

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA



12

ROČNÍK 11 (XXXIX)
PRAHA,
PROSINEC 1966
CENA 10 Kčs

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝCH
INFORMACÍ MZLH

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

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací MZLH, Praha 1966

■
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství a lesního hospodářství. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. 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 и лесного хозяйства. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Слезска 7.

■
The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Institute of Scientific and Technical Information of the Ministry of Agriculture and Forestry Management. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7

■
Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben vom Institut für wissenschaftlich-technische Informationen des Ministeriums für Land- und Forstwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion Praha 2, Slezská 7

■
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 et des forêts. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7

■ Aj pri dostatočných energetických zdrojoch je bachorová mikroflóra schopná efektívne využiť nebielkovinový dusík len v množstve, ktoré odpovedá 20–30 % bielkovinovej hodnoty kŕmnej dávky. Pri vyšších dávkach dochádza k stratám dusíku, ktoré sa zväčšujú so zvyšovaním množstva skrmovanej močoviny. (B o d'a 1965.)

Zabrániť stratám dusíka vyprodukovaného v bachore a vstrebaného vo forme NH_3 do krvi by snáď mohlo zabrzdenie rýchleho priebehu ureolýzy do NH_3 . Z takejto hypotézy vznikla myšlienka o možnosti inhibície fermentu ureázy, ktorý katalyzuje proces hydrolýzy močoviny, čo by malo viesť k predĺženiu doby rozkladu urey a tým aj k protrahovanejšej — miernejšej produkcii amoniaku, ktorý by v širšom časovom priestore mohol byť snáď vo väčšej miere utilizovaný v procese proteosyntézy bachorovou mikroflórou.

Správnosť takých predpokladov potvrdzujú údaje o brzdiacom účinku iónov Ag^+ , Au^{3+} i Cu^{2+} na rozklad močoviny ureázou sójových bôbov a niektoré praktické poznatky i skúsenosti, ktoré svedčia o tom, že N-močoviny sa lepšie využívajú po pridávaní do kŕmiva solí mikroelementov a konečne i samotný význam niektorých stopových prvkov vo výžive prežuvavcov.

LITERÁRNY PREHLAD

Banadur Krishna (1962) sledoval účinok rôznych množstiev 0,01% roztokov AgNO_3 , AuCl_3 a CuSO_4 na rozklad močoviny ureázou sójových bôbov pri pH 6,8, 7,8 a 8,8. Zistilo sa, že stupeň brzdenia aktivity ureázy stúpal so zvyšovaním koncentrácie iónov Ag^+ , Au^{3+} , Cu^{2+} . V prípade Ag^+ stupeň inhibície nezávisel od pH. Pri Au^{3+} a Cu^{2+} najintenzívnejšia inhibícia bola pri pH 6,8. Porovnanie brzdiaceho účinku sledovaných iónov bolo $\text{Au} < \text{Cu} < \text{Ag}$.

Pridávanie mikroelementov (Co, Cu a KJ) v dávke 40 a 100 mg u Co a Cu a 10 mg u KJ na kus a deň laktujúcim kravám, ktorým bola skrmovaná močovina, malo priaznivý vplyv na dojivosť kráv (B a b i n a spol. 1963, 1964).

Sú známe tiež poznatky o efekte soli mikroelementov na rast a prírastky zvierat so zložitým žalúdkom.

Vsjakich a Modjanov (1953) po doplnení kŕmiva minerálnymi soľami kobaltu (CoCl_2) v množstve 14 mg na kus a deň zistili, že pomer vylúčeného C k vylúčenému N v moči týchto zvierat bol vyšší ako u zvierat bez prídavku Co v krmive. Vplyv kobaltu na premenu dusíka v organizme zvierat sa prejavil zvýšením váhy. Zistilo sa, že zvýšenie váhy je výsledkom množstva svalových bielkovín a nie tukových rezerv organizmu.

Tiež Komarceva (1963) v pokuse trvajúcom 10 mesiacov po pridávaní CoCl_2 zistila u pokusnej skupiny oviec v priemere vyššie prírastky o 2,5–3,3 a u jehniat o 4,5 kg.

Kladné výsledky dosiahla i Glušková (1964) po pridávaní CoCl_2 a CuSO_4 gravidným a laktujúcim ovciam.

Zatiaľ nie je známy mechanizmus vplyvu solí Co i Cu na tráviace procesy v bachore, ktorý by mohol objasniť niektoré zvláštnosti ich pôsobenia v organizme prežúvavcov. Doterajšie dielčie poznatky o vplyve CoCl_2 , CuSO_4 i MnSO_4 na procesy kvasenia a tvorbu prchavých mastných kyselín (Bazanová, Produktin 1964) nevysvetľujú podstatu procesov, cez ktoré by sa mohol uskutočňovať v praxi pozorovaný efekt skrmovania týchto solí prežúvavcom pri normálnom kŕmení i pri skrmovaní močoviny. Zvlášť praktické skúsenosti o efektívnejšom využití N-močoviny po pridaní CoCl_2 i CuSO_4 , ktoré sú inhibítormi či inaktívátormi ureázy (Velický 1964) nás priviedli k myšlienke, či snáď efektívnejšie využitie N-močoviny za týchto podmienok nespočíva v brzdiacom účinku uvedených solí na ureázu, v spomalení rozkladu močoviny v bachore a tým v lepšom využití, vďaka dlhšiemu časovému rozmedziu vyprodukovaného amoniaku. Predpokladali sme, že asi aj v tom spočíva podstata mechanizmu pôsobenia solí Co a Cu na procesy trávenia i metabolizmu v bachore.

Pre overenie uvedenej hypotézy sme postavili pokusy na ovciach.

MATERIÁL A METODIKA

Pokusy boli prevedené na ovciach, plemena merino, vo veku 6 rokov, váhy 50–53 kg. Použili sme celkove 7 diét bez pridania i s pridaním rôznych množstiev močoviny. Zloženie diét je uvedené na tabuľke I. V bachorovej tekutine odobratej u oviec kŕmených rôznymi diétami s prídavkom CoCl_2 a CuSO_4 sme pred kŕmením, 1, 3, 5 a 7 hodín po kŕmení zisťovali aktivitu bachorovej ureázy a dynamiku NH_3 . Aktivita ureáz bola sledovaná pri diétach 1, 2, 5 a 7, dynamika NH_3 u všetkých 7 diét.

I. Zloženie diét

Krmivo	Diéta	1	2	3	4	5	6	7
	Počet zvierat	7	7	5	3	2	3	2
Seno v kg		0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Slama v kg		1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Ovos v kg		0,6	0,6	0,12	0,10	0,3	—	0,5
Melasové krmivo v kg		—	—	—	—	—	—	0,3
Cukrovka v kg		—	—	—	—	—	1,0	—
Močovina v g		—	7,2	10	16	22	22	—

Soli mikroelementov sme u diét 1, 2, 3, 5 a 7 podávali cez fistulu bachora v množstve CoCl_2 — 8 mg, CuSO_4 — 20 mg *per diem* jednorázove spolu s močovinou alebo v priebehu 7 dní pri kŕmení tiež spolu s močovinou. Kontrolné hodnoty boli získané u tých istých zvierat, pri tejže diéte, v období keď sa im nepodávali soli Co a Cu.

U diét 4 a 6 sme použili aj vyšších jednorázových dávok CoCl_2 — 20 a 40 mg, CuSO_4 — 50 — 100 mg.

Aktivitu bachorových ureáz sme stanovovali mikrodifúznou metódou, podľa Conwaya.

PRINCÍP METÓDY

Amoniak, uvoľnený z močoviny enzýmom ureázou je hodnotou ureázovej aktivity vyšetrovanej bachorovej tekutiny. Obsah amoniaku uvoľneného rozkladom močoviny stanovíme po odpočítaní amoniaku z bachorovej tekutiny bez pridania močoviny (ktorá tvrdí substrát pre ureázu bachorovej tekutiny). Reagencie:

1. Roztok močoviny: 7,2 % roztok močoviny v M/15 fosfátovom tlmivom roztoku, pH 6,8.
2. Koncentrovaný roztok K_2CO_3 : 90 g K_2CO_3 + 100 g destilovanej vody.
3. 0,1 n H_2SO_4 .
4. 0,1 n NaOH.
5. Indikátor podľa Tashira: 200 ml alkoholického 0,1 % roztoku metylčervene + 50 ml 0,1 % alkoholického roztoku metylénovej modrej. Tento roztok riedime pred použitím s alkoholom a vodou v pomere 1 : 1 : 2.
6. Alkohol-borátový pufer 1 : 2 : 1 diel 96 % etylalkoholu + 2 diely borátového pufru o pH 10,3.

SPÔSOB STANOVENIA

Do vonkajšej komôrky parafrínovej Conwayovej nádoby napipetujeme 1 ml 7,2 % roztoku močoviny a 1 ml bachorovej tekutiny. Do vnútornej komôrky sa napipetuje 1 ml 0,1 n H_2SO_4 .

Nádoby prikryjeme krycím sklíčkom (10 X 10 cm), vyhriatym v termostate na 60—63° C. Dosiahneme tým dokonalého tesnenia krycieho sklíčka s nádobkou. Miernym nakláňaním premiešame tekutinu, ktorá je vo vonkajšej časti nádoby a necháme asi 30 min. pri izbovej teplote. Po tejto dobe opatrne vstriekneme pomocou striekačky do vonkajšej časti nádoby 1 ml K_2CO_3 . Vpich po injekčnej ihle zatavíme a tekutinu vo vonkajšej časti opäť premiešame a inkubujeme 1½ hodiny v termostate pri 37° C alebo 2 hodiny pri izbovej teplote. (Analýzu možno prevádzať aj v sklenených Conwayových nádobkách, okraje ktorých sa natierajú vazelín-parafrínovým mazadlom (3 : 1) a K_2CO_3 sa pridáva po nepatrnom odsunutí — aby prešla špička pipety — krycieho sklíčka.)

Súčasne stanovujeme vo vyšetrovanej bachorovej tekutine obsah amoniaku bez pridania močoviny mikrodifúznou metódou podľa Conwaya.

Po ukončení inkubácie titrujeme voľnú H_2SO_4 0,1 n roztokom NaOH s použitím indikátora (3—4 kvapky) do prechodu červenej farby v zelenú.

Výpočet:

$$\begin{aligned} \text{Obsah } NH_3 &= \text{Spotreba NaOH pri slepej vzorke v ml} \\ &\quad - \text{Spotreba NaOH pri skúmanej vzorke v ml} \end{aligned}$$

$$\text{Výsledok} \times \text{faktor NaOH} \times 0,017 \times 10.000 = \text{mg \% } NH_3.$$

Aktivita ureázy: NH_3 vzorky s močovinou — NH_3 bachorovej tekutiny (bez močoviny).

Slepá vzorka:

Prevedie sa paralelne. Miesto bachorového obsahu pipetujeme destilovanú vodu, postup je rovnaký.

VÝSLEDKY A HODNOTENIE

Výsledky aktivity ureáz pri rôznych diétach uvádzame na tabuľke II a gr. 1 a hodnoty NH_3 v bachore po pridávaní mikrcementov na tabuľke III a gr. 2.

Z výsledkov vidno, že aktivita bachorovej ureázy sa po jednorázovom i 7 dní trvajúcom podávaní CoCl_2 a CuSO_4 v porovnaní s kontrolou pri všetkých diétach znížila (tab. II, gr. 1) i keď to nebolo vo všetkých časových intervaloch, hlavne pri diéte 2 je inhibičný účinok podávaných solí mikrcementov zrejmy u všetkých diét 7 hodín po kŕmení, kedy vo všetkých prípadoch bez ohľadu na predchádzajúce hodnoty bola aktivita ureáz podstatne nižšia ako u kontroly.

II. Priemerné hodnoty aktivity bachorovej ureázy (v mg vzniknuté NH_3 /100 ml, 7,2 g močoviny)

Diéta	Podaný CoCl_2 (v mg)	Podaný CuSO_4 (v mg)	Doba odberov				
			pred kŕmením	1 hod. po kŕmení	3 hod. po kŕmení	5 hod. po kŕmení	7 hod. po kŕmení
1	0	0	23,1	29,20	23,10	28,92	22,0
	8 jednorázove	20 jednorázove	27,51	24,83	28,76	27,0	16,0
	8 v priebehu 7 dní	20 v priebehu 7 dní	17,17	13,67	18,06	17,17	12,19
	0	0	16,82	24,78	23,61	22,24	20,1
2	8 jednorázove	20 jednorázove	24,70	31,50	26,0	21,15	10,14
	8 v priebehu 7 dní	20 v priebehu 7 dní	24,04	28,33	20,43	24,01	13,0
	0	0	22,32	29,42	28,38	28,34	24,85
5	8 jednorázove	20 jednorázove	20,0	29,65	24,46	20,40	20,40
	0	0	20,62	27,42	23,97	27,42	23,17
7	8 jednorázove	20 jednorázove	17,17	23,84	14,74	15,28	17,11

Inhibovanie ureázy sa však prakticky neprejavilo zníženou produkciou amoniaku v bachore, ako sme to predpokladali. Ako vidno z tabuľky III a gr. 2, len u diét 1 a 2 došlo k určitému zníženiu tvorby NH_3 po podaní 8 mg CoCl_2 a 20 mg CuSO_4 . U ostatných diét nepozorovať výraznejšie zmeny v produkcii bachorového amoniaku. Ani vyššie jednorázové dávky 20 i 40 mg CoCl_2 a 50 i 100 mg CuSO_4 , nemali podstatnejší vplyv na hladinu a dynamiku ruminálneho NH_3 .

Zdá sa teda, že napriek tomu, že dochádza *in vivo* vplyvom CoCl_2 a CuSO_4 k inhibícii bachorových ureáz, neovplyvní táto proces ureolýzy v bachore, ako to vyplýva z hodnôt NH_3 v bachorovej tekutine. Je zrejme, že treba aj mechanizmus pôsobenia Co a Cu na procesy trávenia a metabolizmu u prežúvavcov hľadať v iných účinkoch, nachádzajúcich sa normálne v krmivách a dosahujúcich možno optimálnu hranicu aj na nami sledovaný proces, ktorý je už ďalšími dávkami, nami použitými, hádam málo ovplyvniteľný. Zdá sa však pravdepodobnejším, že aktivita ureázy, ktorá je tak vysoká, že jej jediná molekula štepí za minútu 460 000 molekúl močoviny (Straub 1962) aj keď sa zníži, je dostatočná k tomu, aby došlo k normálnej katalýze procesu ureolýzy v bachore.

Dosiahnuté, vzhľadom k nášmu predpokladu, negatívne výsledky pri štúdiu vplyvu CoCl_2 a CuSO_4 na dusíkový metabolizmus v bachore prežúvavcov, nútia

III. Priemerné hodnoty koncentrácie amoniaku v bachore (v mg ‰)

Diéta	Podaný CoCl_2 (v mg)	Podaný CuSO_4 (v mg)	Doba odberov				
			pred kŕmením	1 hod. po kŕmení	3 hod. po kŕmení	5 hod. po kŕmení	7 hod. po kŕmení
1	0	0	16,44	16,84	15,91	12,51	11,80
	8 jednorázove	20 jednorázove	14,0	15,58	13,15	13,49	11,15
	8 v priebehu 7 dní	20 v priebehu 7 dní	15,15	15,45	15,76	12,65	12,05
2	0	0	18,49	34,51	25,55	19,15	13,43
	8 jednorázove	20 jednorázove	15,11	32,54	20,03	15,67	11,88
	8 v priebehu 7 dní	20 v priebehu 7 dní	10,30	25,46	19,90	11,00	10,76
3	0	0	12,59	38,19	26,14	16,95	13,31
	8 jednorázove	20 jednorázove	16,95	39,94	29,36	20,79	15,50
	0	0	14,58	33,85	22,17	20,60	16,58
4	8 jednorázove	20 jednorázove	16,92	28,59	25,68	18,08	13,84
	20 jednorázove	50 jednorázove	15,75	32,68	26,84	16,34	—
	40 jednorázove	100 jednorázove	15,75	32,68	26,84	20,09	16,92
5	0	0	18,88	48,93	39,19	26,60	21,41
	8 jednorázove	20 jednorázove	27,47	55,37	44,21	30,24	26,62
	0	0	10,15	53,14	36,91	25,08	18,02
6	8 jednorázove	20 jednorázove	12,44	54,08	42,06	26,16	18,18
	20 jednorázove	50 jednorázove	11,44	53,22	33,32	20,50	16,68
	40 jednorázove	100 jednorázove	10,0	54,65	37,77	26,61	16,83
7	8 v priebehu 7 dní	20 v priebehu 7 dní	11,12	57,82	43,51	25,92	17,79
	0	0	18,02	25,80	27,46	23,22	20,60
	8 jednorázove	20 jednorázove	19,74	27,66	29,90	23,31	22,50

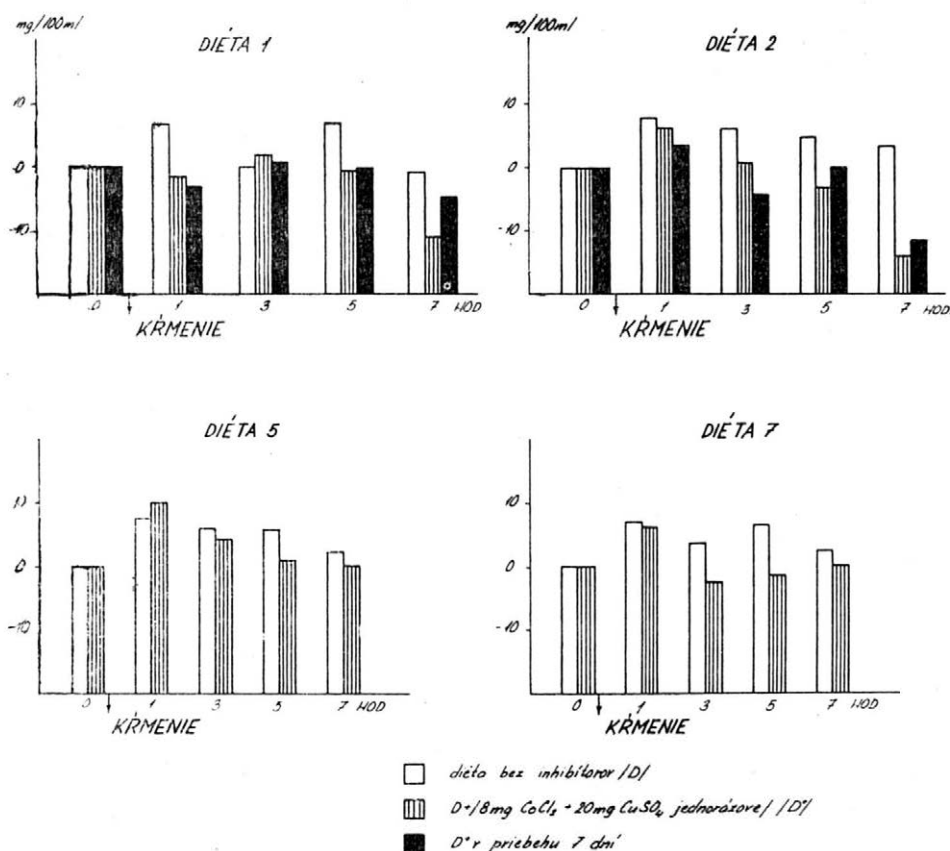
nás zamyslieť sa ako sa tieto stopové prvky u prežúvavcov uplatňujú a či vôbec v mechanizme ich pôsobenia v organizme je rozdiel medzi prežúvavcom a mono-gastrickými zvieratmi.

Naše pokusy mali úzko vyhranený cieľ, zistiť inhibičný vplyv Co a Cu na ureázu a cez produkciu NH_3 usudzovať o zmenách proteosyntézy v bachore. Nesledovali sme celkový vplyv na využitie dusíka prostredníctvom N-bilancie, čo by na základe vlastných pokusov dalo možnosť konkrétnejšie usudzovať o iných mechanizmoch vplyvu uvedených mikroelementov na využitie N a rast zvierat.

Najpravdepodobnejšie vplyv kobaltu sa uplatňuje hlavne následkom zvýšenej syntézy vitamínu B_{12} . Za účasti kobalamínov dochádza k lepšiemu využitiu rastlinných bielkovín v organizme zvierat.

Význam kobaltu nemožno však redukovať na úlohy kobalamínov. Pri väčších dávkach kobaltu dochádza k hyperglykémii. Významná je úloha kobaltu v metabolických procesoch, ako aktivátora a inhibítora enzymatických reakcií. Inhibuje enzýmy, ktorých aktivita je podmienená voľnými — SH radikálmi v molekule —

Obr. 1 AKTIVITA BACHOROVEJ UREÁZY/Vmg VZNIKNUTEHO NH_3 /100ml 7,2% MOČOVINY V POROVNANÍ S HODNOTAMI PŘED KRMENÍM A APLIKÁCIU CoCl_2 A CuSO_4 .



