

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

3

ROČNÍK 12 (XL)
PRAHA,
CENA 10 Kčs
BŘEZEN 1967

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝCH
INFORMACÍ MZLH

Řídí redakční rada

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 Žuffa, CSc.

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací MZLH, Praha 1967

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

ÚČINOK NIEKTORÝCH LIEČIV (APLIKOVANÝCH DO BACHORA A DO SLEZU) NA MOTORICKÚ ČINNOSŤ BACHORA

■ Terapeutické ovplyvnenie narušenej motoriky predžalúdkov pri ich sekundárnych dysfunkciách je stálym výskumníckym problémom so širokým praktickým významom. Používané liečivá majú rôzny mechanizmus účinku. Názory na ich terapeutický efekt sú často protichodné a mnohé dnes používané liečivá sú označované ako neúčinné, ba dokonca ako škodlivé.

LITERÁRNY PREHLAD

Terapeutické bádania o predžalúdkoch idú paralelne s fyziologickými výskumami a vzťahujú sa na jednotlivý alebo koordinovaný pohyb predžalúdkov, na fyzikálne a biochemické pomery v obsahu predžalúdkov, na mikroorganizmy bachora a na vzťahy medzi predžalúdkami a slezom.

Prvé snahy o terapiu dysfunkcií bachora sledovali ovplyvnenie vymiznutej ruminácie pri dysfunkciách cestou lokálneho dráždenia bachora zvonku (Wester 1926).

Pomerne dlhú dobu zaujali svoje miesto v terapii dysfunkcií bachora ruminatoria, najmä *Barium chloratum*, *Kalium stibiotartaricum*, lieh, vetratrinové preparáty a niektoré boli hodnotené ako optimálne prostriedky (Wester 1926). Ich vysoké dávky po aplikácii do slezu slúžili Westerovi (1931) ako látky vyvolávajúce zvracanie.

Práce Stücklina (1951), Diernhofera (1953), Petrovovej a spol. (1961) a iných vyvracajú vhodnosť účinku veratrinových preparátov a iných ruminatorií pri dysfunkciách predžalúdkov na základe experimentov (účinkov na bachorové pásy *in vitro*) i klinických skúseností.

Oganesjan (1954) okrem neúčinnosti veratrinových preparátov poukazuje aj na ich toxické prejavy. Cez to všetko ruminatoria majú svojich obhájcov (Florio 1955), pravda s vymedzenou indikáciou.

Rovnako použitie vagomimetík nenašlo svoje uplatnenie pre ich pomerne drastický účinok, nakoľko pri vyšších dávkach vyvolávajú až tetanické krče a spastické obrny čepca (Müller 1952).

Stomachiká hrali vždy len akúsi druhotnú úlohu v terapii chorôb predžalúdkov a Oganesjan (1945) poukazuje, že tieto v terapeutických dávkach podané *per os* nemajú vplyv na motoriku bachora ani u zdravých, ani u chorých zvierat. Poznatzky o fyziológii trávenia v bachore (Philipson 1955, Hoflund a spol. 1956 a iní) sa odrazili aj v terapii dysfunkcií predžalúdkov, a to jednak v úprave mikroflóry a mikrofauny bachora, ďalej v zavedení sodných a vápenatých solí kyseliny propionovej (Hoflund a spol. 1956, Russeff 1960, Rosenberger a Dirksen 1956) a v neutralizačných pochodoch pomocou vápnikových preparátov v kombinácii s antipyretikami (Diernhofer 1953).

Jednosmerná liečba zriedkavo prináša žiadúci efekt a dnes sa doporučuje prevažne komplexná terapia, dysfunkcií predžalúdkov (Slanina a Rossow 1963,

Gdovin a spol. 1964) s prihliadnutím na primárnosť alebo sekundárnosť ochorenia.

Cieľom práce bolo preveriť účinok bežne používaných ruminatorií a stomachík na motoriku predžalúdkov u zdravých a chorých zvierat objektívnymi metódami a síce po ich aplikácii do bachora a jednak do slezu pomocou reflexu pažerákového žlabu.

