatovat, že giardie byly hlavním původcem uvedených problémů zdravotního stavu a střevních enteritid jehňat.

Diagnostika *Giardia* sp. za živa je založena na průkazu cyst giardií (průměrná velikost je $14.2 \times 9.8 \mu\text{m}$), popřípadě i trofozoitů (průměrná velikost je $14.4 \times 7.6 \mu\text{m}$) v trusu. Tyto parazitární zárodky je možné detekovat při koprologickém vyšetřování

a) v nativním preparátu, který připravíme rozmícháním cca 1 g rektálně odebraného vzorku trusu ve vodě nebo ve fyziologickém roztoku a přenesením dvou až tří kapek na podložní sklíčko; potom prohlížíme pod mikroskopem při zvětšení 400 až 1000 $\times$,

b) různými flotačně centrifugačními metodami, např. podle Fausta (s nasyceným roztokem ZnSO_4) nebo podle Brezy (1957). Jako velmi vhodnou doporučujeme metodu flotace s použitím Sheatherova cukerného flotačního roztoku s měrnou hmotností $1.117 \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$ vzhledem k tomu, že nedochází tak rychle k destrukci vnitřní struktury cyst giardií. Složení tohoto flotačního roztoku je: 500 g cukru, 6,5 g fenolu, 320 ml vody.



1. Trofozoit *Giardia* sp. na povrchu slizničního epitelu jejunu 50denního jehněte v řádkovacím elektronovém mikroskopu

U uhynulých nebo nutně poražených jehňat se giardióza diagnostikuje na základě nálezů trofozoitů (obr. 1), popřípadě cyst:

- a) v obsahu tenkého střeva, zejména jejunu, ale i ilea v nativním preparátu,
- b) v roztěrech a otiscích slizničního epitelu různých oddílů tenkého střeva fixovaných metanolem a barvených metodou podle Giemsy.

Dosavadní výsledky našich studií o rozšíření parazitóz v současných velkochovech jehňat ukazují na významnost giardiózních infekcí v asociaci s jinými endoparazity při onemocněních gastrointestinálního traktu. Proto pokládáme za potřebné, aby se vedle diagnostiky různých infekčních patogenů bakteriálního a virového původu věnovala pozornost i střevním bičíkovcům rodu *Giardia*. Je to nu ně zejména v chovech, ve kterých jsou registrovány časté průjmy, popřípadě i zvýšené úhyny jednoměsíčních až dva a půlměsíčních jehňat.

Ing. Ivan Pavlásek, CSc.
Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice

CONTENTS

Švastová A.: <i>Haemophilus somnus</i> as a Causative Agent of Bronchopneumonia in Calves	193
Halouzka J., Hubálek Z., Juřicová Z.: Comparing Three Serological Assays for the Detection of Antibodies to Banja Virus in Domestic Ruminants	201
Pástorová B., Arendarčík J., Molnárová M.: The Effect of Hormonal Stimulation by Folistiman (FSH) and Protracted Exposure to Gamma Radiation on the Contents of Catecholamines in the Hypothalamus, Pituitary, and Adrenal Glands of Ewes in the Anoestral Period	209
Šemráková L.: Use of the ONPG Test in the Rapid Diagnosis of Certain Genera of Enterobacteria	219
Noskovič P., Mozeš Š., Kuchár S., Koppel J.: The Effect of Insulin on RNA and Protein Contents in the Lateral and Ventromedial Hypothalamus	225
Borošková Z., Benková M., Čech K., Pekárek J.: The Immunostimulative Action of the Non-specific Transfer Factor on the T and B Dependent Lymphocytes of Guinea Pigs in the Protection Effect of the Factor in Cases of Ascariasis	233
Štěrba F.: Experimental Induction of Spontaneous Brucella Infection of Guinea Pigs by Contact with Other Guinea Pigs Subcutaneously Infected with <i>Brucella suis</i> , Biovar 2	241

INHALT

Švastová A.: <i>Haemophilus somnus</i> als Erreger der Bronchopneumonie bei Kälbern	193
Halouzka J., Hubálek Z., Juřicová Z.: Vergleich dreier serologischer Tests für Detektion der Antikörper gegen das Virus Bandža bei Hauswiederkäuern	201
Pástorová B., Arendarčík J., Molnárová M.: Einfluss hormonaler Stimulation durch Folistiman (FSH) und protrahierter Exposition der Gamma-Strahlung auf den Spiegel von Katecholaminen im Hypothalamus, in der Hypophyse und in den Nebennieren der Schafe im Anöstrus	209
Šemráková L.: Einsatz des ONPG-Tests zur raschen Diagnostik einiger Enterobakteriengattungen	219
Noskovič P., Mozeš Š., Kuchár S., Koppel J.: Einfluß von Insulin auf den Gehalt der RNS und Proteine im lateralen und ventromedialen Hypothalamus	225
Borošková Z., Benková M., Čech K., Pekárek J.: Immunostimulierende Wirkung eines nichtspezifischen Transferfaktors auf T- und B-dependente Lymphozyten von Meerschweinchen im Schutzeffekt bei Askaridose	233
Štěrba F.: Experimentelle Induktion spontaner Brucelleninfektion von Meerschweinchen durch Kontakt mit subkutan mit <i>Brucella suis</i> , Biovar 2, infizierten Meerschweinchen	241



Rukopisy odevzdány k tisku 21. 12. 1987 — Podepsáno k tisku 2. 3. 1988

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, Novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1988

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Kubánská 1539, 708 72 Ostrava-Poruba. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.