1. Aktivita bachorovej ureázy (v mg vzniknutého NH_3 /100 ml 7,2% močoviny v porovnaní s hodnotami pred kŕmením a aplikáciou CoCl_2 a CuSO_4)

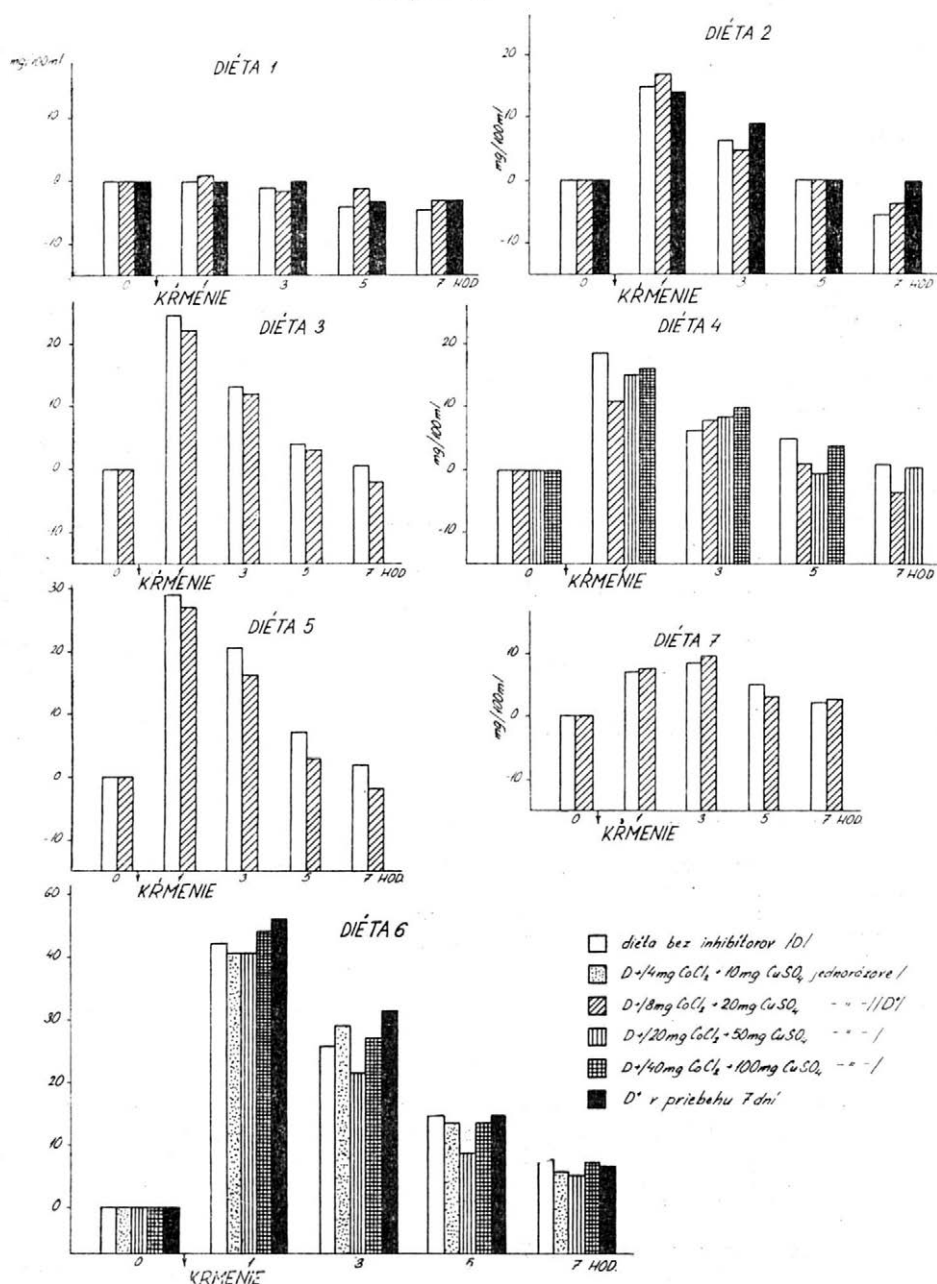
sukcinoxydázou a cholínoxydázou. Znižuje tiež aktivitu fermentov nezávislú od voľnej — SH skupiny — cytochrómydázou a katalázy.

Kobalt je aktivátorom niektorých hydrolytických enzýmov. Aktivuje glycyglycindipeptidázou i peptidázou glycy — D — alanínu, je však inhibítorom peptidázy a glycy — L — alanínu. Kobalt je silným aktivátorom arginázy, črevnej a kostnej fosfatázy. Inaktivuje ureázu a inhibuje účinok pepsínu.

Meď má u zvierat špecifickú úlohu v metabolizme železa. Pri nedostatku medi sa v živočíšnom organizme železo resorbuje a ukladá sa v pečeni, jeho vstavanie do molekuly hemoglobínu je však inhibované. Pri nedostatku medi vzniká anémia, dochádza k spomaleniu rastu, depigmentácii srsti a vlny atď.

Ako vidno, účinok Co a Cu je na organizmus mnohostranný a ovplyvňuje podstatne látkový metabolizmus u zvierat. Zdá sa, že hlavnú úlohu v pôsobení

Obr. 2 HODNOTY NH_3 V BACHOROVEJ TEKUTINE PRI RÔZNYCH DIÉTACH S PRIDANÍM CuSO_4 A CoCl_2



2. Hodnoty NH_3 v bachorovej tekutine pri rôznych diétach s pridaním CuSO_4 a CoCl_2

Co hrá syntéza vitamínu B_{12} a jeho vplyv na využitie bielkoviny i keď nie je možné nepočítať aj s ostatnými mechanizmami jeho vplyvu na organizmus. Inhibičný účinok na ureázu nemá, ako vyplýva z našich pokusov, pri použitých diétach a pri danom obsahu Co a Cu v použitých krmivách vplyv na metabo-

lizmus NH_3 v bachore a jeho efektívnejšie využitie. Bude treba hľadať účinnejších inhibítorov, ktoré pri podstatnejšom znížení aktivity ureáz dokážu časovo ovplyvniť proces ureolýzy a zabrániť tak stratám NH_3 , ku ktorým pri jeho prudkom výstupe dochádza.

ZÁVER

1. Bol provedený pokus inhibície bachorových ureáz pomocou CoCl_2 a CuSO_4 pri diétach s prídavkom močoviny.

2. Po aplikovaní inhibítorov sa zistil mierny pokles aktivity ureáz, no hladina amoniaku v bachore ostala nezmenená.

3. Aktivita bachorových ureáz nebola závislá od množstva močoviny v diétach.

4. CoCl_2 a CuSO_4 nemá pri použitých diétach a danom obsahu Co a Cu v použitých krmivách vplyv na metabolizmus NH_3 v bachore a jeho efektívnejšie využitie.

Došlo dňa 14. 6. 1966

Literatúra

1. BABIN J. A., GAVRILOVA P. N., SIDOROV P. I., LEV A. E. = „Tr. Saratovsk. Zoovet. inst.“, 1964, 12 : 128. — 2. BANADUR KRISHNA. = Prov. Nat. Acad. Sci. India, 1962, 12, 4 : 376. — 3. BAZANOVA N. N., PROKUDIN A. V. = „Izd. AN Kaz. SSR Ses. biol.“, 1964, 4 : 68. — 4. BOĎA K. (1965). Niektoré problémy dusíkového metabolizmu u prežúvavcov. (Význam a osud amoniaku v ich organizme) Doktorská práca. — 5. GLUŠKOVÁ N. A. = „Kormlenie i vyraščivanie molodnjaka s-ch. ž.-ch.“, 1964, 5 : 257. — 6. KOMARCEVA E. F. = „Mikroelementy v s-ch. i med. Kiev Gosfelchozizdat USSR“, 1963, 559-561. — 7. STRAUB F. B. Biochemie, 1962, Nakl. ČSAV Praha. — 8. VELIKÝ I. = „Mikroelementy v teorii a praxi.“ 1964, SVPL, Bratislava. — 9. VSJAKICH N. I., MODJANOV A. V. Dokl. ANSSSR, 1953, 5 : 38.

Ингибирование рубцовой уреазы и ее влияние на утилизацию NH_3

1. Был проведен опыт с ингибированием рубцовых уреаз при помощи CoCl_2 и CuSO_4 при диетах с добавлением мочевины.

2. После применения ингибиторов произошло небольшое понижение активности уреаз, однако уровень аммиака в рубце остается неизменным.

3. Активность рубцовых уреаз не зависит от количества мочевины в диете.

4. CoCl_2 и CuSO_4 при примененных диетах и данном содержании Co и Cu в кормах не оказывают влияния на метаболизм NH_3 в рубце и его более эффективное использование.

Inhibition of the Rumen-Urease, and its Influence of the NH_3 Utilization

1. An attempt at the rumen-ureases inhibition was carried out with the help of CoCl_2 and CuSO_4 when feeding the diets with addition of urea.

2. A mild decrease of the activity of ureases was found after the application of inhibitors; the level of ammonia in the rumen, however, remained unchanged.

3. The activity of the rumen-ureases was not dependent on the quantity of urea in the diets.

4. With the diets used and with the given Co and Cu content in the used fodder, CoCl_2 and CuSO_4 have no influence on the NH_3 metabolism in the rumen neither on its more effective utilization.

Adresa autorov:

Prof. MVDr. Koloman Boďa, DrSc., VŠP, veter. fakulta, Košice, Komenského 71
MVDr. Jozef Váradý, Ústav exper. biológie SAV, Košice

LITERÁRNÍ PŘEHLED

■ Dezinfekční účinek roztoků kyselých solí monochlorjodu na různé mikroorganismy studovali tito pracovníci: Bošjan (1961), Jegorov (1961), Nuždin (cit. Bošjan 1961), Rjabova, Ustěnko, Archipov a Tržececkaja (cit. Bošjan 1963), Genov a Cankova (1963) zjišťovali účinek proti sporám antraku. Vrančan (cit. Bošjan 1963), Genov a Cankova (1963) zjišťovali účinek proti *E. coli* a salmonelám. Krasnoščekov (cit. Bošjan 1963) zjišťoval účinek na původce červenyk vepřů a Žarov (cit. Bošjan 1963) zjišťoval účinek proti původcům pastere-lózy na vajíčkách. Jegorov (1961) zjišťoval účinek na *Brucella abortus bang*, Genov a Cankova (1963) zjišťovali účinek na *Brucella suis*. Zakom-yrdin (1960) zjistil při práci s *E. coli*, že ačkoliv 50% chlorid jedný ve formě aerosolu v množství 5–10 ml na 1 m³ působil silné snížení počtu mikrobů, nezajistil spolehlivou dezinfekci dřevěných desek infikovaných *E. coli* bez znečistění chlévskou mrvou i desek znečistěných chlévskou mrvou. Doba expozice byla 3 hodiny.

Účinek proti plísním: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* a *Cladosporum* v chladír-nách zjišťovala Rjabova (cit. Bošjan 1961). Proti trichofyciím zjišťoval účinek Noskov (cit. Bošjan 1961). Pro léčbu trichofycií skotu použili úspěšně tento pre-parát Safarov K. M., Mamedov, Safarov Ju. B., Džumanjan a Isla-mov (cit. Bošjan 1961) a u koní pak Levin a Laskov (cit. Bošjan 1961).

Bubnov (cit. Bošjan 1963) zjišťoval účinek proti vajíčkům škrkavek prasat a paraskaridií koní. Larvy strongylů byly ničeny 1% roztokem.

Poljakov (1964) doporučuje při listerióze dezinfikovat 5% roztokem chloridu jedného při teplotě roztoku 16–20°C a při 1hodinové expozici. Při sněti šelestivé doporučuje dezinfikovat 10% roztokem při 3hodinové expozici (dvakrát provedený postřík s intervalem 20 minut). Při antraku doporučuje 10% roztok s 3hodinovou expozicí (postřík provedený dvakrát). Při paratyfu doporučuje 3% roztok 70–80°C při expozici 1 hodiny (1 postřík). Při července vepřů doporučuje 5% roztok a 3hodi-novou expozici. Postřík provádět jednou.

Pokud se týče mykobakterií zachytili jsme tyto údaje v literatuře: Zakom-yrdin (cit. Bošjan 1963) zjišťoval účinek proti *Mycobacterium avium*. Bošjan (1963) uvedl, že kultura *Mycobacterium avium* na deskách byla zničena po postříku 5% roztokem za 3 hodiny. Množství dezinfekčního roztoku se rovnalo 0,5 lt/m². Genov a Cankova (1963) zjišťovali účinek na *Bact. pseudotuberculosis rodentium* a *My-cobacterium avium*. Spolehlivá dezinfekce mykobakterií na dřevěných a cihlových nosičích v horizontální i vertikální poloze nastala po třikrát provedeném postříku 10% roztokem s 30minutovými přestávkami, tj. s celkovou dobou expozice 90 minut.

Poljakov (1964, 1965) doporučuje při tuberkulóze ptáků dezinfikovat 100% 20° C teplým roztokem, který se jednorázově nechá působit 3 hodiny.

V naší práci jsme si vytkli za úkol přezkoušet dezinfekční účinek přípravku na stájové omítce a v prostředí kravských výkalů.

MATERIÁL A METODY

Při přípravě koncentrátů jsme postupovali podle návodu Bošjana (1963) takto: Rozpustili jsme 5 g kyselého jodičnanu draselného a 5,5 g jodidu draselného v 437,5 ml 37 % kyseliny solné. Rozpuštění jsme usnadňovali mírným třepáním. Po rozpuštění jsme upravili objem destilovanou vodou na 500 ml. Z takto připravených koncentrátů (připravili jsme si celkem 3 koncentráty stejného složení) jsme si v den pokusu ředili pracovní roztoky. Při testování metodou suspenzní jsme ředili koncentráty sterilní destilovanou vodou, při metodě postřiků jsme k ředění používali nesterilní vodovodní vodu, abychom se více přiblížili terénním podmínkám. Látka byla testována od 3 dnů do 5 měsíců ode dne přípravy koncentrátů. Připravený koncentrát označujeme jako 100 % a za tohoto předpokladu se označují pracovní ředění a koncentrace.

Připravený koncentrát je tekutina hnědočervené barvy, ostrého zápachu po jodu a chlóru. Ve vodě se rozpouští v libovolných poměrech. Poněvadž působí korozivně na kovové předměty, má se uchovávat ve skleněných uzavřených nádobách. V nádobách z pozinkovaného železa a hliníku se přípravek rozkládá. Nádoba pro přípravu pracovních roztoků může být skleněná, smaltovaná, dřevěná nebo z jiných materiálů, které se nemohou oxidovat.

Dezinfekční účinnost jsme sledovali 2 metodami: metodou suspenzní a metodou postřiku infikovaných ploch. Metodu suspenzní v prostředí kravských *faeces* jsme popsali v předchozí práci (Bartoš 1965). Metodiku postřiku infikovaných ploch stájové omítky jsme uvedli v předchozí publikaci (Bartoš, Lebduška 1966).

VÝSLEDKY

V suspenzní metodě za přítomnosti kravských výkalů působil 5% roztok baktericidně za 30 i za 60 minut ve 100 % testů, jak uvádí tabulka I. Celkem bylo provedeno 33 testů při použití každé expozice a celkem 198 kultivací na Petragraniovi a Šulových půdách. Též 10% roztok působil baktericidně za 30 i za 60 minut ve 100 % testů. V orientačních pokusech s 10% koncentrací byly provedeny pouze 2 testy při použití každé expozice, tj. celkem 12 kultivací na půdy. Všechny pozitivní kontroly vykazaly pozitivní růst na všech půdách.

V další části práce jsme zjišťovali dezinfekční účinek na stájové omítce. Výsledky udává tabulka II. Při postřiku 10% roztokem jsme aplikovali roztok na omítku v množství 1 l/m² pomocí rozprašovače vysavače Standard. Byly provedeny 3 pokusy a celkem 2 testy při každé zkoušené expozici. Při 1hodinové expozici došlo k růstu mykobakterií na 3 půdách ze 46. Na 2 Šulových půdách se vyskytly kontaminace mikrobiální. Při 3hodinové expozici byly mykobakterie zničeny ve 100 % testů. Z 24 seškrabů nedošlo k růstu mykobakterií na žádné ze 45 kultivačních půd. Na 3 Šulových půdách se vyskytly kontaminace. Po 24hodinové expozici byly mykobakterie zničeny též ve 100 % testů. Z 24 seškrabů nedošlo k růstu mykobakterií na žádné ze 46 kultivačních půd. Na 2 Šulových půdách se vyskytly mikrobiální kontaminace.

Všechny seškraby infikovaných ploch omítek, provedené před postřikem byly pozitivní a též kontrolní plochy, postřikované nesterilní vodovodní vodou ve stej-

I.

Koncentrát: Jodičnan draselný kyselý 5,0 g, jodid draselný 5,5 g, kyselina solná 37% 437,5 ml, destilovaná voda ad 500,0 ml

Metoda suspensní, prostředí kravských faeces																																			
Koncen- trace	Expozice	Půdy	Počet testů																																
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
5%	30'	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Š	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		Š	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	60'	P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		Š	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		Š	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10%	30'	P	—	—																															
		Š	—	—																															
		Š	—	—																															
	60'	P	—	—																															
		Š	—	—																															
		Š	—	—																															

Vysvětlivky: Každý test má 3 výsledky: 1 na Petraganiho půdě a 2 na Šulových půdách. P = Petraganiho půda, Š = Šulova půda.

II.

Koncentrát: Jodičnan draselný kyselý 5,0 g, jodid draselný 5,5 g, kyselina solná 37 % 437,5 ml, destilovaná voda ad 500,0 ml

Postřik stájové omítky 10% roztokem; 1 l/m ² — metoda seškrabů																									
Počet pokusů		1								2								3							
Počet testů		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Před	P Š	+		+		+		+		+		+		+		+		+		+		+		+	
1 hodina	P Š	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	K	K	-	-	-	-
3 hodiny	P Š	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	K	K	-
24 hodiny	P Š	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	K	-	-	-	-	K	-	-
Kontrola		Postřik stájové omítky vodovodní vodou; 1 l/m ² — metoda seškrabů																							
Před	P Š	+								+								+							
1 hodina	P Š	+								+								+							
3 hodiny	P Š	+								+								+							
24 hodiny	P Š	+								+								+							

Vysvětlivky: Počet testů představuje počet seškrabů, P = Petraganiho půda, Š = Šulova půda
 + = růst *M. phlei* povrchovou blankou, S = růst *M. phlei* hloubkový, K = kontaminace mikrobiální, P = kontaminace plísň

III. Kontrolní postřik koncentrátem bez jodičnanu a jodidu draselného.
Složení: kyselina solná 37% 437,5 ml, destilovaná voda ad 500,0 ml

		Postřik stájové omítky 10% roztokem; 1 t/m ² — metoda seškrabů							
Počet pokusů		1							
Počet testů		1	2	3	4	5	6	7	8
Před	P Š	+				+			
		K				+			
1 hodina	P Š	+	+	+	+	+	+	+	+
		S	S	+	+	S	S	+	+
3 hodiny	P Š	+	+	+	+	+	+	+	+
		S	S	S	+	+	+	S	+
24 hodiny	P Š	K	+	+	+	+	+	+	+
		S	S	S	S	S	+	S	S

ném množství jako u pokusných ploch, byly pozitivní ve všech expozičních dobách, tj. za 1, 3 a 24 hodiny po postřiku.

Tabulka III uvádí výsledky kontrolního postřiku roztokem, který obsahoval stejnou koncentraci kyseliny solné, avšak neobsahoval ani kyselý jodičnan draselný ani jodid draselný. Z tabulky je patrné, že po postřiku samotným rozpouštědlem byly izolovány mykobakterie ve všech seškrabech odebíraných ze stěny za 1, 3 a 24 hodin po postřiku. To znamená, že samotná kyselina solná neměla vliv na mykobakterie a též nedocházelo k smývání, případně vyplavování mikrobů z omítky.

Shrneme-li výsledky pokusů na stájové omítce, vidíme, že 10% roztok působil baktericidně za 1 hodinu v 93,48 % a při 3- a 24hodinové expozici ve 100 % kultivací.

DISKUSE

Poněvadž jsme nenašli v literatuře údaje o dezinfekčním účinku testovaného přípravku na mykobakterie na stájové omítce, nemůžeme porovnávat přímo naše výsledky s jinými pracemi. Naše výsledky ukázaly, že 10% roztok působí dezinfekčně na starší stájové omítce bez volného vápna za 3 hodiny při spotřebě 1 l/m². Z hlediska cenového by mohl být přípravek použitelný i pro dezinfekci ustajovacích prostor. 1 l koncentrátu stojí přibližně podle maloobchodních cen 7,40 Kčs. 1 l účinné koncentrace (10% roztoku) stojí 0,74 Kčs a tudíž 1000 l 10% roztoku stojí 740,— Kčs.

Nevýhoda přípravku spočívá v tom, že koncentráty se mohou připravovat pouze v čistých skleněných nádobách. Též dezinfekční přístroje musí být úplně čisté, před dezinfekcí se musí promýt horkým mýdlovým roztokem a jednou až dvakrát propláchnout 0,5% roztokem přípravku. Nečistota a rez v dezinfekčních aparátech může částečně nebo úplně rozložit přípravek (Poljakov 1964).

V dalších pokusech bude třeba přezkoušet ještě dezinfekční účinek na *Mycobacterium bovis*, neboť v dostupné literatuře jsme nenašli práce, které by pojed-

návaly o účinku na *Mycobacterium bovis*. Dále by bylo zajímavé sledovat účinnost na betonu, dále na omítkách různého složení, především s různým obsahem volného vápna, neboť na čerstvé omítce by mohl být účinek případně slabší než na omítce starší pro větší reakci omítky s roztokem a tím by též mohlo docházet k určité neutralizaci roztoku.

Z A V Ě R

V práci byla zjišťována dezinfekční účinnost na *Mycobacterium phlei* koncentráty tohoto složení: kyselý jodičnan draselný 5,0 g, jodid draselný 5,5 g, kyselina solná 37 % 437,5 ml, destilovaná voda ad 500 ml. Při testování suspenzní metodou v prostředí kravských faeces působil 5 % roztok za 30 a 60 minut baktericidně ve 100 % testů.

Při postřiku stájové omítky 10 % roztokem v množství 1 l/m² byly mykobakterie zničeny za 3 hodiny po postřiku ve 100 % testů.