METODIKA A MATERIÁL

Pokusy boli robené na Katedre vnútorných chorôb párnokopytníkov Veterinárskej fakulty VSP v Košiciach u dospelých zdravých zvierat. (30 ks) u pacientov s primárnymi a sekundárnymi dysfunkciami predžalúdkov (18) zvierat.

Preskúšali sme tieto liečivá v dávkach:

Tinct. veratri — 15 ml rozmiešaná v 400 ml 25 % roztoku $MgSO_4$

Pulvis ruminatorius — jeden balíček rozmiešaný v 400 ml 25 % roztoku $MgSO_4$

Magnesium sulphuricum — 400 ml 25 % roztoku

HCl + *Tinct. gentianae* — 10 ml 37 % HCl a 25 ml *Tinct. gentianae* rozmiešané v 400 ml 25 % roztoku $MgSO_4$ doplnené do jedného litra *Aqua fontis*.

Liečivá boli podávané do bachora pažerákovou sondou, vyúsťujúcou do oblasti pažerákového žlabu, u druhej skupiny irigátorom do ústnej dutiny s vyvolaním reflexu pažerákového žlabu (Wester 1930, Slanina 1961) teda priamo do slezu. Roztoky v oboch prípadoch boli cca 30 °C teplé.

Kvôli rovnakým podmienkam bol $MgSO_4$ ako prostriedok vyvolávajúci reflex použitý v rovnakej koncentrácii a dávke aj pri aplikácii do bachora.

Liečivá boli aplikované 3 hodiny po kŕmení, keď interoreceptorické dráždenie novým krmivom bolo dosť ustálené (Slanina 1960). Počas trvania pokusu (2–4 hod.) zvieratám nebolo podávané krmivo ani voda. V predpokuse bola preveraná doba účinku jednotlivých liečiv so sledovaním 8 hod. v hodinových intervaloch a stanovená potrebná doba na sledovanie.

Účinok liečiv na motoriku bol sledovaný mechanickým rumenografom a sledovaním výskytu ruminácie. Rumenogramy boli vyhodnocované vlastnou metódou (Slanina 1961) a bol braný zreteľ najmä na frekvenciu bachorových kontrakcií za dobu 10 min., ďalej na rytmicitu amplitúd, bachorové cykly a intenzitu kontrakcií.

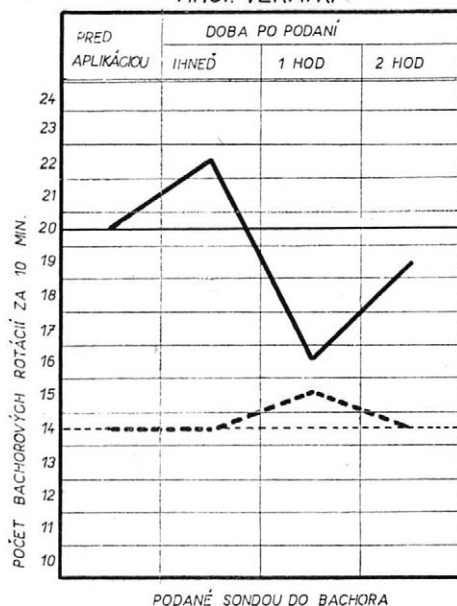
Priemerné hodnoty frekvencie bachorových rotácií boli nanášané na grafy a síce nahoru u zdravých (plná čiara) a dolu u chorých zvierat (prerušovaná čiara). Pri pokusoch sa bral zreteľ aj na eventuálny účinok na slez a črevný systém, avšak v priebehu pokusu neobjavili sa u nich žiadne poruchy.

