

VĚDECKÝ ČASOPIS

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

7

ROČNÍK 10 (XXXVIII)
PRAHA,
ČERVENEC 1965
CENA 10 Kčs

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝCH
INFORMACÍ MZLVH

Rídí redakční rada

Prof. MVDr Emanuel Král, (předseda), člen korespondent ČSAV akademik Ivan Brauner, doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., doc. MVDr. Jaroslav Dražan, prof. MVDr. Tomáš Gdovin, MVDr. Martin Lis, MVDr. Andrej Mačička, MVDr. Ladislav Polák, doc. MVDr. Oldřich Svoboda, doc. MVDr. inž. Jan Vlček, pplk. MVDr. Miroslav Vojáček, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, CSc., MVDr. Ladislav Zima, MVDr. Alojz Žuffa, CSc.

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 1965



Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství, lesního a vodního hospodářství. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Mánesova 75, telefon 274551-8. Celoroční předplatné Kčs 120.—



Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по научному исследованию в области ветеринарной медицины. Издает Институт научно-технической информации Министерства сельского, лесного и водного хозяйства. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Манесова 75.



The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Institute of Scientific and Technical Information of the Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Mánesova 75.



Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben vom Institut für wissenschaftlich-technische Informationen des Ministeriums für Land-, Forst- und Wasserwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion Praha 2, Mánesova 75.



Le journal scientifique VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publie les études, analyses et traités scientifiques concernant les tâches de recherches résous dans le domaine de médecine vétérinaire. Publié par l'Institut des renseignements scientifiques et techniques du Ministère de l'agriculture, des eaux et des forêts. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Mánesova 75.

■ O infekční keratokonjunktivitidě skotu (IKKS) máme zprávy již z roku 1889 z USA (5). Brzy poté se stala předmětem pokusů o určení specifického etiologického původce, avšak do dnešního dne není tato otázka s definitivní platností rozřešena. Nejstarší názory se opírají o přítomnost různých bakterií ve spojivkovém vaku nemocných zvířat. Běžná saprofytní mikroflóra byla brzo vyloučena, ale až do dnešní doby je diskutována přítomnost hemolytických diplobakterií či diplokoků.

ETIOLOGIE

Hemolytické diplobakterie zjistil poprvé u IKKS Allen v r. 1919 (1), ale blíže je netypizoval. Jako *Hemophilus bovis* byly určeny izolace, prováděné např. Baldwinem (3), Reidem a Aningsteinem (32) v r. 1945, Jacksonem r. 1953 (19). V pracích Jonese a Littleho (20) z r. 1923, Hobbigerera (17) z r. 1957, Barnera z r. 1952 (4) a dalších jsou izolované zárodky typizovány jako *Moraxella bovis* (Diplobakterie Morax-Axenfeld), v práci Linquista (24) z r. 1960 jako Neiserie. Tyto mikroby se uvedeným autorům podařilo izolovat z očí klinicky nemocných zvířat, ale nepodařilo se již onemocnění, shodné s původním reprodukovat.

Velký počet pokusů s nejrůznějšími bakteriemi prováděli Wagenner, a Mittscherlich (39) vždy však s negativním výsledkem. Farley s kolektivem (14) pak studovali úlohu *Hemofilu bovis* v patogenesi IKKS, ale ve svých pokusech ji nepotvrdili.

Coles (10, 11, 12) objevil v r. 1931 a 1932 v očním sekretu i v konjunktiválních epithelových buňkách útvary, které nazval *Rickettsia conjunctivae*. Tyto útvary nacházeli i další a byli to opět Wagenner a Mittscherlich (39) a Mittscherlich (26), kteří prováděli detailní histologické studie i pasáže bakteriologicky sterilního očního exudátu na telatech. Uvedený mikroorganismus byl nazván později *Ricolesia bovis* a zařazen do rodu *Ricolesia*, řádu *Chlamidiaceae*, řádu *Rickettsiales* (Bergey — 2) a označen jako původce IKKS. Pokusy o jeho přenos na laboratorní zvířata nebyly úspěšné (Doman — 13, Černý a kolektiv — 9), podobně jako pokusy o přenos na kuřecí embrya a tkáňové kultury.

Názory o virové etiologii IKKS vyslovili např. Carpano (8) a Schweizer (36), avšak teprve Sykesovi a spol. (35) se podařilo

izolovat na tkáňových kulturách virus, patřící do skupiny infekční bovinní rhi-notracheitidy a zpětně jím vyvolat onemocnění.

V ČSSR máme zatím pouze práci Černého a kol. z r. 1953 (9), kteří nacházeli v otiskových preparátech intra i extraplazmatické inkluze, podle bakterioskopického nálezu *Rickettsia conjunctivae*. Handl a Kubeš (16) izolovali v Severomoravském kraji z očí skotu IKKS čisté kultury *Moraxella bovis*.

Na SDL Liberec-Vratislavice provádíme vyšetřování IKKS v Severočeském kraji již delší dobu a izolovali jsme virus, patřící do skupiny *psittacosis-ornithosis-lymfogranuloma*.

MATERIÁL A METODIKA

Jako nejvhodnější materiál k virologickému vyšetření se osvědčily seškraby ostrou lžičkou ze sliznice spojivky a třetího víčka, suspendované v 5 až 10 ml bujónu s 500 gama SMC/ml. Seškraby bylo nutno provádět v hloubce konjunktiválního vaku a víčka byla odchlípnuta tak, aby se snížila na nejmenší možnou míru bakteriální kontaminace s povrchových částí víčka.

Pro bakteriologické vyšetřování byly obdobným způsobem zaváděny vatové tampóny, smočené v bujónu.

Odebrané vzorky byly do laboratoře převáženy v termosce s ledem a pokud nebyly tentýž den zpracovány, zmrazeny na -60°C . Krevní sérum bylo po stažení centrifugováno, do vyšetření uchováno při -60°C a inaktivováno těsně před prováděním KFT.

K pokusům o izolaci specifického agens jsme používali:

- a) šesti—sedmidenní kuřecí embrya, očkováná do žlutkového vaku à 0,5 ml, pozorovaná 8 dnů,
- b) bílé myšky laboratorní kmene H, chovná stanice Děčín, váhy 6—8 g, očkováná à 0,03 ml *i. c.*, 2 kapky *i. n.* nebo 0,3 ml *i. p.*,
- c) morčata váhy 250 g, očkováná 5 kapkami suspense *i. n.* v éterové narkóze či *i. p.* buď 2 ml rozděleně ve třech dnech, nebo jednorázově 1 ml.

Po záhytu byl virus pasážován dále na žlutkových vacích kuřecích embryí a na morčatech.

Komplementfixační test jsme prováděli s 2 MHD komplementu, 4 MHD hemolysinu a optimální dávkou antigenu ledničkovou modifikací podle Kolmera v celkovém objemu 0,5 ml za použití 2 % ovčích krvinek. Jako pozitivní reakce byly posuzovány pouze čtyř a tříkřížkové reakce od titru 1 : 8 včetně.

Komplement a hemolysin byly komerční výrobky n. p. Bioveta Terežín, ovčí krvinek z n. p. Bioveta Ivanovice.

- Použité antigeny:
1. Antigen psitakózy pro RVK — op. č. 1—64, n. p. Bioveta Terežín.
 2. Ornitózoový antigen z myších plic, získaný od dr. Boháče z VÚVL Brno.
 3. Ornitózoový antigen Volkert-Christensenův ze žlutkových vaků, získaný od dr. Boháče z VÚVL Brno.
 4. Ornitózoový antigen z plic myšek, infikovaných kmenem psitakózy, izolovaným z importovaného papouška (vlastní výroba).
 5. Q-antigen k RVK, n. p. Bioveta Terežín.

Zpětný důkaz přítomnosti viru ve žlutkových vácích infikovaných embryí jsme rovněž prováděli serologicky. Z vyšetřovaných vaků žlutkových jsme vyrobili vařený, éterem extrahovaný antigen Volkert-Christensenův a titrovali boxovou titrací proti dvěma lidským sérum s titrem 1 : 1024 a 1 : 256, získaných od dvou pacientů s klinickou psitakózou.

Kontrolní negativní antigen byl vyroben stejnou metodikou z neinfikovaných žlutkových vaků.

Otiskové preparáty byly barveny dlouhodobě Giemsou, dále podle Stamp-Mittscherlicha (standardní laboratorní metodiky).

Histologické řezy barveny Giemsovým barvivem v modifikaci Rychla (33). Všechny antigeny 1—4 byly stejně citlivé, rozdíl byl pouze v používané koncentraci.

V Ý S L E D K Y

I z o l a č n í p o k u s y : Popsanou metodikou jsme vyšetřovali výškraby z 57 očí od skotu různých věkových kategorií, převážně telat, z 11 zemědělských závodů; z nich jsme izolovali virus ve 36 případech.

Typizaci jsme provedli na pěti kmenech viru, pocházejících z pěti zemědělských závodů.

Bílé myšky se ukázaly pro záchyt viru jako zcela nevhodné, protože žádným způsobem inokulace se u nich nepodařilo vyvolat klinické onemocnění či úhyn ani ve čtvrté slepé pasáži. Rovněž otiskové preparáty z orgánů byly negativní.

Žlutkové vaky kuřecích embryí se rovněž pro izolaci viru neosvědčily, neboť materiál ze seškrabů nebyl nikdy sterilní a po jeho inokulaci hynula embrya do 48 hod. na bakteriální kontaminaci; zvýšeným množstvím antibiotik, zvláště penicilinu, se inaktivoval virus.

Nejvýhodnější cestou se ukázala infekce morčat buď cestou intraperitoneální při málo kontaminovaném materiálu, nebo intranasální v éterové narkóze, při větším bakteriálním znečištění. Morčata hynula na bakteriální sepsi jen ojediněle a to 2. až 4. den po infekci. Infekce virem se projevovala asi v 1 % případů úhynem 7.—17. den po infekci a asi v polovině případů zvýšením teploty na 40° C—41° C.

Při pitvě infikovaných morčat jsme téměř vždy nacházeli patologicko-anatomické změny různé intensity:

u utracených bez zvýšené teploty byly pravidelně značně zvětšené sleziny a občas bronchopneumonické změny na plicích,

u utracených horečkujících zvířat rovněž zvětšené sleziny, bronchopneumonie, peritonitidy a pleuritidy,

u uhynulých fibrinózní pleuritidy a peritonitidy, bronchopneumonie, lienitidy, hepatitidy a nefritidy.

V otiskových preparátech z plic, sleziny, jater a ledvin jsme nacházeli intraplazmatické inkluse v různých fázích vývojového cyklu jako elementární tělíska spojená v matrix i elementární tělíska extraplazmaticky uložená, a to ve větším či menším množství, které nebylo vždy úměrné intenzitě patologicko-anatomických změn.

K dalším pasážím jsme používali 10 % suspenze ze sleziny, plic a ledvin buď uhynulých morčat, nebo utracených 10. až 14. den po infekci. Prováděli jsme až 6 morčecích pasáží, během kterých se virulence nepatrně zvýšila, měřeno zvýšeným počtem horečkujících morčat.

Pro sérologické vyšetření jsme morčatům odebírali krev za 2, 4 a 6 týdnů po infekci. Titry KFT proti ornitózovým antigenům se zvyšovaly takto: za dva týdny maximálně 1 : 4 (4 % morčat), za 4 týdny od 1 : 8 do 1 : 32, za 6 týdnů od 1 : 8 do 1 : 128 (90 % morčat). Proti antigenu Q-horečky byly titry negativní. Téměř ve všech případech se výsledky pitvy, KFT i otiskových preparátů shodovaly, ojediněle byly pitevní nálezy nevýrazné, otiskové preparáty negativní, avšak KFT pozitivní.

Zachycené kmeny jsme se pokusili adaptovat z morčecích slezin, ve kterých byl virus nejvíce koncentrován (podle otiskových preparátů) na žlutkové vaky sedmidenních kuřecích embryí. V prvních třech pasážích docházelo jen k ojedinělému nebo žádnému hynutí. Teprve od čtvrté pasáže se hynutí zvyšovalo a dosahovalo v sedmé vaječné pasáži 80 % s maximem 4.—6. den *post. inf.* při pozorovací době 10 dnů. Přítomnost viru byla prokazována:

1. zpětnou infekcí morčat,
2. komplementfixačním testem, kdy infikované žlutkové vaky sloužily jako antigen proti pozitivním psitakózovým antigenům,
3. experimentální infekcí telat.

Adaptovaným virem infikovaná morčata sice neměla zvýšenou teplotu, ale patologicko-anatomické nálezy, otiskové preparáty a KFT dávaly opět pozitivní výsledky podobně jako při primoizolaci. V komplementfixačním testu reagoval vyšetřovaný antigen s pozitivními séry ve zředění 1 : 16 až 1 : 32, zatím co kontrolní dával negativní výsledek.

Sérologické vyšetřování sér skotu: Komplementfixačním testem jsme vyšetřili: 36 vzorků sér, pocházejících od skotu, u kterého stáří procesu nebylo delší než 10 dnů. Izolace viru se ve všech 36 případech zdařila. KFT s ornitózovým antigenem dal u všech vzorků negativní výsledek.

150 vzorků sér od zvířat s procesem starším než 14 dnů, to jest s vyvínutou nebo již doznívající keratitidou s výraznými příznaky. U 21 kusů skotu byly odebrány vzorky k pokusu o izolaci viru, která se však nezdařila. KFT dal u všech těchto sér pozitivní výsledek s ornitózovým antigenem, titry se pohybovaly od 1 : 16 do 1 : 128. S antigenem Q-horečky byl výsledek negativní.

Vyšetření stájových vzorků: Ve stáji JZD L. proběhla IKKS ve stádě 96 dojnic u 40 kusů v létě r. 1963. Ještě o rok později jsme KFT dokázali 26 % signifikantně zvýšených titrů protilátek proti ornitózovému antigenu.

Ve stáji státního statku V. se objevila IKKS v červnu r. 1954 a léčení nebylo důsledně prováděno. Chorobné příznaky přetrvávaly až do září 1964, kdy jsme odebrali krevní vzorky. KFT prokázal pozitivní titry až do výše 1 : 128 u 36 % zvířat.

Kontrolní vyšetření 250 krevních vzorků, namátkově vybraných z okresů, v nichž se IKKS nevyskytovala, dalo s ornitózovým antigenem při KFT negativní výsledek.

Experimentální infekce telat izolovaným virem: Pro pokus jsme vybrali telata z obce, kde v okruhu 10 km nebyla IKKS dosud nikdy pozorována. Všechny kusy byly v den příjmu vyšetřeny KFT s ornitózovým antigenem a Q-antigenem. Před inokulací materiálu byly ponechány 7—10 dnů k aklimatizaci. V této době byly klinicky vyšetřovány, měřena teplota a odebrána krev ke KFT. U žádného jsme neprokázali zvýšený titr protilátek proti použitým antigenům ani ve zředění séra 1 : 4.

Infekci jsme prováděli takto:

Tele č. 1: Použitý materiál: kmen viru 194 Mach, izolován v r. 1963 ze seškrabů spojivky telete s IKKS, 2 pasáže na morčatech, 7 pasáží na žloutkových vacích, lyofilizován jako 20% suspenze. Suspenzi jsme ředili bujónem na 10% a vpravili 0,5 ml do spojivkového vaku pravého oka, znečitlivěného prokainem. Materiál byl pečlivě rozprostřen po celé spojivce, oko na 6 hodin převázáno sterilní gázou. Druhé oko sloužilo jako kontrola. Klinické příznaky: za 48 hod. po infekci: slabé zvýšení serózní sekrece, v sekretu lymfocyty, monocyty a množství inkluzních tělísek v různých vývojových fázích, spojivka zarudlá, 4.—6. den mulec horký, suchý, oboustranný mukózní výtok z nozder, silný séromukózní výtok z pravého oka, spojivka zarudlá, cévy nastříklé, třetí víčko opuchlé, zarudlé, vyhrzlé. Další dny se stav zlepšil až do 10. dne, kdy bylo oko již bez klinických příznaků.

den po inokulaci: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
teplota: 38,1 38,2 39,8 39,8 39,2 39,6 39,6 38,8 38,9 38,4
Komplementfixační test s ornitózovým antigenem, připraveným z myších plic:

4. den p. inf. negativní

15. den p. inf. titr 1 : 128

21. den p. inf. titr 1 : 64

S Q-antigenem vždy negativní.

Sedmý den po inokulaci jsme odebrali z chorobně změněného oka vzorky k virologickému a bakteriologickému vyšetření. Virus jsme zachytili na morčatech a adaptovali zpět na žloutkové vaky stejným způsobem jako u primozizolací.

Tele č. 2: Materiál: kmen 19 Všeřdy jako 10% susp. ze sleziny morčete z třetí pasáže, inokulováno 0,5 ml do spojivkového vaku jako u telete č. 1 5. až 7. den p. inf. silný serózní až serózně hnisavý výtok, otok a překrvení spojivky a třetího víčka, od 8. dne bez příznaků. Teploty nebyly zvýšeny.

KFT: 10. den p. inf. titr 1 : 8

18. dne p. inf. titr 1 : 32

25. dne p. inf. titr 1 : 32 s ornitózovým antigenem, s Q-antigenem negativní.

Seškrab ze sliznice proveden 6. dne s pozitivní izolací viru na morčatech.

Bakteriologickým vyšetřením obou těchto telat v průběhu experimentální infekce jsme nezjistili přítomnost haemolytických diplobakterií, pouze běžnou saprofytní mikroflóru.

Tele č. 3: uš. č. 0237, očkov. lyofilizovaným kmenem 194 Mach v dávce 0,5 ml intradermálně do kůže pravého horního víčka. Po celou dobu 28 dnů bez klinických příznaků, KFT negativní.

Tele č. 4: uš. č. 057, kmen 194 Mach, očkováno po dva dny dávkou 2 ml 20% suspenze intramuskulárně. Klinické příznaky se neobjevily, KFT prokázal stoupající titr protilátek proti ornitózovému antigenu takto:

7. den p. inf. 1 : 16

21. den p. inf. 1 : 32

27. den p. inf. 1 : 64

Tele č. 5: jalovička bez čísla — bílá. Sloužila jako pozitivní kontrola pro KFT, očkováno psitakózovým antigenem vlastní výroby z myších plic po dva dny dávkou 2 ml. Dynamika titrů:

7. den p. inf. 1 : 8

14. den p. inf. 1 : 32

21. den p. inf. 1 : 16

K odstranění nespecifických reakcí na inokulované bílkoviny ve vehiculu jsme prováděli komplement-fixační testy při těchto experimentálních infekcích vždy tak, aby při inokulaci vaječného materiálu byl použit antigen z myších plic a opačně, při inokulaci myšního antigenu (tele č. 5) jsme brali do KFT antigen ze žloutkových vaků.

Bakteriologické vyšetření stěrů ze spojivkových vaků: Kromě běžné saprofytní mikroflóry jsme z očních výtěrů od zvířat ze tří lokalit izolovali *Neisserie*, vždy z případů ulcerózní keratitidy. Typizace *Neisserií* byla provedena podle Linquista.

DISKUSE

Na základě uvedených výsledků jsme si položili otázky:

1. Jak se izolované agens uplatňuje v etiologii IKKS,
2. Jaké je jeho systematické zařazení.

Domníváme se, že můžeme tento virus označit za primární etiologické agens, které v námi vyšetřených lokalitách vyvolávalo infekční keratokonjunktivitidu u skotu. Svůj názor opíráme o tyto důkazy: virus jsme izolovali ze spojivkových vaků nemocných zvířat, izolovaným virem jsme vyvolali obdobné onemocnění u telat a prokázali jsme tvorbu specifických protilátek u zvířat, prodávších přirozeně i experimentálně vyvolanou IKKS. Zdá se však, že virového původu je pouze konjunktivitida, zatím co v pozdějších stádiích choroby se uplatňují hlavně různé faktory bakteriální. Svědčí o tom pozitivní izolace viru jen z čerstvých stádií procesu i výsledek experimentálního přenosu na telata.

Útvary, které byly označovány jako *Rickettsie*, později *Ricolesie*, byly zřejmě vývojová stadia tohoto viru, neboť srovnáním fotografií *R. bovis* ze starších prací s našimi mikroskopickými nálezy vidíme značnou podobnost. Již tyto nálezy a růstové vlastnosti naznačovaly, že může jít o příslušníka skupiny velkých virů a ne *Ricolesie*, avšak typizaci rozhodla teprve sérologie. Komplement-fixačním testem jsme dokázali v sérech přirozeně i experimentálně infikovaného skotu a v sérech infikovaných morčat přítomnost skupinového termostabilního antigenu, společného pro viry ze skupiny *psittacosis-ornithosis-lymfogranuloma* (POL) — 21. Současně jsme prokázali pozitivní reakce v KFT mezi známými rekonvalescentními antipsitakosovými séry a antigeny, připravenými ze žloutkových vaků embryonovaných kuřat, infikovaných zachyceným virem. Tato typizace řadí izolovaný virus do rodu *Myiagawanella*, čeledi *Chlamidiaceae* podle klasifikace *Bergeyovy* (2), podle *Ždanovovy* systematiky do rodu *Rickettsiaformis* (41). Jiní autoři označují tuto skupinu jako *Bedsonie*, *Neorickettsie*, nebo již zmíněné POL viry (38).

Obdobné viry se podařilo izolovat z různých druhů zvířat i z různých klinických odlišných nemocí. Virulence jednotlivých druhů i kmenů pro laboratorní zvířata je rozdílná, jak o tom svědčí řada zpráv i v naší literatuře (22, 23, 27, 28, 29, 30, 31). I sérologické prošetřování prokázalo v sérech skotu přítomnost protilátek proti virům POL u skotu (7, 15, 1, 37). Proto jsme posuzovali naše sérologické nálezy u rekonvalescentního skotu opatrně, ovšem dynamika titrů, jak se nám jevila u infikovaných morčat i pokusných telat, dává hodnověrný důkaz o přímém vztahu zjišťovaných protilátek k inokulu a dovoluje nám hodnotit výsledky KFT u stájových vzorků jako cenný doplněk k izolaci viru.

Viry ze skupiny POL, jsou schopny — jak již bylo uvedeno — působit

různé klinicky odlišné choroby skotu. Jsou to především pneumonie, enteritidy, encephalomyelitidy, vaginitidy, aborty, podle našich zkušeností i infekční keratokonjunktivitidy. Bude nyní dalším, velmi důležitým úkolem zjistit, do jaké míry jsou viry POL schopny měnit svoji patogenitu a zda může jeden kmen vyvolat na příklad IKKS a pneumonie, či jiné kombinace. Vzhledem k známé variabilitě virů POL i na základě vlastních pozorování upozorňujeme na tyto možnosti a tím i na další faktor, kterým IKKS může nepříznivě ovlivňovat chov skotu v zamořených oblastech.

SOUHRN

1. Z případů infekční keratokonjunktivitidy skotu byl izolován virus ze skupiny *psitacosis-ornithosis-lymfogranuloma*, který byl adaptován na morčata a na žloutkové vaky sedmidenních kuřecích embryí.

2. Adaptovaným virem intrakonjunktiválně infikovaná telata onemocněla za příznaků akutní konjunktivitidy a vytvořila komplement-fixující protilátky až do titru 1 : 128.

3. Sérologické vyšetření komplementfixačním testem dalo signifikantní titry protilátek proti ornitózovému antigenu:

- a) u zvířat nemocných, pokud stáří procesu přesahovalo 14–21 dnů,
- b) u zvířat, která přestala IKKS před rokem,
- c) u zvířat, pokusně infikovaných izolovaným virem.