V práci se diskutují možnosti praktického využití přípravku.

Došlo dne 21. 2. 1966

L i t e r a t u r a

1. BARTOŠ J.: Dezinfekční účinnost kyseliny peroctové na *Mycobacterium phlei* = „Veterinární medicína“, 10, 1965, č. 1, s. 21-36. — 2. BARTOŠ J., LEBDUŠKA J.: Dezinfekční účinnost kyseliny peroctové na stájové omítce a betonu při použití metody seškrabů na *Mycobacterium phlei* = „Veterinární medicína“, 11, 1966, č. 10, 635-643. — 3. BOŠJAN G. M.: Odnokloristyj jod-novoje dezinficirujuščee sredstvo = „Problemy veterinarnoj sanitarii“ Trudy VNIIVS, Moskva, 19, 1961, s. 39-44. — 4. BOŠJAN G. M.: Dezinfekcionnyje svojstva soljanokislych rastvorov odnokloristogo joda = „Veterinarija“, 40, 1963, č. 7, s. 63-65. — 5. GENOV I., CANKOVA K.: Proučvane na aktivnosta na ednoklorinija jod kato dezinfekcionno sredstvo = „Veterinarna sbirka“, 60, 1963, č. 12, s. 6-8. — 6. JEGOROV I. A.: Baktericidnyje i sporicidnyje svojstva rastvorov odnokloristogo joda (preparat No 74 VNIIVS) = „Problemy veterinarnoj sanitarii“, Trudy VNIIVS, Moskva, 19, 1961, s. 97-102. — 7. POLJAKOV A. A.: Veterinarnaja dezinfekcija, Moskva 1964. — 8. POLJAKOV A. A.: Veterinární opatření v boji s tuberkulózou = „Veterinářství“, 15, 1965, č. 5, s. 208-212. — 9. ZAKOMYRDIN A. A.: Baktericidnost aeroxolej někotorych dezinficirujuščich sredstv, primenajemych v rastvorach = „Trudy VNIIVS“, 16, 1960, s. 73-79.

Дезинфицирующее действие концентрата, содержащего кислый йодноватокислый калий и соляную кислоту, на *Mycobacterium phlei*

В работе определялось дезинфицирующее действие на *Mycobacterium phlei* концентрата следующего состава: кислый йодноватокислый калий 5,0 г, йодистый калий 5,5 г, соляная кислота 37 % 437,5 мл, дистиллированная вода 500 мл. При тестировании методом суспензии в среде коровьих испражнений бактерицидно действовал 5%-ный раствор в течение 30 и 60 минут в 100 % тестов.

При опрыскивании штукатурки животноводческих помещений 10% раствором в количестве 1 л/м² микобактерии были уничтожены в течение 3 часов после опрыскивания в 100 % тестов.

В работе обсуждаются возможности практического использования препарата.

The Disinfectant Effectiveness of a Concentrate Containing Potassium Hydrogen Iodide, Potassium Iodide, and Hydrochloric Acid on *Mycobacterium phlei*

In this work the authors determined the disinfectant effectiveness on *Mycobacterium phlei* of a concentrate of the following composition: potassium hydrogen iodide 5.0 g, potassium iodide 5.5 g, hydrochloric acid 37 per cent 437.5 ml, and distill-

ed water ad 500 ml. In the testing by means of the suspension method in the environment of cow faeces a 5% solution had a bactericidal effect in 100 per cent of the tests in 30 and 60 minutes.

In the case of a spraying of the cow-house plaster with a 10 per cent solution in a quantity of 1 litre per 1 sq. m. the mycobacteria were killed in 3 hours after the spraying in 100 per cent of the tests.

The paper contains a discussion on the possibility of a practical application of the preparation.

Desinfektionswirksamkeit des Hydrogenjodat, Kaliumjodid und Salzsäure enthaltenen Konzentrats auf das Mycobacterium phlei

In der Arbeit wurde die Desinfektionswirksamkeit auf das Mycobakterium phlei von einem Konzentrat dieser Zusammensetzung festgestellt: Hydrogenjodat 5,0 g, Kaliumjodid 5,5 g, Salzsäure 34% 437,5 ml, destilliertes Wasser ad 500 ml.

Bei der Testierung mittels der Suspensionsmethode in der Umwelt des Kühen-Faeces wirkte die 5%ige Lösung in 30 und 60 Minuten bakterizidisch in 100% Testen.

Bei der Stallverputz-Bespritzung mit einer 10% Lösung in der Menge von 1 l/m² wurden die Mycobacterien in 3 Stunden nach der Bespritzung in 100% Testen vernichtet.

In der Arbeit wurde über die Möglichkeiten der praktischen Ausnützung von diesen Lösungen diskutiert.

Adresa autorů:

MVDr. Jaroslav Bartoš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Lebeda, DrSc.,
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno-Medlánky

Důležitým předpokladem rozvoje zemědělské výroby je cílevědomě organizovaná a soustavná činnost zemědělského výzkumu a zavádění získaných poznatků do praxe. O stavu zemědělského výzkumu informuje Ústav vědeckotechnických informací MZLH každoročně vydávanou publikaci

PŘEHLED VÝSLEDKŮ VĚDECKOVÝZKUMNÝCH ÚKOLŮ

kteřá obsahuje anotované záznamy z výzkumných, kandidátských, disertačních a habilitačních prací, řešených ve výzkumných ústavech zemědělských, na vysokých školách a ve výzkumných ústavech ČSAV a SAV z oborů

ekonomika
mechanizace
půdoznalství
meliorace
rostlinná výroba
živočišná výroba
veterinářství

Dosud vyšlo: čtyřdílná publikace za léta 1956–1963, zahrnující na 1132 stránkách 1100 záznamů, přehled za rok 1964 (342 stran), přehled za rok 1965 (328 stran). V prvním čtvrtletí příštího roku vyjde soubor výzkumných prací za rok 1966.

Přehled přispívá k snažší a rychlejší orientaci v řešených výzkumných úkolech a zároveň ukazuje, které problémy jsou stále aktuální a zda byly v zemědělském provozu dostatečně realizovány.

Cena samostatné publikace je 20,— Kčs, cena čtyřdílného souboru (v omezeném množství) je 50,— Kčs.

Objednávky zasílejte na adresu:

Ústav vědeckotechnických informací MZLH
Praha 2, Slezská 7

■ Účinnosť živých vakcín z atenuovaných bakteriálnych kmeňov je závislá na počte rozmnoženia schopných zárodkov s neporušenou antigenicitou v aplikovanej dávke (Ivanov a Dacevič 1962, Žák 1965). Počet živých baktérií však vo vakcínach, skladovaných v tekutom stave, relatívne rýchlo klesá. Z toho vyplývajúce časové obmedzenie použiteľnosti je závažným nedostatkom väčšiny tekutých živých vakcín, pocíťovaným ako pri výrobe, tak aj pri ich použití v teréne.

Exspiračná doba tekutejlivej červienkovej vakcíny (ŽČV), vyrábanej Biovetou n. p. v Nitre z kmeňa WR 2 (Žuffa a spol. 1960), obnáša 4–6 týždňov (Žák 1962). Predĺženie použiteľnosti ŽČV pomocou lyofilizácie je preto nezbytným predpokladom nielen pre zaistenie plynulého zásobovania terénu, ale aj pre ďalšie rozšírenie jej užívania k imunoprofylaxii červienky ošípaných.

LITERÁRNY PREHLAD

Technika lyofilizácie baktérií sa od doby prvých úspešných pokusov Hammera (1911) natolko zdokonalila, že sa stala všeobecne prijatou metódou konzervovania životnosti a vlastností mikroorganizmov (Harris 1954). Výsledky početných autorov potvrdzujú, že v zásade je možné lyofilizáciou konzervovať ktorékoľvek mikroorganizmy; pre dosiahnutie optimálneho uchovania ich vlastností je však potrebné modifikovať technológiu lyofilizácie viac menej pre každý druh mikróbov individuálne. Týka sa to najmä protekčného média; dosiaľ niet jednotného názoru pokiaľ ide o jeho optimálne zloženie pre ten ktorý mikroorganizmus. Na príklad van Scheer (1956) a van Drimmelen (1958) dosiahli pri lyofilizácii brucel najlepšie výsledky s použitím protekčného média obsahujúceho kyselinu askorbovú a thioureu (bez glukózy), Heckly a spol. (1960) preferujú polysaccharidy — glukózu, laktózu, saccharózu a Šourek (1961) doporučuje delipidované mlieko a zmes laktózy so sérom.

K lyofilizácii atenuovaných červienkových vakcín sa v širšom merítku prišlo relatívne neskoro. Möhlmann a spol. (1963) pri predložení výsledkov očkovania vakcínou „Dessau“ uvádzajú, že v čase zverejnenia ich práce sa lyofilizované červienkové vakcíny používali iba v USA (vakcína EVA, Gray a Norden 1955), v Kanade (kmeň C 1, Lawson a spol. 1958) a Holandsku (Staubov kmeň, Bosgra a spol. 1960). Od r. 1963 sa počet červienkových vakcín dodávaných na trh v lyofilizovanom stave síce zvýšil (napr.

nemecká a rumunská vakcína, americká z kmeňa 31 — Ose a spol. 1963), ale podrobnejšie údaje o vplyve jednotlivých fáz lyofilizačného procesu a najmä protekčného média na vlastnosti a prežívanie červienkových baktérií, dosiaľ publikované neboli. Pokiaľ je nám známe, vo väčšine citovaných vakcín tvorí základ lyofilného média normálne konské sérum, ako tomu bolo už pri lyofilizácii virulentných kultúr pre simultánne očkovanie (Zipplies a Jendrusch 1958).

V práci, o výsledkoch ktorej referujeme, zamerali sme sa na štúdium vplyvu viacerých faktoroch na vlastnosti a prežívanie červienkových zárodkov kmeňa WR 2 v priebehu lyofilizácie a počas dlhodobého skladovania za rozličných podmienok, so zvláštnym zameraním na protekčné médiá proteinovej povahy.

MATERIÁL A METÓDY

Kultúra a jej spravovanie: Kmeň WR 2 *Erysipelothrix insidiosa* pestovaný submerznym spôsobom v médiu obsahujúcom 2 % sušeného enzymatického hydrolyzátu kazeínu (VÚFB Praha), 20 % dialyzátu kvasníc, 10 % peptický tráveného konského séra, 0,2 % glukózy a fosfáty. Behom kultivácie sa pH udržiavalo na hodnote 7,8.

Po ukončení kultivácie sa kultúra zmiešala s príslušným protekčným médiom, rozplnila do ampuliek po 2,5 ml resp. do penicilinových fľaštičiek opatrených gumovou zátkou po 4 ml a zmrazila. Časový interval medzi ukončením kultivačného procesu a zmrazením nepresiahol 2 hodiny a medzi zmrazením a začiatkom sušenia 3 hodiny.

Protekčné médiá: 1) Normálne bravčové sérum, inaktivované 2 hodiny pri 60° C, dvakrát filtrované cez EK vrstvy, lyofilizované v NTS fľašiach po 100 ml. 2) a 3) Rovnako spracované normálne sérum hovädzie a konské, inaktivované 2 hodiny pri 56° C. 4) Hovädzi gamaglobulín — komerčný preparát Biovety n. p. v Nitre v lyofilizovanom stave. 5) Dialyzované delipidované mlieko: odstredením odtučnené mlieko, dialyzované 8–10 hodín proti tečúcej dekarbonizovanej vode, dvakrát seitzované cez EK vrstvy a lyofilizované po 100 ml.

Tieto proteinové médiá boli vybraté na základe výsledkov pokusov, v ktorých sa hodnotil vplyv rozličných médií na prežitie zárodkov behom lyofilizácie a vzhľad lyofilizátu.

Lyofilizačná aparatura: Výrobok vývojových dielní Biovety n. p. v Nitre a Chirany n. p. Piešťany. Základný popis: zvislá válcová sušiacia komora, oddelený kondenzátor s teplotou –55° C, dvojstupňová rotačná olejová výveva o výkone 7 m³/hod. Kapacita: 340 ampúl s 2,5–3 ml materiálu. Zmrazovanie: v tekutom médiu alebo bez média s odvodom tepla cez ploché dno ampúl, pri –50° C. Teplota primárneho sušenia okolo –25° C, konečná dosušovacia teplota okolo +25° C. Finálne vákuum najmenej 5 × 10⁻² torr. Celý lyofilizačný proces trval 24 hodín.

Ampule sa zatavili na špeciálnych hrebeňoch po dosiahnutí vákua cca 1 × 10⁻¹ torr. Zbytková vlhkosť v lyofilizáte, stanovená gravimetricky, obnášala cca 1 %.

Rehydráčny roztok: 30 % kazeínhydrolyzátového média v pufovanom fyziologickom roztoku NaCl.

Pri stanovení počtu živých zárodkov v 1 ml lyofilizátu a vyvolávajúcej infekcii myši očkovaných lyofilizovanými vakcínami sa použil postup uvedený

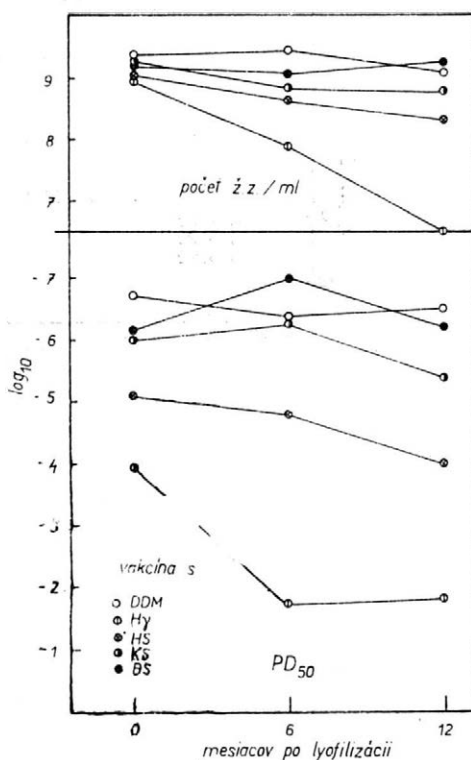
v predchádzajúcej práci (Žák 1966). Protekčná dávka 50 (PD₅₀) sa vypočítala metódou Reeda a Muencha (1938) podľa počtu myší, ktoré prežili vyvolávajúcu infekciu.

VÝSLEDKY

Vplyv protekčného média na prežívanie a imunogenitu lyofilizovaných zárodkov: Použilo sa 5 rôznych vakcín pripravených lyofilizáciou rovnakej východiskovej kultúry po pridání nasledovných protekčných médií v množstve: 5,5 váhových %, lyofilizované sterilné inaktivované sérum bravčové (BS), hovädzie alebo konské; 4 váh. %, lyofilizovaný hovädzí gamaglobulín; 3 váh. %, dialyzované delipidované mlieko (DDM). Vakcíny sa skladovali pri +4 °C a počet ž. z. a imunogenita sa stanovovali ihneď a za 6 a 12 mesiacov po lyofilizácii. Výsledky sú uvedené v gr. 1. Ani po 12 mesačnom skladovaní nedošlo k významnému poklesu počtu ž. z. vo vakcínach obsahujúcich ako protekčné médium BS a DDM. Vo vakcínach s konským a hovädzím sérom sa zaznamenal iba mierny pokles počtu ž. z. cca o 0,5 logaritmické jednotky, avšak k výraznému zníženiu počtu zárodkov došlo vo vakcíne s hovädzím gamaglobulínom.

Imunogenita vakcín bola rozdielna už vo východiskových vzorkoch. Signifikante slabšiu imunogénnu hodnotu vykazovali vakcíny obsahujúce hovädzie sérum a najmä gamaglobulín. Úmerne s poklesom počtu ž. z. zaznamenaným v priebehu skladovania pri tej ktorej vakcíne sa znižovalo aj jej PD₅₀. Ku kvalitatívnym zmenám baktérií, ktoré by mali za následok klesanie ich imunogenity, však u žiadnej z vakcín nedošlo. Počet ž. z. potrebný na vyvolanie imunity u 50 % očkovaných myší bol u čerstvej aj u 12 mesiacov skladovanej vakcíny približne rovnaký.

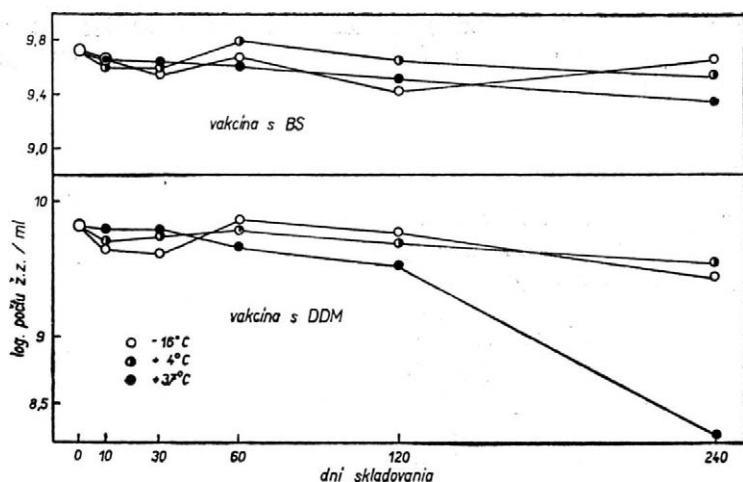
Vplyv protekčného média na prežívanie zárodkov vo vakcíne dlhodobé skladovanej za rôznych teplôt: Ako protekčné médiá sa použili BS a DDM, s ktorými sa v prvom pokuse, pri ich koncentrácii 5,5 resp. 3 váh. %, dosiahli najpriaznivejšie výsledky. Pomocou každej z nich sa pripravili po tri lyofilizované vakcíny, ktorých vzorky sa skladovali pri teplotách -16 °C, +4 °C a +37 °C; počet ž. z. sa zisťoval v pra-



Gr. 1. Prežívanie a imunogenita zárodkov vo vakcínach lyofilizovaných s rôznymi protekčnými médiami.

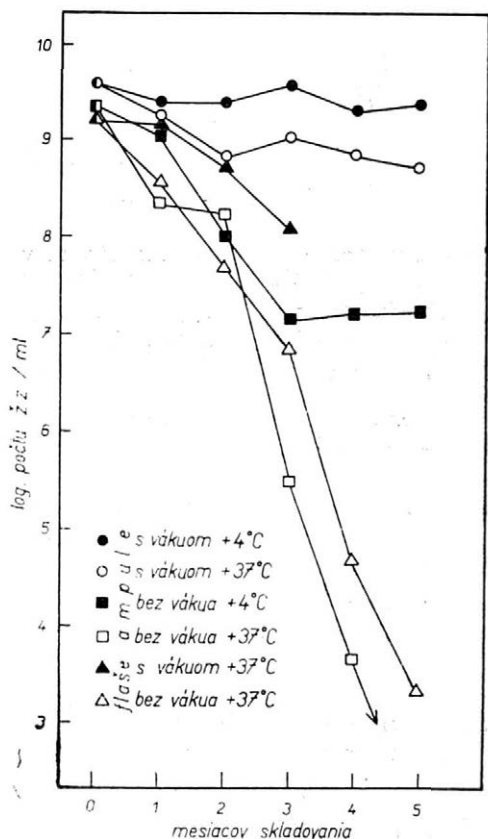
DDM — delipidované dialyzované mlieko; Hy — hovädzí gamaglobulín; HS — hovädzie sérum; KS — konské sérum; BS — bravčové sérum.

Pozn.: Rovnaké označenie médií sa použilo aj v gr. 2.



Gr. 2. Prežívanie zárodokov v lyofilizovaných vakcínach skladovaných za rôznych teplôt.

videlných časových intervaloch po dobu 240 dní. Primery zistených hodnôt sú na gr. 2. Zatiaľ čo vo vakcíne obsahujúcej BS nepresahoval pokles počtu ž. z. 50 % ani po 240dennom skladovaní pri 37°C, vo vakcíne s DDM obnášal za rovnaký čas cca 1,4 log. jednotky. Skladovanie pri +4°C a -16°C neovplyvnilo výraznejšie počty ž. z. v žiadnej zo sledovaných vakcín.

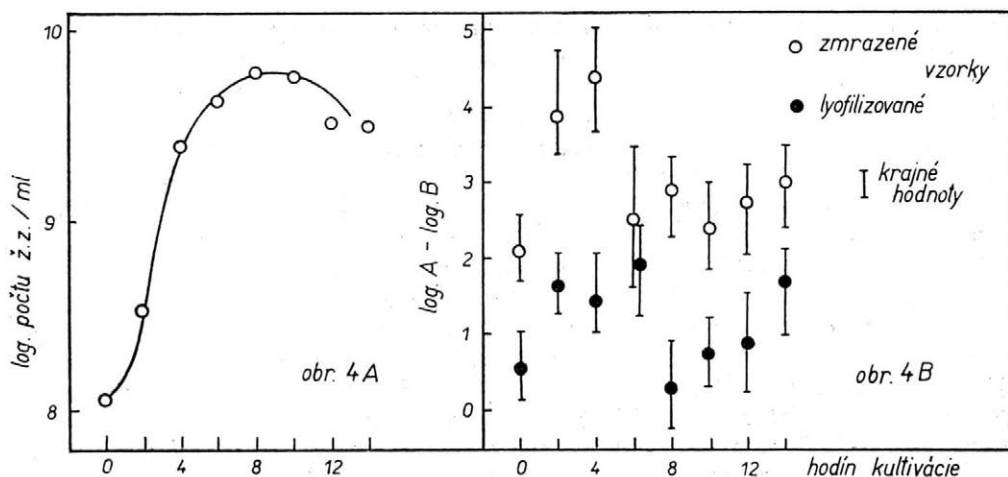


Vplyv vákua a druhu uzavretia skla na prežívanie zárodokov: Vakcína sa lyofilizovala s BS jednak v ampuliach, jednak v penicilínových fľaštičkách opatrených gumovou zátkou. Časť vzorkov bola uzavretá pod vákuom, časť bez vákuu. Ampule sa skladovali pri teplote +4°C a 37°C, penicilinky iba pri +37°C. Jednotlivé vzorky sa vyšetrovali na počet ž. z. každý mesiac až do 5. mesiaca po začiatku inkubácie. (Gr. 3.)