VÝSLEDKY

1. *Tinct. veratri* APLIKOVANÁ DO BACHORA (GRAF 1)

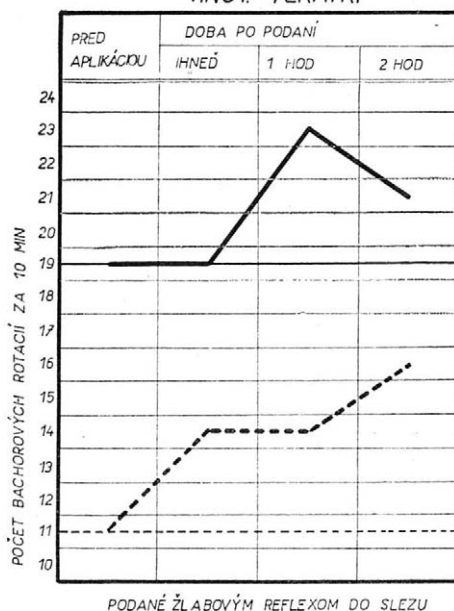
U zdravých zvierat (5 kusov) po počiatčnom miernom vzostupe frekvencie bachorových rotácií za jednu hodinu po aplikácii táto zreteľne poklesla až o 23 % a po dvoch hodinách mierne stúpila, ale nedosiahla východných hodnôt. Po jednej hodine objavila sa zreteľná arytmia u 3 zvierat, prejavujúca sa miestnym nahlúčením kontrakcií a miestami tiež osamostatnením bachorových cyklov. Doba kontrakcií sa predĺžila a intenzita zvýšila. Po druhej hodine je nález rovnaký ako po prvej.

TINCT. VERATRI



Graf 1. Priemerná frekvencia bachorových rotácií (zistená rumenografom) po aplikácii *Tinct. veratri* do bachora u zdravých zvierat (plná čiara) a u zvierat s dysfunkciami predžalúdkov (prerušovaná čiara)

TINCT. VERATRI



Graf 2. Priemerná frekvencia bachorových rotácií po aplikácii *Tinct. veratri* do slezu u zdravých a chorých zvierat

Ruminácia sa dostavila len v jednom prípade po 1 hod.

U chorých zvierat (2 kusy) frekvencia bachorových rotácií nepatrne stúpila po jednej hodine, k druhej hodine však poklesla k východzej hodnote. Kvalitatívne zmeny na rumenograme sa nedostavili. K ruminácii nedošlo.

2. *Tinct. veratri* APLIKOVANÁ DO SLEZU (GRAF 2)

U zdravých i chorých zvierat nastali podstatne odlišné prejavy ako v prvej skupine.

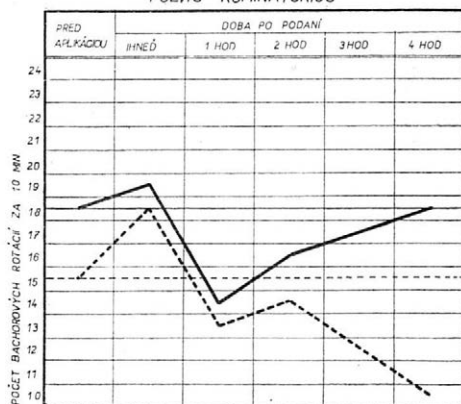
U zdravých zvierat (5) došlo zreteľne k zvýšenej frekvencii bachorových rotácií po jednej hodine (až o 25 %), tieto v druhej hodine nepatrne poklesli, ale zostali nad východzu hodnotou. Kvalitatívne zmeny sa prejavili opäť v miestnom nahlúčení bachorových cyklov, intenzita amplitúd zostala nezmenená. U všetkých 5 zvierat došlo v pozorovanej dobe k ruminácii.

U chorých zvierat (2) došlo k zreteľne zvýšenej frekvencii bachorových rotácií až po 10 min. a po 2 hod. mala táto ešte stúpajúcu tendenciu. Rovnako intenzita kontrakcií sa zvýšila. K ruminácii nedošlo.

3. *Pulvis ruminatorius* APLIKOVANÝ DO BACHORA (GRAF 3)

U zdravých zvierat (4) po počiatočnom miernom vzostupe rotácií, tieto poklesli k druhej hodine, opäť stúpili a po 4 hodinách dosiahli východzie hodnôt. Kvalitatívne zmeny: pokles intenzity kontrakcií s kulmináciou po 2 hodinách. narušenie rytmu.