4. Virus byl izolován ze zvířat, u nichž stáří chorobného procesu nepřesáhlo 14 dnů.

Došlo dne 11. 1. 1965

Literatura

1. Allen: J. A. V. M. A. 1918-1919, 54, 307, cit. podle 11. — 2. Breed, Murray, Smith: Bergeys Manual of Determinative Bacteriology 1957. — 3. Baldwin 1945: Am. J. Vet. Res. 1945, 6, 180. — 4. Barner: Am. J. Vet. Res. 152, XIII., 47, 132. — 5. Billings: Bull. Nebraska Agric. Exper. Sta., 1889, cit. podle 19. — 6. Boháč: Veterinářství 1960, X., 3, 81. — 7. Březina, Urvölgyi: Vet. čas. 1959, VII., 6, 532. — 8. Carpano: cit. podle 25. — 9. Černý, Dražan, Lax, Zendulka: Veterinářství 1953, III. 10, 226. — 10. Coles 1931, cit. podle 19. — 11. Coles 1932, cit. podle 19. — 12. Coles: J. S. Afr. Vet. Med. A. 1936, 7, 221. — 13. Domán: MÁL 1959 XIV., 1, 6. — 14. Farley, Kliever, Pearson, Foote: Am. J. Vet. Res. 1950 XI., 38, 17. — 15. Gmitter: Vet. Med. 1960, 6, 457. — 16. Handl, Kubeš 1964: V tisku. — 17. Hobbiger: Milchwissensch. Ber. 1957, 7, 177. — 18. Ihlenburg, Hafner: Mh. Vet. Med. 1964, XIX., 2, 64. — 19. Jackson: Am. J. Vet. Res. 1953, XIV., 50, 19. — 20. Jones, Little: J. Exptl. Med. 1923, 38, 139 - cit. podle 19. — 21. Jenkin, Ross: J. Immunology 1961, 86, 123. — 22. Kapitánčík, Polony, Vrtiak: Vet. čas. 1962, XI, 1, 10. — 23. Konrád, Boháč: Vet. čas. VIII., 3, 228. — 24. Linguist: J. Inf. Dis. 1960, 2, 162. — 25. Michalka: Wiener tierärztl. Wschr. 1959, 46, 650. — 26. Mitscherlich: B. u. M. tierärztl. Wschr. 1941, 34, 408. — 27. Polony, Vrtiak, Pleva, Koppel: Veterinářství 1960, X., 3, 82. — 28. Polony, Vrtiak, Balaščík: Vet. čas. VIII., 3, 228. — 29. Polony, Vrtiak, Koppel, Benko: Vet. čas. 1961, X., 2, 105. — 30. Polony: Kandidátská diss. práce, Košice 1960. — 31. Pospíšil, Polony, Mittermaier, Vrtiak: Čs. EMI. 1961, X., 2, 98. — 32. Reid, Annungstein: Texas Rep. on Biol. and Med. 1945, 3, 187 - cit. podle 19. — 33. Rychlo: Čs. EMI, 1957, VI., 4, 266. — 34. Strauss, Frič, Šulcová: Čs. EMI 1958, VII., 1, 15. — 35. Sykes, Dmochowski, Clifford, Grey, Russel: Proc. of the Soc. Exp. Biol. and Med.: 1962, NY, 01 111. — 36. Schweizer: cit. podle 25. — 37. Šerý, Pham Ván Nong, Joan Thi Cám Nhung: Čs. EMI.

1960, IX., 1, 23. — 38. Trunkát: 1963, Písemná práce ke zkoušce z kand. minima. — 39. Wagener, Mitscherlich: 1942: B. u. M. tierärztl. Wschr. 39/40, 291. — 40. Zettl: Vet. Med. Nachrichten 1960, I., 23. — 41. Ždanov: Viren bei Mensch und Tier. Jena 1957.

Изоляция вируса группы psittacosis - ornithosis - lymphogranuloma из инфекционного керато-конъюнктивита крупного рогатого скота

1. Во время инфекционного заболевания керато конъюнктивитом крупного рогатого скота был изолирован вирус из группы psittacosis-ornithosis-lymfogranuloma, адаптированный на морских свинках и на желточных мешках семидневных куриных зародышей.

2. Интраконъюнктивально инфицированные адаптированным вирусом телята заболели с признаками острого конъюнктивита и образовали комплемент-фиксирующие антитела вплоть до титра 1 : 128.

3. Серологическое исследование комплемент-фиксационным тестом дало симптоматические титры антител против антигена ornithosis:

a) у животных больных, поскольку срок от начала процесса не превышал 14—21 дня

б) у животных, которые перенесли ИККС год тому назад,

в) у животных, инфицированных изолированным вирусом в порядке опыта.

4. Вирус был изолирован от животных, у которых срок от начала процесса болезни не превышал 14 дней.

Isolation of the Psittacosis-Ornithosis-Lymphogranuloma-Group Virus from the Infectious Keratoconjunctivitis of Cattle

1. A virus of the psittacosis-ornithosis-lymphogranuloma-group was isolated from some cases of infectious keratoconjunctivitis of cattle. This virus was adapted to guinea-pigs and to yolk-sacs of the seven-days-old chicken embryos.

2. The calves infected with the adapted virus intraconjunctivally fell ill showing signs of acute keratoconjunctivitis and produced the complement-fixing antibodies up to the titer of 1 : 128.

3. The serological examination by means of the complement-fixation-test revealed significant titers of antibodies against the ornithosis antigen:

a) in sick animals if the duration of the process did not exceed 14—21 days,

b) in animals that overcame the infectious keratoconjunctivitis of cattle a year ago,

c) in animals experimentally infected by the isolated virus.

4. The virus was isolated from animals the pathologic process of which did not exceed a fortnight.

Isolierung des Virus der Gruppe psittacosis-ornithosis-lymphogranuloma aus der infektiösen Keratokonjunktivitis des Rindes

1. Aus Fällen der infektiösen Keratokonjunktivitis des Rindes isolierte man das Virus aus der Gruppe psittacosis-ornithosis-lymphogranuloma, das auf Meerschweinchen und auf Dottersäcken siebentägiger Hühnerembryen adaptiert wurde.

2. Durch das adaptierte Virus intrakonjunktival infizierte Kälber erkrankten unter Erscheinungen einer akuten Konjunktivitis und bildeten ein Komplement-fixierendes Antikörper bis zu einem Titer von 1 : 128.

3. Die serologische Untersuchung mittels Komplement-Fixationstest ergab signifikante Antikörper-Titer gegen das Ornithosen-Antigen:

a) bei kranken Tieren, sofern das Alter des Prozesses 14—21 Tage überschritt,

b) bei Tieren, die die infektiöse Keratokonjunktivitis des Rindes vor einem Jahre durchmachten,

c) bei Tieren, die mit isoliertem Virus versuchsweise infiziert wurden.

4. Das Virus wurde aus Tieren, bei denen das Alter des Krankheitsprozesses 14 Tage nicht überschritt, isoliert.

MVDr Bořek Dyml

Ústřední státní veterinární ústav
stanice laboratorní diagnostiky,
Vratislavice n. Nisou

■ Tkáňové kultury z primárních epitheliálních buněk telecích nebo prasecích ledvin se staly nejběžnějším substrátem pro pomnožování viru slintavky *in vitro*. Technika tkáňových kultur umožnila za poslední desítku let podstatný pokrok v základním výzkumu viru slintavky a pomohla vyřešit řadu důležitých úkolů při výrobě vakciny proti slintavce.

Zavedení buněčných linií a později buněčných kmenů bylo dalším pokrokem v této metodice, který odstranil řadu specifických nevýhod a obtíží primárních kultur, i když samo používání buněčných linií a kmenů přineslo s sebou opět svoje vlastní problémy.

Až do roku 1962 bylo využívání buněčných linií pro práce s virem slintavky celkem omezené a jen ojedinělé práce poukazovaly na snahu o další pokrok v tomto směru.

Schwöbel a spol. (14) použili buněčnou linii ENS 53, získanou z tkáně ledviny dospělého prasete. Tato linie byla citlivá vůči třem kmenům viru SLAK, i když poněkud méně než primární kultura. CPE však byl dokonce lepší a přesněji odečitatelný na buněčné linii než na primárních kulturách.

O rok později popsali podobnou práci Haag a Santucci (4). Kultivovali virus SLAK na 4 liniích prasecích ledvinových buněk. U dvou linií prokázali autoři diploidní charakter buněk, identický s karyotypem normálního prasete. Autoři zjistili, že kmeny viru SLAK, které byly již před tím kultivovány *in vitro*, byly ihned cytopatogenní pro uvedené linie, zatím co virus získaný z aftů skotu se množil na liniích bez tvorby CPE.

V této práci se tedy již projevila velmi častá vlastnost buněčných linií, t. j. podstatně snížená citlivost vůči neadaptovanému kmeni viru slintavky.

Castucci (3) popsal kultivaci viru SLAK typu C na linii buněk z hovězí ledviny (RbP). Virus se množil bez tvorby CPE. Během postupných 30 pasáží si virus zachoval svůj infekční titer a neprojevil žádných známek změn ve své antigenní struktuře. CPE se nevytvářel ani po 30 postupných pasážích.

Nechybí ani práce, které popisují negativní výsledky kultivace viru SLAK na buněčných liniích (Thorne a spol., Martin, Burrows).

Nejvýznamnějších výsledků bylo dosaženo s použitím fibroblastické linie křeččích buněk, označované jako BHK 21 (Macpherson, Stocker). Jejich význam pro kultivaci viru SLAK popsali v r. 1962 Mowat a spol. (11), dále Mowat a spol. (10) a Capstick (2). Tato linie se rychle rozšířila na řadu pracovišť a je používána jak pro výrobu viru k přípravě inaktivo-

vaných i modifikovaných vakcín (buď v monolayerech nebo v suspensních kulturách), tak i pro všechny druhy výzkumných prací. Linie je primárně citlivá na všechny dosud zkoušené kmeny viru SLAK a nebylo dosud popsáno, že by při pasážích viru na těchto buňkách docházelo k nějakým změnám viru co do virulence nebo imunogenity.

Hahnfeld a Hahnfeldová (6) pracovali s linií buněk z mozku selete (REFH) a prokázali již po několika pasážích změnu biologických vlastností viru SLAK typu C. Změna se týkala schopnosti tvorby CPE na REFH buňkách, morfologie plaků na primárních buňkách selat a schopnosti růstu při 40° C a dále patogenity pro myšky a selata.

Zájem o adaptace viru SLAK na různé druhy tkáňových kultur v poslední době podstatně vzrůstá, neboť zkušenosti a další poznatky ukazují, že řada různých tkáňových kultur může působit jako modifikující faktor na virus SLAK. [Mayr a Wittmann (9)]. Se zdokonalením metod selekce a purifikace pasážovaných kmenů viru na tkáňových kulturách lze získat poměrně rychle relativně homogenní populace virů, z nichž je možno vybrat vhodné virové kmeny pro přípravu živých očkovacích látek proti slintavce.

Závažné úkoly dalšího vývoje nových metod kultivace viru slintavky jak pro výrobní úkoly, tak i pro řešení řady výzkumných problémů a zvláště pak reálné možnosti modifikace viru SLAK při kultivaci na některých typech buněčných kultur byly podnětem k adaptaci viru slintavky na linie telecích a prasečích ledvinových buněk.

MATERIÁL A METODIKA

1. Buněčné linie. Naše práce se zaměřily na 3 buněčné linie:

a) Linie telecích ledvinových buněk, označovaná jako TOB, kterou získala a popsala Somogyiová (13) v r. 1962. Má více než 190 pasáží.

b) Linie telecích ledvinových buněk, označovaná jako TL 72. Byla získána z monolayeru telecích ledvinových buněk v r. 1963 (Sladká — nepublikováno). Prošla dosud více než 60 pasážemi.

c) Linie prasečích epitheliálních buněk, označovaná jako PK, popsaná Korychem a spol. (8). U nás prošla tato linie více než 30 pasážemi. Přesný původ a počty pasáží této linie nám nejsou známy.

Uvedené linie se v předběžných pokusech ukázaly jako velmi málo citlivé na virus SLAK. Neadaptovaný virus se na dorostlých monolayerech těchto linií množil jen velmi slabě, tvorba CPE byla negativní a zisk viru v dalších pasážích byl negativní.

2. Růstová media. Pro kultivaci telecích ledvinových buněk jsme používali Earlovo medium s 0,5 % laktalbumin hydrolyzátu (LAHu), 0,01 % yestolátu Difco, 0,5 % kuřecího embryonálního extraktu a s 10 % telecího séra. Linie prasečích buněk byla kultivována v Earlově mediu s 0,5 % Lahu a 10 % normálního telecího séra.

3. Virus. K adaptaci byl použit virus SLAK typu C, kmen „Polsko“. Před adaptací na linie absolvoval 116 přímých pasáží na primárních telecích buňkách. Vytvářel silný CPE, dosahoval titru TCID₅₀ 10^{-8,0}/0,1 ml, byl silně virulentní pro sajkí myšky (LD₅₀ 10^{-8,5}/0,03 ml). U morčat vyvolával po i. d. aplikaci do patek generalizaci procesu. Tvorba KF antigenu v primárních tkáňových kulturách byla výrazná. Velmi dobré imunogenní vlastnosti tohoto kmene umožnily jeho využití jako výrobního pro přípravu vakcíny proti slintavce.

4. **Z p ů s o b a d a p t a c e.** Po velmi variabilních a málo nadějných pokusech s přímými pasážemi a se střídavými pasážemi na dorostlých monolayerech jsme použili pro infekci telecích buněk metodou synchronní infekce čerstvě versenovaných, dosud nepřichycených buněk. Pracovali jsme obvyklou metodou versenace dorostlých monolayerů s použitím 0,02 % versenu a 0,05 % trypsinu při teplotě 37° C, s odstředěním uvolněných buněk a jejich resuspendací do příslušného média s 10 % telecího séra.

K infekci jsme používali malých Roux-lahví s aktuálním objemem 30 ml média s buňkami v celkovém množství 5,000.000 buněk. V kontrolní láhvi zaručovala tato denzita dorůstání kompletního monolayeru za 24, maximálně 48 hodin ve stacionární poloze při 37° C. Infekci čerstvě nasazených buněk jsme prováděli nejprve ve zkrácené titraci od viru koncentrovaného do ředění 1 : 1000 dávkou 5 ml na 1 Roux-láhev. Počáteční multiplicita dosáhla hodnoty 5000 TCID₅₀ na 1 buňku, v dalších pasážích bylo dosaženo multiplicity 0,01, v pozdějších pasážích pak 5–500 TCID₅₀ na 1 buňku.

Buňky linie PK jsme infikovali v dorostlém monolayeru. Dávka viru byla opět 5 ml v ředění 1 : 10, s adsorbci viru při 37° C po dobu 45 minut a s doplněním média na 30 ml. Pozdější pasáže jsme pak prováděli titrační metodou na zkumavkách.

5. **P r ů k a z v i r u v p a s á ž í c h.** Virus ve vzorcích média v jednotlivých odběrech z pasáží byl prokazován titracemi na zkumavkách s primárními telecími buňkami a pak v kolor-testu s buňkami PK. Identita pasážovaného kmene byla v každé pasáži kontrolována sérologicky KF testem. Přibližně každá 20. pasáž byla titrována na sajících myškách, starých 24–72 hodin. Pro jedno ředění byl použit nejméně 1 vrh myšek (7–8 zvířat). Specifita úhynu po 7 dní po s. c. infekci byla v nejvyšších ředěních prokazována KF testem.

V Ý S L E D K Y P R A C Í

LINIE TELECÍCH BUNĚK

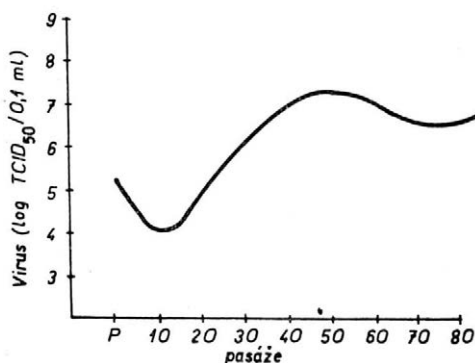
Předběžné pokusy s kmeny viru O a C ukázaly, že zvolený kmen typu C „Polsko“ má proti kmeni typu O podstatně lepší schopnost množit se na linii telecích buněk. Jak ukázaly pokusy na dorostlých monolayerech, byly výsledky s typem C lepší a obvykle ještě 5. postupná pasáž byla slabě pozitivní, zatím co stejné pasáže s kmenem O byly již opakovaně negativní. Zvolili jsme proto kmen typu C jako model k dalším pokusům.

Roux-lahve s příslušnou denzitou buněk byly infikovány 5 ml příslušného ředění viru a po infekci byly inkubovány po 6 dní při 37° C. Jednou denně byl sterilně odebírán vzorek média k průkazu viru. Od 20. postupné pasáže bylo pozorování zkráceno na 3 dny, po 30. pasáži na 48 hodin. Později, kdy CPE dosahoval hodnot + + + +, byly pasáže ukončovány za 24 hodin. Růst buněk v infikované Roux-láhvi byl srovnáván se současně nasazenou neinfikovanou kontrolní láhví.

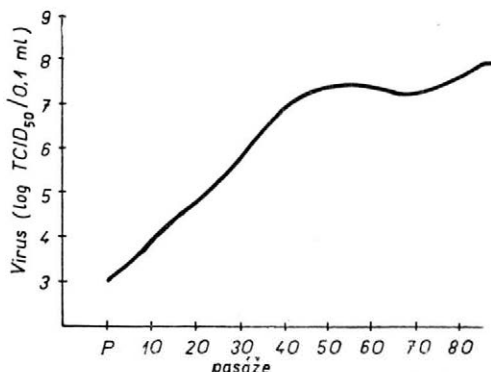
Tímto postupem jsme dosáhli hrubého přehledu o dynamice množení viru v tomto typu buněk. V počátečních pasážích dosahoval virus maximálního titru za 48–72 hodin, pak celkem pravidelně ubýval a 6. den býval prokazován jen v nízkém nebo žádném titru. Pro další pasáž jsme použili vždy ten odběr, který měl nejvyšší hodnotu, což obvykle býval druhý, v dalších pasážích pak pravidelně první odběr.

Na linii TOB se v počátečních pasážích pohybovaly nejvyšší titry kolem hodnot 10^{-3} – $10^{-4,5}/0,1$ ml. Mezi 10. a 20. pasáží dosahovaly hodnot $10^{-3,5}$ až $10^{-5,0}$, ve 30. pasáži stoupl infekční titr na hodnotu $10^{-6,0}$ a mezi 40. až 60. pasáží se udržoval na výši $10^{-7,0}$. Pak v průměru poněkud poklesl na výši $10^{-6,0}$ a po 80. postupné pasáži opět stoupl na průměrnou hodnotu $10^{-9,0}/0,1$ ml.

Velmi podobný průběh průměrných hodnot infekčního titru pro primární telecí buňky bylo možno pozorovat i u buněčné linie TL 72. (Graf č. 1 a 2.)



1. Infekční titr (TCID₅₀) viru SLAK při postupných pasážích na linii TOB



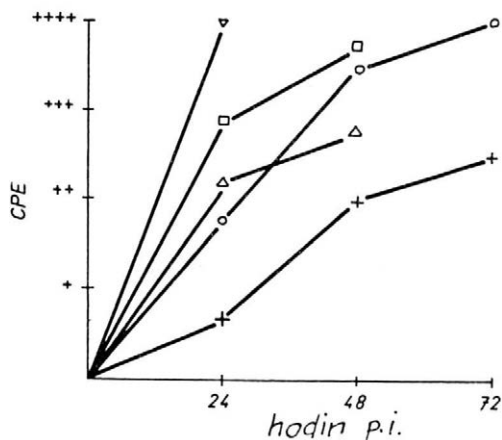
2. Infekční titr (TCID₅₀) viru SLAK při postupných pasážích na linii TL 72

Vcelku možno říci, že adaptovaný virus se množí na liniích telecích buněk do vysokého titru, který v průměru převyšuje infekční titry dosahované při pasážích na primárních telecích buňkách. Na liniích nejsou vzácností v jednotlivých pasážích titry $10^{-9,5}$ – $10^{-10,5}/0,1$ ml.

Zvláštní pozornost byla věnována tvorbě cytopatogenního efektu na liniové buňky. V prvních 5 pasážích se virus množil na obou liniích bez jakéhokoliv vlivu na morfolonii a množení buněk.

Monolayer v infikovaných Rouxlavých se vytvářel stejně jako v neinfikované kontrole. Ojedinele bylo pozorováno celkem neprůkazné zpomalení růstu ve srovnání s kontrolou. Po páté pasáži se za 48–72 hod. inkubace začaly projevovat známky narušení buněk, zesilovala se jejich kresba a v souvislém monolayeru se začaly objevovat ostře chraničené, kulaté útvary. Takto narušené buňky se později začaly uvolňovat a v monolayeru se začaly vytvářet prázdná místa. Mezi 11.–14. pasáží se již objevuje zřetelný CPE za 72–96 hodin.

V grafu 3 je znázorněna tvorba CPE na linii TL 72 v průměrných hodnotách po 20 postupných pasážích. Vidíme, že se od 1. do 90. postupně



3. Tvorba CPE v postupných pasážích viru SLAK na linii TL 72

+ — pasáže 1–20, □ — pasáže 61–80,
○ — pasáže 21–40, △ — pasáže 81–90.
△ — pasáže 41–60,

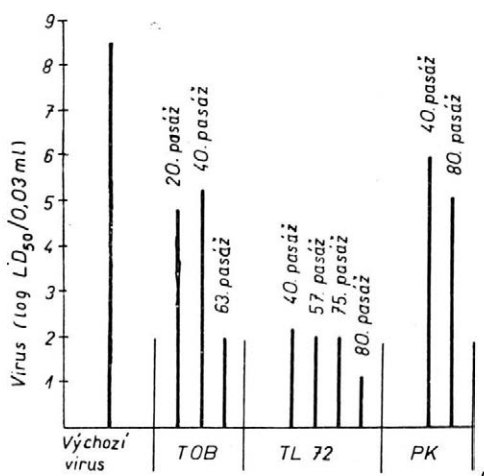
pasáže dynamiky tvorby CPE výrazně zrychluje a s přibývajícím pasážemi dosahuje se plného CPE za kratší dobu po infekci.

Identita pasážovaného kmene viru byla ověřována sérologicky pomocí komplementfixačního testu. Počáteční pasáže byly sérologicky negativní. Prokazatelný titr KF antigenu byl zjištěn až v páté postupné pasáži za 5 dní inkubace. S rostoucí adaptací viru se vytvářelo i více KF antigenu, který byl prokazatelný již za 24 hod. p. i. U používaného média se vyskytuje dosti často značná antikomplementarita, která bývá na závadu přesného vyšetřování.

Postupné pasáže byly dále titrovány na sajících myškách. Tento ukazatel má pro další zaměření práce svůj význam, neboť poukazuje na probíhající modifikaci pasážového viru.

Výchozí virový materiál z pasáží na primárních telecích buňkách měl pro sající myšky značnou virulenci ($LD_{50} 10^{8,5}/0,03$ ml). Na linii TOB (graf 4) se projevil po 20 postupných pasážích pokles na titr $10^{4,8}/0,03$, který prakticky po dalších 20 pasážích zůstal na stejné úrovni $10^{5,2}/0,03$ ml). V dalších pasážích se již projevil výrazný pokles (63. pasáž $LD_{50} 10^{2,0}/0,03$).

Na linii TL 72 poklesl infekční titr pasážového viru po 40 pasážích na $10^{2,2}$, po 57 pasážích na méně než $10^{2,0}/0,03$ ml. 75. pasáž byla virulentní pro myšky v titru $10^{2,08}$ a 80. pasáž $10^{1,1}/0,03$ ml. (Graf 4.)



4. Dynamika LD_{50} viru SLAK při pasážích na liniích TOB, 72, PK

LINIE PRASEČÍCH BUNĚK PK

Předběžné práce s virem typu A a O ukázaly rovněž velmi slabou citlivost této linie pro uvedené kmény viru. Na základě výsledků s liniemi telecích buněk, byl i pro tuto linii modelově použit kmen typu C „Polsko“.

Ukázalo se, že tento kmen bylo možno adaptovat jednoduchou metodou přímých postupných pasáží na dorostlém monolayeru PK buněk.

Virus se pomnožoval velmi dobře hned od první pasáže, vytvářel výrazný CPE, který byl přesně odečitatelný s velmi ostrými hraničními hodnotami.

Infekční titr se pohyboval v prvních pasážích na hranici $10^{-4,5}/0,1$ ml a v dalších pasážích rychle stoupl na výši $10^{-7,5}$ i výše. Během 80 postupných pasáží se na této výši celkem pravidelně udržoval.

KF antigen se vytvářel v médiu velmi intenzívně a všechny pasáže jsou sérologicky výrazně pozitivní.

Virulence pasážovaného kmene byla ověřována opět na sajících myškách. Po 40 postupných pasážích na této linii buněk si virus uchoval celkem ještě značnou virulenci ($10^{-6,0}/0,03$). 80. postupná pasáž obsahovala $10^{5,1} LD_{50}/0,03$ ml. (Graf 4.)

DISKUSE

Kultivace viru slintavky na buněčných liniích má význam z několika hledisek. Pro výrobní účely mají buněčné linie prakticky použitelnost potud, pokud se virus na použité linii rychle množí do vysokých titrů a pokud nedochází v postupných pasážích ke změnám v antigenní struktuře viru. Z různých linií, které byly pro tento účel zkoušeny, splňuje zatím téměř všechny požadavky linie křeččích buněk BHK 21, která je výborným substrátem pro množení viru slintavky jak na monolayerech, tak i v suspenzních kulturách. Dosud nebylo prokázáno, že by tato linie měla nějaký podstatný vliv na vlastnosti virulentního nebo modifikovaného kmene, což je pro výrobu rozhodující. Rovněž tak primární citlivost této linie i pro neadaptované kmeny viru slintavky je velkou výhodou. V poslední době se však objevily poukazy na možný karcinogenní charakter těchto buněk, což by mohlo znamenat omezení použitelnosti této linie.

Dobré růstové vlastnosti této linie a její jednotný charakter, zvýšený ještě používáním klonového kmene 13 těchto buněk, umožnily jejich velmi dobré využití i pro řadu výzkumných prací s virem slintavky, pro metodiku kolor testů a plakové techniky, kde zaručují vysokou standardnost získaných výsledků.