V ampuliach s vákuom sa počet ž. z. po dobu pokusu alebo nemenil (pri

Gr. 3. Prežívanie zárodokov vo vakcínach lyofilizovaných a uchovávaných v ampulách alebo penicilínových fľašiach vo vákuu alebo za prítomnosti vzduchu za rôznych teplôt.

Pozn.: Vakcíny pre pokusy zaznačené v gr. 3 a 4 obsahujú ako protekčné médium bravčové sérum.



Gr. 4. Vplyv rastovej fázy kultúry na prežívanie zárodkov v zmrazenom alebo lyofilizovanom stave.

Gr. 4a. Priemerná rastová krivka kultúr použitých pre prípravu vakcín.

Gr. 4b. Rozdiely medzi počtom ž. z. zisteným v pôvodnej kultúre a jej 5 mesačnom skladovaní v zmrazenom resp. lyofilizovanom stave. Log. A: logaritmus počtu ž. z. pôvodnej kultúry v jednotlivých fázach jej rastu. Log. B: logaritmus počtu ž. z. po 5 mesačnom skladovaní.

Pozn.: Zmrazené vzorky boli skladované pri -40°C , lyofilizované pri $+37^{\circ}\text{C}$.

$+4^{\circ}\text{C}$) alebo klesal iba nepatrne (pri $+37^{\circ}\text{C}$). Vo vzorkách bez vákua, skladovaných pri $+37^{\circ}\text{C}$, a to v ampuliach aj penicilínkách, klesal naproti tomu počet ž. z. natoľko, že po 5 mesiacoch bol rozdiel medzi východiskovými a konečnými hodnotami až 6 log. jednotiek. Sledovanie ž. z. vo vakcínach v penicilínkách s vákuom sa ukončilo predčasne, pretože následkom nedostatočnej kvality gumovej zátky kleslo vákuum už po 1 mesiaci na nemerateľnú hodnotu.

Vplyv štádia rastu kultúry na odolnosť zárodkov voči zmrazeniu a lyofilizácii: V priebehu kultivácie sa odoberali vzorky kultúry v 2 hodinových intervaloch až do 14. hodiny množenia, vyšetrili na počet ž. z. a po zmiešaní s 5,5 % BS a rozplnení do ampúl zmrazili pri -40°C . Polovica vzorkov ostala zmrazená, druhá polovica sa zlyofilizovala a uskladnila pri $+37^{\circ}\text{C}$. Vo všetkých vzorkoch sa po 5 mesačnom skladovaní stanovil počet ž. z. Pokus sa za uvedených podmienok opakoval trikrát. V gr. 4a sú vo forme rastovej krivky zaznačené priemerné počty ž. z. v tých štádiách rastu kultúry, z ktorých sa pripravili pokusné vzorky. V gr. 4b sú uvedené rozdiely medzi $\log_{10}$ počtu ž. z. zisteného behom kultivácie a po 5 mesačnom skladovaní, a to priemerný, aj maximálny a minimálny zaznamenaný rozdiel.

V zmrazených vzorkoch, skladovaných pri -40°C , došlo všeobecne k vyšším stratám ž. z. ako vo vzorkoch lyofilizovaných a skladovaných pri $+37^{\circ}\text{C}$. Najmenej odolné voči skladovaniu v zmrazenom stave boli zárodky v kultúre z 2. a 4. hodiny rastu, t. j. v exponenciálnej fáze rastu. V lyofilizátoch sa najvyššie straty zaznamenali vo vzorkoch z 2. — 6. hodiny kultivácie; relatívne najodolnejšie boli zárodky okolo 10. hodiny rastu, t. j. vo fáze stacionárnej a zárodky na samom začiatku kultivácie.

Vplyv morfológie zárodkov na prežívanie a imunogenitu lyofilizátu: Sledovalo sa prežívanie a imunogenita zárod-

kov vo vzorkoch dvoch lyofilizovaných vakcín pripravených z kultúr s prevahou vláknitých R foriem a z kultúr obsahujúcich čisté S formy. Ako lyofilné médium sa použilo 5,5 % BS, vakcíny sa skladovali pri $+37^{\circ}\text{C}$ a počas 200 dní sa sledovala ich imunogenita a počty ž. z.

Po 200 dňoch sa v oboch vakcínach zaznamenal iba nepatrný pokles počtu ž. z. a nedošlo ani k preukazným zmenám ich imunogenity. Imunizačná účinnosť vakcíny s prevahou R foriem však bola od počiatku pokusu zreteľne nižšia; k vyvolaniu imunity u 50 % očkovaných myší bol potrebný približne 100 násobok počtu ž. z. v porovnaní s vakcínou, obsahujúcou zárodok v čistej S forme.

Vplyv dlhodobého skladovania na prežívanie a imunogenitu lyofilizovaných vakcín: Pri príprave vakcín určených pre toto sledovanie sa vychádzalo z poznatkov získaných v predchádzajúcich pokusoch: použili sa submerzné 9–11 hodinové kultúry bez R disociantov a ako protekčné médium 5,5 % BS. Ampule zatavené pod vákuom sa skladovali pri $+4^{\circ}\text{C}$ počas 2 rokov. V celkove 22 vakcínach sa zisťoval počet ž. z. v 6 mesačných a imunogenita v jednoročných intervaloch.

Po dvojročnom skladovaní sa počet ž. z. vo vakcínach znížil v priemere o 0,4 log. jednotky. V priebehu celého sledovaného obdobia sa nezistila preukazná zmena v imunogenite vakcín. Priemer PD_{50} pred aj po 24 mesačnom skladovaní bol 10^2 – $10^{2.3}$ ž. z. na jednu myš.

DISKUSIA

Výsledky našej práce potvrdili, že tak ako pri lyofilizácii iných bakteriálnych druhov (Šourek 1961), má aj pri ŽČV prvoradý význam protekčné médium, ktoré bezprostredne ovplyvňuje predovšetkým prežívanie zárodkov. Ukázalo sa tiež, že rovnako ako u polysaccharidových médií, s ktorými pracovali Heckly a spol. (1960), platí aj u protekčných médií proteínovej povahy, že z počtov ž. z., zisťovaných ihneď po lyofilizácii, nie je možné usudzovať na schopnosť toho ktorého média uchovať v lyofilizáte reprodukcie schopné zárodok po dlhú dobu. Protekčné médiá použité v pokusoch, o ktorých referujeme v tejto práci, boli vybrané na základe predchádzajúcich zistení, že počas lyofilizácie zaistujú prežívanie približne 65–75 % zárodkov (Žák a spol. 1963). Z predkladaných výsledkov však vyplýva, že čo do dlhodobého protekčného účinku, nie sú tieto médiá rovnocenné. Ani shodný stupeň prežívania zárodkov vo vakcínach skladovaných pri $+4^{\circ}\text{C}$, pripravených pomocou rôznych lyofilných médií, však ešte neznamená, že protekčná schopnosť týchto médií bude rovnaká aj za menej priaznivých skladovacích podmienok. Vakcíny obsahujúce ako protekčné médium DDM a BS vykazovali približne rovnaké počty ž. z. po lyofilizácii aj po dlhodobom skladovaní pri $+4^{\circ}\text{C}$, avšak behom inkubácie pri $+37^{\circ}\text{C}$ klesal počet ž. z. vo vakcíne s DDM podstatne rýchlejšie ako vo vakcíne s BS.

Zistenie značne rozdielneho prežívania zárodkov v ampulkách zatavených pod vákuom a za prítomnosti vzduchu, najmä pri teplote $+37^{\circ}\text{C}$, súhlasí s údajmi viacerých autorov, že uchovávanie lyofilizátov vo vákuu je najvhodnejším, aj keď — ak je materiál v ampulách — dosť pracným spôsobom zaistenia dlhodobého zachovania nezmenenej kvality lyofilizovaných kultúr (Proom a Hemmons 1949, van Drimmelen 1958, Zipplies a Jendrusch 1958, Heckly a spol. 1960).

Výsledky sledovania životnosti baktérií v lyofilizovaných kultúrach, obsahujúcich prevažne S alebo R formy *Erysipelothrix insidiosus*, sú v súhlase s vý-

sledkami obdobných pokusov, ktoré robili pri lyofilizácii brucell Heckly a spol. (1960); ukazujú, že čo do rezistencie voči zmrazeniu, sušeniu a skladovaniu v lyofilizovanom stave, nie sú medzi obidvomi typmi buniek *E. insidiosa*, rovnako ako u brucell, podstatné rozdiely.

Tak ako pre prežívanie, má protekčné médium význam aj pre imunogenitu zárodkov. Môže podstatne znížiť antigenicitu baktérií, ako sa zistilo pri vakcíne lyofilizovanej s hovädzím gamaglobulínom. Rovnako ako u *Salmonel* (German a spol. 1961, Simon a spol. 1963), nemá však samotná lyofilizácia, ani dlhodobé skladovanie, pri použití vhodného protekčného média, vplyv na antigenicitu červienkovej kultúry. Svedčí o tom skutočnosť, že pre vyvolania imunity u myši bol potrebný približne rovnaký počet ž. z. pred aj po lyofilizácii, ako aj po dlhodobom skladovaní v suchom stave. To sa potvrdilo aj sledovaním imunogenity vakcín pripravených z kultúr s prevahou S a R foriem zárodkov.

Z hľadiska produkcie lyofilizovaných vakcín sa môže považovať za dôležité zistenie, že červienková kultúra nie je v rôznych fázach rastu rovnako odolná voči zmrazeniu, lyofilizácii a skladovaniu. Zo skutočnosti, že najvyššie prežívanie vykazuje kultúra počas relatívne krátkeho úseku rastu, vyplýva potreba jej stálej kontroly. Táto okolnosť, ako aj snaha dosiahnuť maximálnu koncentráciu zárodkov behom krátkej doby, boli príčinou, prečo sa pri príprave kultúr určených k lyofilizácii použil submerzný a nie tradičný statický spôsob pestovania zárodkov *Erysipelothrix insidiosus*.

S U H R N

V rámci štúdia protekčného a stabilizačného účinku piatich médií proteínovej povahy počas lyofilizácie a skladovania živej červienkovej vakcíny z kmeňa WR 2 sa ako najvhodnejšie ukázalo inaktivované bravčové sérum. Vo vakcíne, pripravenej s týmto médiom, obnášal priemerný pokles počtu živých zárodkov po dvojročnom skladovaní pri $+4^{\circ}\text{C}$ približne 0,4 log. jednotky a ani po 8 mesiacoch pri $+37^{\circ}\text{C}$ nepresiahol 0,5 log. jednotky. Podmienkou dlhodobého prežívania zárodkov bolo udržiavanie lyofilizátov pod vakuom; vo vakcínach uchovávaných za prítomnosti vzduchu klesol počet živých zárodkov už po 5 mesiacoch až o 6 log. jednotiek.

Voči účinkom zmrazovania, vysušovania a skladovania je červienková kultúra najodolnejšia v stacionárnej fáze rastu, najcitlivejšia vo fáze exponenciálneho delenia. Rezistencia kultúr s prevahou S alebo R foriem zárodkov je približne rovnaká.

Imunogenita vakcíny je závislá na samotnom procese lyofilizácie a skladovania iba vo vzťahu k počtu prežívajúcich zárodkov, naproti tomu druh a zloženie lyofilného média ovplyvňuje aj ich antigenicitu.

Došlo dňa 30. 12. 1965

L i t e r a t ú r a

1. BOSGRA, O., WILSON, J. H. G.: Praktijproeven met levend avirulent vlek-ziektevaccin in verband met het optreden van entereacties = „Tijdschr. Diergeneesk.“ 85, 1283-1289, 1960. — 2. DRIMMELEN, G. C. VAN, STEYN, H. S.: The Keeping Quality of Freeze-Dried Brucella abortus Strain 19 Vaccine = „J. gen. Microbiol.“ 19, 324-329, 1959. — 3. GERMAN, M. A., LAMBIN, S., SIGRIST, M. W.: Influence de la lyophilisation sur les caractères de quelques Salmonella. III = „Ann. pharm. franc.“ 19, 255-266, 1931. — 4. GRAY, C. W., NORDEN, C. J.: Erysipelas Vaccine Avirulent (EVA) - a New Agent for Erysipelas Control = „JAVMA“ 127, 506-509, 1955. — 5. HAMMER, B. W.: A note on the Vacuum Dessication of Bacteria = „J.

med. Res." 24, 527-530, 1911. — 6. HARRIS, R. J. C.: Biological applications of freezing and drying. Acad. Press, New York 1954. — 7. HECKLY, R. J., FAUNCE, K., ELBERG, S. S.: Lyophilization of *Brucella melitensis* = „Appl. Microbiol.“ 8, 52-54, 1960. — 8. IVANOV, M. M., DACEVIČ, L. L.: Metod opredelenija količestva živých brucell v brucelleznoj vakcine = „ŽMEI“ 33, 46-50, 1962. — 9. LAWSON, K. F., WALKER, V. C. R., CRAWLEY, J. F.: Modified swine erysipelas vaccine = „Canad. J. comp. Med.“ 22, 164-174, 1958. — 10. MÖHLMANN, H., MAAS, A., BODEN, W., MEESE, M.: Erfahrungen bei der Anwendung von Rotlauf-Lebendimpfstoff „Desau“ - lyophil getrocknet - zur aktiven Schutzimpfung gegen Rotlauf der Schweine = „Mh. Vet. Med.“ 18, 331-338, 1963. — 11. OSE, E. E., BARNES, L. E., BERKMAN, R. N.: Experimental Evaluation of an Avirulent Oral Erysipelas Vaccine = „JAVMA“ 143, 1084-1089, 1963. — 12. PROOM, H., HEMMONS, L. M.: The drying and preservation of bacterial cultures = „J. gen. Microbiol.“ 3, 7-18, 1949. — 13. REED, L. J., MUENCH, H.: A Simple Method of Estimating Fifty Per Cent End-Points = „Amer. J. Hyg.“ 27, 493-497, 1938. — 14. SCHEER, A. F., VAN DER: Observations on the lyophilization of *Brucella abortus*, strain 19. Improvement of the survival rate. Ant. van. Leeuwenhoek = „J. Microbiol. Serol.“ 22, 193-204, 1956. — 15. SIMON, E. M., STAHL, K. L., WILSON, J. B.: Preservation by Freeze Drying and the Stability of Virulence of *Salmonella typhimurium* = „Appl. Microbiol.“ 11, 371-376, 1963. — 16. SOUREK, J.: K některým otázkám lyofilizace patogenních mikroorganismů = „Čs. epid. mikrobiol. imunol.“ 10, 365-376, 1961. — 17. ZIPPLIES, G., JENDRUSCH, H.: Versuche zur Konservierung von Rotlaufimpfkulturen mit Hilfe der Gefrier-trocknung = „Mh. Vet. Med.“ 13, 385-391, 1958. — 18. ŽÁK, O.: Očkování prasat živou červenkovou vakcínou = „Veterinářství“ 12, 142-143, 1962. — 19. ŽÁK, O., DUBAJ, J., ŽUFFA, A., VONDRÁK, B.: Lyofilizace živé červenkové vakcíny. Referát přednesený na VIII. ved. konf. Košice, 20.-21. 6. 1963. — 20. ŽÁK, O.: Perzistence červenkových zárodků kmene WR 2 v orgánech myši a vývoj imunity = „Vet. Med.“ 10, 163-172, 1965. — 21. ŽÁK, O.: Vliv hyaluronidázy na dispersi vakcinačních zárodků a na nástup imunity po očkování živou červenkovou vakcínou z kmene WR 2 = „Vet. Med.“ 11, 311-320, 1966. — 22. ŽUFFA, A., NOVÁK, Z., RAJTAR, V.: Porovnání imunizační účinnosti živých avirulentních vakcín proti červienke ošipa-ných s účinností inaktivované červienkové adsorbátové vakcíny = „Vet. čas.“ 9, 447-461, 1960.

Лиофилизация живой рожистой вакцины из штамма WR 2

В рамках изучения профилактического и стабилизационного действия пяти сред протеинового характера во время лиофилизации и хранения живой рожистой вакцины из штамма WR 2 наиболее пригодной оказалась инактивированная сыворотка свиней. В вакцине, приготовленной с этой средой, среднее понижение числа живых зародышей после двухлетнего хранения при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ составляло приблизительно 0,4 лог. единицы, и даже после 8-месячного хранения при $+37^{\circ}\text{C}$ оно не превышало 0,5 лог. единицы. Условием долговременного переживания зародышей было хранение лиофилизатов под вакуумом; в вакцинах, хранимых при наличии воздуха, число живых зародышей уже после 5 месяцев понизилось даже на 6 лог. единиц.

В отношении замораживания, высушивания и хранения рожистая культура наиболее устойчива в стационарной фазе роста, а наиболее чувствительна — в фазе экспоненциального деления. Устойчивость культур с преобладанием S или R форм зародышей приблизительно одинакова.

Иммуногенность вакцины зависит от самого процесса лиофилизации и хранения только в отношении числа выживающих зародышей, тогда как вид и состав лиофильной среды влияет и на их антигенность.

Lyophilisation of Live Swine Erysipelas Vaccine from the WR 2 Strain

Within the scope of the study of the protective and stabilization effect of five media of a protein character during the lyophilisation and storing of live swine erysipelas vaccine from the WR 2 strain, most suitable proved to be inactivated pig serum. In the vaccine prepared with this medium the average decrease of the number of live germs after a two years' storage at a temperature of $+4^{\circ}\text{C}$ amounted to approximately 0.4 log. units, and even after 8 months at a temperature of $+37^{\circ}\text{C}$

it did not exceed 0.5 log. units. A pre-condition for a long-term survival of germs was the keeping of the lyophilised vaccines in a vacuum. In vaccines kept with a presence of air the number of live germs decreased already after 5 months by up to 6 log. units.

The swine erysipelas culture is most resistant to the effects of freezing, drying, and storing at the stationary stage of growth, and it is most sensitive at the stage of exponential division. The resistance of cultures with a predominance of S or R forms of germs is approximately identical.

The immunogenicity of the vaccine depends on the lyophilization process itself and on storage only in relation to the number of surviving germs, whereas the kind and composition of the lyophil medium influence also their antigenicity.

Die Lyophilisation der lebendigen Rotlaufvaccine aus dem Stamm WR 2

Im Rahmen des Studiums der Protektions- und Stabilisierungswirkung der fünf Medien von Proteincharakter während der Lyophilisation und Aufbewahrung der lebendigen Rotlaufvaccine aus dem Stamm WR 2 hat sich das inaktivierte Schweineserum als das geeignetste erwiesen. In einer Vakzine, die mit diesem Medium zubereitet wurde, betrug die durchschnittliche Herabsetzung lebendiger Keime nach zweijähriger Aufbewahrung bei +4°C annähernd 0,4 log. Einheit und auch nach einer 8 Monate dauernden Lagerung bei 37°C überschritt die Herabsetzung nicht 0,5 log. Einheit. Die Bedingung des langfristigen Überlebens der Keime war die Erhaltung der Lyophilisate im Vakuum; in den bei Luftzutritt aufbewahrten Vakzinen setzte sich die Anzahl lebendiger Keime bereits nach 5 Monaten bis um 6 log. Einheiten herab. Die Rotlaufkultur ist bei der stationären Wachstumsphase gegen Frostwirkungen, gegen Austrocknung und Lagerung am widerstandsfähigsten. Sie ist während der Phase der exponentiellen Teilung am empfindlichsten. Die Resistenz der Kulturen mit einer Überhand der S- oder R-Formen der Keime ist annähernd dieselbe.

Die Immunogenität der Vakzine hängt von dem eigentlichen Lyophilisationsprozeß und Lagerung nur in Beziehung zur Anzahl der überlebenden Keime ab, wogegen die Art und Zusammensetzung des Lyophilisationsmediums auch ihre antigenen Eigenschaften beeinflusst.

Adresa autorov:

MVDr. Otokar Žák, PhMr. J. Dubaj, Bioveta n. p., odd. pro vývoj a výzkum, Nitra

MADRID, Spain, Sept. 8 (AP)—Spain's Communist Party today announced it had won 10 seats in the September 16 elections to the Cortes.

■ V boji proti strečkovitosti a svrabu sa u nás používa trichlorfón v prípravku Soldep, ktorý je proti migrujúcim larvám a zákožkám vysoko účinný. Na tunajšom pracovisku bola vyvinutá a vyskúšaná nová lieková forma, ktorá obsahuje 5 % trichlorfónu. Emulziu pod názvom Hypodermin v poloprevádzke vyrába Bioveta n. p. v Nitre a v zimnom období 1966 bolo ňou vo Východoslovenskom kraji ošetrovaných proti strečkovitosti asi 20 000 kusov hovädzieho dobytku. Aplikácia emulzie perkutánnou metódou je jednoduchá a rýchla (Sokol, Gdovin 1966).

Účinok organofosforových insekticíd sa zakladá na všeobecne uznávanom anticholinesterázovom pôsobení týchto látok. V dôsledku inhibície cholinesteráz dochádza k hromadeniu acetylcholínu v organizme, ktorý spôsobuje podráždenie v oblasti parasympatikom inervovaných orgánov.