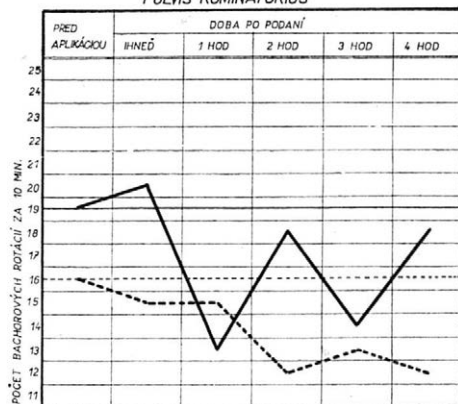
PULVIS RUMINATORIUS



PODANÉ SONDOU DO BACHORA

Graf 3. Frekvencia bachorových rotácií po aplikácii *Pulvis ruminatorius* do bachora u zdravých zvierat (plná čiara) a u zvierat s dysfunkciami predžalúdkov (prerušovaná čiara)

PULVIS RUMINATORIUS



PODANÉ ŽLABOVÝM REFLEXOM DO SLEZU

Graf 4. Frekvencia bachorových rotácií po aplikácii *Pulvis ruminatorius* do slezu u zdravých zvierat (plná čiara) a u zvierat s dysfunkciami predžalúdkov (prerušovaná čiara)

U chorých zvierat (3) za 10 min. po aplikácii došlo k zreteľnému vzostupu frekvencie (o 20 %), avšak k jednej hodine nápadne poklesla až pod východziu hodnotu a ešte k štvrtej hodine mala klesajúcu tendenciu. Kvalitatívne zmeny: pokles intenzity amplitúd, arytmia zostala ako pôvodne alebo sa ešte zvýraznila. K ruminácii nedošlo.

4. *Pulvis ruminatorius* APLIKOVANÝ DO SLEZU (GRAF 4)

U zdravých zvierat (4) došlo k zreteľnému poklesu frekvencie bachorových rotácií a ani po 4 hodinách sa frekvencia neupravila. Kvalitatívne zmeny na rumenograme: arytmia s osamostatnením prvého bachorového cyklu, nepravidelná intenzita kontrakcií. Kvalitatívne zmeny sa k 4. hodine upravujú. Ruminácia sa objavila v jednom prípade.

U chorých zvierat (3) frekvencia rotácií mala stále klesajúci charakter i v 4. hodine, keď pokles predstavoval 25 % z pôvodnej hodnoty. Kvalitatívne zmeny na rumenograme: zvýraznenie arytmie a pokles intenzity po celú pozorovaciu dobu. K ruminácii došlo v jednom prípade.

5. *Magnesium sulphuricum*

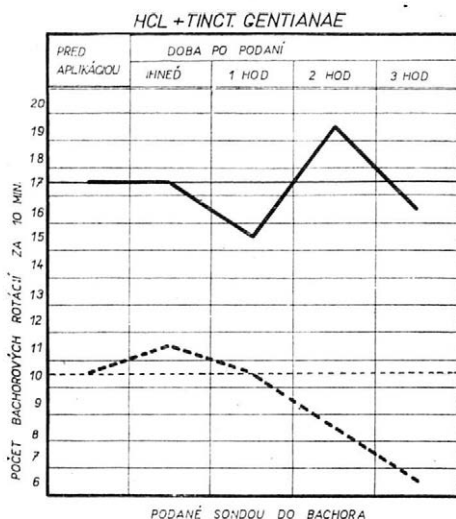
bolo aplikované do bachora u 2 zdravých a u jedného chorého zvieraťa a do slezu u dvoch zdravých a jednej chorej kravy. Bolo preskúšané len kvôli tomu, že bol používaný pri ostatných pokusoch.

Pri aplikácii do bachora nemalo nijaký pozoruhodnejší odraz na motoriku bachora.

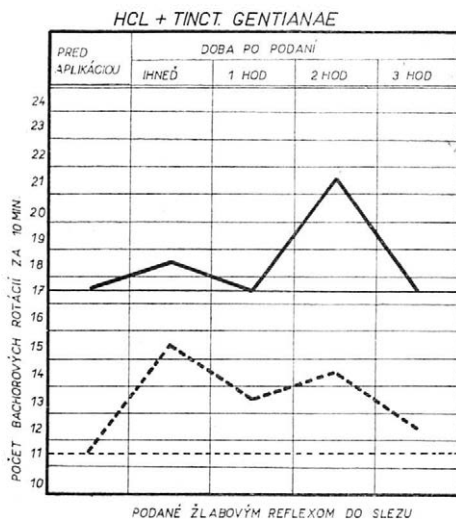
Pri aplikácii do slezu bol zaznamenaný u chorého zvieraťa nepatrný stimulačný vplyv.