Takové vlastnosti většinou však nenacházíme u jiných buněčných linií, u nichž se ve velké míře projevuje podstatně nižší citlivost k neadaptovaným kmenům viru slintavky, než mají primární buňky, z nichž tyto linie vznikly. Tím je prakticky vyloučeno používání takových linií pro produkční účely.

U takových linií se však na druhé straně projevuje více nebo méně výrazný modifikační účinek na vlastnosti viru slintavky, který bývá zase podstatně silnější, než je tomu u příslušných primárních kultur. Tato skutečnost je velmi důležitá a má význam při řešení problému vývoje živých očkovacích látek proti slintavce.

V naší práci jsme dosáhli úspěšné adaptace viru slintavky na dvě linie telecích buněk a na jednu linii prasečích ledvinových buněk. Tato adaptace se zatím zdařila s virem typu C kmenem „Polsko“.

Použité linie telecích buněk se ukázaly velmi málo citlivými na neadaptovaný virus. Použitý kmen dosáhl svých původních hodnot až mezi 30.—40. postupnou pasáží a pasáže byly možné jen při tzv. synchronním způsobu infekce čerstvě versenovaných dosud nepřichycených buněk.

Linie prasečích buněk se ukázala pro použitý kmen viru jako téměř primárně citlivá. Na základě výsledků s jinými kmeny hodnotíme však tuto skutečnost jako výjimku pro daný kmen.

Vyplývá z toho, že uvedené buněčné linie nemají vhodných vlastností pro účely produkce viru pro přípravu inaktivované vakcíny proti slintavce.

Mnohem výrazněji se však projevila modifikační vlastnost zkoušených buněčných linií. Adaptace a pasážování viru slintavky na liniích telecích buněk poskytly reálný základ pro získání vhodného výchozího modifikovaného kmene, z něhož se bude možno pomocí plakové purifikace pokusit o výběr klonu s výhodnými vlastnostmi pro živou očkovací látku.

Dosažené výsledky hodnotíme zatím velmi opatrně, neboť konečné slovo mohou říci jedině pokusy na skotu a prasatech. V každém případě je však tato práce modelem pro získání vhodných modifikovaných virových kmenů, které by mohly zajistit podstatný pokrok v aktivní imunizaci skotu a prasat proti slintavce.

Vedle těchto výsledků jsme využili získaných zkušeností pro zavedení metodiky suspenzní kultivace viru slintavky s buňkami telecích linií a pro zavedení metodiky kolor testů a plakové techniky s buňkami prasečími (výsledky jsou předmětem samostatných sdělení).

SOUHRN

1. Je popsána adaptace viru slintavky typu C kmene „Polsko“ na dvě primárně necitlivé linie letečních buněk a na linii prasečích buněk.

2. Adaptovaný virus se na uvedených liniích množí do vysokých titrů, vytváří výrazný cytopatogenní efekt a specifický KF antigen.

3. Během pasáže na liniích telecích buněk došlo k výraznému poklesu virulence pasážovaného viru pro sající myšky, takže jeho patogenita po 80 pasážích je pro uvedený druh minimální.

4. Adaptovaný kmen je základem pro další detailní studia jeho genetických vlastností a pro vývoj živé očkovací látky proti slintavce.

Došlo dne 12. 1. 1965

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji Dru B. Korychovi z Ústavu pro lékařskou mikrobiologii a imunologii KU v Praze za laskavé poskytnutí linie PKC a Dru R. Škodovi z Virologického ústavu v Bratislavě za poskytnutí buněčné linie TOB.

Za velmi dobrou technickou spolupráci děkuji s. Mileně Tobolové a Ursule Klačanské.

Literatura

1. Campbell: J. Bact. 1963, 86, 593-597. — 2. Capstick, Telling, Chapman, Doreen, Stewart: Nature, 1962, 195, 253-255. — 3. Castrucci: Vet. ital. 1962, 13, 605-614. — 4. Haag, Santucci: C. R. Acad. Sci. 1962, 255, 1485-1487. — 5. Haag, Santucci: Bull. OIE, 1964, 255-263. — 6. Hahnefeld, Hahnefeld: Arch. f. Exp. Vet. Med. 1963, XVI, 893-894. — 7. Hayflick, Moorhead: Exp. Cell. Res. 1961, 25, 285-621. — 8. Korych, Patočka, Hořejší, Kubelka: Vet. med. 1961, 6, 47. — 9. Mayr, Wittmann: Zblt. f. Vet. Med. 1961, 7, 829-840. — 10. Mowat, Brooksby, Pay: Nature, 1962, 196, 655-656. — 11. Mowat, Chapman: Nature, 1962, 195, 1163-1164. — 12. Ruddle: PSEBM, 1962, 109, 116-118. — 13. Somogyiová: Biologia, 1962, 12, 9. — 14. Schwöbel, Siedentopf: Zblt. f. Bakt. Orig. 1961, 181, 3-16. — 15. Thorne, Cartwright: Virology, 1961, 15, 245.

Модификация вируса ящура. — I. Адаптация вируса ящура на линиях клеток телят и свиней

1. Описана адаптация вируса ящура типа С штамма «Полско» на двух первично нечувствительных линиях телячьих клеток и на линиях свиных клеток.

2. Адаптированный вирус размножается на приведенных линиях до высоких титров, создает отчетливый цитопатогенный эффект и специфический KF антиген.

3. Во время пассажирования на линиях телячьих клеток отчетливо понизилась вирулентность пассажированного вируса в отношении к сосущим мышам, ввиду чего его патогенность после 80 пассажей минимальна для приведенного вида.

4. Адаптированный штамм является основой для дальнейшего подробного изучения его генетических свойств и для развития живого прививочного вещества против ящура.

Modification of the Foot-and-Mouth-Disease Virus — I. Adaptation of the Foot-and-Mouth-Disease Virus to the Lines of Calf- and Porcine Cells

1. The adaptation of the type C strain "Poland" of the foot-and-mouth-disease virus to two primarily insensible lines of calf- cells and to one porcine cell — line is described.

2. The adapted virus grows on the above mentioned lines reaching high titres and develops an expressed cytopathogenic effect and a specific complement-fixation antigen.

3. During the passages on the calf-cell-lines an expressed decline of the passaged virus' virulence for suckling mice appeared so that its pathogenicity seems to be minimal after 80 passages regarding the mentioned species.

4. The adapted strain represents the basis for further detailed studies of its genetic properties and for the development of a live vaccine against foot-and-mouth-disease.

Modifikation des Maul- und Klauenseuchenvirus — I. Adaptation des Maul- und Klauenseuchenvirus an Linien der Kälber- und Schweinezellen

1. Die Adaptation des Maul- und Klauenseuchenvirus des Types C des Stammes „Polen“ an zwei primär unempfindliche Linien der Kälberzellen und an die Linie der Schweinezellen wird beschrieben.

2. Das adaptierte Virus wird in den angeführten Linien zu hohen Titern vermehrt, bildet einen ausgeprägten zytopathogenen Effekt und spezifischen KF-Antigenen.

3. Während der Passagen auf den Linien der Kälberzellen trat eine bedeutende Herabsetzung der Virulenz des Virus für saugende Mäuse ein, so daß seine Pathogenität nach 80 Passagen für die angeführte Art minimal ist.

4. Der adaptierte Stamm bildet eine Grundlage für weitere eingehende Studien seiner genetischen Eigenschaften und für die Entwicklung eines lebendigen Impfstoffes gegen die Maul- und Klauenseuche.

MVDr. Rudolf Hubík

Bioveta n. p., Terezín

Napriek tomu, že sa pre liečenie dermatomykóz ľudí a zvierat vyvinulo už viac ako 1000 preparátov (Flórian, Nemeséri, Lovas, 1964) ukazuje sa nutnosť hľadania nových liečiv, ktoré by jednak skrátili dobu hojenia, jednak znížili podiel ľudskej práce pri ošetrovaní zvierat. Obidve požiadavky majú značný význam pre zvyšovanie úžitkovosti hospodárskych zvierat a produktivity práce.

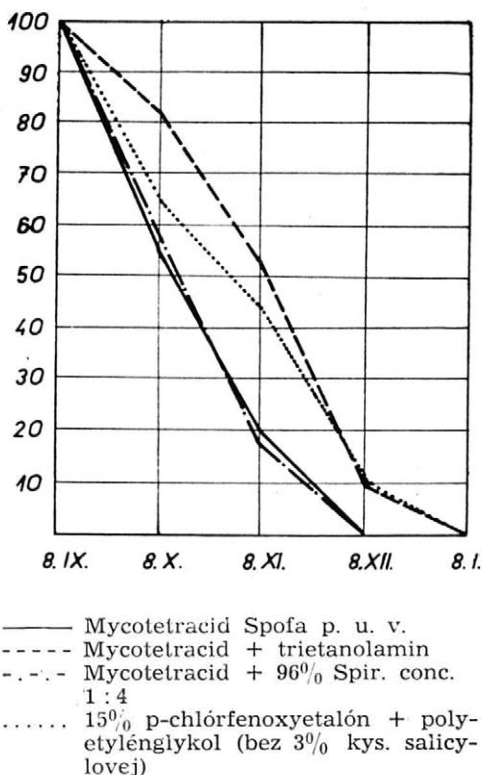
V poslednom čase sa dostal na trh Mycotetracid Spofa p. u. v. (15% roztok p-chlórphenoxyetalónu v polyetylén glykole s prídavkom 3% kyseliny salicylovej) a v krátkej budúcnosti očakávaný Trichofytocid (10% p-brómfenylizotiokyaná v trietylén glykole). Oba preparáty majú dobré terapeutické vlastnosti proti trichofýcii (Molnár, 1962, Torda, Pačenovský 1962, 1963, Torda, Molnár 1964, Chmel 1964, Šmíd 1964).

Je isté, že týmto sa rad antimykotík nekončí (už aj vzhľadom na veľkú prispôsobivosť dermatofytov) a že aj jestvujúce preparáty bude treba vylepšovať a zdokonaľovať.

O čiastočné riešenie tejto úlohy sme sa pokúsili pri Mycotetracide, pričom sme použili nasledovné variácie:

1. Mycotetracid Spofa p. u. v.
2. Mycotetracid Spofa p. u. v. + trietanolamin
3. Mycotetracid Spofa p. u. v. + 96% *Spiritus conc.* v pomere 1 : 4
4. 15% p-chlórphenoxyetalon + polyetylén glykol (bez 3% kys. salicylovej).

Na pokusy sme použili 6 odstavených teliat (od 3 do 6 mesiacov), ktoré boli všetky napadnuté trichofýciou v celkovom počte 161 viditeľných



	8. IX.		8. X.		8. XI.		8. XII.	
	počet ložísk	%	počet ložísk	%	počet ložísk	%	počet ložísk	%
Mycotetracid Spofa p. u. v.	33	100	18	55	6	19	0	0
Mycotetracid Spofa p. u. v. + + trietanolamin	54	100	44	81	28	52	5	9
Mycotetracid Spofa p. u. v. + + 96 % <i>Spiritus conc.</i> 1 : 4	44	100	25	57	8	18	0	0
15 % p-chlórfenoxyetalón + + polyetylenglykol (bez kys. salicyl.)	30	100	19	63	13	43	4	10
	161	100	106	64	55	34	9	6

trichofytických ložísk. V telatníku bolo ešte 37 teliat zdanlivo zdravých alebo s ojedinelými trichofytickými ložiskami. Kultivačne bol vypestovaný *Trichophyton verrucosum*.

Chovateľské podmienky boli priemerné (atypický telatník, telce uviazané, kondícia chovná), ktoré sme v priebehu pokusov nemerili.

Pokusy boli prevádzané v čase zvýšenej aktivity trichofytického procesu (september—december 1964).

Preparáty boli nanášané na ložiská štetkou trikrát v týždňových intervaloch a to vždy len na jednu stranu telaťa, kým na druhú polovicu bol aplikovaný preparát iný. Týmto sme sledovali zabezpečenie čo najväčšej objektívnosti.

Výsledky boli sledované za jeden mesiac, dva a tri mesiace po prvom natreťí liečiva.

Dosiahnuté výsledky vidieť na tabuľke a grafe.

ZHODNOTENIE

Zo všetkých štyroch skúšaných preparátov sa javí ako najvhodnejší Mycotetracid Spofa p. u. v. (komerčný), pretože už za 30 dní bola ním zistená 45% účinnosť, za 60 dní 81% a za 90 dní 100% účinnosť.

Obdobné vlastnosti javil aj Mycotetracid Spofa p. u. v. + 96% *Spiritus conc.* v pomere 1 : 4, ktorý po prvom mesiaci zaostal o 2%, ale o 2 mesiace bol už účinnejší o 1%. Rozdiely sú však veľmi nepatrné.

Podstatne nepriaznivejšie výsledky sme získali od ďalších dvoch variácií. Hneď pri prvej mesačnej kontrole bol badateľný opozdený terapeutický nástup, zvlášť Mycotetracid Spofa p. u. v. s trietanolaminom (19%), ktorý sa u oboch preparátov prejavil predĺžením liečenia o 1 mesiac (celkom 4 mesiace).

Hodnotením jednotlivých adjuvancií máme za to, že kým zvýšené množstvo liehu nijak nezvyšuje účinnosť Mycotetracidu Spofa p. u. v., trietanolamin zabraňuje penetrácii Mycotetracidu Spofa p. u. v. zhoršuje jeho kvalitu.

V 15% p-chlórfenoxyetalone s polyetylénom (bez 3% kys. salicylovej), chýba práve keratolytický účinok kys. salicylovej.

Pre úplnosť treba uviesť, že všetky preparáty pôsobili antimykoticky, ale nie antimyceticky.

U všetkých 37 neošetrených kontrolných teliat sa trichofýcia značne rozšírila. K spontánnemu vyliečeniu nedošlo.

S Ú H R N

Prevedený bol pokus účinnosti Mycotetracidu Spofa p. u. v. s pridaním resp. odobratím niektorých adjuvancií na trichofýciu teliat, pričom nebola predbežne zistená vhodnejšia kombinácia aká je dosiahnutá v komerčnom preparáte.

Došlo dne 25. 1. 1965

Опыты с 15% р-хлорфеноксиэталонем с добавлением разных вспомогательных лекарственных веществ, учитывая терапевтическое действие трихофитии у телят

Был проведен опыт эффективности Микотетрацида Споса р. у. в. с добавлением, а при случае взятием некоторых вспомогательных лекарственных веществ на трихофитию телят, причем предварительно не была найдена более выгодная комбинация, содержащаяся в коммерческом препарате.

Experimental Using 15% p-Chlorphenoxyethalone with Various Adjuvantia Added regarding its Therapeutic Effect against Ringworm in Calves

The efficiency — experiment was performed with Mycotetracid Spofa ad usum vet. with some added or reduced adjuvantia against ringworm in calves whereby no more suitable combination than the one comprised in the commercial preparation preliminarily has been found.

Versuche mit 15%igem p-Chlorphenoxyetalon unter Beigabe von verschiedenen Adjuvantien mit Rücksicht auf die therapeutische Wirkung auf die Trichophytie bei Kälbern

Ein Versuch zwecks Feststellung der Wirksamkeit von Mycotetracid Spofa p. u. v., unter Beigabe bzw. Abnahme einiger Adjuvantien, gegen die Tripophytie der Kälber wurde vorgenommen; dabei hat man eine zweckmäßigere Kombination als die im käuflichen Präparat enthaltene nicht ermittelt.

MVDr. Július Molnár
okresný veterin. lékař
Trnava

Amidostomóza zůstává stále jednou z nejzávažnějších helmintóz při odchovu husí. Postihuje housata a mladé husy nejen v domácích chovech, ale zejména je nebezpečnou pro velkovýkrmny, kam jsou vykupovány a svázeny mladé husy z různých lokalit. Dostávají se do prostředí, které je stále více promořováno invazními larvami. Vzhledem k poměrně rychlému vývoji těchto geohelminťů — nejkratší možná doba vývoje do invazní larvy je 48 hodin (Skarbilovič 1938, Kobulej 1959 a další) — je prevence v takových chovech značně ztížena, zejména také tím, že husy jsou chovány většinou na hluboké podestýlce.

Mimo léčebných zákroků, které se dosud provádějí většinou pomocí tetrachlorethylenu, není zatím vypracována metoda ničení larev během odchovu. Kobulej (1959) a jiní prověřili, že nejúčinnějším prostředkem je vysušení, neboť larva při úplném vyschnutí prostředí hyne během půl hodiny. Ovšem tento ideální způsob není možno úspěšně zajistit zvláště při velkovýkrmu, protože koncentrace ptáků na malém prostoru značně zhoršuje profylaktické podmínky. Je tedy nutno zajistit dezinfekci výběhů jinými cestami a tomuto problému je věnována pozornost v následující práci.

METODIKA

Pokusil jsem se prověřit odolnost larev amidostom vůči jednotlivým koncentracím desinfekčních prostředků a testoval jsem je *in vitro*. Invazní larvy vylíhnuté z vajíček byly přenášeny do jednotlivých roztoků a byla udržována stálá koncentrace roztoku, aby nedošlo k jeho vysýchání případně zahuštění. U larev byl hlavním indikátorem pohyb, kterým reagovaly na roztok chemikálií. V tomto stavu byl zapisován čas a chování larvy. V době útlumu pohybu byly larvy přenášeny do vodovodní vody, aby bylo zjištěno, zda nedošlo jen k oblužení. Jestliže se larva vzpamatovala, byl pokus opakován s novými larvami a tím byla zajištěna kontrola jednak nad celkovým pokusem a jednak byla zajištěna přesnost pokusu. Mimo sledování tohoto reversibilního stavu byla zjišťována pohyblivost reaktivními zásahy, a to především zahřátím v původním prostředí. Pomocí něho bylo možno stanovit hranice reaktivnosti larev. Teplotní hranice nepřesáhla nikdy 40⁰ C a již na teplotu 37⁰ C larvy reagovaly, takže toto zahřátí plně postačilo k pokusu. V pokusu bylo vždy zastaveno 5—10 larev a pokusy s jednotlivými chemikáliemi byly desetkrát opakovány. Udávané hodnoty

jsou průměrem doby, v níž došlo k úplnému úhynu larev. Larvy však byly chovány při teplotě laboratoře do 24° C, kdy vývoj probíhá za optimálních podmínek. Průběh pokusů byl zapisován v pravidelných časových intervalech a zjišťovány reakce larev. Podle reaktivních pohybů byly stanoveny aproxima- tivně koeficienty, aby bylo možno působení látek graficky znázornit. Za koeffi- cient normálního biologického pohybu larvy bylo stanoveno číslo 5. Při aktiv- nějších pohybech byla stanovena čísla do 10, která se rovnají postupně se zrychlujícímu kmitavému pohybu až po prudké stáčení larvy, zatím co koeffi- cienty nižších hodnot než 5 jsou stanoveny jako pohyb čím dále zpomalenější až po nulový.

I když je nutno považovat tyto hodnoty za relativní a subjektivní, není zatím možné stanovit jiná kritéria, protože vložení larev do registračních zaří- zení je velmi nesnadné.

VLASTNÍ PRÁCE

Na přiložených grafech jsou vyhodnoceny výsledky pokusů, jak byly pro- váděny s jednotlivými chemikáliemi. Hodnoty uvedené v textu i na grafech odpovídají průměrným hodnotám z pokusů s danou drogou.

Formalin 4% — usmrtí larvy během 20–25 minut. Hlavní reakce larev nastává ve 20 vteřině po přenesení do roztoku. Larva si zachovává zvý- šenou pohyblivost po dobu pěti minut a po ní se pohyb zpomaluje a larva hyne do 20–25 minut. (Graf 1.)

Formalin 2% — zabíjí larvy do 40 minut. Hlavní excitační stadium nastává do 10 minut po vložení do roztoku. V dalších 10 minutách se pohyb zleňuje na průměrné hodnoty a pomalu doznívá do doby 40 minut, kdy dochází k exitu. (Graf 1.)

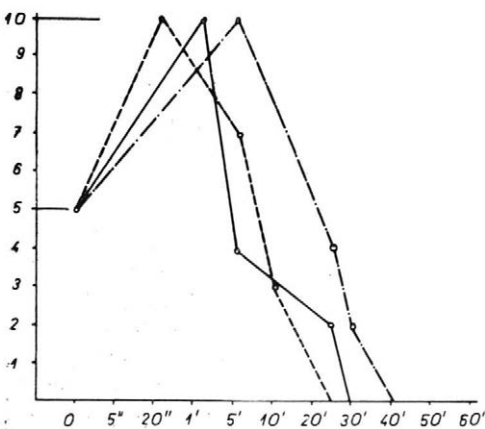
Louh sodný 2% — působí excitačně na larvy do 1 minuty, po této době se pohyb vrací k biologickému normálu až v 5. minutě dochází k pod- statnému zlenění pohybu. Zpomalování pohybu pokračuje stále větší měrou až do 20. minuty. Ve 30. minutě pohyb ustává a larvy hynou. (Graf 4.)

Chloramin 2% — Průběh křivky je podobný jako u předchozího pre- parátu. Pouze v konečné fázi okolo 20. minuty není pohyblivost tak omezená jako u předchozího prostředku. Hynutí nastává také ve 30. minutě. (Graf 1.)

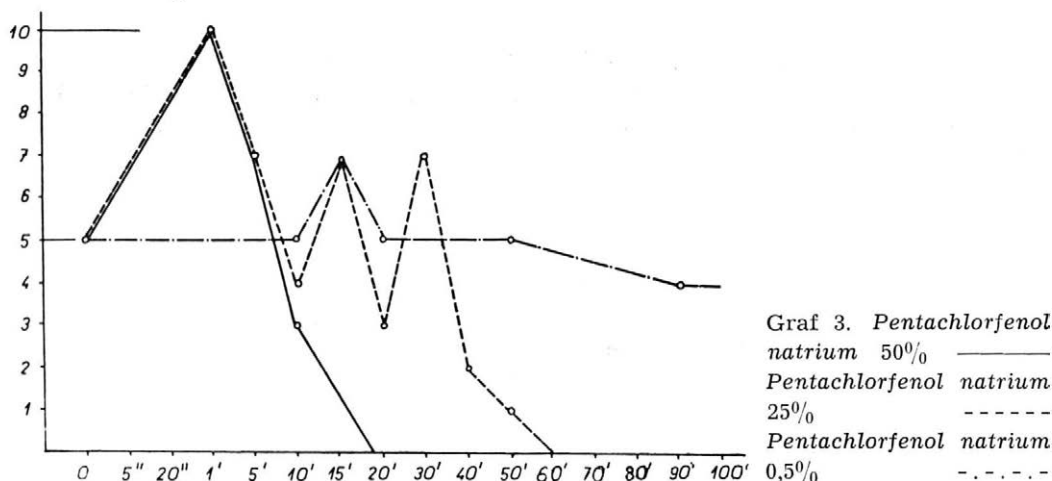
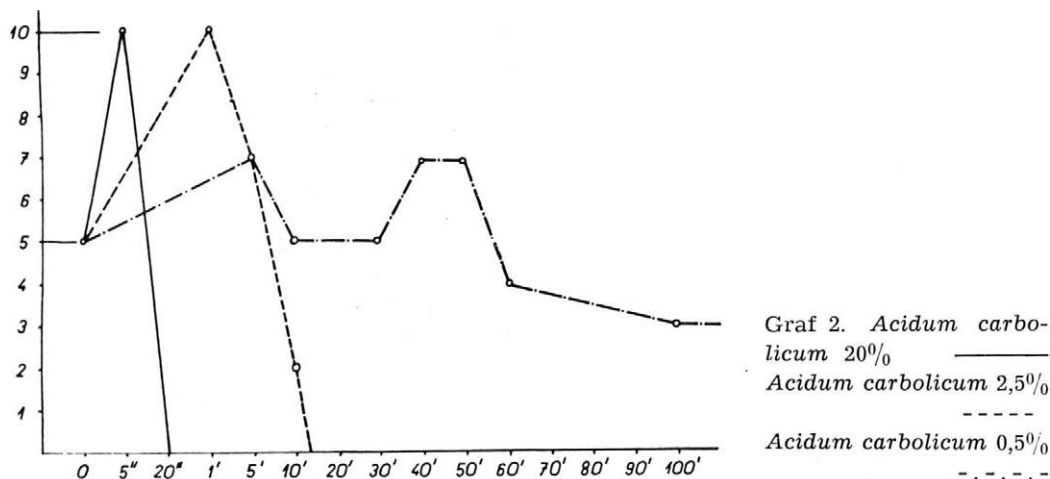
Acidum carbolicum 20% — zabíjí larvy během 20 vteřin, když excitační stadium je velice krátké do 5 vteřin, poté larvy ztrácejí rychle po- hyblivost a životaschopnost. (Graf 2.)

Acidum carbolicum 2,5% — působí excitaci u larev během prv- ních pěti minut. V 5. minutě je pohyb ještě poněkud rychlejší než normální, ale potom rychle ubývá na jeho inten- zitě, až larva ve 13. minutě hyne.