Priamy chemický dôkaz organofosforových zlúčenín v biologickom materiáli sa zatiaľ bežne neprevádza a za dostatočne priekazné a citlivé kritérium expozície účinkom organofosforových zlúčenín sa popri klinických príznakoch považuje cholinesterázový test. Inaktivačný účinok organofosforových insekticídov na cholinesterázy sa využíva preto nielen pri štúdiu toxických vlastností týchto látok, ale je základom aj expozičného testu pri práci s organofosforovými zlúčeninami vôbec.

LITERÁRNY PREHĽAD

Údaje o inhibícii cholinesteráz trichlorfónom a ostatnými organofosforovými zlúčeninami sú jednoznačné. Kühnert a spol. (1963) zistili po i. m. aplikácii trichlorfónu v dávke 25 mg/kg ž. v. inhibíciu cholinesterázy už za 1 hod., maximum za 24 hod., pričom po 24 hod. zistili jej postupnú reaktiváciu. Schulz a Wujanz (1961) a Nickel a spol. (1961) po i. m. aplikácii trichlorfónu v dávke 30–35 mg/kg ž. v. napriek tomu, že zistili maximálny pokles aktivity cholinesterázy v niektorých prípadoch až o 45 %, nepozorovali u pokusných zvierat podstatné poruchy zdravotného stavu. Hais (1963) pri dezinfekcii ustajovacích priestorov použil trichlorfón za prítomnosti zvierat a tiež po omytí hov. dobytku zistil inhibíciu cholinesterázy v krvi s výnimkou jedného zvieraťa, u ktorého sa cholinesteráza v krvi zvýšila, pričom poruchy zdravotného stavu sa u dobytku nedostavili. V druhom pokuse Hais (1962) po skrmovaní lucerky ošetrenej inou organofosforovou zlúčeninou zaznamenal u po-

kusných býčkov značný pokles aktivity cholinesterázy, s následnou poruchou zdravotného stavu. Karlog a Rasmussen (1964) stanovovali hladinu cholinesterázy pred a za 18 hod. po omývaní mladého dobytká 2% roztokom trichlorfónu. Zaznamenali zníženie aktivity cholinesterázy priemerne o 12,5 % bez objavenia sa porúch zdravotného stavu. Podobné výsledky u teliat dosiahol aj Bell (1964).

MATERIÁL A METODIKA

Sledovanie aktivity (inhibície) pravej cholinesterázy (cholinesterázy erytrocytov) sme previedli u 30 ks hovädzieho dobytká, a to u 15 jalovic vo veku 6 mesiacov až 4 rokov, 6 býčkov 1 až 10 mes., 6 kráv 3 až 9-ročných a 3 teliat vo veku 7–8 týždňov. Krv k analýze sa odoberala pred aplikáciou trichlorfónu, potom za 5, 24, 48 a 72 hodín po perkutánnej aplikácii 5 % emulzie trichlorfónu v dávke 50 mg/kg ž. v. Aktivitu cholinesterázy sme sledovali kolorimetrickou metódou podľa Hestrina (1949) za použitia fosfátového tlmivého roztoku. Princíp metódy sa zakladá na poznatku, že hydroxylamin v alkalickom prostredí s acetylcholínom tvorí kyselinu acethydroxamovú, ktorá v kyslom prostredí dáva s iónami železa farebný komplex s maximálnou svetelnou absorpciou pri $1,2 \pm 0,2$ pH v obore svetelných vln 520–540 milimikróv. Kolorimetriu sme prevádzali na fotometri Pulfrich za použitia kyviet d = 0,999 s filtrom S 53. Hodnoty cholinesterázy sme odpočítali podľa kalibračnej krivky a určili jej aktivitu množstvom mikromólov acetylcholínu rozloženého 1 ml erytrocytov. Chyba metodiky bola stanovená na 3,37 %.

Počas trvania pokusu boli zvieratá ustajnené na klinike a sledoval sa trias, chuť a prijímanie potravý, prežúvanie, defekácia a iné. Krv bola odobraná do heparinizovaných skúmaviek a vzorky spracované najneskôr do 5 hodín po odbere.

VÝSLEDKY

Dosiahnuté výsledky u jednotlivých zvierat boli spracované do tabuľky I a priemerné hodnoty aktivity resp. inhibície cholinesterázy do tabuľky II a grafu, pričom zistená hodnota cholinesterázy pred aplikáciou sa posudzovala za východziu (100 %) a hodnoty po aplikácii sme porovnávali s východzou hodnotou cholinesterázy.

Z grafu a tabuľky II je zrejmé, že k inhibícii cholinesterázy dochádza už krátko po aplikácii trichlorfónu; za 5 hod. sme zistili priemernú inhibíciu vo výške 14,1 %. Vrchol inhibície bol zaznamenaný za 24 hodín, kedy aktivita cholinesterázy poklesla o 34,1 %. Pri ďalšom sledovaní sme zisťovali jej reaktiváciu, aktivita sa zvyšovala, no ani po 72 hod. nedosahovala východzieho hodnôt.

Za 24 hodín po aplikácii trichlorfónu sme zistili u jedného býčka (č. 24) vedľajšie účinky za príznakov hnačky, nechutenstva a občasného chvenia svalstva. Tento stav trval 4 dni a potom sa spontánne bez podania antidótu upravil. U tohoto zvierata sme zistili aj najväčší pokles aktivity cholinesterázy. Za 5 hodín po aplikácii klesla jej aktivita o 66,4 % s postupnou reaktiváciou a po 72 hodinách bola jej hodnota o 29,9 % nižšia. U ostatných pokusných zvierat príznaky neznášanlivosti neboli pozorované, hoci, ako to vyplýva z tabuľky I, podstatný pokles aktivity cholinesterázy (o 74,7 %) sme zistili za 24 hod. aj u jalovice č. 5.

I. Hodnoty aktivity CHE erytrocytov u hovädzieho dobytku pred a po perkutánnej aplikácii 5 % emulzie trichlorfonu v dávke 50 mg/kg ž. v.

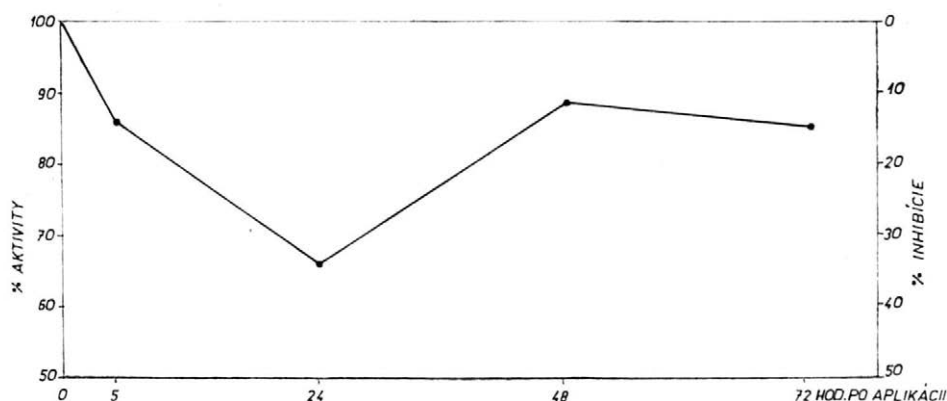
Porad. číslo	Nacionale	Vek	Váha v kg	Aktivita CHE v mikromoloch acetylcholínu uvoľnených 0,1 ml erytrocytov				
				pred	5 hod.	24 hod.	48 hod.	72 hod.
1	jalovica	6 mes.	90	46,6	53,3	46,6	40,0	53,3
2	jalovica	1 rok	230	40,0	40,0	32,3	40,0	32,3
3	jalovica	1 rok	200	56,6	53,3	46,6	46,6	53,3
4	jalovica	1 rok	200	53,3	56,6	46,6	46,6	46,6
5	jalovica	1 rok	175	79,3	76,0	20,0	53,3	46,6
6	jalovica	1,5 rok	250	56,6	56,6	46,6	56,6	53,3
7	jalovica	1,5 rok	280	46,6	40,0	32,3	53,3	46,6
8	jalovica	2 roky	300	76,0	53,3	32,3	53,3	56,6
9	jalovica	2 roky	320	46,6	40,0	20,0	46,6	46,6
10	jalovica	2,5 roky	265	53,3	46,6	25,6	32,3	32,3
11	jalovica	1,5 rok	360	46,6	25,6	40,0	32,3	46,6
12	jalovica	2 roky	270	53,3	56,6	46,6	53,3	53,3
13	jalovica	2 roky	265	46,6	46,6	53,3	46,6	46,6
14	jalovica	3 roky	350	76,0	56,6	46,6	56,6	53,3
15	jalovica	4 roky	560	79,3	56,6	32,3	46,6	56,6
16	teľa	7 týžd.	53	13,3	13,3	40,0	40,0	40,0
17	teľa	8 týžd.	70	46,6	40,0	25,6	25,6	25,6
18	teľa	8 týžd.	71	46,6	53,3	25,6	25,6	20,0
19	býček	4 týžd.	38	25,6	25,6	20,0	40,0	40,0
20	býček	4 týžd.	47	40,0	25,6	20,0	25,6	40,0
21	býček	5 týžd.	38	20,0	20,0	32,3	46,6	32,3
22	býček	5 týžd.	43	46,6	25,6	32,3	53,3	46,6
23	býček	8 týžd.	69	40,0	32,3	40,0	32,3	40,0
24	býk	10 mes.	190	76,0	25,6	53,3	53,3	53,3
25	krava	3 roky	400	46,6	40,0	40,0	76,0	32,3
26	krava	4 roky	480	86,3	86,3	53,3	76,0	20,0
27	krava	4 roky	390	46,6	40,0	25,6	40,0	46,6
28	krava	5 rokov	400	56,6	56,6	40,0	56,6	76,0
29	krava	8 rokov	415	79,3	46,6	25,6	53,3	56,6
30	krava	9 rokov	440	56,6	46,6	32,3	56,6	53,3

ZHODNOTENIE VÝSLEDKOV A DISKUSIA

Pri voľbe metodiky na stanovenie aktivity cholinesterázy sme vychádzali z poznatkov J a n o k a a L í š k u (1955), ktorí v humánnej medicíne porovnávali metódu manometrickú, kolorimetrickú a elektrometrickú a zistili, že všetky tri sú rovnocenné, ak sa používajú primerane spoľahlivé a citlivé prístroje. H a i s

II. Aktivita cholinesterázy (v mikromoloch) u hovädzieho dobytku pred a po perkutánnej aplikácii 5 % emulzie trichlorfonu v dávke 50 mg/kg ž. v.

	Erytrocyty 0,1 ml			
	$\bar{x}$	$\pm s$	$\pm sx$	min. — max.
Pred aplikáciou	52,8	17,76	3,24	13,3—86,3
Po aplikácii 5 hod.	45,4	15,83	2,89	13,3—86,3
24 hod.	34,8	10,31	1,88	20,0—53,3
48 hod.	46,8	12,58	2,29	25,5—76,0
72 hod.	44,8	12,08	2,20	20,0—76,0



Inhibícia pravej cholinesterázy u hov. dobytku po perkutánnej aplikácii 5 % trichlorfonu v dávke 50 mg/kg ž. v.

a spol. (1960) použili u nás elektrometrickú metódu, ktorú neskôr pre hromadné vyšetrenia modifikoval Melichar (1961) a pokláda ju za výhodnú k hromadným analýzám ako časove najrýchlejšiu, podobne ako Chary a spol. (1961). Z technických a prevádzkových príčin sme použili metódu kolorimetrickú, ktorá je časove i úkonove náročnejšia, ale rovnako spoľahlivá.

Poznatky o inhibícii cholinesterázy po účinkoch organofosforových zlúčenín získané v tomto pokuse sú vcelku zhodné s literárnymi údajmi. Z tabuľky II vyplýva, že minimálne hodnoty cholinesterázy za 24–72 hodín boli vyššie ako pred aplikáciou a za 5 hodín po nej, hoci v celkovom priemere nastal pokles jej aktivity, čo bolo zapríčinené tým, že minimálna hodnota 13,3 mikromolov bola zistená len u jedného pokusného zvieraťa (č. 16) pred aplikáciou a za 5 hodín po nej. Je zaujímavé, že u tejto jalovičky bola aktivita cholinesterázy už pred pokusom veľmi nízka a po aplikácii trichlorfónu nedošlo k jej inhibícii, ale po 24 hodinách sa jej aktivita zvýšila, ako to vyplýva z tabuľky I aj v priebehu ďalšieho sledovania. Podobný úkaz pozoroval aj Hais (1963), ktorý po laváži celého tela okrem hlavy u jalovic 2,5 % Soldepom zistil už po 6 hodinách nepatrné zvýšenie aktivity cholinesterázy s ďalšou tendenciou mierneho zvyšovania. U 4 kusov (č. 1, 4, 12, 18) sme aj my zistili za 5 hodín po aplikácii nepatrné zvýšenie aktivity cholinesterázy, no pri ďalšom sledovaní aj u týchto nastala jej inhibícia.

Všeobecne sa predpokladá, že pokles aktivity cholinesterázy v krvi o 30–40 % má len malý klinický význam (Jolly 1957) a výška inhibície cholinesterázy nemusí byť vždy v priamom vzťahu k poškodeniu zdravia v cholinergickom smere (Hais 1962, Karlog a Rasmussen 1964 a iní). Klinicky sme z 30 zvierat len v jednom prípade pozorovali vedľajšie príznaky pri súčasnom najväčšom poklese aktivity cholinesterázy. Pokles aktivity cez 60 % je podľa údajov literatúry nebezpečný, pričom za kritickú hranicu sa považuje 80 %ná inhibícia. Dôležitá je rýchlosť, akou pokles nastáva, pretože čím rýchlejší je pokles, tým je väčšia možnosť otravy (Hais 1963). V ďalšom prípade u jalovice (č. 5) došlo po 24 hod. k podstatnej inhibícii cholinesterázy, ktorá však bola postupná a vedľajšie príznaky sa nedostavili.

Hodnoty aktivity cholinesterázy erytrocytov vyjadrené v mikromoloch kyseliny octovej uvoľnenej 0,1 ml erytrocytov, zhrnuté v tabuľkách I, II, sú v priemere vyššie ako uvádzajú vo svojich prácach Melichar a Hais (1962) a Hais a spol. (1960). Hais (1965) však na základe svojich skúseností vyššie hodnoty pripúšťa, pretože tieto sú rozdielne nielen medzi jednotlivými druhmi zvierat, ale aj vo vnútri druhov.

Záverom možno na základe dosiahnutých výsledkov konštatovať, že 5 % emulzia trichlorfónu aplikovaná perkutánne v dávke 50 mg účinnej látky na 1 kg ž. v. v nami navrhovanej liekovej forme nevyvoláva podstatnú inhibíciu pravej cholinesterázy a nemá za následok poruchy zdravotného stavu u hov. dobytká.

ZÁVER

U 30 ks hov. dobytká rôzneho veku sme sledovali vplyv jednorazovej perkutánnej aplikácie 5 % emulzie trichlorfónu v novej liekovej forme (Hypodermin) v dávke 50 mg účinnej látky na kg ž. v. na zdravotný stav so zreteľom k aktivite cholinesterázy. Kolorimetrickou metódou sme zistili priemernú maximálnu inhibíciu za 24 hod. po aplikácii vo výške 34,1 %. Inhibícia cholinesterázy až na jeden prípad neovplyvnila zjavne nepriaznivo zdravotný stav sledovaných zvierat.

Došlo dňa 31. 3. 1966

Literatúra

1. BELL R. R.: Antihelmintic toxicity in ruminants, = „Ann. N. Y. Ac. Sci. Vet. toxicology“, 111, 1964 : 662-664. — 2. HAIS K., JANEČEK A., SLOUKA J.: Aktivita cholinesteráz v krvi zvierat, = „Věd. práce VÚVL“, 1960 : 79-84. — 3. HAIS K.: Vliv organofosforových insekticidů na zdravotní stav hospodářských zvířat se zřetelem k hladinám cholinesteráz I. = „Vědecké práce VÚVL“, 1962 : 241-249. — 4. HAIS K.: Soldep v živočišnej veľkovýrobe, = „Zprávy techn. porad. služby Spolana“, 5, 1963 : 24-35. — 5. HAIS K.: Osobné zdelenie, 1965. — 6. HESTRIN S.: „J. biol. chem.“, 180, 1949 : 249, cit. kol. autorov: Organická fosforová insekticida, Stát. zdrav. nakl. Praha, 1959. — 7. CHARY R., JAYOT R., BOCQUET P.: Contribution à la toxicologie du bétail. Titration de l'act. cholinesterasique sanguine des bovins, = „Bull. Acad. vét. France“, 34, 1961 : 167-174. — 8. JANOK J., LIŠKA Š.: Organické fosforové insekticidy, = „Prac. lékař.“, 7, 1955 : 273-278. — 9. JOLLY D. W.: The toxicity of Organic Phosphorus Insecticides, = „Vet. Rec.“, 34, 1957 : 796-800. — 10. KARLOG A., RASMUSSEN F.: Haemning af kolinesteraseaktiviteten after vask af ungkreaturer med 0,0-dimetyl-2,2,2-triklor-1-hydroxiaetylfosfat (Neguvon), = „Nord. Vet. Med.“, 16, 1964 : 718-722. — 11. KÜHNERT M., DEDEK W., SCHWARZ H.: Untersuchungen über die Stoffwechselbeeinflussung und den Ausscheidungsmechanismus des Phosphonsäureesters Trichlophon im Handelspräparat Bubulin mit Hilfe P-markierten Phosphor bei der intravenösen und intramuskulären Injektion an Rindern, =

„Arch. exp. Vet. Med.“, 16, 1963 : 403-417. — 12. MELICHAR B.: Modifikace pH metrického stanovení cholinesteráz pro hromadný odběr vzorků, = „Prac. lékař.“, 13, 1961 : 355-360. — 13. MELICHAR B., HAIS K.: Vliv organofosforových insekticidů na zdravotní stav hospodářských zvířat se zřetelem k hladinám cholinesteráz II., = „Věd. práce VÚVL“ Brno, 1962 : 251-264. — 14. NICKEL E. A., HAUPT W., RICHTER H.: Dasselbekämpfungversuche bei Junggrindern mit dem Bubulin, = „Mh. Vet. Med.“, 16, 1961 : 569-576. — 15. SCHULZ J. A., WUJANZ G., RICHTER H.: Versuche über die klinischen Verträglichkeit und biologische Wirksamkeit des mindertoxischen Phosphonsäureesters 8010 bei Rindern, = „Mh. Vet. Med.“, 14, 1959 : 750-754. — 16. SOKOL J., GDOVIN T.: Skúsenosti s použitím trichlorfonu proti strečovitosti hov. dobytku pri rôznych spôsoboch aplikácie, „Folia vet.“, 1966 (v tlači).

Влияние подкожного введения трихлорфона на состояние здоровья крупного рогатого скота с учетом активности холинестеразы

У 30 голов крупного рогатого скота разного возраста изучалось влияние разового подкожного введения 5% эмульсии трихлорфона в новой медикаментной форме (Гиподермин) в дозе 50 мг действующего вещества на кг ж. в. на состояние здоровья животных с учетом активности холинестеразы. При помощи колориметрического метода мы установили среднюю максимальную ингибицию спустя 24 часа, после введения в размере 34,1%. За исключением одного случая, ингибиция холинестеразы заметно не повредила состояние здоровья изучаемых животных.

Effect of Percutaneous Application of Trichlorphon on the Health Condition of Cattle with regard to Cholinesterase Activity

In 30 head of cattle of different ages we followed the influence of one single application of 5% emulsion of trichlorphon in a new form of remedy (Hypodermin) in a dose of 50 mg of effective substance per 1 kg of body weight, with regard to the cholin-esterase activity. With the help of the colorimetric method we ascertained an average maximum inhibition 24 hours after the application, i. e. 34.1%. The inhibition of cholinesterase did not influence unfavourably the health condition of the animals followed except in one case.

Einfluß der perkutanen Applikation des Trichlorphons auf den Gesundheitszustand des Rindes mit Rücksicht auf die Aktivität der Cholinesterase

Bei 30 Stück Rinder verschiedenen Alters haben wir den Einfluß der einmaligen perkutanen Applikationen einer 5%igen Emulsion des Trichlorphon in neuer Medikamentform (Hypodermin) in einer Dosis von 50 mg des Wirkstoffes je 1 kg Lebendgewicht auf den Gesundheitszustand mit Rücksicht auf die Aktivität der Cholinesterase verfolgt. Mittels der kolorimetrischen Methode haben wir eine durchschnittliche maximale Inhibition in 24 Stunden nach der Applikation in einer Höhe von 34,1% festgestellt.

Die Inhibition der Cholinesterase beeinflusste offensichtlich nicht ungünstig den Gesundheitszustand der verfolgten Tiere.

Adresy autorů:

MVDr. Jozef Sokol, CSc., VŠP, veterin. fakulta, Košice

Prof. MVDr. Tomáš Gdovin, VŠP, veterin. fakulta, Košice

■ Studium morfoloogických změn je významnou součástí všech prací, zabývajících se působením ionisujícího záření u hospodářsky významných zvířat. Proto je studium těchto změn věnována v poslední době zvýšená pozornost.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Celkové morfoloogické změny po ozáření u zvířat a lidí popisují Bocquet a kol. (1962), Bruegge (1952), Tuliis, Warren (1947), Valade (1964) a další, kteří zjišťují nejvýraznější změny v lymfatické tkáni, kostní dřeni, gastrointestiálním traktu a zárodečném epitelu varlat.

Četní autoři se věnují pouze studiu změn v hemopoetických orgánech, které jsou nejvíce radiosenzitivní (Konstantinova 1957, Smith, Kieffer 1957, Takashi 1961, 1962, Zareckaja 1961 aj.). Obsahem železa v tkáních se zabývali Ludewig a Chanutin (1951), kteří zjistili jeho zvýšené množství v játrech, slezině a ledvinách krys druhý týden po ozáření.

Morfoloogickým změnám u ptáků po ozáření se věnovalo poměrně málo autorů: Bloom (1948), Jacques, Karnofsky (1950), Murray, Pierce, Jacobson (1956), Skalica, Hill (1959), Stearner (1956).

Jacques, Karnofsky (1950) a Stearner (1951, 1956), zjišťují u kuřat a později i u dospělých slepic, že většina kusů ozářených středními letálními dávkami, při přílivu nad 15 r/min., hyne již během prvních 24 hodin po ozáření na rozdíl od savců, kde k akutnímu úhynu dochází pouze po velmi vysokých dávkách.

Z našich autorů uvádíme práce: Krul, Škopek (1961), Pospíšil (1961) a další, kteří zjišťovali změny v ozářených tkáních a možnost jejich ovlivnění podáním antibiotik a vitamínů.

MATERIÁL A METODIKA

Byly sledovány morfoloogické změny u kohoutů a slepic plemene New Hampshire, stáří 8–12 měsíců, uhynulých po celotělovém ozáření rtg paprsky vzestupnými dávkami 800–2000 r při přílivu 40 r/min. (175 kV, 15 mA, filtraci 1,0 Al a 0,5 Cu, OK 55 cm). Ozařovány byly vždy skupiny po 10 kusech. Dávky byly zvětšovány od 800 do 2000 r postupně po 200 r, takže celkem bylo ozářeno 70 kohoutů a slepic. Vyšetřeno bylo 38 uhynulých kusů, z nichž většina byla ozářena dávkami vyššími než 1200 r., což odpovídá zjištění Procházky

a Hampla (1965), kteří určili, že LD/50 u kohoutů a slepic leží mezi 1200—1300 r. Údaje o postupu hynutí námi vyšetřovaných kusů jsou v jejich práci podrobně uvedeny. Po uhynutí byla provedena podrobná pitva a odebrány vzorky tkání k histologickému vyšetření z kostní dřene femuru, sleziny, thymu, srdce, plic, jater, ledvin, pankreatu, žláznatého žaludku, střeva, cékální tonsily, nadledvin, štítné žlázy, hřebínku, pohlavních orgánů, n. ischiadiku a mozku; fixovány v 10 % formalinu a zality do parafinu. Ze všech orgánů byly pořízeny řezy, barvené přehledně hematoxylin-eosinem. Dále bylo použito u jater, sleziny, ledviny, střev, plic, kostní dřene a hřebínku některých speciálních barvicích metod: Sudan III, Perls, May Grünwald-Giemsa, Weigert, Mallory a u nadledvinek olejová červeň. Jako kontroly bylo použito 4 kohoutů a slepic, jejichž tkáň byly zpracovány stejnými metodami.

VLASTNÍ PRÁCE

MAKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ

Makroskopické změny u ozářených kusů odpovídaly stoupajícím dávkám radiace. Při povrchovém vyšetření byla zjištěna cyanóza viditelných sliznic, hřebínku, lalůček a běháků. U kusů uhynulých prvé dny po ozáření docházelo k silnému otoku hlavy, který byl lokalizován hlavně na lalůčkách a přestupoval po ventrální straně až do 1/3 délky krku. Byla zjištěna určitá závislost vzniku těchto změn na velikosti dávky. U kusů uhynulých prvé dny po ozáření dávkami do 1200 r, byl zjištěn otok u 37,5 % případů, zatímco u kusů ozářených dávkami nad 1400 r byl otok zjištěn u 78,5 % případů.

Později tento otok nebyl zjišťován, cyanóza nebyla již tak výrazná a kolem 6. dne se začala projevovat výrazná anemie viditelných sliznic a hřebínku se zvýšeným rohovatěním a deskvamací epidermis.

Thymus, u kterého se dala očekávat atrofie následkem úbytku buněčných elementů, byl naopak zpočátku mírně zvětšen v důsledku hyperemie a edému. Po poklesu hyperemie však byl silně atrofický. Na srdci bylo zjištělné silné nastříknutí cév a ekchymosy, hlavně v koronárním tuku. V plicích byla zpočátku zjišťována silná hyperemie a edém a 7.—11. den nekrotická ložiska zachvacující několik plicních pišťal. V jaterním parenchymu kusů, uhynulých prvé dny po ozáření, byla v některých případech již makroskopicky zjištělná submiliární nekrotická ložiska nažloutlé barvy a celkové dystrofické změny. U kusů uhynulých po 6 dnech byla ve většině případů zjišťována nekrotická ložiska od velikosti špendlíkové hlavičky až po ložiska, zachvacující celé jaterní laloky. Slezina byla již od prvého dne atrofická a anemická s ojedinělými hemoragiemi. Na sliznici žláznatého žaludku se nacházely četné hemoragie, lokalizované hlavně na přechodu žláznatého a svalnatého žaludku. U kusů uhynulých 7 dnů po ozáření dávkou 2000 r byly ve svalnatém žaludku nacházeny krevní sraženiny v okolí pylorického otvoru. Ve střevěch hlavně v duodenu, byly časté hemoragie v mukóze klků a melaena. V ostatních úsecích střevního traktu nebyly tyto změny tolik výrazné, pouze 7 a více dnů po ozáření byly nalézány povrchové ulcerace cékálních tonsil. V arlata nebyla u kusů uhynulých prvé dny po ozáření kromě nastříknutí cév makroskopicky změněna, později však docházelo k jejich výrazné atrofii. Na vaječníku byla zjištěna pouze mírná hyperemie, avšak vejcovod, hlavně jeho bílkotvorný a děložní úsek byl u slepic, uhynulých prvé dny silně hemoragicky infarsován. Současně se vyskytoval exudát v dutině tělní. Kostní dřeň byla zpočátku hyperemická

ká, tmavočervené barvy, později želatinozní a tukovitá s ojedinělými krváceninami. V mozku, pankreatu, nadledvinách, štítné žláze a n. ischiadiku nebyly zjištěny makroskopické změny.

Celkově je možno uvést, že makroskopické změny, zjišťované u kusů, ozářených dávkami do 1200 r, byly méně výrazné než u kusů ozářených nad 1400 r, a to hlavně v intenzitě a výskytu cirkulačních poruch.

MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ

Rozsah poškození thymu odpovídal dávce ionizujícího záření, pokud se týkalo intenzity rozpadu lymfocytů. Prvý den byly nacházeny téměř všechny lymfocyty destruované. Docházelo k intenzivní fagocytóze detritu makrofágy (obr. č. 1.), který byl druhý den téměř beze zbytku odstraněn. V koře vynikaly retikuloepiteliální buňky, které kromě zduření nevykazovaly známky poškození. Od 3. dne docházelo k poklesu hyperemie, který souvisel s výrazným zmenšením thymu. 4. den po ozáření byly v koře a dřeni zjišťovány pouze makrofágy, retikuloepiteliální a myoidní buňky. Kolem 7. dne se začaly objevovat ve dřeni slabé známky regenerace.

Pulpa sleziny byla již první den po ozáření atrofická a anemická. Atrofie byla výraznější v bílé pulpě, kde došlo k výraznému úbytku lymfocytů a fagocytóze detritu makrofágy. K úplnému vymizení došlo 2.—3. dne. Následkem atrofie bylo relativně zmnoženo vazivo. Ojediněle docházelo k hemoragiím. Již 1. a 2. dne byly zjištěny v pulpě siderofágy, ve kterých bylo Perlsovou reakcí prokazováno malé množství difuzního hemosiderinu. V dalších dnech byla reakce výraznější, nejvíce 7.—11. den po ozáření. Od 6. dne, výjimečně dříve, byla nalézána bakteriální nekrotická ložiska. Prvé známky regenerace byly zjišťovány 7.—11. den.

V kostní dřeni docházelo první den k výraznému rozpadu lymfocytů v nahloučeních kostní dřeni a fagocytóze detritu četnými makrofágy. Erythroblasty byly zjišťovány zcela ojediněle. Počet granulocytů ve dřeni značně poklesl. Prvý den však granulocyty s výjimkou mladších forem nevykazovaly výrazné známky poškození. Další dny pokračoval rozpad buněčných elementů, až 3.—6. den byla dřev zcela aplastická, tukově a želatinně přeměněná. Ve většině případů docházelo 5.—11. den k regeneraci a tvorbě ložisek, ve kterých byly zastoupeny hlavně buňky typu plasmocytů a velkých lymfocytů.

První den byl ve sliznici žaludku zjišťován rozpad a výrazný úbytek lymfocytů v lymforetikulárních nahloučeninách a fagocytóza detritu. Docházelo k deskvamaci epitelu a hemoragiím, později nekrotizám, až k ulceracím sliznice. Složitě tubulózní žlázy kromě zvýšené deskvamace epitelu nevykazovaly známky poškození.

Ve střevě byl první den pozorován rozpad lymfocytů a deskvamace enterocytů. V lumen tubulózních žlázek duodena i v mukóze byla zjišťována výrazná leukocytóza, hlavně heterofilů a eosinofilů. 4.—11. den po ozáření docházelo většinou k nekrotickému rozpadu mukózy klků bez zánětlivé celulární reakce s nálezy bakteriálních ložisek.

Lymfatické folikuly cekálních tonsil byly první den vyplněny rozpadlými lymfocyty a četnými makrofágy. Druhý a třetí den byly folikuly nečitelné, tvořeny pouze retikulární síťovinou. 4.—11. den docházelo k nekrotickému rozpadu sliznice, prostoupené četnými bakteriemi.

Srdce a svalovina se jevila jako rezistentní vůči ozáření. Byly nacházeny pouze hemoragie ve svalovině a v několika málo případech 6 a více dnů po ozáření byla zjištěna drobná bakteriální ložiska v myokardu.

V plicích byl první den, kromě obvyklých změn lymfatické tkáně, zjišťován edém a hyperemie. Později docházelo k leukopenické nekrotizující pneumonii většinou bakteriálního, ojediněle mykotického původu (obr. 5).

V játrech reagovaly shluky lymfatické tkáně stejně typicky jako v ostatních orgánech. V játrech kohoutů a slepic uhynulých první dny byla nacházena četná

intralobulární nekrotická ložiska velikostí 70—250 μ , obsahující destruované jaterní buňky, buňky RES a četné heterofilní granulocyty (obr. 2). Tato nekrotická ložiska byla velmi zřetelná až do 3 dnů po ozáření. Později docházelo k zmenšení ložisek a regeneraci, takže 5.—6. den byla již velmi málo zřetelná. Docházelo však k tvorbě dalších nekrotických ložisek, tentokrát bakteriálního původu (obr. 3). Reakce na trojmočné železo byla v prvních dnech většinou velmi málo výrazná. V dalších dnech docházelo ke zduřování Kupferových buněk, které obsahovaly velké množství hemosiderinu a zpracovávaly fagocytované, poškozené erytrocyty. Perlsova reakce byla nejvýraznější 6.—11. den po ozáření (obr. 6).

V ledvinách byly prvý den zjišťovány hemoragie a infiltrace interstitia krvní plazmou. Nejvýrazněji se tyto změny projevovaly ve svazcích sběrných kanálků. Od 6. dne byla ojediněle zjišťována drobná bakteriální ložiska v interstitiu a glomerulech.

V parenchymu nadledvin byly častým nálezem hyperemie a krváceniny, buď v jedné, nebo v obou nadledvinách. Ve 3 případech bylo zjištěno v nadledvině drobné nahloučení lymfocytárních a histiocytárních buněk. Ve všech případech vykazovaly buňky hlavních trámců výraznou vakuolisaci plazmy, která odpovídala v preparátech barvených olejovou červení výskytu tuků. Nebylo však prokázáno, že by obsah tuku kolísal podle dávek ozáření.

Ve štítné žláze se nacházela často hyperemie i krváceniny různého rozsahu buď v jedné nebo v obou částech. Ve všech případech byl zjišťován ve štítné žláze ozářených slepic epitel plochý a koloid růžově šedý, místy s nádechem do modra. Někdy docházelo k větší deskvamaci epitelu do lumina folikulů.

V interstitiu kanálků varlat byly prvý den ojediněle zjišťovány hemoragie. Zárodečný epitel vykazoval útlum mitóz, karyorhexi a rozpad některých spermatogonií a spermatocytů. Další dny rozpad zárodečných buněk pokračoval, až kolem 8. dne došlo téměř k jejich úplnému vymizení, atrofii tubulů a zesílení interstitia (obr. 4). Byly zjišťovány převážně buňky typu Sertoliho podpůrných buněk.

Na vaječnicích kromě počáteční hyperemie a později následující mírné atrofie ovocytů nebyly zjištěny výrazné změny. Výrazné změny však byly zjištěny na vejcovodu, kde u 50 % slepic uhynulých po ozáření prvé dny, docházelo k silné hemoragické infarsaci stěny vejcovodu s výstupem plazmy a erytrocytů, silnými dystrofickými změnami mukózy a deskvamací povrchového řasinkového epitelu. Většinou byly tyto změny lokalizovány v hlavním bílotvorném a děložním úseku vejcovodu.

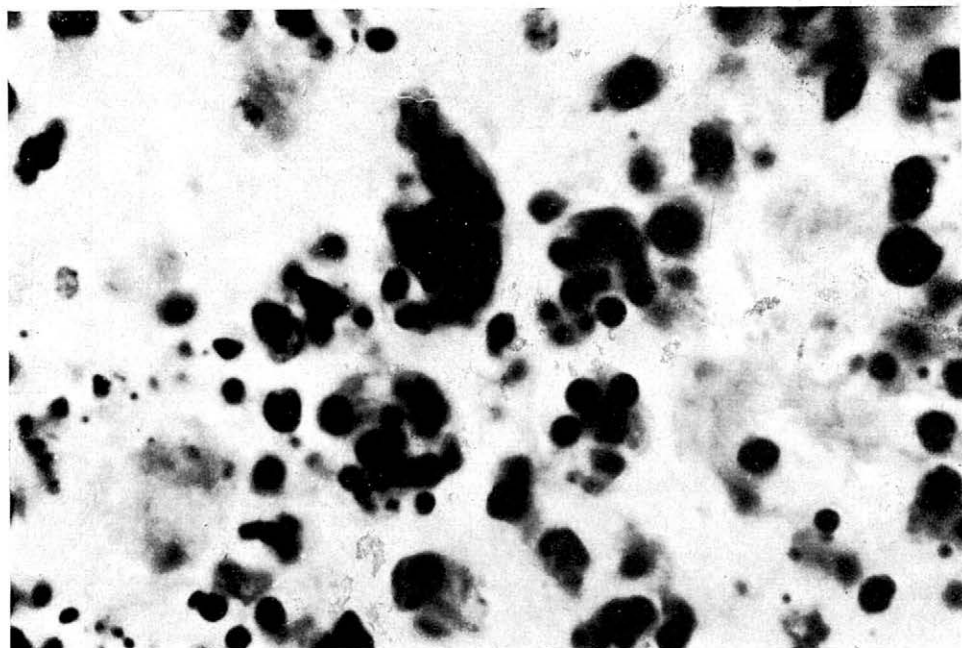
Na hřebínku byla v prvních dnech zjišťována výrazná hyperemie, zvláště sinů retikulární vrstvy škáry a četné hemoragie v epidermis mezi *stratum germinativum* a *stratum corneum*. Později docházelo k výrazné anemii a zvýšenému rohovatění a deskvamaci korneální vrstvy.

Pankreas, *n. ischiadicus* a mozek nevykazovaly kromě počáteční hyperemie změny.

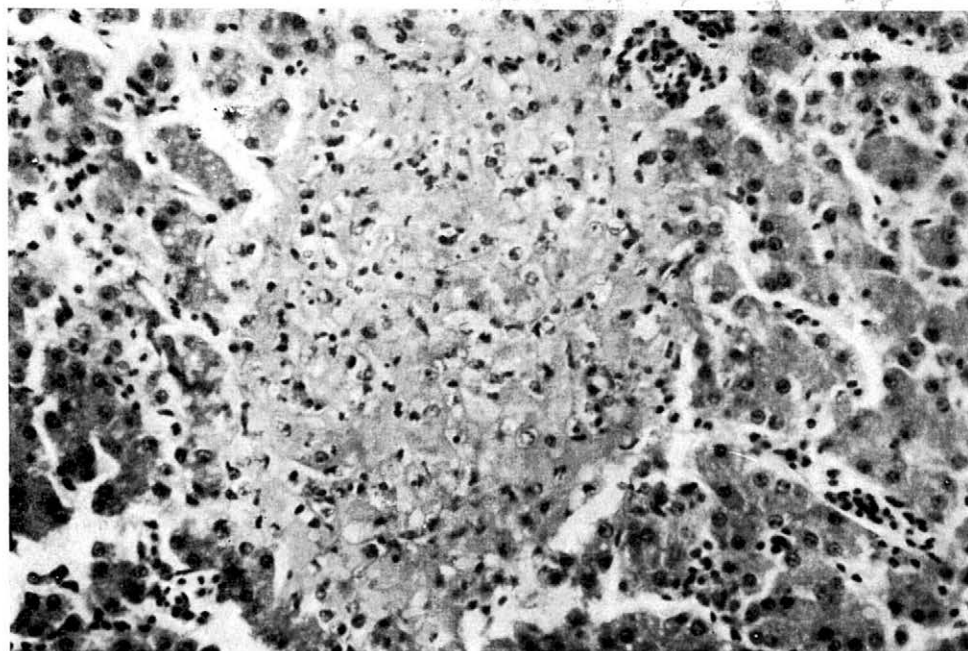
Popisované mikroskopické změny vykazovaly rovněž závislost na výši obdržené dávky, a to hlavně v reakci hemopoetické tkáně. U zvířat ozářených dávkami do 1200 r bylo zjišťováno méně intenzivní poškození hemopoety, než u jedinců ozářených dávkami vyššími než 1400 r. Přesnější srovnání účinku nižších a vyšších dávek na hemopoetickou tkáň, zjištěním doby nástupu a intenzity regenerace bylo znemožněno tím, že z kusů ozářených dávkami do 1200 r uhynula většina prvé dny po ozáření.

DISKUSE

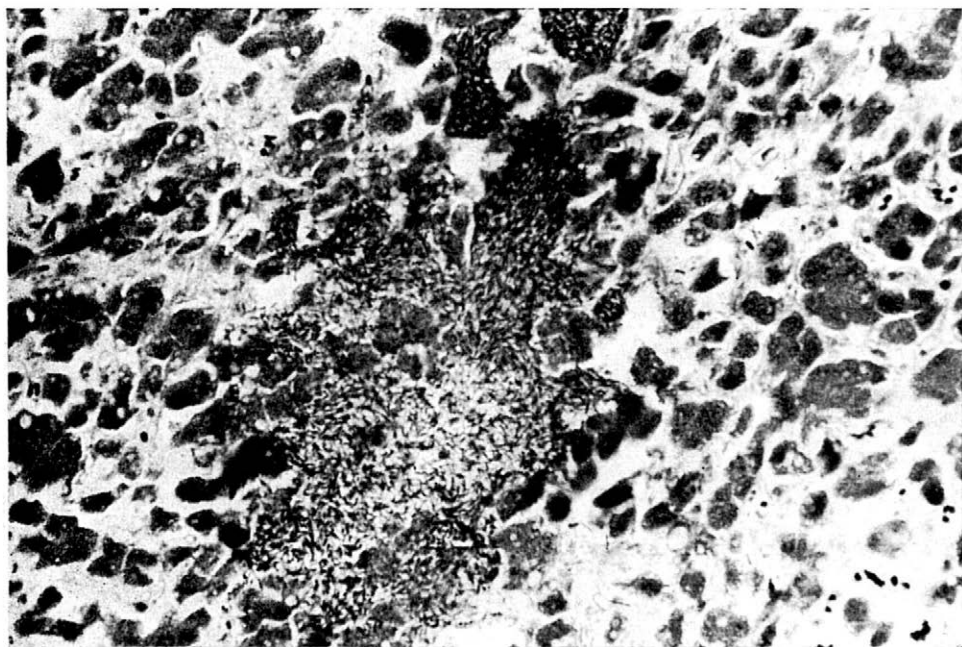
Bylo zjištěno v souladu s literárními údaji (Jacquez, Karnofsky 1950, Stearne r 1955, 1956), že u ozářených slepic a kohoutů docházelo k akutnímu úhy-
nu následkem poškození senzitivních tkání, poruch cirkulace a neurohumorální rov-



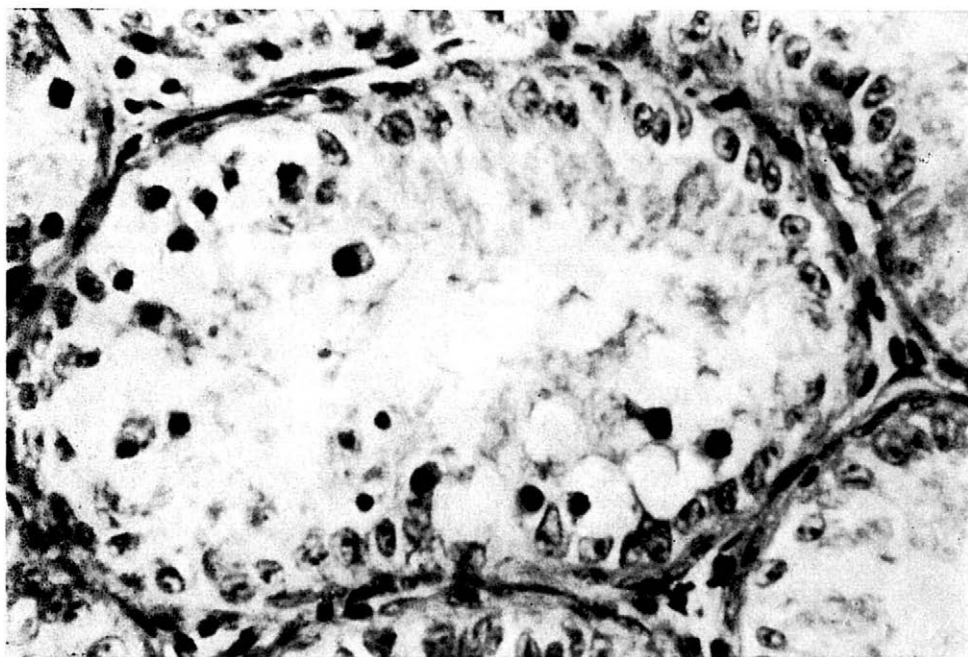
Obr. 1. Makrofágy v koře thymu obsahující fagocytované, destruované lymfocyty. 1 den po ozáření. HE. (Obj. 90X, ok. 9X, 107/64.) Foto orig. Rodák.