Acidum carbolicum 0,5% — působení tohoto roztoku není příliš výrazné. Pohyb larev se po 5. minutě

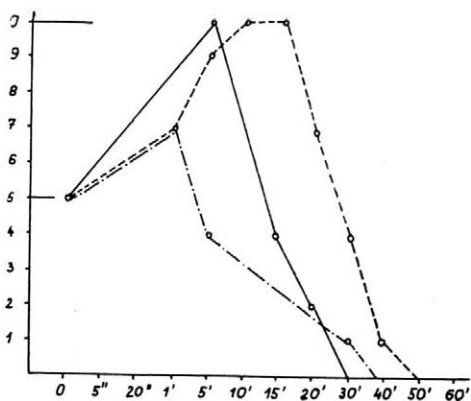


Graf 1. Formalin 4%
 Formalin 2%
 Chloramin 2%



mírně zrychluje a je trhavý. V 10. minutě se vrací na svůj biologický rytmus, v němž setrvává bez výkyvů až do 30. minuty. Poté se zrychluje a dosahuje stejné intenzity jako v páté minutě. V tomto zrychlení zůstává do 50. minuty, po níž je pohyblivost značně snížena, takže v 60. minutě zjišťujeme pohyblivost nižší než za normálního stavu. Po 60. minutě se pohyb zpomaluje, ale nikdy se úplně nezastaví. Ještě ve 100. a 150. minutě jej můžeme stále sledovat. V této době je larva schopna získat svůj typický biologický pohyb, přeneseme-li ji do čisté vody. V daném roztoku byla však pohyblivá ještě po 4. hodinách od započetí pokusu.

Mimo těchto běžně používaných desinfekčních prostředků provedl jsem pokusy s látkami, které se v současné době používají k devastaci plžů (pentachlorfenol natrium) nebo chemikálií s velkým oligodynamickým působením (CuSO_4) a běžně užívaným léčivem (Helmirazin). Použití obou posledně jme-



Graf 4. NaOH 2% —————
 CuSO₄ nasycený roztok - - - - -
 Helmirazin (roztok 0,5 g v 10 ml) - · - · - ·

novaných látek bylo ovlivněno tím, že Helmirazin má velmi dobrý dehelmintický účinek na hlístice zažívacího traktu. Podobně bylo myšleno i použití CuSO₄, který se v některých chovech běžně přidává do pitné vody pro drůbež.

Pentachlorfenol Na 25% — Vrcholné excitační stadium larvy nastupuje v 1. minutě po přenesení do roztoku, z něho rychle klesá v 5. minutě směrem k hranici biologického pohybu a ustaluje se na ní. Později do 10. minuty se pohyb zleňuje, takže křivka zasahuje pod biologickou hranici, aby v dalších pěti minutách (tj. ve 20. minutě) vystoupila opět nad ní. Pohyb larev v té době je rychlejší ovšem jen dočasně, neboť opět poklesne hluboko pod hranici normálního pohybu v době 20.—30. minuty. Poté dochází k opětovnému excitačnímu, reaktivnímu pohybu nad normální hranici ve 40. minutě, po níž pohyblivost je silně snížena. Po 50. minutě poklesává pohyblivost larev velmi silně. V 60. minutě se blíží k nulové hranici a v 70. minutě dochází k exitu larev. (Graf 3.)

Pentachlorfenol Na 0,5% — Tento roztok působí excitační stadium u larev až po 10. minutách, kdy pohyb se mírně zvyšuje a je progresivnější než za normálního stavu. Do 40. minuty se vrátí k normálnímu pohybu, v němž larva setrvává do 60. minuty. Po této době se pohyb mírně zleňuje pod normální biologický stav během dalších 40. minut a na tomto stavu setrvává po dobu několika hodin. Po přenesení do čisté vody larvy jsou opět normálně životaschopné. Tento roztok larvy neusmrtí.

Cuprum sulfuricum — nasycený roztok. Excitační stadium larev vzniká pozvolna. V době 1. minuty se zvyšuje reaktivnost larev od normálu a v 5.—10. minutě vrcholí. Na svém vrcholu se udržuje do 20. minuty, po níž nastává mírné zvolnění pohybu až do 40. minuty, kdy se pohyb vrací na svou normální biologickou hranici. Po této době se pohyb zpomaluje až prudce poklesne do 50. minuty na svou krajní mez. V této době je možno ještě larvy oživit po přenesení do čisté vody. V době do 60. minuty je pohyb již minimální a s dovršením této doby larvy v roztoku hynou. Nižší koncentrace této sloučeniny jsou neúčinné. (Graf 4.)

Helmirazin Spofa. Roztok byl připraven z tabletované substance, a to v množství 0,5 g v 10 ml vody, tj. 5% roztok. Larvy přenesené do tohoto roztoku zrychlily svůj pohyb v době jedné minuty a do páté minuty jej progresivně zpomalily pod normální biologickou hranici. Toto zpomalování pohybu stále pokračovalo postupně až do 39. minuty, kdy došlo k exitu larev. Od páté do 20. minuty byl stav larev reparabilní, neboť přenesením do roztoku vody se jejich pohyb vrátil k normálnímu stavu. V posledních devíti minutách toto již nebylo možné. (Graf 4.)

I. Působení některých desinfekčních prostředků a léčiv na invazní larvy *Amidostomum anseris in vitro*

Látka	Doba	1. hodina										2. hodina						3. hodina						
		5"	20"	1'	5'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	70'	80'	90'	100'	110'	120'	130'	140'	150'	160'	170'	180'	
Formalin	4%	[black]																						
Formalin	2%	[black]																						
Chloramin	2%	[black]																						
NaOH	2%	[black]																						
Ac. carbolicum	20%																							
Ac. carbolicum	2,5%	[black]																						
Ac. carbolicum	0,5%	[black]																						
Pentachlorfenol Na	50%	[black]																						přežívá
Pentachlorfenol Na	25%	[black]																						
Pentachlorfenol Na	0,5%	[black]																						přežívá
CuSO ₄	nasyčený roztok	[black]																						
Helmirazin roztok	0,3g v 10ml	[black]																						

DISKUSE

Porovnáme-li získané výsledky například při použití pentachlorfenolnatria na larvy *Amidostomum anseris* s výsledky Šimůnka a kol. (1964) na vajíčka *Ascaris suum*, docházíme k rozdílným závěrům. Zatím co v Šimůnkových pokusech se vajíčka dále nerýhovala již v roztoku 5,53 %, larvy *Amidostomum anseris* žily vyjma velmi vysokých koncentrací velmi dlouhou dobu. Je možné se domnívat, že tento prostředek porušuje jednotlivé obalové vrstvy vajíčka a spíše pronikne k zárodečné hmotě, zatím co ochrannou pokožkou invazní larvy nepronikne. O značné odolnosti invazních larev *Dictyocaulus filaria* a *Haemonchus sp.* svědčí provedené pokusy *in vitro* s různými roztoky (Golosnickij a Chološčanov 1955 — viz Schanzel 1957), naproti tomu jiní autoři (Enigk a kol.) uvádějí, že larvy červů *Ankylostoma* a *Strongyloides* jsou méně rezistentní vůči desinficiencím než vajíčka škrkavek a tenkohlavců.

O destrukci hlístic v ektogenní části jejich vývoje se pokoušeli Losev a Krjukovová (cit. Schanzel - Bezděková 1957), kteří sledovali citlivost larev *Dictyocaulus filaria* vůči různým chemikáliím. Zjistili, že v běžných koncentracích desinfekčních prostředků invazní larvy vydrží až 30 minut. U nás Broskva 1950 (cit. Schanzel - Bezděková 1957) opakoval tyto pokusy na stejném druhu hlístic a zjistil obdobné hodnoty u stejných koncentrací a u nižších koncentrací podobné výsledky jako v uvedených pokusech s *Amidostomum anseris*. Klinger (1950) a Schanzel, Bezděková (1957) i Koudela (1953) provedli podobné pokusy na larvách plícnivek s různými roztoky umělých chemických hnojiv a zjistili, že hynutí larev nastává za velmi dlouhou dobu za předpokladu, že se udrží stejná koncentrace chemického prostředku. Rovněž i Baruš (1958) uvádí, že macerace larev velkých koňských strongylů v koňské moči nastává až za 3 dny.

Podle získaných výsledků je nutno považovat invazní larvy *Amidostomum anseris* za velmi odolné. Přispívá k tomu ta okolnost, že larvy žijí v prostředí s vysokou vlhkostí, které použité desinfekční prostředky trvale a silně zřeďuje, takže původní koncentrace působí po velice krátkou dobu. Nelze proto uvažovat o jejich použití v přítomnosti zvířat, ale pouze při konečné desinfekci chovných prostorů a zařízení, nebo při výměně výkrmných turnusů. Jejich použitelnost během provozu je ještě ztížena tím, že husy jsou většinou chovány na hluboké podestýlce, jejíž desinfekce pomocí některých z uvedených účinných prostředků by mohla vést za dané koncentrace i k poškození kůže na běhácích (poleptání). Samotný asanační vliv hluboké podestýlky u husí je minimální oproti jiným domácím zvířatům (Zajíček 1961), protože vlivem vysoké vlhkosti se nevyvine dostatečně vysoká teplota, která by larvy ničila. Ryšavý (1955) zjistil živé a pohyblivé larvy ještě v hloubce 50 cm pod povrchem. V dalších pokusech s desinfekčními prostředky ve znečištěném prostředí se pokračuje a jejich výsledky budou po zhodnocení publikovány.

Rovněž přidávání měďnatých preparátů do pitné vody neovlivní životnost larev. Tuto skutečnost zjistil i Broskva (1950) u larev I. stadia *Dictyocaulus filaria*, které v 5% a 3% roztoku CuSO_4 neuhynuly ani za 5 hodin.

Invaze larev se zachycuje především v předním slepém vaku svalnatého žaludku a v krajině pyloru. Larvy se sem dostanou s přijímanou vodou, která od vyústění jícnu přechází do pyloru a neředí příliš obsah žaludku. Jednou z možných cest, jak zabránit invazím a reinvazím v daných podmínkách bylo by trvalé podávání Helmirazinu, a to v granulované formě tak, aby léčivo co

možno nejdéle setrvalo ve svalnatém žaludku. Tímto způsobem se dosáhne určitá hladina léčiva v orgánu, která, jak ukázaly pokusy, je schopna ovlivnit uchycení larev. O účincích různých solí piperazinu při amidostomoze husí svědčí i práce K a t k o v a (1963). Podobné zkušenosti s trvalým podáváním Helmirazinu při ascaridóze drůbeže uvádí K l i m e š (1963) nebo P o l á k o v á (1964).

SOUHRN

V práci je podán přehled působení různých koncentrací desinfekčních prostředků na invazní larvy *Amidostomum anseris* v čistém vodním prostředí. Silné desinfekční prostředky jako formalin 2%, NaOH 2% a Chloramin 2% ničí larvy do 50 minut, formalin 4% do 20–25 minut, *Acidum carbolicum* 2,5% do 22 minut. V nasyceném roztoku CuSO_4 hynou larvy za 1 hodinu a v *Acidum carbolicum* 0,5% a *pentachlorfenol natrium* 0,5% přežívají přes 4 hodiny i déle. V roztoku 5% Helmirazinu Spofa hynou za 39 minut. Bylo by proto vhodné uvažovat o dlouhodobém podávání léčiva zvláště mladým housatům, případně i u husí zastaveným na výkrm.

Došlo dne 14. 1. 1965

Literatura

1. Baruš V.: Rozbor stájového prostředí s ohledem na možnost infekce koni invazními zárodky geohelminů. Acta univ. agric. et silvicult., Brno, řada A., (1), 23-28, 1958. — 2. Buša V.: Príspevok k poznaniu sezónnych helmintohostitelských vzťahov *Amidostomum anseris* (Zeder 1800) u husí domácej na Slovensku. Studia helmintologica I., 277-286, 1964. — 3. Czaplinski B., Malczewski J., Swietlikowski M.: Wplyw subklinicznej invazii *Amidostomum anseris* (Zeder 1800) na wzrost i tucznosci. Wiad. Parazit. 5, 187-188, 1954. — 4. Gnedina M. P.: Izučenie metodov terapii amidostomoza gusej. Tr. VIGIS 3., 55-58, 1938. — 5. Jarceva A. S.: V voprosu biologii vzbuditelja amidostomoza gusej. Veterinarija 4, 28, 1953. — 6. Klimeš B.: Terapie a prevence askaridozy kontinuální medikací krmiva piperazinem a hygromycinem. Vet. med. 8, 237-240, 1963. — 7. Kobulej T.: Beiträge zur Biologie des *Amidostomum anseris* (Zeder 1800). Acta Vet. Ac. Sc. Hung. VI, 429-449, 1959. — 8. Lazovskij V.: Amidostomatoz gusej i opyt borby s nimi v kolchozach i sovechozach Belorusii. Tr. GEL 2, 231-233, 1949. — 9. Ozerskaja V. I.: Ispytanie fenotiazina pri amidostomoze gusej. Tr. VIG 4, 136-137, 1950. — 10. Poláková M.: Chemoprofylaktický účinek Helmirazinu v terénu. Veterinářství XIV, (11), 497-498, 1964. — 11. Ryšavý B., Michálek J., Fiedler B.: K voprosu vmoznosti adaptacii parazitického červja gusej *Amidostomum anseris* (Zeder 1800) na ptic drugih otrjadov. Folia biologica Vol. 1, 276-281, 1955. — 12. Schanzel H.: Vliv fenothiazinu na vývoj larev *Dictyoacaulus filaria*. Acta univ. agric. et silvicult., Brno, řada B, V, (2), 99-104, 1957. — 13. Schanzel H., Bezděková J.: Vliv některých strojených hnojiv, postříkových insekticidů a organických rozpustidel na larvy plicních hlístic ovcí. Acta univ. agric. et silvicult., Brno, řada B, V, (3), 233-248, 1957. — 14. Skarbilovič T. E.: K izučeniju biologii *Amidostomum anseris* (Zeder 1800) vzbuditelja želudochoglistnogo zabojevanija gusej. Tr. VIG, T. III, 46-54, 1938. — 15. Šimůnek J., Krč M., Svoboda L.: Příspěvek k destrukci vajíček *Ascaris suum* pentachlorfenolátem sodným. Zprávy technicko-poradenské služby Spolana IV, (23-25), 64, 1964. — 16. Zajíček D.: Příspěvek k druhovému výskytu a patogenitě vlasovek rodu *Amidostomum* Railliet et Henry 1909 (Nematoda). Vet. Med. ČSAZV XXIII, (10), 775-788, 1960. Zajíček D.: K problematice diagnostiky a vlivu hluboké podestýlky na parazitózy vepřů. Vet. Med. ČSAZV, XXXIV, (5), 325-338, 1961.

Влияние некоторых дезинфекционных средств и лекарств на инвазионных личинок *Amidostomum anseris* in vitro

В работе приводится обзор действия разных концентраций дезинфекционных средств на инвазионных личинок *Amidostomum anseris* в чистой водной среде. Сильные дезинфекционные средства, как формалин 2 %, NaOH 2 % и Хлорамин 2 % уничтожают личинок в течение 50 минут, формалин 4 % — в течение 20—25 минут, Acidum carbo-licum 2,5 % — в течение 22 минут. В насыщенном растворе CuSO_4 личинки погибают через 1 час и в Acidum carbo-licum 0,5 % и пентахлорфенол натрия 0,5 % личинки жи-вут свыше 4 часов. В растворе 5 % Гельмиразина Спофа они погибают через 39 минут. Поэтому выгодно было бы давать лекарства в течение длительного времени, в особен-ности молодым гусятам, а при случае и откормочным гусям.

An Influence of some Disinfectants and Drugs on the Invading Larvae of *Amidostomum anseris* in vitro

In the article a summary of the activity of several concentrations of some disinfectants on invading larvae of *Amidostomum anseris* in a pure water medium is presented. The highly efficient disinfectants as formol 2 per cent, NaOH 2 per cent and Chloramin 2 per cent destroy invading larvae during 50 minutes, Formol 4 per cent during 20 to 25 minutes, Acidum carbo-licum 2,5 percent during 22 minutes. In a satiated solution of CuSO_4 the larvae die in hour and in Acidum carbo-licum 0,5 per cent and in Pentachlorphenol Natrium 0,5 per cent survive more than four hours. In the 5 per cent solution of Helmirazin Spofa they pass away in 39 minutes. It would be therefore appropriate to consider a long-time administration of this drug especially to young goslings, eventually to geese to be fattened.

Einfluß einiger Desinfektions- und Heilmittel auf die Invasionslarven *Amidostomum anseris* in vitro

In der Arbeit wird eine Übersicht der Wirkung verschiedener Konzentrationen der Desinfektionsmittel auf die Invasionslarven *Amidostomum anseris* im Milieu von reinem Wasser wiedergegeben. Starke Desinfektionsmittel, wie Formolin 2⁰/₀, NaOH 2⁰/₀ und Chloramin 2⁰/₀ vernichten die Larven in 50 Minuten, das Formalin 4⁰/₀ in 20—25 Minuten, Acidum carbo-licum 2,5⁰/₀ in 22 Minuten. In einer gesättigten CuSO_4 -Lösung sterben Larven in einer Stunde und in Acidum carbo-licum 0,5⁰/₀ und Pentachlorphenol Natrium 0,5⁰/₀ überleben sie 4 Stunden und länger. In einer 5⁰/₀ Lösung Helmirazin Spofa sterben sie in 39 Minuten ab. Aus diesem Grunde sollte man erwägen, ob ein langfristiges Verabreichen des Heilmittels, besonders an Gösself eventuell an Mastgänse vorzunehmen wäre.

MVDr. Dalibor Zajíček, CSc.

Parazitologický ústav ČSAV, Praha 6,
Na cvičišti 2

■ Na všech našich pracovištích vzrůstá počet ošetření patologických procesů na distálních částech končetin u skotu. Jde vesměs o rozsáhlé afekce na silně citlivých tkáních, které vyžadují anestezie. Zásadně dáváme přednost lokální anestezii před celkovou, která může být u skotu provázena četnými komplikacemi. Při běžném provozu požadujeme, aby anestezie byla při plné účinnosti časově i technicky co nejméně složitá. Sami používáme od r. 1959 při všech operacích na distálních částech končetin u skotu, koní i ovců místní nitrožilní anestezie (dále MNA), při níž se anestetikum injikuje do povrchové žíly na podvázané části končetiny. MNA byla považována vždy za účinný způsob znecitlivění. Její dosavadní sporadické používání ve veterinární chirurgii bylo zaviněno jednak přílišnou složitostí původní techniky, jednak nedostatečnými a nepřesnými údaji o jejím provádění u zvířat.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Metodu MNA popsal po prvé Bier (3) r. 1908 a do veterinární chirurgie ji uvedl Samodělkina (11) o dvě léta později. Původní technika MNA byla značně složitá: před podvázáním byla celá končetina ovinována obinadlem, aby se odkrčila, podvaz byl umísťován nad i pod operačním polem, anestetikum bylo injikováno do vypreparované a někdy proximálně podvázané cévy (3, 11). Po druhé světové válce byla technika MNA zjednodušována (9, 10): používá se pouze jednoho podvazu, končetina se anemizuje zdvižením, nikoli ovinováním obinadla, venepunkce se provádí perkutánně. Současně jsou však doporučovány další manipulace, které nepokládáme za dostatečně odůvodněné, např. používání velkého množství (až 500 ml) málo koncentrovaného prokainu, dodatečné intravenózní injikování až 300 ml fyziologického roztoku, který má „vytěsniť“ anestetikum do tkání (10), infiltrace operačního pole prokainem nebo adrenalinem po odstranění podvazu (2, 7, 13). V učebnicích (6, 12, 14) najdeme o MNA pouze zmínky: vytýká se jí vesměs, že je pro běžné používání příliš složitá. Výsledky našich vlastních studií (1) ukazují, že MNA působí jako kombinace infiltrační a svodné anestezie; při tom netraumatizuje tkáň operačního pole jako anestezie infiltrační a je jednodušší než anestezie svodná, která se provádí z několika vpichů. Působí stejně v tkáních zanícených i nezanícených. Průnik anestetika do tkání podvázané oblasti, který jsme sledovali po nitrožilní aplikaci obarveného prokainu, se děje rychle a rovnoměrně. Během 3–5 minut jsou zde difúzně zbarveny měkké i tvrdé tkáň. Tak lze

vysvětlit, že znečitlivění některých tkání, zejména kostí, je při použití MNA dokonalejší než u jiných způsobů místní anestezie. Tím že operační pole je odděleno podvazem od krevního oběhu, se zvyšuje účinnost anestetika a prakticky se vylučuje možnost jeho případného toxického působení. Kromě bezvýznamných místních komplikací (hematomů po injekci) jsme nezaznamenali žádné vedlejší účinky.

Vzhledem k těmto příznivým zkušenostem jsme se zaměřili na vyřešení problémů, které brání provádění MNA v široké praxi.

M E T O D I K A

Vzali jsme si za úkol vypracovat jednoduchou techniku, při níž by zůstala zachována plná účinnost MNA. Zvláštní pozornost jsme věnovali volbě vhodných míst pro venepunkci a technice podvazu, jimiž se v této souvislosti v písemnictví dosud nikdo nezabýval. Naše poznatky se opírají o sledování 458 MNA u skotu, při nichž jsme hodnotili souběžně provedení, účinnost a průběh anestezie. V předkládané práci uvádíme vlastní postup při provádění MNA, při němž hloubko a průběh anestezie plně vyhovovaly klinickým požadavkům.

V Ý S L E D K Y

K MNA připravujeme: Esmarchovo obinadlo (ploché, gumové, 5 cm široké, 80–100 cm dlouhé),

1 stříkačku Record o obsahu 10–20 ml,

1–2 středně silné jehly a průsvitu 1–1,2 mm,

holicí strojek, desinfekční roztoky: jodbenzin, 5% lihový roztok jódu.

Vzhledem k povaze plánované operace provádíme anestezii většinou na ležícím zvířeti. Po povalení zvířete postiženou končetinu vyvážeme, operační pole vyholíme, omyjeme mýdlovou vodou a odtučníme jodbenzinem. Současně vyholíme a očistíme 2 místa pro venepunkci, kterou provádíme mimo operační pole (výše nebo níže, na druhé polovině prstu apod.).

T E C H N I K A P O D V A Z U

Proximálně od operačního pole na ploše asi 10 cm ovineme končetinu Esmarchovým obinadlem, jehož konec upevníme pomocí knoflíku nebo prostě podvlečením pod předchozí otočku obinadla. K podvazu nesmíme použít hrubých, nepružných látek, které přímo drtí tkáň. Nejsou vhodné hadice, ale rovněž ne příliš široká obinadla, která stlačí nervy na veliké ploše. Velmi vhodným a pružným podvazem jsou odložené dlouhé gumové rukavice, používané při gynekologickém vyšetřování. Podvaz přikládáme přímo na kůži, která nesmí být shrnuta v řasy. Umisťujeme jej nejčastěji nad špenkovým kloubem, tj. v distální třetině metakarpu nebo metatarsu. Končetina je zde užší a podvaz se dá dobře upevnit. Druhá obvyklá lokalizace podvazu je 10–15 cm nad karpálním nebo nad tarsálním kloubem. Jen výjimečně při některých operacích na kloubech používáme dvou podvazů a umisťujeme je pak nad a pod kloubem tak, aby byly od sebe vzdáleny asi 15 cm. Správně přiložený podvaz nevyvolá během 1–2 hodin na končetinách skotu naprosto žádné poruchy. Po jeho odstranění se rychle obnoví cirkulace, kůže se oteplí a na viditelných místech nabude normální barvy. Cestou z operačního sálu zvíře zatěžuje operovanou kon-

četinu stejně jako zdravou, což svědčí o tom, že citlivost se obnovuje pomaleji než cirkulace.

Před upevněním podvazu neprovádíme odkrvení končetiny ani jejím zdvihnutím, ani tlakovým obvazem. Nepovažujeme je za účelné z několika důvodů:

1. venepunkce je ztížena,

2. venózní tlak v končetinách ležícího zvířete je minimální, množství injikovaného anestetika je ve srovnání s rozsahem podvázané oblasti malé. Zvýšení venózního tlaku zamezením odtoku krve napomáhá průniku anestetika do kapilár a jimi do tkání.

3. Předpokládá se, že předběžná anemizace končetiny napomáhá účinnosti anestetika. Srovnávání, která jsme při svém výzkumu prováděli, vedla však k závěru, že anemizace končetiny před upevněním podvazu není důležitá pro hloubku ani pro průběh anestezie.

4. Na počátku operace v pasivně překrvených tkáních rána silněji krvácí. Toto krvácení je však zcela krátké, počátek operace nezdržuje a pak díky podvazu operujeme v prakticky bezkrevném poli.

MÍSTA VENEPUNKCE

K venepunkci používáme nejnázve přístupných povrchových vén. Většinou injikujeme do vén digitálních, ale účinnost anestezie se nemění, ani když volíme místo vpichu výše, tj. blíže podvazu. Uvádíme přehled povrchových žilných kmenů, do nichž injikujeme nejčastěji, v pořadí podle snadnosti provedení venepunkce.

Na hrudní končetině jsou nejnázve přístupné tyto vény:

I. na laterální ploše

v. digiti IV. volaris lateralis; injikujeme obvykle v úrovni kloubu spěnkového nebo pod ním (obr. 1).

II. na volární ploše

v. digitalis communis volaris. Probíhá zde povrchově počínaje od paznehtků směrem proximálním v délce asi 10 cm. Místo vpichu: na volární ploše ve střední čáře v distální třetině metakarpu (obr. 2).

III. na mediální ploše

1. *v. digiti III. volaris medialis*. Injikujeme obvykle v úrovni kloubu spěnkového nebo pod ním (obr. 3).

2. *v. medianoradialis*. Injikujeme na mediální ploše karpálního kloubu, kde je hmatná i viditelná v délce asi 10 cm jako malý silný žilný kmen (obr. 3).

IV. na dorsální, případně dorsomediální ploše je venepunkce rovněž proveditelná, je však méně snadná. Můžeme zde injikovat

1. do *v. digitalis communis dorsalis*. Místo vpichu: ve výši spěnkového kloubu v dorsálním žlábků III. a IV. prstu (obr. 4).

2. do *v. cephalica accessoria* na dorsomediálním okraji karpálního kloubu.

Na pánevní končetině jsou k venepunkci nejvhodnější tyto vény:

I. na laterální ploše

1. *v. digiti IV. plantaris lateralis* (obr. 5). Je hmatná a někdy i viditelná od korunky až ke svému počátku. Nejvhodnější místo vpichu je v úrovni spěn-

kového kloubu, kde probíhá podél šlach ohybačů, nebo ve výši korunkového kloubu.

2. *v. metatarsica dorsalis lateralis*. Místo vpichu: v polovině metatarsu na dorsolaterálním okraji kosti.

3. *r. dorsalis v. saphenae parvae*. Je dobře přístupný v celém svém průběhu na laterální ploše distální třetiny tibie a tarsu.

4. *r. plantaris v. saphenae parvae* pokračuje jako *v. tarsica lateralis*, která je dobře přístupná na plantárním okraji laterální plochy tarsálního kloubu.

II. na mediální ploše

1. *v. digiti III. plantaris medialis* (obr. 6). Je hmatná a často i viditelná od korunky až ke svému počátku. Venepunkci provádíme ve výši spěnkového nebo korunkového kloubu.

2. *v. saphena magna*. Venepunkci provádíme ve výši patního hrbolu na mediálním okraji Achillovy šlachy.

III. na dorsální ploše

je venepunkce méně snadná. Můžeme zde injikovat do *v. digitalis communis dorsalis* ve výši spěnkového kloubu v dorsálním cévním žlábků III. a IV. prstu.

Nejsnáze lze punktovat silné venózní kmeny (*v. medianoradialis*, *v. saphena magna*, *r. dorsalis et plantaris v. saphenae parvae*). Pro praxi je však nejvýhodnější injikovat anestetikum do digitálních vén. Dávka 20 ml 5% nebo 10 ml 10% prokainu stačí ve většině případů k vyvolání vyhovující anestezie v celé oblasti distálně od karpálního nebo od tarsálního kloubu. Je však samozřejmé, že v podvázané oblasti menšího rozsahu (při upevnění podvazu na metakarpu nebo metatarsu) vyvolá léž dávka anestezie podstatně hlubší, s téměř okamžitým nástupem.

PROVEDENÍ ANESTEZIE

Venepunkci děláme ihned po dokončení podvazu, protože asi po 10 minutách cévy na podvázané končetině zanikají. Injukujeme směrem proximálním nebo distálním, jak je provedení injekce snazší.

U hnisavých zánětů jsou často povrchové vény nevýrazné pro mohutný edém tkání. Venepunkce však není obtížná, protože celá zanícená oblast je silně překrvena a při podvázání končetiny se vasodilatace ještě zvýší. Není-li možno provést venepunkci žilného kmene, který je nejbližší operačního pole, můžeme např. v úrovni spěnkového kloubu injikovat do vény druhostranné nebo umístíme podvaz výše a vyhledáme kteroukoli jinou přístupnou povrchovou věnu.

Na probodnutí kůže reagují zvířata zpravidla slabým obranným pohybem, proto zavedenou jehlu přidržujeme preventivně lehce prstem. Jinak ji nefixujeme, pomalu a rovnoměrně vstříkneme celou dávku anestetika a jehlu odstraníme. Na místo venepunkce přitlačíme na krátkou dobu tampón, abychom zabránili krvácení a zpětnému výtoku anestetika. Hloubku anestezie zkoušíme pomalu prováděnými vpichy jehlou nebo hrotem skalpelu na zvlášť citlivých místech (na korunce, v ohbí spěnky) a porovnáváme reakci s neanestezovanou končetinou.

Na nepigmentované kůži je barva končetiny s počátku normální, později mírně cyanotická. Jakmile začneme operovat, kůže bledne. Na začátku anestezie

pozorujeme na kůži někdy bělavé skvrny. Jejich vytvoření je důkazem, že již bylo aplikováno dostatečné množství prokainu, protože kožní cévy se zaplňují naposled.

Pro převážnou většinu operací na distální části končetin u skotu se jeví jako optimální dávka 20 ml 5% nebo 10 ml 10% prokainu. Po její aplikaci nastupuje MNA během 2–4 minut a udržuje se v dostatečné intenzitě po celou dobu podvazu. Podvaz během výkonu nijak neměníme a odstraňujeme jej definitivně po skončení operace. Uvolňování provádíme pomalu, ale bez časových přestávek. Po odstranění podvazu přetrvává anestezie nejméně 20 min, zpravidla však déle.

Při použití menšího množství anestetika (10 ml 5% prokainu) nastupuje anestezie pomaleji a po odstranění podvazu odeznívá rychleji.

DISKUSE

Některé naše poznatky jsou v rozporu s údaji, které jsme našli v písemnictví. V humánní chirurgii (3, 5, 10) se setkáváme s názorem, že po delší době vznikají v místě podvazu parestesie, které je nutno zmírňovat infiltrací malého množství prokainu a přechodným uvolňováním podvazu. Sami jsme u ležícího zvířete nezjistili žádné projevy bolesti při přiložení ani při snímání Esmarchu. Stojící zvíře reaguje zpravidla na upevňování podvazu obrannými pohyby (zdviháním končetiny). Lze těžko rozhodnout, zdali je tato reakce vyvolána pouze nezvyklým úkonem nebo pocitem bolesti, trvá však vždy jen krátce a zvíře pak podvázanou končetinu při chůzi zcela normálně zatěžuje. Z toho usuzujeme, že upevněný podvaz nepůsobí u velkých zvířat žádné prakticky významné obtíže. Rozpor mezi údaji z humánní chirurgie a našimi zkušenostmi můžeme vysvětlit jednak odlišnou reakcí pacientů, jednak okolností, že dotyční autoři před anestezii anemizovali končetinu, což samo o sobě podporuje vznik parestesí, a používali velmi slabých koncentrací anestetika, které i při větším množství aplikovaného roztoku vyvolávají anestezii pomaleji. Podle našich pozorování sahá v chirurgickém stadiu anestezie oblast znečitlivění ještě několik cm nad podvaz. Právem tedy předpokládáme, že tkáně pod podvazem i v jeho bezprostřední blízkosti jsou necitlivé.

Pokud se týká úpravy optimální dávky anestetika, pokládáme podobně jako Kirillov (9) za výhodnější injekci menšího množství více koncentrovaného roztoku. Injikování je jednodušší a rychlejší, toxický účinek nepřipadá prakticky v úvahu jednak proto, že zvolená dávka je relativně nízká, jednak pro oddělení anestezované oblasti od krevního oběhu podvazem. Při podvázání prokrvené končetiny není nutno zvyšovat tlak ve vénách injikováním velkého množství anestetika o nízké koncentraci a pak ještě fyziologického roztoku, který by je vytěsňoval do tkání (10).

Některí autoři (3, 8, 9) injikují anestetikum retrográdně (distálním směrem), aby napomohli jeho průniku do kapilár. Podle našich zkušeností tento postup průběh anestezie neovlivňuje. Cévy jsou rozšířeny v důsledku pasivní venostázy a snad i přímým působením prokainu, o němž je známo, že uvolňuje cévní spazmy. Rychlý nástup anestezie a její hloubka svědčí o tom, že anestetikum proniká z místa venepunkce do tkání velmi dobře, bez ohledu na to, kterým směrem byl vpich proveden.

Naše záznamy o přetrvávání anestezie po snětí podvazu ukazují, že necitlivost trvá ještě dostatečně dlouho, abychom mohli v klidu dokončit toaletu rány, případné stavění krvácení, obvaz apod. Nepovažujeme tedy za nutné, aplikovat po odstranění podvazu ještě dodatečně do tkání operačního pole prokain nebo adrenalin, jak někteří autoři doporučují (2, 5, 7).

SOUHRN

Na základě několikaletých zkušeností jsme vypracovali vlastní způsob provádění místní nitrožilní anestezie na distálních částech končetin u skotu. Ukázalo se, že při plném zachování účinnosti anestezie lze původně doporučenou metodu podstatně zjednodušit a zbavit ji řady neodůvodněných, časově i teoreticky náročných úkonů. Při postupu, jehož používáme, nezpůsobují příprava ani provedení anestezie žádné časové ztráty. Zjednodušení techniky umožňuje zavedení MNA do široké praxe. To považujeme za důležité, protože klinické i experimentální zkušenosti ukazují, že MNA má předpoklady, aby obohatila možnosti místního znecitlivění zejména u skotu. K jejím kladům počítáme vysokou účinnost při malé spotřebě anestetika, minimální traumatizování tkání (vpichem i podvazem) a minimální možnost celkových toxických účinků.

Došlo dne 30. 12. 1964

Literatura

1. Antalovský A.: Místní nitrožilní anestezie na distální části končetin u skotu, disert. práce, Hradec Králové 1964. — 2. Atjasov N. I.: Chirurgija (Moskva) 2, 47, 1955. — 3. Bier A.: Arch. f. klin. Chir. 86, 4, 1908. — 4. Braun H., L ä v e n H.: Die örtliche Betäubung, Leipzig 1951, str. 100-240. — 5. Čalenko G. J.: Chirurgija (Moskva) 8, 49, 1953. — 6. Frick H.: Tierärztliche Operationslehre, Berlin 1921, str. 61. — 7. Jazykov D. K.: Aktualnyje voprosy obezbolivaniya, Moskva 1957. — 8. Katinas E. A.: Chirurgija (Moskva) 9, 41-43, 1956. — 9. Kirillov M. N.: Veterinarija 10:36, 36-37, 1959. — 10. Ryvlin J. B.: Chirurgija (Moskva) 6, 10, 1947. — 11. Samodělkina N. I.: cit. podle Magda I. I.: Městnoje obezbolivaniya, Moskva 1955, str. 36-37. — 12. Schmidt Th.: Bayers Operationslehre, Wien 1922, str. 114-115. — 13. Špajer L. I.: Chirurgija (Moskva) 3, 17, 1956. — 14. Westhues M., Fritsch R.: Die Narkose der Tiere, Bd. I, Lokalanästhesie, Berlin 1960.

Техника местной внутривенной анестезии на дистальных частях конечностей у крупного рогатого скота

На основе многолетнего опыта нами был разработан собственный способ проведения местной внутривенной анестезии на дистальных частях конечностей у крупного рогатого скота. Оказалось, что при полном сохранении деятельности анестезии можно первонач-

чально рекомендуемым методом существенно упростить и устранить ее от ряда необоснованных, в отношении времени и техники требовательных приемов. При процессе, которым мы пользуемся, ни подготовка, ни проведение анестезии не вызывают никакой потери времени. Упрощение техники дает возможность внедрения МВА (местная внутривенная анестезия) в широкую практику. Это мы считаем важным, так как клинический и экспериментальный опыт показывает, что МВА имеет предпосылки обогатить возможности местной десенсибилизации, в особенности у крупного рогатого скота. К ее преимуществам мы также относим высокую деятельность при малом потреблении анестетики, минимальное повреждение ткани (прокалыванием и повязкой) и минимальную возможность общих токсических действий.

Technique of the Local Intravenous Anaesthesia in the Distal Parts of the Extremities in Cattle

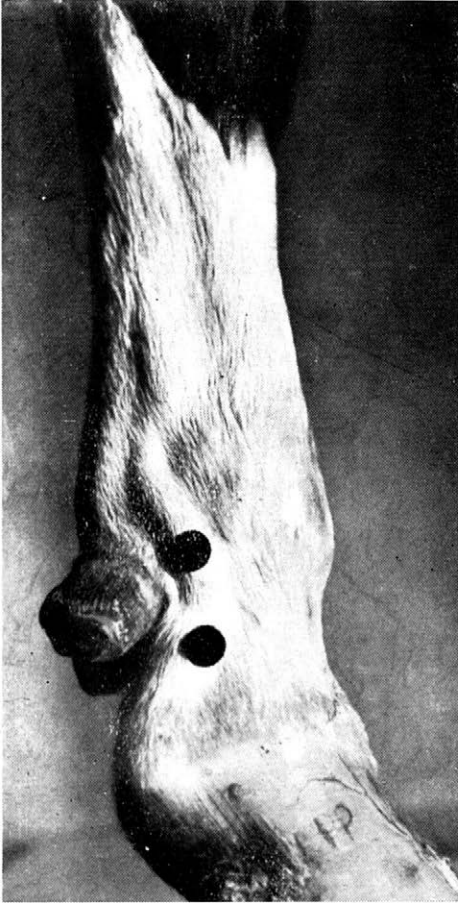
A way of our own of performing the local intravenous anaesthesia in the distal parts of the extremities in cattle was worked out on the basis of several years' experience. It appeared that the originally recommended method can be greatly simplified and released of many time-and labour consuming performances not motivated at all, full efficiency of the anaesthesia being kept. Using our procedure neither preparing nor carrying out the anaesthesia cause any time-losses. Simplifying of the methodique enables the introduction of the local intravenous anaesthesia into the common practice. We consider this to be of importance according to the clinical and experimental experience showing the local intravenous anaesthesia is good enough to contribute to the possibilities of the local anaesthesia especially in cattle. Among its advantages is the high efficiency and the small consumption of the anaesthesia drug, the minimum traumatization of tissues (by an injection and tying up) and the minimum possibility of the toxic effects on the whole body.

Technik der lokalen intravenösen Anästhesie auf distalen Teilen der Extremitäten beim Rind

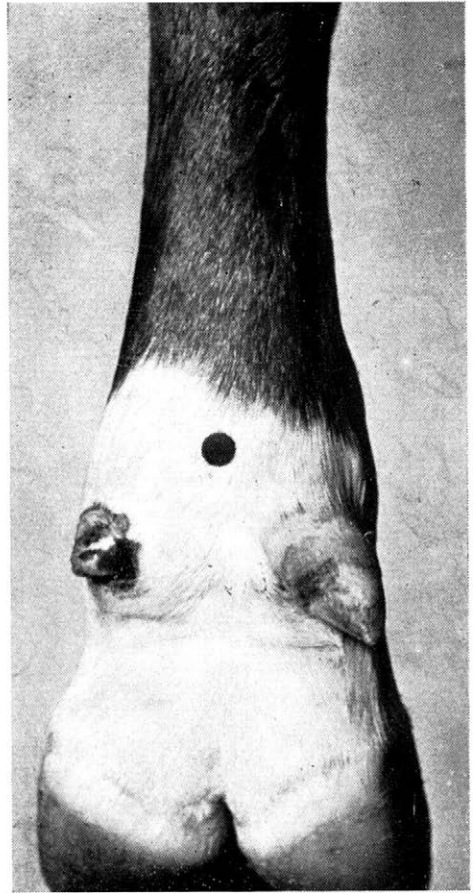
Auf Grund mehrjähriger Erfahrungen wurde eine eigene Art der Durchführung der lokalen intravenösen Anästhesie auf distalen Teilen der Extremitäten beim Rind ausgearbeitet. Es zeigte sich, daß man bei vollkommener Erhaltung der Wirksamkeit der Anästhesie die ursprünglich empfohlene Methode wesentlich vereinfachen und von einer Reihe unbegründeter, zeitgemäß und technisch anspruchsvoller Vorgänge befreien kann. Bei dem von uns angewandten Vorgang verursacht weder die Vorbereitung noch die Durchführung der Anästhesie etwaige Zeitverluste. Die Vereinfachung der Technik ermöglicht die Einführung der lokalen intravenösen Anästhesie in die breite Praxis. Dies halten wir für wichtig, da klinische und experimentelle Erfahrungen darauf hinweisen, daß die lokale intravenöse Anästhesie

Voraussetzungen besitzt, die Möglichkeiten der lokalen Schmerzbetäubung, vor allem beim Rind, zu verbreiten. Die positiven Eigenschaften dieser Methode sind durch eine hohe Wirksamkeit bei geringem Verbrauch des Anästhetikums, minimale Traumatisierung des Gewebes (durch Stich und Unterbindung) und durch minimale Möglichkeit der allgemeinen toxischen Wirkung gekennzeichnet.

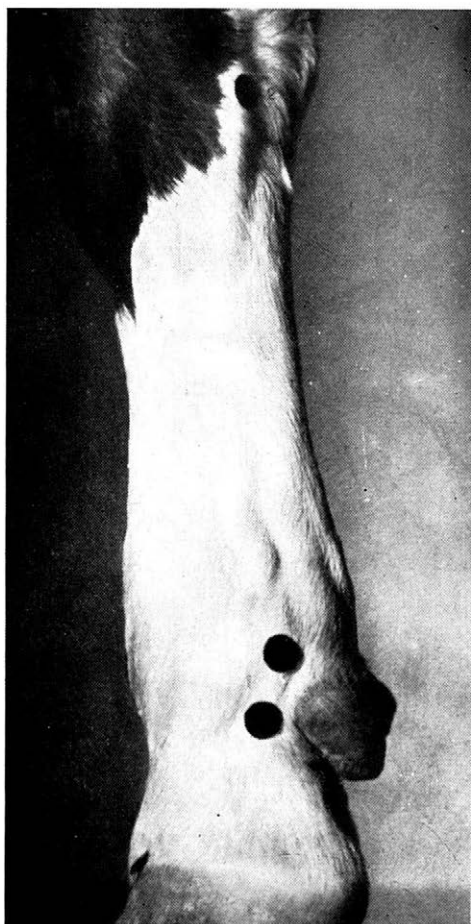
MVDr. Augustin Antalovský, CSc.
Stanice klinické diagnostiky a terapie,
Hradec Králové



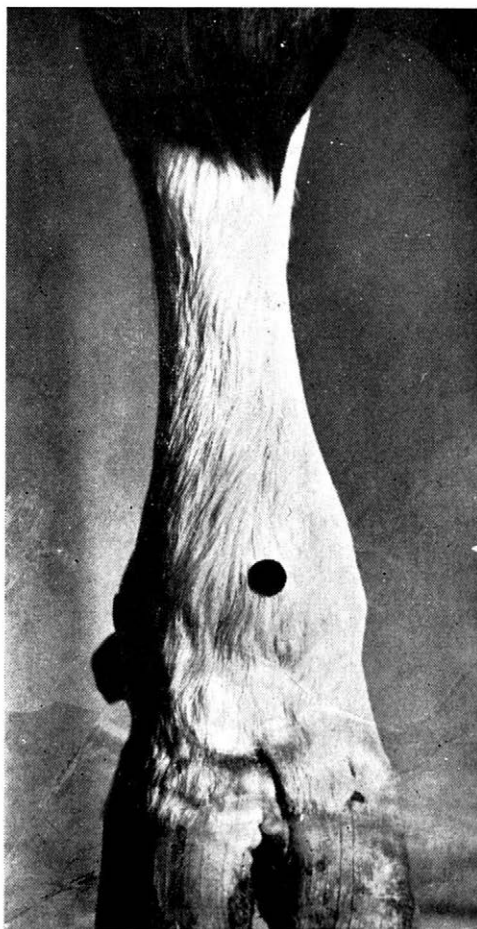
Obr. 1. *V. digiti IV. volaris lateralis*



Obr. 2. *V. digitalis communis volaris*



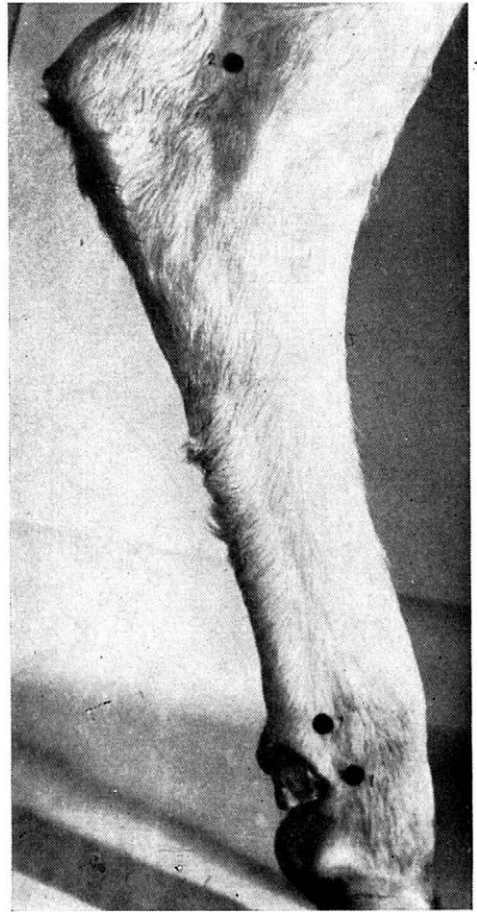
Obr. 3. *V. digiti III. volaris medialis*



Obr. 4. *V. digitalis communis dorsalis*



Obr. 5. V. *digiti IV. plantaris lateralis*



Obr. 6. V. *digiti III. plantaris medialis*

■ V lekárskej stomatologickej vede a praxi je známy účinok fluóru pri prevencii zubného kazu v teritóriách, kde je ho nedostatok v pôde a v pitnej vode. Fluór hrá určitú úlohu v procese vývoja zubov a má veľkú afinitu ku kostnému tkanivu. Má taktiež vplyv na štrukturálne vlastnosti zubov a kostí. Zvyšuje rezistenciu zubcov voči kyselinám a kariogénnym vplyvom najmä tým, že nahradzuje hydroxylovú skupinu apatitu, čím vzniká kyselinorezistentnejší fluór-apatit (Dibák 1960, Neuwirt - Přebyl 1953).

Nadbytočný prívod fluóru naopak, okrem iných účinkov, rušivo zasahuje do vývoja zubov tým, že narušuje kalcifikáciu. Pre dentálnu fluorózu hovädzieho dobytku je príznačná patognomická hypoplázia a aplázia skloviny s rôznym stupňom škvrnitosti. Povrch skloviny býva drsný, alebo sa aj odlupuje. Zuby sú krehké, lámu sa a nepravidelne odierajú (Schmid 1956, C. A. N. 1960, Velu 1962, Phillips 1956, Gabovič 1957, Roholm 1939). Zvieratá, ktoré po 5. roku prijímajú zvýšené dávky fluóru, nevykazujú zmeny v sklovine, ale podľa množstva a dĺžky jeho pôsobenia nastáva rýchle opotrebovanie zubov (Schmid 1956, Morrison 1957). Abrázia sa najskôr dostavuje u dobytku chovanom na pašienke.

Pri abrázii, ako aj pri aplázii a odlúpení skloviny obnažený dentín javí citlivosť na chlad. Morrison (1957) udáva, že dobytok nemôže piť normálne studenú vodu, ale ju líže jazykom, podobne ako mačka alebo pes.

Škvrnitosť skloviny niektorí autori dávajú do priamej závislosti na množstve a dĺžke pôsobenia fluórových zlúčenín; ale stupeň škvrnitosti skloviny, ako jeden symptóm nemôže signalizovať klinický stupeň fluorózy (Newell a Schmidt 1958, Suttie, Miller, Phillips 1957, 1958). Normálny obsah fluóru v zuboch podľa C. A. N. (1960) je v množstve od 24 do 62 mg% v sušine. Roholm (1937) udáva 30 mg%. Pri fluoróze sa môže jeho obsah zvýšiť až o 10–15násobok (Phillips a spol. 1934, McClure a spol. 1951 ex C. A. N. 1960).

Symptóm dentálnej fluorózy, okrem nálezov chemického vyšetrenia, sa javí prvý. Signalizuje saturáciu fluóru v organizme, pravda vzťahujúcu sa len na obdobie vývoja zubov. A tak, najmä dobytok pastevne odchovávaný, môže slúžiť ako indikátor zamorenosti územia fluórovými exhalátmi. V snahe zistiť, aký je rozsah zamorenia oblasti hlinikárne v Žiari nad Hronom po 10. rokoch od zahájenia výroby, previedli sme v tejto oblasti prieskum dentálnej fluorózy u hovädzieho dobytku.