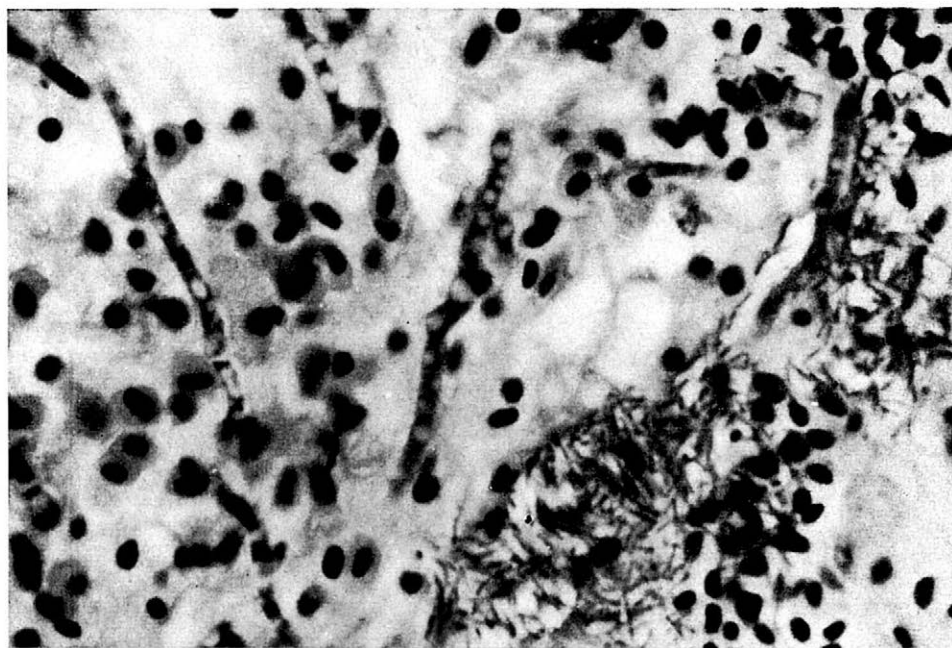
Obr. 2. Intraloburální nekrotické ložisko v jaterním parenchymu, obsahující četné rozpadlé jaterní buňky, leukocyty a buňky RES. 1 den po ozáření. HE. (Obj. 20X, ok. 9X, 33/65.) Foto orig. Rodák.



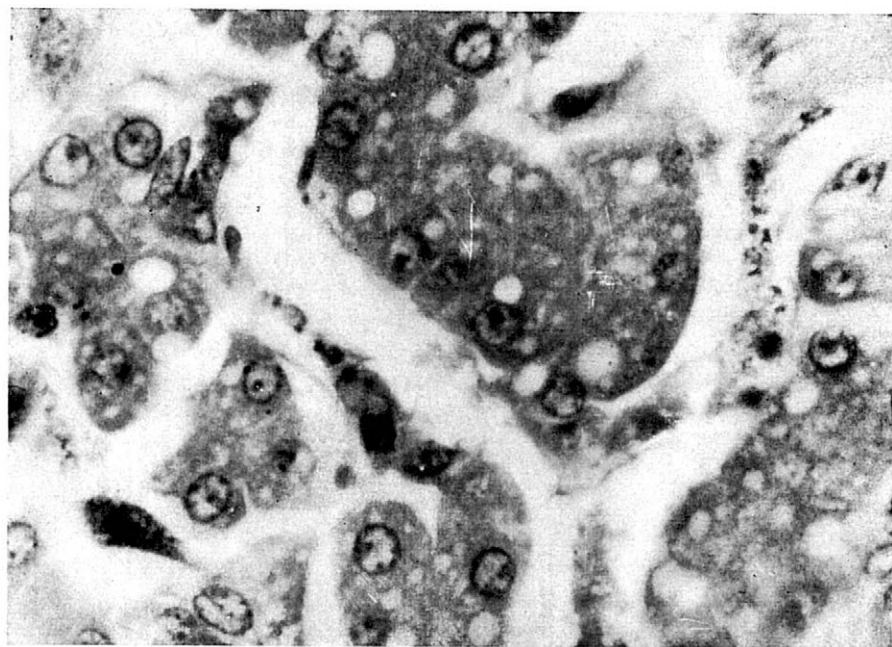
Obr. 3. Ložisko bakterií v jaterní tkáni. Nekrotický rozpad okolních jaterních buněk. 6 dnů po ozáření. HE. (Obj. 20X, ok. 9X, 27/65.) Foto orig. Rodák.



Obr. 4. Atrofie tubulů a zesílení interstitia varlat. Vymizení zárodečných buněk z tubulů. Vynikají buňky typu Sertoliho podpůrných buněk. 8 dnů po ozáření. HE. (Obj. 40X, ok. 9X, 116/64.) Foto orig. Rodák,



Obr. 5. Hyfy plísňí a ložiska bakterií v nekrotické plicní tkáni, 8 dnů po ozáření. HE. (Obj. 60X, ok. 9X, 31/65.) Foto orig. Rodák.



Obr. 6. Zduřené Kupferovy buňky vyplněny granulami hemosiderinu, 7 dnů po ozáření. Perlsova reakce. (Obj. 90X, ok. 9X, 19/65.) Foto orig. Rodák.

nováhy. Poruchy cirkulace byly demonstrovány silnými otoky hlavy, ventrálních ploch krku a hemoragickou infarsací vejcovodu. Ve vztahu k akutnímu úhynu jsou i nálezy miliárních nekrotických ložisek v jaterním parenchymu, které byly zjišťovány u 95 % kusů uhynulých prvé dny po ozáření, přičemž bakteriologická kontrola byla negativní (Bódayová a kol. 1966). Stejně nálezy popisují i Jacques, Kar-nofsky (1950) a Murray, Pierce, Jacobson (1956). Vznik těchto nekroz není vysvětlen, je však jisté, že mají vztah k akutnímu úhynu.

Z kohoutů a slepic, ozářených dávkami 800—1200 r, což jsou dávky přibližující se polovině smrtné dávky (Procházká, Hampl 1965), uhynula většina kusů prvé den po ozáření. U kusů ozářených dávkami 1400—2000 r docházelo k akutnímu úhynu asi u jedné třetiny kusů. Další dny a to převážně 6.—11. den po ozáření dochází k úhynu následkem úplného zhroucení obranyschopnosti organismu, při němž hraje důležitou úlohu bakteriemie. Z diskutované otázky, zda k bakteriemií dochází následkem vniknutí zárodků do organismu střevní nebo plicní cestou je třeba dodat, že u kusů, které jsme vyšetřovali byla zjišťována bakteriální nekrotická ložiska bez přítomnosti zánětlivých reakcí v obou tkáních, nebo převládala alterace v jedné z nich. V plicích několika kusů však byla zjištěna kromě nekrotizující pneumonie způsobené bakteriemi také nekrotická ložiska mykotického původu.

Změny na samičích pohlavních orgánech jsou popisovány řadou autorů, kteří však kromě atrofie vaječníků a folikulů nezjišťují výrazné změny. Murray, Pierce, Jacobson (1956) a Bloom (1948) nepopisují u kuřat změny na vejcovodech. Vzhledem k tomu, že jsme v našich pokusech pracovali s dospělými kusy s funkčně plně vyvinutými pohlavními orgány, nacházeli jsme u slepic, uhynulých prvé dny po ozáření výraznou hemoragickou infarsací vejcovodu, zvláště jeho hlavní bílkotvorné a děložní části.

Byl zjištěn vzestup obsahu hemosiderinu 6.—11. den po ozáření v Kupferových buňkách jater a výskyt četných siderofágů v pulvě sleziny.

U nadledvin jsme nezjistili specifické změny, které by se mohly přičítat vlivu ozáření. Sníženou barvitelnost plazmy buněk nadledvin a degeneraci chromafinních buněk, jak ji popisují někteří autoři (Bloom 1948 a jiní) jsme v několika případech rovněž zjistili, považujeme však tyto změny spíše za projevy autolytických pochodů.

Ostatní změny sledovaných orgánů a tkání jsou v soulase se změnami popísanými v dostupné literatuře.

SOUHRN

Byly sledovány morfologické změny u 38 kohoutů a slepic plemene New Hampshire, ozářených stoupajícími dávkami rtg paprsků (800—2000 r) při přílivu 40 r/min. a uhynulých během 11 dnů po ozáření. Morfologické změny odpovídaly stoupajícím dávkám radiace.

Z makroskopických změn byly nejvýraznější změny prvé dny po ozáření, kdy docházelo k silným otokům hlavy, hlavně lalůčků a ventrální strany horní třetiny krku, což souvisí se silnými cirkulačními poruchami, které vznikají po ozáření. Častost jejich výskytu byla podmíněna výší dávky ionizujícího záření. U slepic byla rovněž často zjišťována výrazná hemoragická infarsace vejcovodu, zvláště jeho hlavního bílkovinatého a děložního úseku. Z gastrointestinálního traktu byly nacházeny nejvýraznější změny v duodenu a žláznatém žaludku.

Mikroskopicky byly nalézány v játrech kusů uhynulých prvé dny po ozáření četná submiliární nekrotická ložiska. Od prvého dne po ozáření docházelo ojediněle k objevování malého množství hemosiderinu v Kupferových buňkách jater a siderofázích sleziny. Obsah hemosiderinu v těchto buňkách stoupal a byl zjišťován nejvyšší 6.—11. den po ozáření.

Došlo dne 26. 4. 1965

Technická spolupráce: Naděžda Mazancová, Miroslava Pokorná, Nina Pecháčková

Literatura

1. BLOOM, W.: Histopathology of Irradiation from External and Internal Sources. 1948. New York. — 2. BOCQUET, H. - VALADE, P. - MASSE, R. - RENAUDAT, C.: Recherches sur les modifications histologiques provoquées par les radiations ionisantes. = „Bull. Acad. vét. France“, 35, 1962: 337-350. — 3. BODAYOVÁ, L. - HORÁKOVÁ, V. - TOMÁNEK, J.: Vztah stoupajících dávek paprsků X k výskytu bakteriémie u kura domácího. = „Vet. med.“, 8, 1966: 521-528. — 4. BRUEGGE, V.: Radiation Injury Following an A-Bomb Explosion. = „Ann. Int. Med.“, 36, 1952: 1444-1458. — 5. CASTER, W. O. - ARMSTRONG, W. D. - SIMONSON, E.: Changes in the Cardiovascular System Following Total Body X-Irradiation. = „Am. J. Physiol.“, 188 (1), 1957: 169-177. — 6. DRJANOVSKI, P. G.: Sledování toxického působení lipidních extraktů z jater gama-paprsky ozářených ptáků pomocí metody erytrogramu. = „Nauč. Trud. Viss. Vetmed.“, 12, 1964: 155-161. — 7. FOCHEM, K.: Zur Frage der Radiotoxine. = „Strahlenther.“, 121, Nr 1, 1963: 124-128. — 8. CHUSAR, J. P.: Reakcia epitelijskeho žľazy na vvedenie inorodného tela posle mestného rentgenovského ožarovania. = „Arch. anat. hist. embriol.“, XLVII, No 7, 1964: 96-101. — 9. JACQUEZ, J. A. - KARNOFSKY, D. A.: The Toxicity and Pathological Effects of Roentgen Rays in the Chicken. = „Am. J. Roentg. Rad. Ther.“, 64, 2, 1950: 289-297. — 10. KAKUŠKINA, M. L.: K voprosu ob obrazovanii toxičeskich (gemolitičeskich) lipidov při lučevom poraženii životnyh. = „Vest. Mosk. univ. Ser.“, VI. Biol., 19, Nr 5, 1964: 11-17. — 11. KONSTANTINOVA, M. S.: Izměnění limfoidní tkáně sleziny myši v raných stadiích po ožarování gama-lučem. = „Med. radiol.“, 2, 3, 1957: 14-19. — 12. KRUL, J. - ŠKOPEK, M.: Změny v orgánech a tkáních kuřat celotělově ozářených rtg paprsky. = „Sborník VŠZ v Brně“, žada 3, 3-4, 1961: 285-292. — 13. LUDEWIG, S. - CHANUTIN, A.: Effect of Whole Body X-Irradiation on the Storage of Iron in Liver, Spleen and Kidney of Rats. = „Am. J. of Physiol.“, 166, 1951: 384-386. — 14. MURRAY, R. G. - PIERCE, M. - JACOBSON, L. O.: Histologic Effects of X-Rays on Chickens with Special Reference to the Peripheral Blood and Hemopoietic Organs. = „Chapter 13. in: Biological Effects of External X and Gamma Radiation.“, Part 2, 1956. R. E. Zirkle, 238-280. — 15. POSPÍŠIL, Z.: Histopatologická studie změn cirkulujícího tónusu u slepic. = „Dipl. práce vet. fak. VŠZ“, 1963. — 16. PROCHAZKA, Z. - HAMPL, J.: A Contribution to the Estimation of Radiosensitivity in Domestic Fowl (Gallus domesticus). = „Rad. Biol. Ther.“, (v tisku). — 17. SKALKA, M. - HILL, M.: The Effect of X-Irradiation on Pigeons. = „Folia Biologica“, 5, 1959: 60-70. — 18. SMITH, CH. - KIEFFER, D. A.: Studies on Thymus of the Mammal. Regeneration of Irradiated Mouse Thymus. = „Proc. Soc. Exp. Biol. Med.“, 94, 1957: 601-605. — 19. STEARNER, S. P.: The Effect of Variation in Dosage Rate of Roentgen Rays on Survival in Young Birds. = „Am. J. Roentgenol.“, 65 (2), 1951: 265-271. — 20. STEARNER, S. P. - CHRISTIAN, E. J. B.: The Effect of Over-all Time of Exposure upon Survival of Young Chicks Following Roentgen Irradiation. = „Am. J. Roentgenol.“, 65 (2), 1951: 272-276. — 21. STEARNER, S. P. - SANDERSON, M. - CHRISTIAN, E. J. B. - BRUES, A. M.: Initial Radiation Syndrome in the Adult Chicken. = „Am. J. Physiol.“, 184 (1), 1956: 134-140. — 22. TAKASHI, I. - SAKAKI, K. - HIRASAWA, K. - TANAKA, K.: Histopathological Studies on the Effect of Irradiation with Various Doses of X-Rays upon the Hemopoietic Tissue of Young Mice. I. Changes in Lymphatic Tissue. = „Natn. Inst. Anim. Hlth.“, Qt., Tokyo, 1, 1961: 157-169. — 23. TULLIS, J. L. - WARREN: Gross Autopsy Observations in the Animals Exposed at Bikini. = „J. Amer. med. Ass.“, 134, 1947: 1155-1158. — 24. VALADE, P.: Histopathologie d'effets radiants de caractère aigu et d'action totale. = „Bull. Acad. vet. France“, 37, 9, 1964: 427-442.

Патоморфологические диагнозы у петухов и кур после облучения всего тела рентгеновскими лучами

Изучались морфологические изменения у 38 петухов и кур породы нью-гемпшир, облученных дозой 800—2000 г при дозе 40 г/мин. и погибших в течение 11 дней после облучения. Морфологические изменения соответствовали повышающимся дозам радиации.

Из макроскопических изменений самые отчетливые возникли в первые дни после облучения, когда происходили сильные отеки головы, главным образом сережек и внутренней стороны верхней трети шеи, что связано с сильными циркуляционными нарушениями, которые возникают после облучения. У кур также часто встречается отчетливая геморрагическая

инфарктами яйцевода, особенно его главного белкообразующего и маточного отрезка. Из желудочно-кишечного тракта самые резкие изменения были обнаружены в двенадцатиперстной кишке.

В печени особей, погибших в первый день после облучения, микроскопическим путем были найдены многочисленные интралобулярные некротические очаги. С первого дня после облучения в отдельных случаях появлялось небольшое количество гемосидерина в печеночных клетках Купфера и сидерофагах селезенки. Содержание гемосидерина в этих клетках повышалось и достигало максимума на 6.—11 день после облучения.

Pathomorphological Findings in Cocks and Hens after the Whole-Body Irradiation

Morphological changes were followed in 38 New Hampshire cocks and hens irradiated with a dose of 800—2000 r, the flow being 40 r/min., that decayed in the course of 11 days after irradiation. Morphological changes corresponded to the increasing radiation-doses.

Most expressive macroscopical changes could be observed during the first days after irradiation. At this stage strong swelling of heads appeared, especially of wattle, and of the ventral side of the proximal third of neck. This is connected with strong circulation disorders arising after irradiation. Expressive haemorrhagic infarction of oviduct was often ascertained in hens especially in the main albumen-producing and uterine sections. Most expressed changes of the gastrointestinal tract were found in the duodenum.

Numerous intralobular necrotic foci were found microscopically in the liver of animals decayed on the first day following irradiation. Small amounts of haemosiderin in the Kupfer's cells of liver and in siderophagi of spleen have appeared here and there since the first day after irradiation. Contents of haemosiderin in these cells rose and it was at its highest level on the 6th-11th day after irradiation.

Pathomorphologische Befunde bei Hähnen und Hennen nach einer Körperbestrahlung mit Roentgenstrahlen

Man verfolgte die morphologischen Veränderungen bei 38 New-Hampshire-Hähnen und Hennen, die durch eine Dosis von 800—2000 r bei einem Zufluß von 40 r/min bestrahlt wurden und im Laufe von 11 Tagen nach der Bestrahlung abstarben. Die morphologischen Veränderungen entsprachen den steigenden Radiationsdosen.

Von makroskopischen Veränderungen waren die während der ersten Tage nach der Bestrahlung eingetretenen die ausgeprägtesten; hier kam es zu starken Geschwülsten des Kopfes, besonders der Lappen und der ventralen Seite des oberen Drittels des Halses; dies hängt mit starken Zirkulationsstörungen, die nach der Bestrahlung entstehen, zusammen. Bei Hennen konnte oftmals eine bedeutende hämorrhagische Infarction des Eileiters festgestellt werden, u. zw. besonders seines eiweißbildenden und Gebärmutterabschnittes. Vom gastrointestinalen Trakt fand man die ausgeprägtesten Veränderungen im Duoden.

Mikroskopisch ermittelte man in der Leber der am ersten Tag nach der Bestrahlung abgestorbenen Tiere zahlreiche intralobuläre nekrotische Herde. Vom ersten Tage nach der Bestrahlung erschien vereinzelt eine geringe Menge Hämosiderin in den Kupfer'schen Leberzellen und in den Siderophagen des Milzes. Der Hämosideringehalt dieser Zellen erhöhte sich und man konnte die höchste Menge derselben 6—11 Tage nach der Bestrahlung feststellen.

Adresa autorů:

MVDr. Ladislav Rodák, MVDr. Jitka Černá, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, oddělení patologické morfologie, Brno-Medlánky, Hudcova 66

...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...

...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...

...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...

...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...

...the ... of the ...
...the ... of the ...

...the ... of the ...
...the ... of the ...

...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...

...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...
...the ... of the ...

...the ... of the ...
...the ... of the ...

...the ... of the ...
...the ... of the ...

■ Používání arsenu jako plastika, roborans a chemoterapeutika ve veterinární medicíně se traduje již velmi dlouho (Hutyra F., Marek J., Manning R., Mócsy J. 1954), (Knud O., Moller H. 1961), (Lebduška J. 1953). V poslední době se jeho specifického účinku — ovlivňovat tukový metabolismus v buňkách organismu — začalo využívat rovněž při průmyslové výrobě krmiv. Vliv arsenu na metabolismus v buňkách a buněčné dělení se vysvětluje jeho dychtivou vazbou na sulfhydrylové skupiny (Holomáň K. 1958). Jeho brzdícího vlivu na buněčnou mitózu (Lazarev N. Z. 1959) využívá medicína při neoplastických chorobách hematopoetického systému. Ve vyšších dávkách může arsen vyvolat hyperkeratózu, melanózu a rakovinu kůže (Hauschild F. 1960), což souvisí s jeho schopností ukládat se v keratinových buňkách a současně ovlivňovat buněčnou difuzi. Konečně schopnost arsenu redukovat zásoby askorbové kyseliny v tělních buňkách svědčí o jeho hlubokém zásahu přímo do enzymatických procesů v organismu a tím do metabolismu buněk v mitochondriálních sférách (Holomáň K. 1958).