MATERIÁL A METODIKA

V priebehu roku 1964 sme v oblasti spomenutej továrne vyšetrili chrup 5.320 kusov hovädzieho dobytku všetkých vekových kategórií v 31 obciach. Dobytko tejto oblasti patrí k slovenskému strakatému plemenu. Zamerali sme sa najmä na stav rezákov, ktoré sú ľahšie prístupné vyšetreniu a symptómy dostatočne reprezentujú. Nálezy sme evidovali a hodnotili podľa klasifikácie vypracovanej Deanom (C. A. N. 1960). Patognomické symptómy pre jednotlivé stupne dentálnej fluorózy sú:

1. stupeň — sklovina môže mať oslabený lesk, nie je to však pravidlom. Ako následok nedostatočnej a nerovnomernej kalcifikácie skloviny nachádzajú sa na nej kriedovobiele škvrny. Zuby normálne dorastajú. Diagnostika tohto stupňa je dosť problematická, lebo takýto obraz môžu vyvolať aj iné príčiny.

2. stupeň — sklovina je matná, drsná, svetlohnedo difúzne, alebo pruhovite infiltrovaná. Mierna hypoplázia skloviny.

3. stupeň — výraznejšia hypoplázia skloviny, lokálne môže aj chýbať. Farba skloviny je škoricovite duševná alebo aj hnedá. Vyrastajúce zuby sa odierajú.

4. stupeň — hypoplázia až aplázia skloviny. Výrazná nepravidelná abrázia.

5. stupeň — s narastaním zubu nastáva súbežná abrázia, takže zub buď vôbec nedorastie, alebo len čiastočne. Čierna škvrnitosť hypoplastické skloviny a jej odlupovanie. Lokálna aplázia skloviny tvaru jamky s tmavým až čiernym dnom budí dojem kariesu.

VÝSLEDKY A ICH HODNOTENIE

Deanova klasifikácia pre naše podmienky v plnej miere vyhovovala. Pre spracovanie výsledkov vzali sme do úvahy len trvalé rezáky, kde sa patognomický symptóm dentálnej fluorózy prejavuje najvýraznejšie. Mliečne rezáky javia dosť často syndróm 1. stupňa, jeho diagnostika je však problematická, pretože sa vyskytuje aj z iných príčin, najmä pri poruchách minerálneho metabolizmu. Syndróm 2. stupňa je u mliečnych rezákov zriedkavý.

Je obtiažne podať presný prehľad o nálezoch, lebo na rezákoch toho istého zvierata možno pozorovať aj všetkých päť stupňov syndrómu dentálnej fluorózy (obr. 1), respektíve v jednom chove je dobytko s rôznym stupňom dentálnej fluorózy. Neexistuje tu uniformita (obr. 2—4). Jednako však početnosť jednotlivých symptómov dovoľuje utvoriť obraz o sile a rozsahu toxického pôsobenia fluórových exhalátov. Podľa početnej prevahy stupňov patognomických symptómov možno zamorenú oblasť rozdeliť do piatich pásiem. Mapový náčrt je na obr. 5.

Hranice pásiem nie sú v skutočnosti ostré, lebo symptómy jednotlivých stupňov sa vzájomne prelínajú. Zmena v tieňovaní v rámci hraníc katastru jednej obce má symbolizovať pomerný výskyt prevládajúceho stupňa dentálnej fluorózy. Z mapového náčrtu vidieť dva hlavné smery pôsobenia, a to smerom juhovýchodným a juhozápadným. So vzdialenosťou od závodu stupeň symptómov a teda aj stupeň zamorenia klesá a v oboch hlavných smeroch končí okolo 16. kilometra.

Percentuálne zastúpenie syndrómu dentálnej fluorózy v jednotlivých pásmach zamorenia je v tab. I.

Z variácií nálezov od negatívnych po 4. stupeň, napr. v III. pásme možno súdiť, že voči fluórovému iónu má hovädzí dobytko prirodzenú individuálnu

Pásmo	Syndrom					
	bez nálezu	1. stupňa	2. stupňa	3. stupňa	4. stupňa	5. stupňa
I.		bez chovu hovädzieho dobytku				
II.	—	5	10	20	45	20
III.	10	15	25	40	10	—
IV.	35	25	40	5	—	—
V.	60	30	7	3	—	—

odolnosť. Zistili sme, že jalovice zo IV. pásma zamorenia, ktoré sa po dve letá pásli na pastvinách III. pásma, boli často postihnuté silnejšími príznakmi dentálnej fluorózy, než tamojší domáci dobytok. Podľa tohto možno súdiť, že hovädzí dobytok môže určitú adaptabilitu na fluórový ión získať.

Otázka, nakoľko nadbytkom fluóru devastovaný chrup znižuje zdravotný stav hovädzieho dobytku, prípadne produkciu v tamojších podmienkach, pokusne študovaná nebola. Z pozorovaní a anamnézy je jasné, že dobytok najmä v I. a II. pásme, ktorý je postihnutý najťažšími symptómami dentálnej fluorózy, v dôsledku predčasného opotrebenia chrupu sa dožije kratšieho veku, i napriek dostatku pastvy je slabšej kondície, čo určite ovplyvňuje produkciu a v konečnom dôsledku aj ekonomičnosť chovu.

DISKUSIA

Výskum kvality zložiek životného prostredia v dotyčnej oblasti, z ohľadu na ovzdušie, pôdu, vodu a trávu prevádzal v rokoch 1959—1962 H l u c h á ň (1963). Porovnávajúc jeho zistenia s výsledkami tohto prieskumu, symptóm dentálnej fluorózy sa javí ako citlivý indikátor chronického zamorovania prostredia fluórovými exhalátmi. Týmto, možno povedať, biologickým testom sme zistili širšie hranice zamorenia.

Povlakovosť zubov, ako ju pri dentálnej fluoróze ľudí popisujú D i b á k a S e m j a n (1961), u hovädzieho dobytku zistená nebola.

Je zaujímavé, že ani pri totálnej abrázii zuby nedochádza k otvoreniu *cavum pulpa*. Neuwirt a P ř i b y l (1953) to vysvetľujú tak, že odontoblasty s postupujúcou abráziou ako obranný val proti škodlivinám z vonkajšieho prostredia tvoria nový a nový dentín. V zmysle výskumov Neuwirta a Wolfa (cit. Neuwirt, P ř i b y l 1953), v ktorých dokázali remineralizáciu sklovinných defektov zo slín, zostáva k riešeniu aj otázka reštitúcie patologických zmien na sklovine, keď pôsobenie fluóru ako toxickej noxy skončilo, napríklad po odsunutí zvierata do zdravého prostredia.

D i b á k a S e m j a n (1961) sa v probléme, či zvýšené množstvo fluórového iónu v zubnom tkanive je dôsledkom metabolizovania v orgnizme, alebo sa tam hromadí adsorbčne, prikláňajú aj k druhému názoru. Pozorovanie tohto prieskumu môže tento názor podporiť, lebo u dobytku odchovávaného na pastve sú príznaky dentálnej fluorózy výraznejšie, a to v dôsledku priamej kontaminácie najmä rezákov s pastvou zamorenou fluórovými exhalátmi.

S Ú H R N

Syndróm dentálnej fluorózy bol využitý ako indikátor na určenie stupňa toxického účinku a geografického rozsahu pôsobenia fluórových exhalátov v oblasti továrne na výrobu hliníka. Zistené nálezy poskytujú obraz desaťročného pôsobenia fluórového iónu na chrup hovädzieho dobytká. Javí sa tendencia vzdušného prúdenia exhalátov v dvoch smeroch, do vzdialenosti 16 km.

Došlo dňa 1. 3. 1965

Literatúra

1. C. A. N.: Committee on Animal Nutrition Agricultural Board: The fluorosis problem in livestock production, Washington, 1960. — 2. Dibák O.: Čas. lék. českých, 1960, 2, 30-38. — 3. Dibák O., Semjan M.: Čsl. stomatologie, LXI, 1961, 4, 286-290. — 4. Gabovič R. D.: Ftor i ego gigeničeskoje značenie, Medgiz, Moskva, 1957. — 5. Hlucháň E.: Výskum kvality zložiek životného prostredia v okolí továrne na výrobu hliníka, Záverečná zpráva Ústavu hygieny, Bratislava, 1963. — 6. Morrison F.: Feed and Feeding, Ithaca, New York, 1957. — 7. Mc Clure F. J., Likins R. C.: J. Dental Res. 30:172, 1951. — 8. Neuwirt F., Příbyl J.: Konservatívni zubní lékařství, SZN, Praha, 1953. — 9. Newell G. W. and Schmidt H. G.: Am. J. Vet. Res., 19:363, 1958. — 10. Phillips P. H., Hart E. B., Bohstedt G.: Wisconsin Agri. Exp. Station Bull., 123, 1934. — 11. Phillips P. H.: Air pollution handbook, 8, 1-8, 1, 2 Mc Graw, New York, 1956. — 12. Roholm K.: Fluorvergiftung, J. Springer, Berlin, 1939. — 13. Schmid G.: Symposium über Fluorprobleme, 396-418, Basel/Stuttgart, 1957. — 14. Suttie J. W., Miller R. F., Phillips P. H.: J. Dairy Sci., 40:1485, 1957. — 15. Suttie J. W., Phillips P. H., Miller R. F.: J. Nutrition, 65:293, 1958. — 16. Velu H.: Les inconques de l'intoxication fluorique. Revue de pathologie générale et de physiologie clinique, No. 739, 1962.

Фтороз зубов у крупного рогатого скота

Синдроз фтороза зубов использовался в качестве индикатора при установлении степени токсического действия и географического распространения выбросов фтора в области фабрики, производящей алюминий. Полученные диагнозы дают картину действия иона фтора в продолжение 10 лет на челюсти крупного рогатого скота. Существует тенденция воздушного течения выбросов в двух направлениях, до расстояния 16 км.

Dental Fluorosis in Cattle

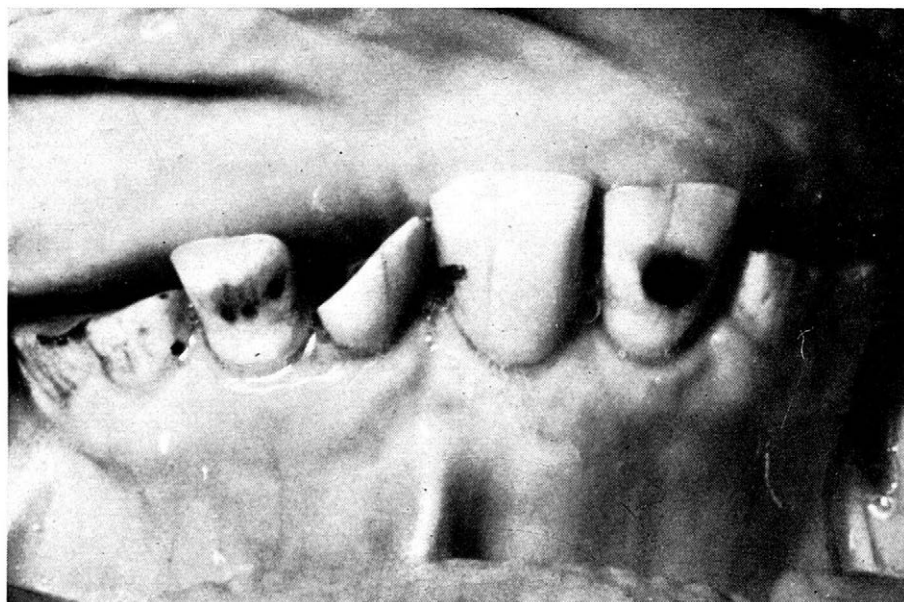
The syndrome of the dental fluorosis was used as an indicator for determining the degree of the toxic effect and geographic extent of action of fluorine exhalates in the area of an aluminium-producing factory. The ascertained findings present a picture of the ten-year influence of fluorine — ion on cattle teeth. There is a tendency to air-flows of exhalates in two directions as far as 16 kms.

Die Dental-Fluorose bei Rindern

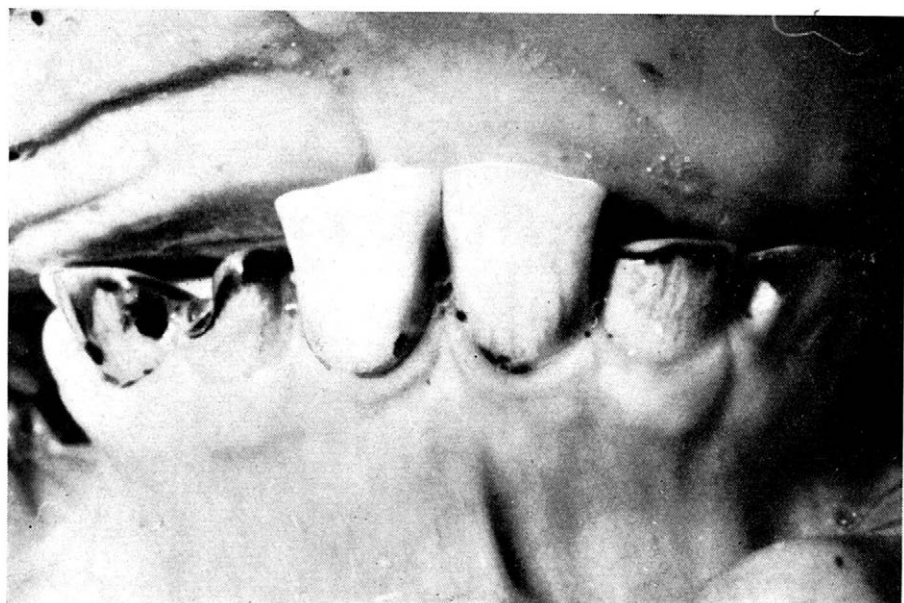
Das Syndrom der Dental-Fluorose wurde als ein Indikator für die Bestimmung des Grades des toxischen Einflusses und des geographischen Umfanges der Wirkung von Fluor-Exhalaten im Bereich einer Fabrik für Aluminiumerzeugung ausgenützt. Die ermittelten Befunde bieten einen Einblick in die zehn Jahre dauernde Wirkung des Fluor-Iones auf das Gebiß der Rinder. Es zeigt sich eine Tendenz der Luftströmung der Exhalate in zwei Richtungen, u. zw. in eine Entfernung von 16 km.

MVDr. Jozef Nárožný

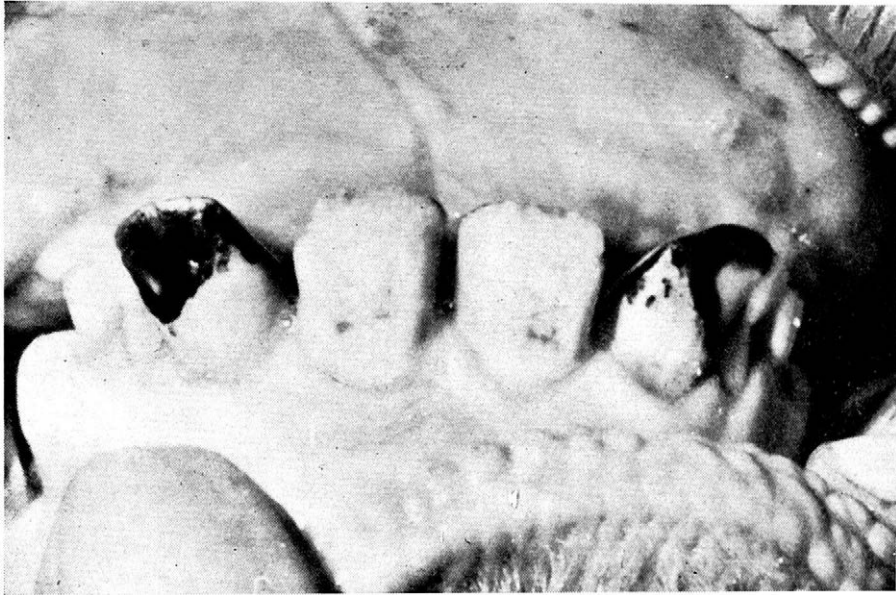
Výskumný ústav živočíšnej výroby,
Nitra



Obr. 1. Rezáky 8 ročnej kravy



Obr. 2. Rezáky 4 ročnej kravy

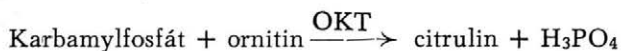


Obr. 3. Rezáky 2½ ročnej jalovice



Obr. 4. Rezáky 2½ ročnej jalovice

■ Ornitin karbamytransferáza (OKT) je enzym z cyklu biosyntézy močoviny a je jedním z mála dosud známých, které splňují požadavky, kladené na orgánově specifické enzymy jaterní. Katalyzuje přenesení karbamylové skupiny karbamylofosfátu na ornitin, při čemž produkty této reakce jsou citrulin a kyselina fosforečná. Je totožný s enzymem katalyzujícím arsenolýzu citrulinu na kyslíčnan uhličitý, amoniak a ornitin.



LITERÁRNÍ PŘEHLED

Aktivita enzymu je určována na podkladě jedné z uvedených dvou reakcí. Používanější je dosud metoda, jejímž základem je arsenolýza citrulinu a při níž je určováno buď množství enzymem uvolněného C^{14}O_2 (1), nebo NH_3 (2, 3). Kolorimetrickou metodu určování OKT podle množství citrulinu, vznikajícího v její přítomnosti z karbamylofosfátu a ornitinu jako substrátu, popsali Brown a Grisolia (4). Tuto metodu modifikovali a dále rozpracovali pro praktické použití Kulhánek a spol. (5) a Kulhánek s Vojtíškovou (6).

V dostupné literatuře nacházíme dosud jen velmi málo údajů o aktivitě OKT v krevním séru a v orgánech hospodářských zvířat a celkem málo zkušeností je též s klinickým využitím této funkční zkoušky.

Hodnoty OKT v krevním séru a v různých orgánech psů určili Reichard (7) a Lindblad s Perssonem (8), u vepřů Wretling a spol. (9). Výsledky těchto prací se shodují v tom, že OKT je převážně přítomna v játrech. Aktivita ostatních orgánů a tkání, s výjimkou tenkého střeva, je velmi nepatrná a prakticky zanedbatelná. Aktivita tenkého střeva psa představuje sotva 2 % (7, 8), tenkého střeva vepřů kolem 5 % aktivity jater (9).

Vysokou orgánovou jaterní specifičnost OKT u skotu prokázali Sindelářová, Neuman a Svobodová (10). Zjistili, že v jeho játrech je lokalizována prakticky téměř veškerá OKT (94 % ze součtu aktivity všech orgánů a tkání). Aktivita tenkého střeva představovala pouze asi 4 %, aktivita zbývajících orgánů a tkání jednotlivě vždy pod 1 % aktivity jater. Zcela odlišné

*) K 60. narozeninám prof. MVDr. A. Janečka.

poměry zjistili u slepic. Množství OKT ve všech orgánech bylo velmi malé a mezi jednotlivými orgány nebyly zjištěny podstatnější rozdíly. Tento jev zřejmě souvisí s tím, že konečným produktem výměny bílkovin u ptáků není močovina, ale kyselina močová. Toto je další nepřímý důkaz specificity OKT jako jaterního enzymu savců.

Zvýšené hodnoty OKT krevního séra byly zjištěny při jaterní poruše lidí (3, 4, 11), při otravě CCl_4 (7) a při experimentální infekční hepatitidě psů (H. c. c.) (12) a dále při dystrofii jater vepřů (13). V poslední práci bylo zároveň ukázáno, že pomocí sérové OKT lze diferencovat jaterní dystrofii od dystrofie svalové. Při jaterní dystrofii byla totiž zvýšena aktivita sérové GOT, GPT a OKT, kdežto při dystrofii svalové byla zvýšena pouze aktivita transaminázy GOT a GPT.

O citlivosti tohoto enzymatického jaterního testu jsme se již dříve přesvědčili v modelovém pokuse u morčat s experimentálně vyvolaným toxickým poškozením jater pomocí CCl_4 (14). U všech pokusných zvířat došlo k velmi významnému vzestupu aktivity sérové OKT s maximem za 48–72 hod. po podání látky. Tento vzestup enzymu v krevním séru byl doprovázen jeho úbytkem v játrech. Zvýšení sérové OKT bylo ve velmi dobré korelaci se vzestupem aktivity S-GPT a S-SDH (15).

V této práci uvádíme fyziologické hodnoty OKT krevního séra některých hospodářských zvířat. Tyto údaje jsou nezbytné pro hodnocení výsledku tohoto testu v klinické laboratorní diagnostice. V dostupné literatuře jsme dosud našli hodnoty sérové OKT koní a skotu.

MATERIÁL A METODIKA

K stanovení hodnot sérové OKT klinicky zdravých zvířat bylo analyzováno krevní sérum 54 koní, 59 kusů skotu, 10 vepřů a 11 psů. Krev koní byla získána od zvířat z různých hospodářství, krev skotu jednak od pokusných krav na klinikách fakulty, dále od krav ze dvou hospodářství a na jatkách při porážce zvířat, krev vepřů na jatkách a krev psů od pokusných zvířat na klinikách fakulty. Krevní sérum bylo analyzováno do 24 hodin po odběru vzorků.

OKT byla stanovena metodou podle Kulhánka a spol. (5), později modifikovanou Kulhánkem a Vojtíškovou (6). Postup při zpracování vzorků je přehledně uveden v tab. I. Kolorimetrické měření bylo prováděno na Pulfrichově fotokolorimetru s filtrem S_{47} . Aktivita OKT je vyjádřena v μM citrulinu na 1 ml krevního séra. Kalibrace metodiky je uvedena v práci Kulhánka (6).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky analýz jsou uvedeny v tab. II. Z ní jsou zřejmé menší rozdíly v aktivitě sérové OKT jednotlivých druhů zvířat. Nejvyšší hodnota byla zjištěna u skotu, v pořadí pak následují vepř, kůň a pes. Vyšší hodnoty u skotu lze z části vysvětlit odlišným průběhem výměny bílkovin, který je dán anatomickou stavbou zažívacího traktu a zvláštními podmínkami trávení bílkovin v předžaludcích. To má za následek resorpci velkého množství amoniaku a pak intenzivní tvorbu močoviny v játrech skotu a její zvýšený koloběh v organismu.

I. Metodika stanovení aktivity OKT.

Činidla	Plný pokus v ml	Slepý pokus v ml
Sérum (předinkubované s ureázou 30 min. při 37 °C) nebo tkáňový homogenát	0,1	0,1
Ornitin v glycyglycinovém pufru pH 8 (80 mg glycyglycinu a 100 mg 1-ornitin hydrochloridu rozpustíme asi v 8 ml vody, 1 N NaOH upravíme na pH 8 a doplníme na 10 ml). V chladničce stálý několik týdnů	0,2	0,2
Famosept (Merfen) – 0,45 % vodný roztok	–	0,1
Karbamylfosfát (120 mg rozpustíme v 10 ml ledové vody). V chladničce stálý asi 12 hod.	0,1	0,1
inkubovat 20 min. při 37 °C		
Famosept (Merfen)	0,1	–
Deproteinační činidlo (5 g kys. trichloroctové, 0,5 g kys. fosfowolframové rozpustíme ve 100 ml vody)	0,5	0,5
odstředit 10 min. při 3000 obr.		
Supernatant	0,25	0,25
Dimetylglyoxim – 1 % v 96 % alkoholu	0,25	0,25
Antipyrin ve směsi kyselin (77,5 ml 96 % H ₂ SO ₄ a 12,5 ml 80 % H ₃ PO ₄ zředíme pomalu za současného míchání a chlazení vodou a před doplněním na 250 ml rozpustíme 4 g antipyrinu).	2,50	2,50
20 min. zahříváme ve vroucí vodní lázni a po ochlazení odečteme proti slepému pokusu při 447 nm		

II. Aktivita OKT krevního séra jednotlivých druhů zvířat.

Druh zvířat	Počet analyz. vzorků n	Průměrná hodnota	Variační šíře
		OKT v μM citrulinu/1 ml séra	
Kůň	54	0,32 ± 0,02	0,09 – 0,64
Skot	59	0,56 ± 0,03	0,15 – 0,91
Vepř	10	0,42 ± 0,04	0,14 – 0,80
Pes	11	0,24 ± 0,04	0,13 – 0,60

V přehledu však z dosažených výsledků vyplývá, že aktivita OKT krevního séra zdravých zvířat je vcelku velmi nízká.

Dosažené výsledky nemáme možnost porovnat s hodnotami jiných autorů. V literatuře nacházíme sice ojedinělé údaje o aktivitě sérové OKT psů (7, 12) a vepřů (13), která však byla stanovena mikrodifusní technikou a je udávána v $\mu\text{g N}$ na 1 ml séra/24 hod. Tyto číselné výsledky nelze s našimi vzájemně porovnat. Shodují se však v tom, že aktivita OKT v krevním séru je nízká. S údaji o aktivitě OKT krevního séra koní a skotu jsme se v dostupné literatuře nesešli.

Stanovením fyziologických hodnot OKT krevního séra nejdůležitějších hospodářských zvířat jsou vytvořeny podmínky pro hodnocení výsledků tohoto enzymatického testu v klinické laboratorní diagnostice a diferenciální diagnostice jaterních chorob.

SOUHRN

Analýzou krevního séra 54 zdravých koní, 59 kusů skotu, 10 vepřů a 11 psů byla stanovena fyziologická norma hodnoty S-OKT, která byla určena metodou podle Kulhánek a Vojtíškové.

Průměrná aktivita sérové OKT koní je $0,32 \pm 0,02$ (0,09 – 0,64), skotu $0,56 \pm 0,03$ (0,15 – 0,91), vepřů $0,42 \pm 0,04$ (0,14 – 0,80) a psů $0,24 \pm 0,04$ (0,13 – 0,60). Přes jisté druhové rozdíly, je aktivita sérové OKT všech zvířat velmi nízká.

Stanovením fyziologických hodnot jsou vytvořeny podmínky pro hodnocení výsledku tohoto enzymatického testu v klinické laboratorní diagnostice a diferenciální diagnostice jaterních chorob.

Došlo dne 20. 1. 1965

Literatura

1. Reichard H., Reichard P.: Determination of ornithine carbamyl transferase in serum. *J. Lab. clin. Med.*, 52, 1958 : 709. — 2. Reichard H.: Determination of ornithine carbamyl transferase with microdiffusion technique. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 9, 1957a : 311. — 3. Ryšánek K., Víték V.: Časná diagnostika poruchy jater. *Čas. lék. čes.*, 99, 1960 : 890. — 4. Brown R., Grisolia S.: Ornithine transcarbamylase activity in serum. *J. Lab. clin. Med.*, 54, 1959 : (17. — 5. Kulhánek V., Maděrová V., Šindelářová K., Vojtíšková V.: Modified determination of ornithine-carbamyltransferase activity in biological material. *Clin. Chim. Acta*, 8, 1963 : 579. — 6. Kulhánek V., Vojtíšková V.: On the determination of ornithine-carbamyltransferase activity. *Clin. Chim. Acta*, 9, 1964 : 95. — 7. Reichard H.: Ornithine carbamyl transferase in dog serum on intravenous injection of enzyme choledochus ligation and carbon tetrachloride poisoning. *J. Lab. clin. Med.*, 53, 1959 : 417. — 8. Lindblad G., Persson F.: Transaminase and transferase activities in blood plasma and tissues in dogs. *Acta Vet. Scand.*, 3, 1962 : 367. — 9. Wretling B., Orstadius K., Lindberg P.: Transaminase and transferase activities in blood plasma and in tissues of normal pigs. *Zbl. Vet. Med.*, 6, 1959 : 963. — 10. Šindelářová K., Neuman V., Svobodová Z.: Rozdělení

ornitin carbamyltransferázy v některých orgánech a tkáních skotu a slepic. Sb. VŠZ, Spisy fak. vet., 13, 1965 - v tisku. — 11. Reichard H.: Ornithine carbamyl transferase activity in human serum in diseases of the liver and the biliary system. J. Lab. clin. Med., 57, 1961:78. — 12. Lindblad G., Persson F.: Transaminase and transferase activities in blood plasma of dogs with experimentally produced hepatitis contagiosa canis (H. c. c.). Acta Vet. Scand., 3, 1962:378. — 13. Orstadius K., Wretlind B., Nordström G., Lannek N.: Plasma-transaminase and transferase activities in pigs affected with muscularly and liver dystrophy. Zbl. Vet. Med., 6, 1959:971. — 14. Neuman V., Kulhánek V., Maděrová V., Šindelářová K.: Ornithine carbamyl transferase activity in blood serum and liver of guinea pigs after CCl₄ intoxication. Acta vet. Ac. Sci. Hungar., 13, 1963:239. — 15. Neuman V., Šindelářová K., Maděrová V., Kulhánek V.: Vztah některých enzymatických testů v průběhu experimentálního poškození jater morčat. Sb. VŠZ, Spisy fak. vet., 11, 1963:345.

Орнитин карбамилтрансфераза в кровяной сыворотке лошадей, крупного рогатого скота, свиней и собак

Путем анализа кровяной сыворотки 54 здоровых лошадей, 59 голов крупного рогатого скота, 10 свиней и 11 собак была установлена физиологическая норма величины С-ОКТ, которая была определена по методу Кулганека и Войтишковой.

Средняя активность сывороточной ОКТ лошадей составляет $0,32 \pm 0,02$ (0,09 — 0,64), крупного рогатого скота $0,56 \pm 0,03$ (0,15 — 0,91), свиней $0,42 \pm 0,04$ (0,14 — 0,80) и собак $0,24 \pm 0,04$ (0,13 — 0,60). Несмотря на определенные видовые различия, активность сывороточной ОКТ всех животных весьма низка.

Путем определения физиологических величин созданы условия для оценки результатов этого энзиматического теста в клинической лабораторной диагностике и дифференциальной диагностике болезней печени.

Ornithin-Carbamyltransferase (OCT) in Blood-Serum of Horses, Cattle, Pigs and Dogs

By an analysis of the blood-serum of 54 healthy horses, 59 heads of cattle, 10 pigs and 11 dogs the physiological norm of the serum-OCT-value was determined using the Kulhánková—Vojtišek method.

The average activity of the serum-OCT in horses is $0,32 \pm 0,02$ K. u. (0,09 — 0,64), in cattle $0,56 \pm 0,03$ (0,15 — 0,91), in pigs $0,42 \pm 0,04$ (0,14 — 0,80) and in dogs $0,24 \pm 0,04$ (0,13 — 0,60). The activity of the serum - OCT of all animals is very low in spite of certain species differences.

By determining the physiological values the conditions are created for evaluating the results of this enzymatic test in the clinical laboratory-diagnostics and in the differential diagnostics of the liver diseases.

Ornithonkarbamyltransferase (OKT) im Blutserum von Pferden, Rindern, Schweinen und Hunden

Mittels Analyse des Blutserums gesunder Tiere, u. zw. von 54 Pferden, 59 Rindern, 10 Schweinen und 11 Hunden, wurde die physiologische Norm der Serum-OKT nach der Methode von Kulhánek und Vojtišková ermittelt.

Die durchschnittliche Aktivität der Serum-OKT bei Pferden beträgt $0,32 \pm 0,02$ (0,9 — 0,64), bei Rindern $0,56 \pm 0,03$ (0,15 — 0,91), bei Schweinen $0,42 \pm 0,04$ (0,14 — 0,80) und bei Hunden $0,24 \pm 0,04$ (0,13 — 0,60). Trotz gewisser Artsverschiedenheiten ist die Aktivität der Serum-OKT bei allen Tierarten sehr gering.

Die Ermittlung der physiologischen Werte gibt die Möglichkeit, die Ergebnisse dieses enzymatischen Tests in der Labordiagnostik und in der Differenzialdiagnostik der Leberkrankheiten auszuwerten.

Doc. MVDr. Vojtech Neuman, CSc.

MVC. Zdena Svobodová

Prom. vet. lék. Kv ta  indel rov 

Vysok   kola zem d lsk , veterinární
fakulta, katedra l kařsk  chemie, fyziky
a toxikologie, Brno, Palackého 1-3

■ V současné době se diagnostika akutní nemoci z ozáření opírá především o zjištěné změny v periferní krvi a krvetvorné tkáni a o klinické projevy tohoto onemocnění. Tyto ukazatele nelze využít bezprostředně po ozáření organismu.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Otázka rychlé diagnostiky nemoci z ozáření není do dnešní doby rozřešena a souvisí s nedostatečně objasněnou primární poruchou ozářeného organismu a s podstatou biologického účinku ionizujícího záření. V roce 1942 dokázali Euler a Hevesy (1) sníženou inkorporaci ^{32}P -fosfátu do DNK buněk Jensenova sarkomu po ozáření. Tato časná porucha syntézy DNK jako nositelky genetických faktorů buňky představovala nový směr ve výzkumu primárního biologického účinku záření a výsledky intenzivního výzkumu na tomto poli byly shrnuty v řadě vynikajících referátů (Hevesy — 2, Howard — 3, Errera — 4, Kelly — 5, Hevesy — 6, Ordová — 7). Bylo dokázáno, že toto počáteční pozorování Hevesyho je universálním účinkem záření na živou buňku a snížená inkorporace do DNK po ozáření byla také potvrzena na celé řadě různých tkání. Výsledky vesměs potvrdily sníženou inkorporaci prekurzorů nukleových kyselin u všech radiosenzitivních tkání, tj. tkání s vysokým mitotickým indexem (Thompson — 8, Harrington — 9, Ordová — 10, Bennet — 11).

Z diagnostického hlediska bylo věnováno dost snahy využít právě poruchy syntézy DNK a předpokládané zvýšení degradačních nebo anabolických produktů DNK k rychlé diagnostice nemoci z ozáření. Protože záření zvyšuje obecně katabolismus dusíku, byly práce orientovány k zjištění dusíkatých komponent jak v tkáních, tak v moči a krvi. Metabolismus purinových bází byl již v posledních letech objasněn, naproti tomu není látková přeměna pyrimidinů známa v celém svém rozsahu. Zdá se, že degradace purinů probíhá mnohem intenzivněji. V moči normálních nebo ozářených jedinců nelze dokázat purinové nukleosidy a tím méně odpovídající desoxyribonukleotidy a desoxyribosidy. Katabolismus pyrimidových nukleotidů není zcela znám. Uracyl je nejprve reduktivně převeden v odpovídající dihydroderivát, který je hydrolyticky štěpen mezi vazbou 1,6 pyrimidinu na odpovídající NH_3 , CO_2 a beta-alanin. Analogická

*) K 60. narozeninám prof. MVDr. A. Janečka.

degradace thyminu vede k tvorbě kyseliny beta-aminoizomáselné. Zvýšení této kyseliny bylo dokázáno v moči po podání N-yperitu a po celkovém ozáření A w a p a r a — 12, R u b i n i — 13). V posledních letech bylo stanovení této kyseliny provedeno při vyšetřování havarijních případů v Los Alamos a v Oak Ridge (G e r b e r — 14) s cílem nalézt lepší biologické indikátory pro stanovení stupně poškození ozářeného organismu.

V roce 1958 použili P a ř í z e k, A r i e n t, D i e n s t b i e r a Š k o d a k rychlé diagnostice nemoci z ozáření stanovení desoxyribosidů barevnou reakcí podle D i s c h e h o, používané v analytické chemii cukrů k důkazu desoxyribózy (P a ř í z e k — 15 až 20). Tento objev československých vědeckých pracovníků byl zjištěn původně u krys a potvrzen dále u myši, králíků, psů a opic (F j o d o r o v a — 21, F j o d o r o v a — 22). Hlavním vylučovaným desoxyribosidem je desoxycytidin. Kvantitativním podílem desoxycytidinu na vylučování desoxyribosidů se zabýval R o t t e r h a m (23). Tak bylo zjištěno toto procentuální zastoupení: 60 % desoxycytidinu, 20 % 5-methyl-desoxycytidinu, 10–15 % desoxyuridinu a cca 5 % desoxyribonukleotidů. V žádném případě nebyl v moči normálních krys prokázán thymidin a rovněž nebyly prokázány desoxyribosidy purinové řady. Tyto nálezy poukazují na mimořádné metabolické postavení desoxycytidinu.

Účelem této práce bylo prověřit diagnostickou vhodnost uvedené reakce podle D i s c h e h o pro posouzení časného stadia nemoci z ozáření v jejím latentním stadiu. Současně jsme prověřili vhodnost jednorázového odběru moče, které by u hospodářských zvířat bylo prakticky proveditelné.

MATERIÁL A METODIKA

POKUSNÁ ZVÍŘATA

Prasata — sviňky o váze 15–17 kg. Ustájení a krmení bylo prováděno podle běžných zásad platných pro tento druh zvířat (složení krmiva: brambory, ječný šrot, zelená vojtěška a kuchyňské odpadky).

Vzhledem k obtížnosti opakovaného odměru moče byla z močového měchýře vyvedena trvalá plastická kanyla.

Ovce ve váze cca 35 kg byly ustájeny a krmeny podle běžných zásad platných pro tento druh hospodářských zvířat. Složení krmiva: seno, zelená vojtěška, ječný šrot s přidavkem krmné soli. Moč byla ovčím odebírána kovovou cévkou.

Psi — kříženci ve váze 20–25 kg, stáří 1–6 let. Krmení a výběr psů do pokusu a ošetřování během pokusu bylo shodné, jak je uváděno v předcházejících sděleních (P o s p í š í l — 24). Moč byla psům odebírána plastickou cévkou.

Krasy — samci kmene Wistar, váha 160–180 g. Zvířata byla krmena Larsenovou dietou a dostávala vodu *ad libitum*.

Technické podmínky ozáření: Prasata, ovce a psi byli ozáření celotělovou dávkou Co^{60} . Průměrný příliv 5 r/min. Krasy byly ozářeny celotělovou dávkou 1400 r přístrojem Makrophos 250, 235 kV, 14 mA, filtr 0,5 Cu, 1 Al, příliv 70 r/min.

Dische-pozitivní látky v moči byly stanoveny v modifikaci podle Stumpfa (25). Měřicí systém obsahoval:

- 0,3 ml čerstvě filtrované moče
- 0,2 ml 5% cystein-HCl (Lachema)
- 5,0 ml 70% (v/v) kyselina sírová p. a.

Vzniklý barevný produkt byl proměřen za 120 minut po smíchání na dvou-paprskovém registračním spektrofotometru Optica v oblasti 400–500 nm a hodnoty Dische-látek vyjádřeny jako extinkční rozdíl maxima a minima absorpční křivky v tomto rozsahu.

Dische-pozitivní látky v krvi byly stanoveny takto: Čerstvě odebraná krev byla denaturována stejným objemem 6% ledově vychlazené kyseliny chloristé, odstředěna a chloristanový supernatant byl použit k přímému stanovení Dische-pozitivních látek. Vzhledem k nižší koncentraci Dische-pozitivních látek byl reakční systém upraven takto:

- 2,0 ml chloristanového filtrátu krve
- 0,2 ml 5% cystein-HCl (Lachema)
- 5,0 ml 85% (v/v) kyselina sírová p. a.

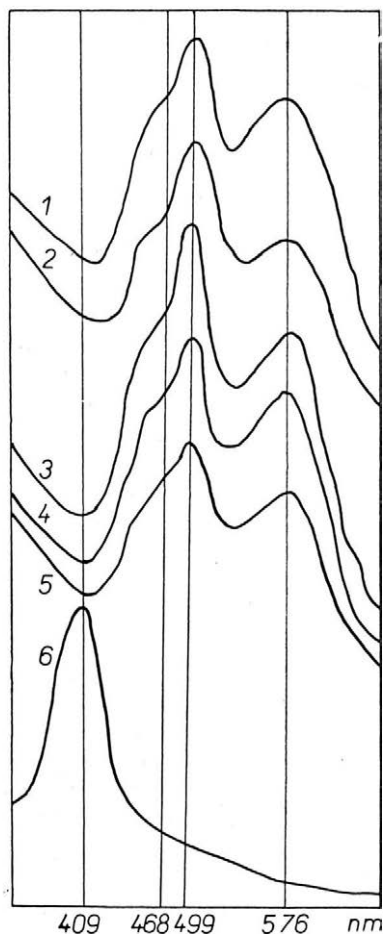
Stanovení bylo provedeno pak shodným způsobem jako u moče.

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

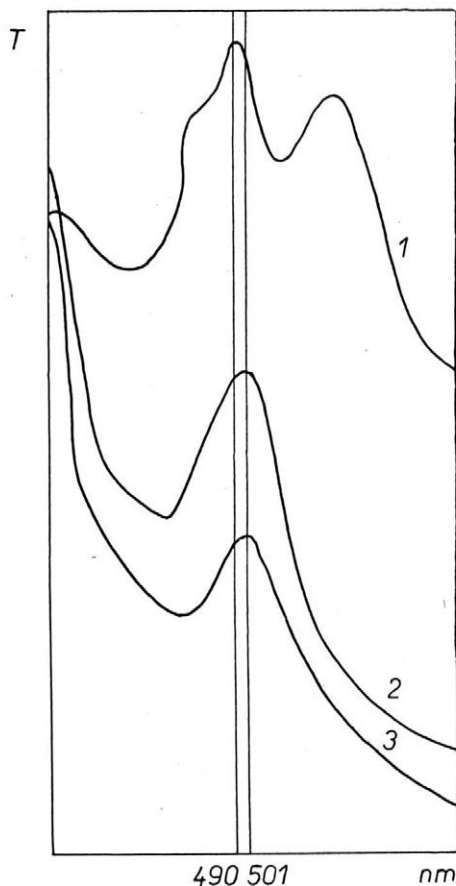
Bylo prováděno jako určitá kontrola stupně poškození jednotlivých zvířat po ozáření. Bylo provedeno u všech skupin s výjimkou ovcí ozářených dávkou 600 r a u skupiny kryš. Byl zjišťován počet červených krvinek, hematokrit, počet bílých krvinek a diferenciální rozpočet bílých krvinek (Netoušek — 26). U ovcí a psů byla krev odebírána z *vena cephalica antebrachii*, u prasat z ušních vén a u kryš protětím krčních cév.

VÝSLEDEK

V první části práce jsme prověřili specifitu Discheho reakce v uvedené modifikaci pro důkaz desoxyribózy v moči a chloristanovém krevním filtrátu. Manson a Lampen (27, 28) proměřili barevnou intenzitu řady desoxyribosidů při 474 nm u této reakce a zjistili prakticky stejný extinkční molární koeficient tohoto chromogenu pro všechny testované desoxyribosidy. Protože bylo pravděpodobné, že ostatní v moči přítomné látky budou interferovat s vlastním stanovením vylučovaných desoxyribosidů, srovnali jsme absorpční spektra desoxycytidinu (Ligth), desoxyadenosinu (BNC), desoxyguanosinu (BNC), tymidinu (Lachema), 2-desoxyribózy (Sigma) a glukózy (Lachema). Absorpční křivky jsou uvedeny na grafu 1. Všechny testované desoxyribosidy mají stejný průběh absorpční křivky se třemi maximy 468, 499 a 576 nm. Kontrolní vzorek glukózy má pouze jedno maximum při 409 nm. Normální moč vykazuje pouze jedno maximum kolem 499–501 nm. Po přidání vzorku tymidinu do moče se zvyšuje maximum 499–501 nm. Současně jsme zjistili, že i normální moč v reakční směsi bez přidání cysteinu má silnou absorpci v uvažované oblasti, která, jak je patrné z grafu č. 4, dokonce převyšuje absorpci vlastní Discheho reakce. V moči a krevním filtrátu nejsou ovšem dokazatelná zbývající dvě



Graf 1. Absorpční spektrum desoxyribosidů stanovených reakcí podle Discheho 1 — tymidin, 2 — desoxyguanosen, 3 — desoxycytidin, 4 — desoxyadenosen, 5 — desoxyribóza, 6 — glukóza



Graf 2. Absorpční spektrum desoxyribosidů v moči 1 — vodný roztok tymidinu, 2 — vzorek moče + tymidin, 3 — vzorek moče

maxima 468 a 576 nm, která jsou typická pro desoxyribózu, jak je patrné z grafů 2 a 3. Přidání tymidinu do vzorku krevního filtrátu obdobně jako v moči zvyšuje absorpci při 499–501 nm. Intenzita barevného produktu roste s časem, jak je patrné z tabulky I.

I. Časová změna intenzity chromogenu při Discheho reakci (Tymidin)

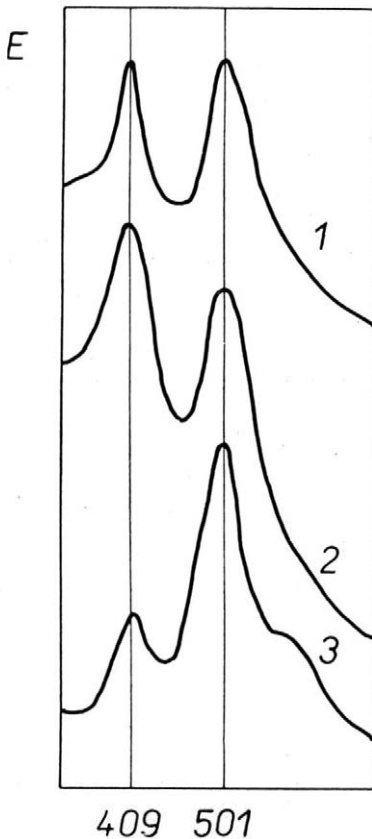
Čas	0	1	2	3	4	5	24	hodin po smíchání
Extinkce	—	0,350	0,525	0,633	0,655	0,788	0,696	

DISCHE-POZITIVNÍ LÁTKY V MOČI OZÁŘENÝCH PRASAT

Skupina 6 zvířat byla ozářena dávkou 600 r Co^{60} , moč odebírána vyvedenou kanylou a ihned zpracována. Vylučování Dische-pozitivních látek je uvedeno na grafu 5. U kontrolních, neozářených zvířat nacházíme pouze stopová množství Dische-pozitivních látek (dále D-látky). Po ozáření celotělovou dávkou 600 r se vylučování D-látek v moči silně zvyšuje s maximem do 6 hodin po ozáření. 48 hodin po expozici je vylučování D-látek prakticky v mezích normy kontrolních zvířat.

DISCHE-POZITIVNÍ LÁTKY V MOČI OZÁŘENÝCH OVCÍ

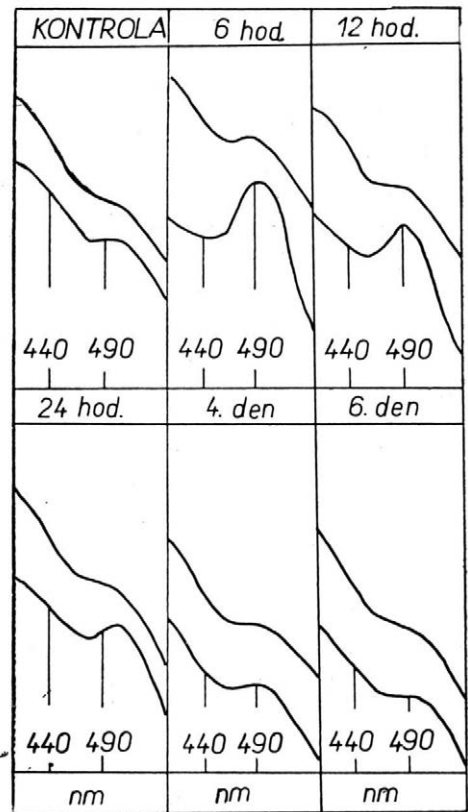
Skupina 6 ovcí byla ozářena celotělovou dávkou 200 r Co^{60} a další skupina



Graf 3. Absorpční spektrum chloristanového krevního filtrátu v reakci podle Discheho

1 — krevní filtrát, 2 — krevní filtrát + glukóza, 3 — krevní filtrát + tymidin

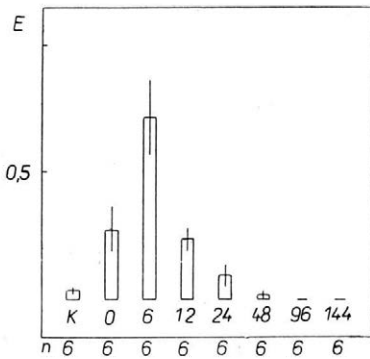
H_2O , 5,0 ml kyseliny sírové), 2 — absorpční křivka vlastní reakce podle Discheho (0,2 ml moče, 0,3 ml cysteinu, 5,0 ml kyseliny sírové)



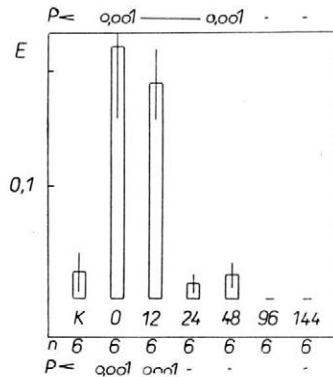
Graf 4. Vylučování Dische-pozitivních látek v moči ovce ozářené celotělovou dávkou 200 r Co^{60}

1 — absorpční křivka vzorku moče bez přidání cysteinu (0,2 ml moče, 0,3 ml

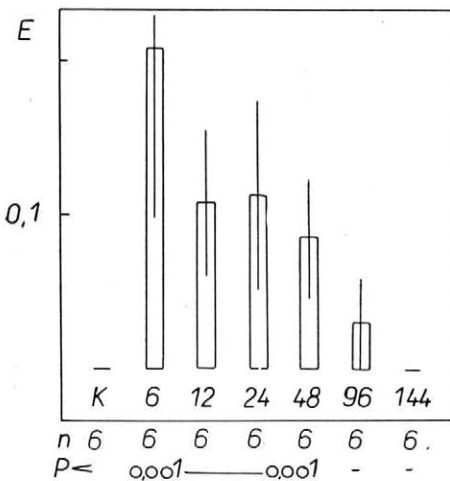
6 ovcí dávkou 200 r Co^{60} . Výsledky jsou uvedeny na grafech 6 a 7. Po dávce 200 r nastává zvýšené vylučování D-látek v moči s maximem mezi 6 až 12 hodinou po ozáření. Po této době se vylučování vrací k normě a je pouze ve stopových koncentracích. Grafický záznam vylučování D-látek u jedné ovce po