Vliv arsenu a jeho sloučeniny na metabolismus buněk a dále schopnost zasahovat do enzymatických pochodů, přiměl nás k šetření některých enzymatických aktivit v krevním séru u slepic, kterým byla aplikována po několik měsíců arsanilová kyselina v krmné směsi. Úkolem práce bylo proto sledovat aktivitu transaminázy kyseliny glutamové oxalocetové (GOT), kyseliny glutamové pyrohroznové (GPT) a aktivitu leucinaminopeptidázy (LAP) v krevním séru. Kromě těchto aktivit byly současně sledovány hladiny přímého a celkového bilirubinu a rovněž hematoplastický účinek arsanilové kyseliny u slepic.

METODIKA

Kontrolní a pokusné slepice plemene Leghorn byly chovány ve dvou samostatných hejnech. Stáří slepic se pohybovala od 2—3 roků. Obě skupiny byly denně vypouštěny na travnatý výběh. Základní krmivo bylo stejné pro obě skupiny a obsahovalo: pšeničný šrot 35 %, kukuřičný šrot 39,5 %, pšeničné klíčky 2 %, sojový šrot 15,1 %, mletá vojtěška 3 %, mikromletý vápenec 3 %, minerální směs II 2 %, krmná sůl 0,4 %, vitaminu A na 100 kg směsi 2,5 g, riboflavin 0,3 g a vitamin D₃ 0,45 g.

Krmivo pokusné skupiny obsahovalo 20 g arsanilové kyseliny na 220 kg uvedené krmné směsi. Krmivo s arsanilovou kyselinou bylo pokusné skupině zkrmováno od 30. 5. do 30. 6. a od 2. 8. do 30. 9. Od 1. 7. do 1. 8. byla ve

zkrmování učiněna přestávka. Před a během pokusu bylo provedeno koprologické šetření a opakované kontroly zdravotního stavu s hemocytologickým šetřením.

Krev byla získávána při ukončení pokusu vykrvením. Sérum bylo podrobeno enzymatické analýze a stanovení žlučových barviv. Erytrocyty a leukocyty byly počítány modifikovanou metodou podle Sadeka (Klimeš B., Celer V. 1960), Lukáčová M., Fried K.) Sedimentace byla provedena ve Westergreenových pipetách při úhlu 90°. Hemoglobin byl určován pomocí cyanhemoglobinu.

Stanovení aktivity transaminázy GOT a GPT bylo provedeno metodou podle Reitmana—Frankela v modifikaci Ševely (Pojer J. a spol. 1963) při 505 milimikronech na spektrofotometru Coleman jun. 6 A. Aktivita LAP byla stanovena podle Goldberga a Rutenburga (Pojer J. a spol. 1963), na základě množství enzymaticky uvolněného betanaftylaminu. Extinkce byla odečítána do 1 hod. při 580 milimikronech na uvedeném fotometru. Aktivita všech enzymů jsou udány v mikromolech (1 ml) (1 hod.) (37° C). Žlučová barviva byla určována metodou podle Jendrassik Grofa v modifikaci Rusňákové (Rusňák Š. 1963). Hodnoty jsou udány v miligram %.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky biochemických analýz a výsledky hematologické jsou udány v přehledných tabulkách I a II. Poněkud vyšší aktivitu obou enzymů u skupiny kontrolní zdůvodňujeme stářím slepic (2–3 roky) a tukovou infiltrací různého stupně. Je pravděpodobné, že stáří slepic a změny na játrech způsobily mírné zvýšení aktivity kyseliny glutamové oxaloctové u kontrolní skupiny (normálně GOT 1,1, GPT 0,6), u aktivity transaminázy kyseliny glutamové pyrohroznové jsme zaznamenali naopak mírný pokles.

U pokusné skupiny, která obdržela po dobu 3 měsíců přísadky arsanilové kyseliny v krmivu, jsme nezaznamenali vyšších aktivit transamináz proti kontrole. Zvýšenou aktivitou GOT u pokusné skupiny připisujeme stejným faktorům jako u skupiny kontrolní. Nelze ji však připisovat vlivu arsanilové kyseliny.

Leucinaminopeptidáza byla u pokusné i kontrolní skupiny slepic vysoká,

I. Aktivita enzymů kontrolní a pokusné skupiny slepic (arsanilová kyselina)

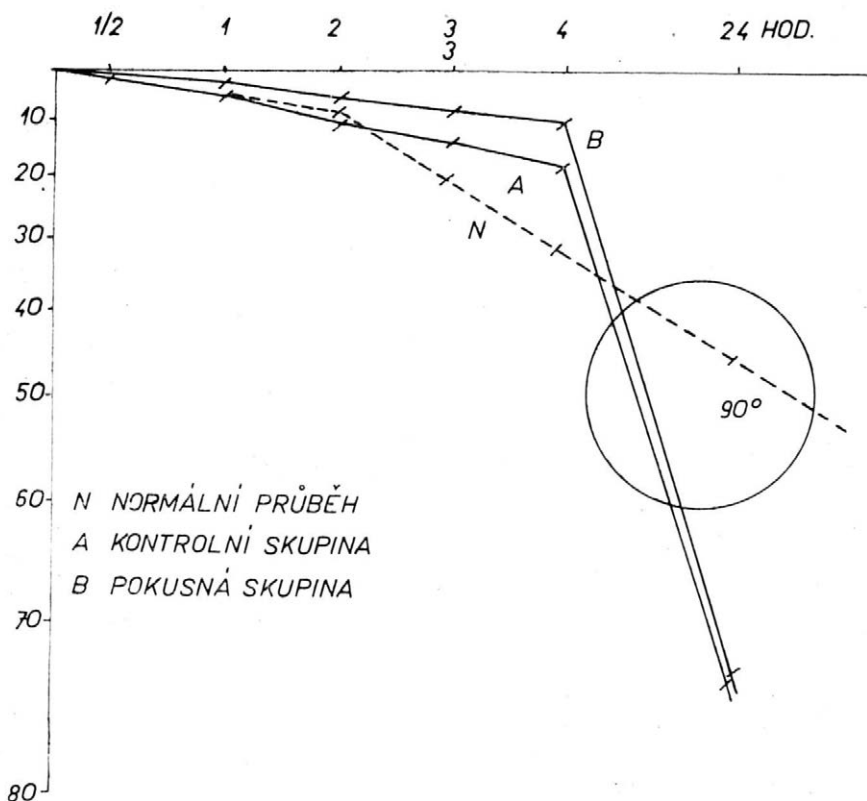
Druh	Počet	Stáří	Délka aplikace	GOT	GPT	LAP	Bo	B _i
Kontrolní	20	2–3r.	3měs.	$\bar{x}$ 4,5 s 0,44 3,4–5,2	$\bar{x}$ 0,3 s 0,06 0,2–0,4	$\bar{x}$ 24,6 s 2,75 15,0–29,0	$\bar{x}$ 0,04 0,0–0,05	$\bar{x}$ 0,18 s 0,028 0,11–0,22
Pokusné	23	2–3r.	3měs.	$\bar{x}$ 4,0 s 0,855 3,5–6,5 P > 0,05	$\bar{x}$ 0,3 s 0,057 0,2–0,4 P > 0,05	$\bar{x}$ 23,2 s 3,35 12,2–28,2 P < 0,05	$\bar{x}$ 0,04	$\bar{x}$ 0,172 s 0,03 0,1–0,25 P > 0,5

II. Hematologické výsledky

Druh	Ery v mil.	Le v tis.	HK	Hb g%	Počet
Kontrolní	$\bar{x}$ 2,23 1,52–2,53 s 367,220	16,2–39,6 s 2,179	21,5–26,5	5,91 4,5–9,1 s 0,21	20
Pokusné	3,1 1,71–4,52 s 296,312 P < 0,01	15,3–27,0 s 3,060 P < 0,01	24,0–29,0	6,83 5,27–7,62 s 0,32 P < 0,05	23

v porovnání s ostatními domácími zvířaty a odpovídala normálním nálezům u slepic v krevním séru (24mM). Nezaznamenali jsme rozdíl v její aktivitě u skupiny kontrolní a pokusné.

Přímý bilirubin byl blízký nulovým hodnotám u obou skupin. Hladina celkového bilirubinu se pohybovala u obou skupin v průměru od 0,17 do



Průběh sedimentace krevní u slepic s arsanilovou kyselinou

0,18 mg %. Tyto hodnoty považujeme za mírně zvýšené (u slepic 0,12 mg %). Pravděpodobně se zde uplatnily změny na játrech.

Výsledky hematologického rozboru obou skupin slepic nejsou ve všech ukazatelích shodné. U pokusné skupiny slepic jsme zaznamenali v průměru o 900 000 erytrocytů více. Zvýšený počet erytrocytů připisujeme hematoplastickému účinku arsanilové kyseliny. Hodnoty hemoglobinu však zůstaly nízké. Sedimentace krevní probíhala pomaleji u pokusné skupiny, což pravděpodobně souvisí s vyšší hodnotou erytrocytů.

Toxická arsanilová kyselina ve smyslu blokady sulfhydrylových skupin některých enzymatických soustav, jak je tomu např. u tří mocných sloučenin arsenu, nebyla pozorována (L a z a r e v N. Z. 1959). Kladný vliv arsanilové kyseliny se projevil u slepic zvýšeným počtem červených krvinek, ne však zvýšeným obsahem hemoglobinu.

ZÁVĚR

Při biochemickém sledování aktivit transamináz kyseliny glutamové oxalacetové, kyseliny glutamové pyrohroznové, leucinaminopeptidázy, přímého a celkového bilirubinu v krevním séru slepic, kterým byla zkrmována arsanilová kyselina, jsme neprokázali změn v uvedených ukazatelích. Zajímavé jsou výsledky aktivity leucinaminopeptidázy u obou skupin slepic. Její aktivita se pohybovala v mezích od 12 do 29 mikromolů a je to námi dosud nejvyšší naměřená aktivita u domácích zvířat. Arsanilová kyselina, byla-li podávána ve směsi krmiva v dávce 20 g na 220 kg po dobu 3 měsíců, nepůsobila při 4týdenním přerušení toxicky. Naopak kladný vliv arsanilové kyseliny u slepic se jevil ve vyšším počtu erytrocytů.

Došlo dne 25. 10. 1965

Literatura

1. A. A. ALBANESE: Newer Methods of Nutritional Biochemistry, Academic Press, New York, London, 1963. — 2. Arthur GROLLMANN: Pharmacology and Therapeutics, Philadelphia 1962. — 3. F. HAUSCHILD: Pharmakologie u. Grundlage der Toxikologie, Leipzig 1960. — HOLOMAN K.: Toxikologie, Osveta Martin 1958. — 5. HUTYRA F., MAREK J., MANINGER R., MÓCSY J.: Specielle Pathologie u. Therapie der Haustiere. G. Fischer Verlag, Jena 1954. — 6. KLIMEŠ B., CELER V.: Vhodnost metod pro počítání krvinek drůbeže, obsah hemoglobinu a leukogram zdravých slepic. = „Vet. čas.“ 4, 1960 : 341. — 7. KRÁL F.: Vnitřní choroby I a II, Brno 1946. — 8. KNUD O., MOLLER H.: Farmakologie, Basel 1961. — 9. LAZAREV N. Z.: Chemické jedy v průmyslu. SZN Praha 1959. — 10. LEBDUŠKA J.: Veterinární farmakologie, receptura a toxikologie léčiv I. a II. díl, SPN Praha 1953. — 11. LUKÁČOVÁ M., FRIED K.: Písemné sdělení. — 12. L. MAYER Jones: Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Philadelphia 1959. — 13. POJER J. a spol.: Enzymologie srdečního infarktu. Thomayerova sbírka 421, SZN Praha 1963. — 14. RUSŇÁK Š.: Stanovení bilirubinu v krevním séru. = „Scripta med. Fac. Brunensis“ 1962. — 15. SCHERMER S.: Die Blutmorphologie der lab. Tiere. J. A. Barth Verlag, Leipzig 1958. — 16. TETTENBORN D.: Untersuchungen über die Aktivität einiger Enzyme im Blutplasma gesunder Hühner. = „B. M. t. Wschr.“ 20, 1964 : 399.

Влияние арсанитовой кислоты в кормовых смесях на активность трансаминазы (GOT, GPT, LAP) и на количество красных кровяных телец и билирубина кровяной сыворотки у кур

При биохимическом исследовании активности трансаминаз глутаминовой щавелевоуксусной кислоты, глутаминовой пировиноградной кислоты, лейцинаминопептидазы, прямого и общего билирубина в кровяной сыворотке кур, которым скармливали арсанитовую кислоту,

изменения приведенных показателей нами доказаны не были. Небезынтересны результаты активности лейцинаминопептидазы у обеих групп кур. Ее активность находилась в пределах 12—29 микромолей, это самая высокая установленная нами активность домашних животных. В том случае, когда арсанитовая кислота подавалась в кормосмеси в дозе 20 г на 220 кг в течение 3 месяцев, ее действие при 4 недельной паузе не было токсическим. Наоборот, положительное влияние арсанитовой кислоты можно усматривать в увеличенном количестве эритроцитов.

Influence of Arsanilic Acid in Feed Mixtures on the Activities of Transaminase (GOA, GPA and LAP) and on the Blood-Cell Count and Bilirubin Level in the Blood Serum of Hens

We have not proved any changes in the activities of the transaminases of glutamic oxalacetic acid, glutamic pyruvic acid, leucinaminopeptidase, in direct and total bilirubin in the blood serum of hens fed on arsanilic acid, when investigating the mentioned indices biochemically. The results of the LAP-activity in both groups of hens are interesting. Its activity varied within the limits of 12 to 29 micromoles, representing thus the highest activity in domestic animals that we have recorded so far. If arsanilic acid was applied in a feed mixture at a dose of 20 g per 220 kg for 3 months, it did not produce any toxic effect at a following 4 weeks' interval. On the contrary, a favourable effect of arsanilic acid in hens was expressed in a higher amount of erythrocytes.

Der Einfluß der Arsanilsäure in den Futtergemischen auf die Aktivität der Transaminase (GOS), GBS und LAP und auf die Anzahl der Blutkörperchen und des Bilirubins des Blutserums bei Hühner

Bei der biochemischen Verfolgung der Transaminasen-Aktivität der Glutamin-Oxalessigsäure, der Glutamin-Brenztraubensäure, der Leuzin-Aminopeptidase, des direkten und gesamten Bilirubingehaltes im Blutserum der Hühner, den die Arsanilsäure verfüttert wurde, haben wir keine Veränderungen in den angeführten Kennwerten nachgewiesen. Interessant sind die Ergebnisse der Aktivität der Leuzinaminopeptidase bei beiden Hühnergruppen. Ihre Aktivität bewegte sich in einer Spanne von 23 bis 29 Mikromolen und das ist bis jetzt die höchste von uns gemessene Aktivität bei Haustieren. Wenn die Arsanilsäure im Mischfutter in einer Ration von 20 gr je 220 kg in einer Dauer von 3 Monaten verabreicht wurde, war ihre Wirkung bei einer 4 Wochen dauernden Pause nicht toxisch. Im Gegenteil, der positive Einfluß der Arsanilsäure bei Hühnern kam durch eine höhere Anzahl des Erythrozyten zum Vorschein.

Podepsáno k tisku 19. 11. 1966.

Adresa autora:

MVDr. Lubomír Šlesinger, Výzkumný ústav krmivářský, Pohořelice

THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
PUBLISHED WEEKLY
CHICAGO, ILL., MAY 1, 1914
Vol. 11, No. 18
Price, Five Cents

THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
PUBLISHED WEEKLY
CHICAGO, ILL., MAY 1, 1914
Vol. 11, No. 18
Price, Five Cents

THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
PUBLISHED WEEKLY
CHICAGO, ILL., MAY 1, 1914
Vol. 11, No. 18
Price, Five Cents

THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
PUBLISHED WEEKLY
CHICAGO, ILL., MAY 1, 1914
Vol. 11, No. 18
Price, Five Cents

THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
PUBLISHED WEEKLY
CHICAGO, ILL., MAY 1, 1914
Vol. 11, No. 18
Price, Five Cents

THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
PUBLISHED WEEKLY
CHICAGO, ILL., MAY 1, 1914
Vol. 11, No. 18
Price, Five Cents

THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
PUBLISHED WEEKLY
CHICAGO, ILL., MAY 1, 1914
Vol. 11, No. 18
Price, Five Cents

THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
PUBLISHED WEEKLY
CHICAGO, ILL., MAY 1, 1914
Vol. 11, No. 18
Price, Five Cents

THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
PUBLISHED WEEKLY
CHICAGO, ILL., MAY 1, 1914
Vol. 11, No. 18
Price, Five Cents

THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
PUBLISHED WEEKLY
CHICAGO, ILL., MAY 1, 1914
Vol. 11, No. 18
Price, Five Cents

Boďa K., Várady J.: Inhibícia bachorovej ureázy a jej vplyv na utilizáciu NH_3	695
Bartoš J., Lebduška J.: Dezinfekční účinnost koncentráty obsahujícího kyselý jodičnan draselný, jodid draselný a kyselinu solnou na <i>Mycobacterium phlei</i>	703
Žák O., Dubaj J.: Lyofilizácia živej červienkovej vakcíny z kmeňa WR 2	711
Sokol J., Gdovin T.: Vplyv perkutánnej aplikácie trichlorofónu na zdravotný stav hovädzieho dobytku so zreteľom k aktivite cholinesterázy	721
Rodák L., Černá J.: Patomorfologické nálezy u kohoutů a slepic po celotělovém ozáření rtg paprsky	727
Šlesinger L.: Vliv kyseliny arsanilové v krmných směsích na aktivity transamináz (GOT, GPT a LAP) a na počet krvi- nek a bilirubinu krevního séra u slepic	735

СОДЕРЖАНИЕ

Бодя К., Варади Й.: Ингибирование рубцовой уреазы и ее влияние на утилизацию NH_3 (702). — Бартош Я., Лебдушка Я.: Дезинфицирующее действие концентрата, содержащего кислый йодноватокислый калий и соляную кислоту, на *Mycobacterium phlei* (708). — Жак О., Дубай Й.: Лиофилизация живой рожистой вакцины из штамма WR 2 (718). — Сокол Й., Гдовин Т.: Влияние подкожного введения трихлорфона на состояние здоровья крупного рогатого скота с учетом активности холинстеразы (726). — Родак Л., Черна Й.: Патоморфологические диагнозы у петухов и кур после облучения всего тела рентгеновскими лучами (732). — Шлесингр Л.: Влияние арсанитовой кислоты в кормовых смесях на активность трансаминазы (GOT), GPT, LAP, на количество красных кровяных телец и билирубина кровяной сыворотки у кур (738).

CONTENT

Boďa K., Várady J.: Inhibition of the Rumen-Urease, and its Influence of the NH_3 Utilization (702). — Bartoš J., Lebduška J.: The Disinfectant Effectiveness of a Concentrate Containing Potassium Hydrogen Iodide, Potassium Iodide, and Hydrochloric Acid on *Mycobacterium phlei* (708). — Žák O., Dubaj J.: Lyophilisation of Live Swine Erysipelas Vaccine from the WR 2 Strain (718). — Sokol J., Gdovin T.: Effect of Percutaneous Application of Trichlorophon on the Health Condition of Cattle with regard to Cholinesterase Activity (726). — Rodák L., Černá J.: Pathomorphological Findings in Cocks and Hens after the Whole-Body Irradiation (732). — Šlesinger L.: Influence of Arsanilic Acid in Feed Mixtures on the Activities of Transaminase (GOT, GPT and LAP) and on the Blood-Cell Count and Bilirubin Level in the Blood Serum of Hens (739).

INHALT

Boďa K., Várady J.: Inhibition der Pansenurease und ihr Einfluß auf die NH_3 Utilisierung (res. E/702). — Bartoš J., Lebduška J.: Desinfektionswirksamkeit des Hydrogenjodat, Kaliumjodid und Salzsäure enthaltenden Konzentrats auf das *Mycobacterium phlei* (709). — Žák O., Dubaj J.: Die Lyophilisation der lebendigen Rotlaufvaccine aus dem Stamm WR 2 (719). — Sokol J., Gdovin T.: Einfluß der perkutanen Applikation des Trichlorophons auf den Gesundheitszustand des Rindes mit Rücksicht auf die Aktivität der Cholinesterase (726). — Rodák L., Černá J.: Pathomorphologische Befunde bei Hähnen und Hennen nach einer Körperbestrahlung mit Roentgenstrahlen (732). — Šlesinger L.: Der Einfluß der Arsanilsäure in den Futtergemischen auf die Aktivität der Transaminase (GOT, GPT und LAP) und auf die Anzahl der Blutkörperchen und des Bilirubins des Blutserums bei Hühner (739).

TABLE DES MATIÈRES

Bodá K., Várady J.: Inhibition de l'uréase du rumen et son influence sur l'utilisation de NH_3 (res. An/702). — Bartoš J., Lebduska J.: Influence désinfectrice du concentrat comprenant le biodate de potassium, l'iodure de potassium et l'acide chlorhydrique sur *Mycobacterium phlei* (res. An/708, Al/709). — Žák O., Dubaj J.: Lyophilisation de la vaccine vivante du rouget de la souche WR 2 (res. An/718, Al/719). — Sokol J., Gdovin T.: Influence de l'application cutanée du trichlorphone sur l'état sanitaire des bovins, vu l'activité de la cholinestérase (res. An/726, Al/726). — Rodák L., Černá J.: Constatations pathomorphologiques chez les coqs et poules après l'irradiation de leurs corps entiers par les rayons X (res. An/733, Al/733). — Šlesinger L.: Influence de l'acide arsénique dans les aliments composés sur l'activité des transaminases (GOT, GPT et LAP) et sur le nombre de globules rouges et le volume de bilirubine du sérum sanguin des poules (res. An/739, Al/739).