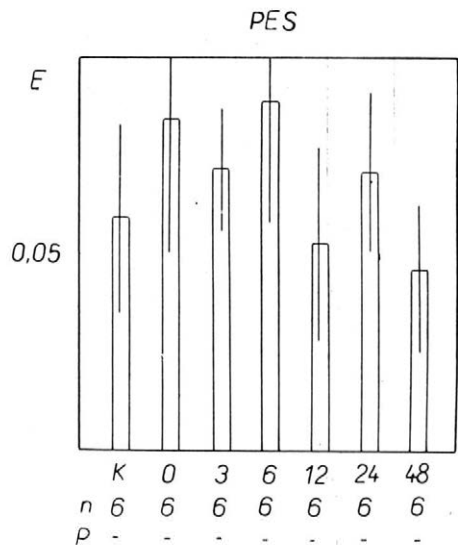
Graf 5. Vylučování Dische-pozitivních látek v moči prasat ozářených celotělovou dávkou 600 r Co^{60} . Sloupce představují průměrné hodnoty skupiny 6 zvířat s uvedenými standardními odchylkami



Graf 6. Vylučování Dische-pozitivních látek v moči ovcí ozářených celotělovou dávkou 200 r Co^{60} . Sloupce představují průměrné hodnoty skupiny 6 zvířat s uvedenými standardními odchylkami



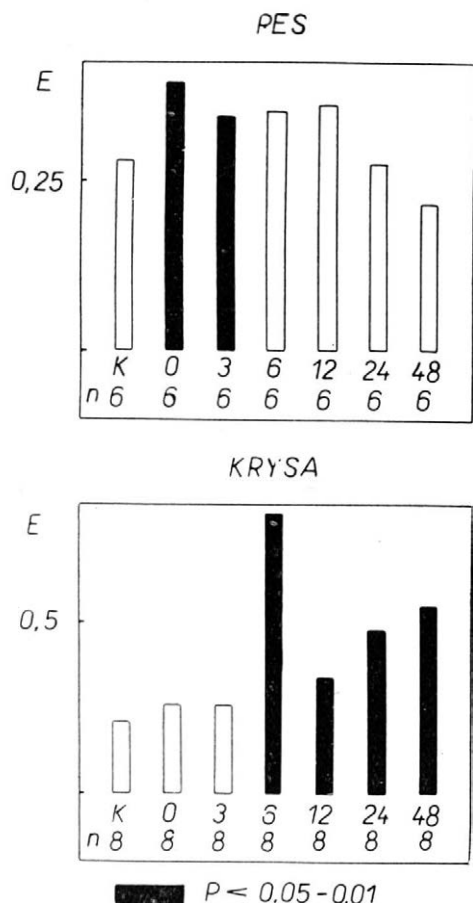
Graf 7. Vylučování Dische-pozitivních látek v moči ovcí ozářených celotělovou dávkou 600 r Co^{60} . Sloupce představují průměrné hodnoty skupiny 6 zvířat s uvedenými standardními odchylkami



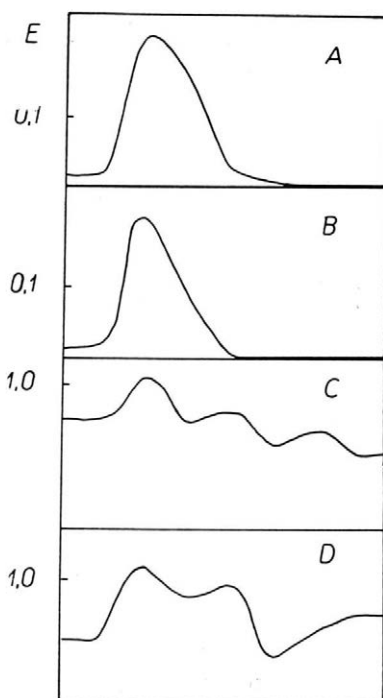
Graf 8. Vylučování Dische-pozitivních látek v moči psů ozářených celotělovou dávkou 600 r Co^{60} . Sloupce představují průměrné hodnoty skupiny 6 psů s uvedenými standardními odchylkami

dávce 200 r je uveden na grafu 4, z kterého je patrné, že v literatuře doporučené hodnocení při jedné vlnové délce, zpravidla při 490 nm není spolehlivým indikátorem pro stanovení D-látek v moči. Nespecifické zabarvení barevného produktu totiž přispívá k vyšším hodnotám extinkce. Jako nejpřesnější se projeví odečítání reakce jako extinkční rozdíl maxima a minima absorpční křivky.

Po dávce 600 r jsme u ovcí pozorovali v podstatě stejné zvýšení D-látek. Vylučování se nezvyšuje úměrně dávce, pouze doba vylučování se prodlužuje. Maximum jsme pozorovali mezi 6–48 hodinou po expozici, návrat k normě až kolem 6. dne po ozáření.



Graf 9. Vliv ionizujícího záření na hladinu Dische-pozitivních látek v chloristanovém krevním filtrátu psů a krysy Psi byli ozáření celotělovou dávkou 600 r, Co^{60} , krysy celotělovou dávkou 1400 r paprsky X (250 kV, 14 mA) n = počet zvířat ve skupině, P = pravděpodobnost nevýznamnosti hodnocená t-testem



Graf 10. Vylučovací křivka Dische-pozitivních látek hodnocená při různých vlnových délkách absorpční křivky (stanoveno u skupiny ovcí ozářených dávkou 200 r)

A = stanovení jako extinkční diference maxima a minima absorpční křivky, B = stanovení jako extinkční rozdíl 490–440 nm, C = stanovení při vlnové délce 501 nm (maximum absorpční křivky), D = stanovení při vlnové délce 490 nm

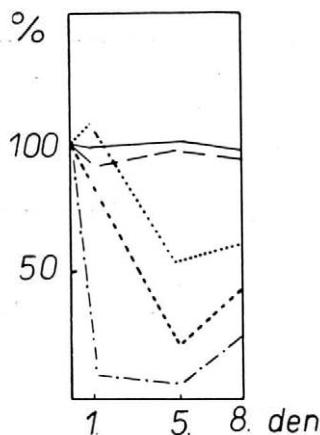
DISCHE-POZITIVNÍ LÁTKY V MOČI OZÁŘENÝCH PSŮ

Na rozdíl od vepřů a prasat vykazují již kontrolní odběry psí moče vyšší hodnoty D-látek. Po dávce 600 r jsme pozorovali u skupiny 6 psů nesignifikantní zvýšení D-látek s maximem 6 hodin po expozici. Výsledky jsou uvedeny na grafu 8. Nepozorovali jsme v žádném případě tak výrazné zvýšení D-látek jako u ozářených prasat a ovcí.

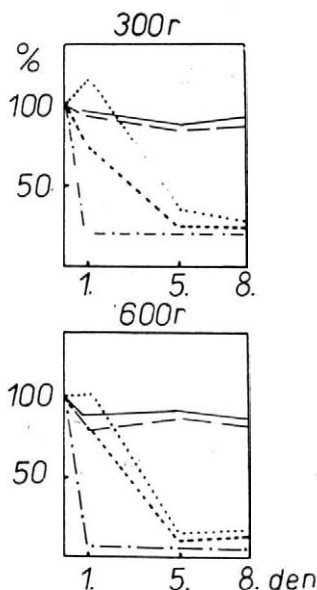
DISCHE-POZITIVNÍ LÁTKY V KRVI OZÁŘENÝCH PSŮ A KRYS

Protože degradační produkty DNK se dostávají do moče krevní cestou, prošetřili jsme současně v informativním pokusu hladinu D-látek v totální krvi psů a krys. V krvi ozářených psů jsme pozorovali významné zvýšení D-látek s následnou normalizací do 26 hodin (graf 9 — skupina 6 psů).

Současně jsme sledovali vliv vyšší dávky záření na obsah D-látek v krvi krys ozářených celotělovou dávkou 1400 r (graf 9). Tato supraletální dávka vyvolá statisticky významné zvýšení s maximem kolem 6. hodiny po ozáření. I když není přesně známo, které orgány a buňky přispívají k zvýšení D-látek



Graf 11. Hematologické změny v periferní krvi ovcí ozářených celotělovou dávkou 200 r Co⁶⁰



Graf 12. Hematologické změny v periferní krvi prasat ozářených celotělovou dávkou 300 a 600 r Co⁶⁰

v krvi a moči, je pravděpodobné, že dochází především k vyplavování z radiosenzitivních buněk s krátkým biologickým poločasem.

Shrnutím těchto výsledků lze vyslovit názor, že stanovení D-látek Discheho reakcí, jak ji vypracovali pro diagnostiku nemoci z ozáření Pařízek a spolupracovníci, je vhodné pro časnou diagnostiku ozářených ovcí a prasat. Tato metoda je u těchto druhů zvířat tím vhodnější, protože jejich fyziologické normální hladiny D-látek jsou velmi nízké a mnohdy pouze ve stopových koncentracích. U psů jsou již výchozí hodnoty D-látek vyšší a jednorázový, i když v praxi snadno proveditelný odběr moče nedává při použité dávce záření statisticky významné zvýšení, i když je pozorován trend k zvyšování těchto látek. U ovcí a prasat je zvýšení zcela významné a reakci po ozáření lze hodnotit jako odpověď ANO — NE. Pozorovaná desoxycytidinurie je krátkodobá a vymizí do několika hodin po ozáření. Domníváme se, že zvýšené vylučování D-látek po ozáření je následek destrukčních pochodů v radiosenzitivních tkáních, nejspíše v lymfoidních buňkách.

V práci byla prokázána vhodnost jednorázového odběru moče pro diagnostiku D-látek po ozáření. Není tedy zapotřebí propočít koncentrace D-látek na množství vyloučené moče například za 24 hodin, jak se běžně provádí u malých laboratorních zvířat. Tím se tato metoda stává prakticky proveditelná i u hospodářských zvířat.

Z diagnostického hlediska bylo zajímavé stanovit obsah D-látek v krvi, protože u řady zvířat je odběr krve jednodušší než odběr moče. Navíc stanovení D-látek v chloristanových krevních filtrátech není zatíženo nespecifickou absorpcí jako je tomu u moče a v úvahu by přicházelo použití jednoduchých fotometrů při vhodně filtrovaném světle.

Podle našich nálezů je nejcitlivější odečítání této reakce jako extinkční rozdíl maxima a minima absorpční křivky. Nepovažujeme proto za vhodné odečítání při jedné vlnové délce (490 nm) a ani rozdíl 490—440 nm není nejcitlivější, jak je patrné z grafu 10.

Protože jednotlivé radiosenzitivní buňky mají různé biologické poločasy, je pravděpodobné, a to se také domníváme, že počáteční zvýšení odpovídá nejspíše vyplavení degradačních produktů DNK nejcitlivějších buněk tj. lymfocytů. Stanovení vlivu záření na obsah D-látek v jednotlivých orgánech je předmětem další práce.

Tato metoda je vhodná k zachycení latentního stadia nemoci z ozáření maximálně do 24—48 hodině. V pozdějších intervalech považujeme za lepší vodítko pro stanovení stupně poškození a případnou prognózu především postiradiační lymfopenii společně s ostatními změnami v krvi a kostní dřeni, jak vyplývá z grafů 11 a 12 (29, 30).

S O U H R N

Bylo sledováno vylučování desoxyribosidů Discheho reakcí v moči prasat, ovcí a psů po celotělovém ozáření. U prasat a ovcí je vylučování D-látek signifikantně zvýšené s maximem 6 hodin po ozáření. U psů nebylo prokázáno statisticky významné zvýšení.

Byly sledovány D-látky v chloristanovém filtrátu krve u psů a krys po celotělovém ozáření. Bylo zjištěno statisticky významné zvýšení po ozáření.

Po metodické stránce se ukázalo nejcitlivější hodnocení D-látek jako ex-

tinkční rozdíl maxima a minima absorpční křivky v rozsahu 400–550 nm. Odečítání při jedné vlnové délce není při hodnocení D-látek v moči vhodné pro značnou nespecifickou interferenci.

Došlo dne 30. 11. 1964

Literatura

1. Von Euler H., Hevesy G.: Kgl. Danske Videnskab. Selskab. Biol. Med. 17 (1942-43), 1. — 2. Hevesy G., Forssberg A.: Proc. 3rd Inter. Congr. Biochem., Brussels, 1955, strana 479, 1956. — 3. Howard A.: v Ciba Foundation Symposium on Ionising Radiation and Cell Metabolism, strana 196. Vydal G. E. W. Wolstenholme a C. M. O'Connor, J. & A. Churchill, London, 1956. — 4. Errera M.: v Protoplasmatologia. Handbuch der Protoplasmaforschung, svazek X, číslo 3. Vydali L. V. Heilbrunn a F. Weber, Springer Verlag, Wien, 1957. — 5. Kelly L. S.: Progr. in Biophys. and Biophys. Chem. 8 (1957), 144. — 6. Ord M. C., Stocken L. A.: v Mechanism on Radiobiology, Vol. I. Biochemical lesions in vivo and in vitro. Vydal M. Errera a A. Forssberg, Academic Press, N. Y., 1961. — 7. Ord M. G., Stocken L. A.: Biochem. J. 63 (1956), 398. — 8. Thompson J. F., Tourtelotte W. W., Carttar M. S.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 80 (1952), 268. — 9. Harrington H., Lavik P. S.: Arch. Biochem. Biophys. 54 (1955), 6. — 10. Ord M. G., Stocken L. A.: Ann. Rev. Nuclear Sci. 9 (1959), 523. — 11. Bennet E. L., Kelly L. S., Kreuckel B.: Federation Proc. 13 (1954), 181. — 12. Awapara J.: The Leukemias. Etiology, Pathophysiology and Treatment. Henry Ford Hospital International Symposium, Chap. 20, Academic Press, N. Y., 1957. — 13. Rubini J. R., Cronkite E. P., Bond V. P., Fliedner T. M.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 100 (1959), 400. — 14. Gerber G., Gerber Gisela, Kurohara S., Altman K. I., Hempelmann L. H.: Radiation Res. 15 (1961), 314. — 15. Pařízek J., Arient M., Dienstbier Z., Škoda J.: Nature 182 (1958), 721. — 16. Pařízek J., Arient M., Dienstbier Z., Škoda J.: II. United Nations Internat. Atomic Conf. 15-P/2498, Ženeva, 1958. — 17. Pařízek J., Arient M., Dienstbier Z., Škoda J.: Čs. fysiologie 7 (1958), 532. — 18. Pařízek J., Arient M., Dienstbier Z., Škoda J.: Internat. Congr. Roentgenol., Suppl. 5, referát 799, München, 1959. — 19. Pařízek J., Arient M., Dienstbier Z., Škoda J.: Medicinskaja Radiologija 5 (1960), 31. — 20. Pařízek J., Arient M., Dienstbier Z., Škoda J.: Proc. IVth International Congr. Biochem., London, referát 12-68, Pergamon Press, 1958. — 21. Fjodorova T. A., Uspěnskaja M. S., Vasilijski S. S., Bělajeva E. M.: Medicinskaja radiologia 5 (1960), 42, číslo 10. — 22. Fjodorova T. A., Bělajeva E. M.: Proc. Vth Internat. Congr. Biochem. Moskva, Vol. 9, strana 551, Pergamon Press, 1963. — 23. Rotterham J., Schneider W. C.: Biochim. Biophys. Acta 41 (1960), 344. — 24. Kolektiv autorů, edice Z. Dienstbier: Postiradiační syndrom. Voj. zdrav. listy, příl. č. 4, 1958. — 25. Stumpf P. K.:

J. Biol. Chem. 169 (1947), 377. — 26. Netoušek: Klinická haematologie, Státní zdravotnické nakladatelství, Praha, 1962. — 27. Manson L. A., Lampen J. O.: J. Biol. Chem. 191 (1951), 187. — 28. Manson L. A.: Nature 174 (1954), 967. — 29. Dienstbier Z., Pospíšil J., Arient M.: International J. Radiation Biology, 4 (1962), 333. — 30. Dienstbier Z., Arient M., Pospíšil J.: Atompraxis, 6 (1960), 1.

Влияние ионизирующего излучения на содержание Дише-положительных веществ в моче и крови облученных животных

Исследовали выделение дезоксирибосидов путем реакции Дише в моче свиней, овец и собак после облучения их по всему телу. У свиней и овец выделение Д-веществ достоверно увеличено с максимумом 6 часов спустя после облучения. У собак не было показано статистически знаменательного повышения.

Исследовали Д-вещества в хлористановом фильтрате крови у собак и крыс после облучения по всему телу. Было установлено статистически знаменательное повышение после облучения.

В методическом отношении оказалась наиболее чувствительной оценка Д-веществ в качестве разницы угасания максимума и минимума кривой абсорбции в пределах 400—550 нм. Вычитание при одной волновой длине при оценке Д-веществ в моче не пригодно в силу значительной неспецифической интерференции.

Influence of Ionizing Radiation on the Dische — Positive-Substances Contents in Urine and Blood of Irradiated Animals

The excretion of desoxyribosides by means of the Dische-reaction in urine of pigs, sheep and dogs following the whole-body irradiation was traced. The excretion of the Dische-stuffs significantly increases in pigs and sheep at the maximum 6 hours after the irradiation. No statistically important increase was proved in dogs.

The D-stuffs were traced in the perchloric filtrate of blood in dogs and rats after the whole-body irradiation. A statistically significant increase after the irradiation was ascertained.

From the methodical point of view the most accurate evaluation of the D-stuffs appeared to have been the extinction-difference between the maximum and minimum of the absorption curve within the range of 400—550 nm. Subtracting at one wave-length seems to be not suitable for evaluating the D-stuffs in urine because of its considerable nonspecific interference.

Der Einfluß der ionisierenden Strahlung auf den Gehalt an Dische-positiven Stoffen im Harn und Blut bestrahlter Tiere

Mittels der Reaktion nach Dische wurde die Ausscheidung der Desoxyriboside im Harn ganzkörperbestrahlter Schweine, Schafe und Hunde verfolgt. Bei Schweinen und Schafen ist die Ausscheidung der D-Stoffe signifikant gesteigert mit einem

Maximum 6 Stunden nach Bestrahlung. Bei Hunden konnte eine statistisch bedeutende Steigerung nicht nachgewiesen werden.

Verfolgt wurden weiters die D-Stoffe im Perchloratfiltrat des Blutes von Hunden und Ratten nach ihrer Ganzkörperbestrahlung. Es konnte eine statistisch bedeutungsvolle Steigerung nach Bestrahlung festgestellt werden.

Bezüglich Methodik hat sich gezeigt, daß die empfindlichste Auswertung der D-Stoffe in der Ermittlung des Extinktionsunterschiedes zwischen Maximum und Minimum der Absorptionskurve im Ausmaße von 400—550 nm besteht. Das Ablesen bei einer Wellenlänge ist für die Auswertung der D-Stoffe im Harn wegen der bedeutenden unspezifischen Interferenz ungeeignet.

MVDr. Blahoslav Zícha
Doc. MVDr. Josef Pospíšil, CSc.
Veterinární výzkumné středisko,
Praha - Motol

ОБСАН

Dyml B.: Izolace viru skupiny <i>psittacosis-ornithosis-lymfogranuloma</i> z infekční keratokonjunktivitidy skotu . . .	385
Hubík R.: Modifikace viru slintavky. I. Adaptace viru slintavky na linie telecích a prasečích buněk . . .	393
Molnár J.: Pokusy s 15% p-chlórphenoxyetalónom s prídavkom rôznych adjuvancií, vzhľadom na terapeutický účinok trichofýcie u teliat . . .	401
Zajíček D.: Vliv některých desinfekčních prostředků a léčiv na invazní larvy <i>Amidostomum anseris in vitro</i> . . .	405
Antalovský A.: Technika místní nitrožilní anestezie na distálních částech končetin u skotu . . .	413
Náročný J.: Dentálna fluoróza havädzieho dobytku . . .	421
Neuman V., Svobodová Z., Šindelářová K.: Ornithin karbamyltransferáza v krevním séru koní, skotu, vepřů a psů . . .	425
Zícha B., Pospíšil J.: Vliv ionizujícího záření na obsah Dische-pozitivních látek v moči a krvi ozářených zvířat . . .	431

СОДЕРЖАНИЕ

Дымл Б.: Изоляция вируса группы psittacosis-ornithosis-lymfogranuloma из инфекционного керато-конъюнктивита крупного рогатого скота (392). — Губик Р.: Модификация вируса ящура. — I. Адаптация вируса ящура на линиях клеток телят и свиней (400). — Молнар Ю.: Опыты с 15% р-хлорфеноксизеталонем с добавлением разных вспомогательных лекарственных веществ, учитывая терапевтическое действие трихофиции у телят (403). — Zajíček D.: Влияние некоторых дезинфекционных средств и лекарств на инвазионных личинок *Amidostomum anseris in vitro* (412). — Antalovský A.: Техника местной внутривенной анестезии на дистальных частях конечностей у крупного рогатого скота (418). — Нарожный И.: Фтороз зубов у крупного рогатого скота (424). — Нейман В., Свободова З., Шинделаржова К.: Орнитин карбамилтрансфераза в кровяной сыворотке лошадей, крупного рогатого скота, свиней и собак (429). — Зиха Б., Поспишил И.: Влияние ионизирующего излучения на содержание Дисче-положительных веществ в моче и крови облученных животных (441).

CONTENT

Dyml B.: Isolation of the Psittacosis-Ornithosis-Lymphogranuloma-Group Virus from the Infectious Keratoniunctivitis of Cattle (392). — Hubík R.: Modification of the Foot-and-Mouth-Disease Virus - I. Adaptation of the Foot-and-Mouth-Disease Virus to the Lines of Calf- and Porcine Cells (400). — Molnár J.: Experimental Using 15% p-Chlorphenoxyethalone with Various Adjuvantia Added regarding its Therapeutic Effect against Ringworm in Calves (403). — Zajíček D.: An Influence of some Disinfectans and Drugs on the Invading Larvae of *Amidostomum anseris in vitro* (412). — Antalovský A.: Technique of the Local Intravenous Anaesthesia in the Distal Parts of the Extremities in Cattle (419). — Náročný J.: Dental Fluorosis in Cattle (424). — Neuman V., Svobodová Z., Šindelářová K.: Ornithin-Carbamyltransferase (OCT) in Blood-Serum of Horses, Cattle, Pigs and Dogs (429). — Zícha B., Pospíšil J.: Influence of Ionizing Radiation on the Dische — Positive-Substances Contents in Urine and Blood of Irradiated Animals (441).

INHALT

Dyml B.: Isolierung des Virus der Gruppe psittacosis-ornithosis-lymphogranuloma aus der infektiösen Keratokonjunktivitis des Rindes (392). — Hubík R.: Modifikation des Maul- und Klauenseuchenvirus - I. Adaptation des Maul- und Klauenseuchenvirus an Linien der Kälber- und Schweinezellen (400). — Molnár J.: Versuche mit 15%igem p-Chlorphenoxyetalon unter Beigabe von verschiedenen Adjuvantien mit Rücksicht auf die therapeutische Wirkung auf die Trichophytie bei Kälbern (403). — Zajíček D.: Einfluß einiger Desinfektions- und Heilmittel auf die Invasionslarven *Amidostomum anseris* in vitro (412). — Antalovský A.: Technik der lokalen intravenösen Anästhesie auf distalen Teilen der Extremitäten beim Rind (419). — Nárožný J.: Die Dental-Fluorose bei Rindern (424). — Neuman V., Svobodová Z., Šindelářová K.: Ornithinkarbamyltransferase (OKT) im Blutserum von Pferden, Rindern, Schweinen und Hunden (429). — Zícha B., Pospíšil J.: Der Einfluß der ionisierenden Strahlung auf den Gehalt an Dische-positiven Stoffen im Harn und Blut bestrahlter Tiere (441).

TABLE DES MATIÈRES

Dyml B.: Isolation du virus du groupe psittacosis-ornithosis-lymphogranuloma de la kératoconjunctivite des bovins (res. An/392, Al/392). — Hubík R.: Modification du virus de la fièvre aphteuse. - I. Adaptation du virus de la fièvre aphteuse aux lignées des cellules de veaux et de porcs (res. An/400, Al/400). — Molnár J.: Essais avec p-chlorphénoxyétalon à 15 p.-100, additionné de différents adjuvants, en égard à l'effet thérapeutique de la trichophytie de veaux (res. An/403, Al/403). — Zajíček D.: Influence de certains moyens de désinfection et de médicaments sur les larves invasives d'*Amidostomum anseris* in vitro (res. An/412, Al/412). — Antalovský A.: Technique de l'anesthésie intra-veineuse locale sur les parties distantes des membres des bovins (res. An/419, Al/419). — Nárožný J.: Fluorose dentaire des bovins (res. An/424, Al/424). — Neuman V., Svobodová Z., Šindelářová K.: Ornithine-carbamyltransférase dans le sérum sanguin des chevaux, des bovins, des porcs et des chiens (res. An/429, Al/429). — Zícha B., Pospíšil J.: Influence de la radiation ionisante sur la teneur en matières Dische-positives dans l'urée et le sang des animaux irradiés (res. An/441, Al/441).

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS - ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ul. 14, Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 2, provozovna 22, Legerova 22, Praha 2.

A-11*51255