6. *HCl + Tinct. gentianae* APLIKOVANÉ DO BACHORA (GRAF 5)

U zdravých i chorých zvierat nedošlo k pozoruhodnejšiemu účinku na motoriku bachora.



Graf 5. Frekvencia bachorových rotácií po aplikácii HCl + Tinct. gentianae do bachora u zdravých zvierat (plná čiara) a u zvierat s dysfunkciami predžalúdkov (prerušovaná čiara)



Graf 6. Frekvencia bachorových rotácií po aplikácii HCl + Tinct. gentianae do slezu u zdravých zvierat (plná čiara) a u zvierat s dysfunkciami predžalúdkov (prerušovaná čiara)

U zdravých zvierat (4) frekvencia bachorových rotácií po jednej hodine mierne poklesla, po druhej mierne stúpla nad východziu hodnotu a k tretej hodine opäť poklesla. Kvalitatívne úchyľky na rumenografe sme nenašli. Ruminácia sa nedostavila.

U chorých zvierat (3) frekvencia bachorových rotácií po počiatocnom miernom vzostupe klesala. Z kvalitatívnych zmien sa zvýraznili arytmie. K ruminácii nedošlo.

7. HCl + Tinct. gentianae APLIKOVANÉ DO SLEZU (GRAF 6)

Oproti predchádzajúcej skupine nastali zreteľne rozdielne stimulačné prejavy na motoriku bachora u zdravých i chorých zvierat.

U zdravých zvierat (4 zvieratá) frekvencia bachorových rotácií zreteľne stúpla s kulmináciou po dvoch hodinách a k tretej hodine poklesla na východziu hodnotu. Kvalitatívne úchyľky sa nedostavili. K ruminácii došlo u 3 zo 4 prípadov.

U chorých zvierat (3 zvieratá) frekvencia bachorových rotácií zreteľne stúpla ihneď po aplikácii (až o 35 %), potom mierne klesla a po 3 hodinách bola ešte zvýšená oproti východším hodnotám. Pôvodné arytmie na rumenografe sa zreteľne zmiernili. K ruminácii nedošlo.

ZHODNOTENIE VÝSLEDKOV A DISKUSIA

Teraupetické ovplyvnenie motoriky predžalúdkov u primárnych dysfunkcií hrá podradný význam, nakoľko tieto vyžadujú úpravu základných porúch v narušenej mikroflore bachora a biochemizmu bachorového prostredia (Gdovin, Slanina a spol. 1964). Avšak u sekundárnych dysfunkcií predžalúdkov, ktoré často prevažujú nad primárnymi, stimulácia motoriky je dôležitým teraupetickým zásahom, na-

koľko zmeny mikroflóry a biochemizmu tu neprichádzajú do úvahy alebo sú len nepatrného stupňa.

Nami preskúšané prostriedky, bežne používané v terapii dysfunkcií predžalúdkov, ukázali podstatne rozdielny účinok na motoriku bachora, podobne aj ich spôsob aplikácie do bachora, alebo do slezu. To isté liečivo má nepatrný vplyv na motoriku pri aplikácii do bachora (HCl + *Tinct. gentianae*), kým aplikácia do slezu má zreteľný stimulačný účinok tak u zdravých, ako aj chorých zvierat. Dysfunkcie predžalúdkov traumatického pôvodu sú výnimkou, nakoľko stimulácia motoriky predžalúdkov u nich je kontraindikovaná.

Tinctura veratri sa ukázala byť nevhodným stimulačným prostriedkom na motoriku bachora, čo je v súlade s údajmi Diernhofera (1953), Oganessjana (1954), Stücklina (1951) a iných a v protiklade s údajmi Petrovovej a Gorjainovej (1961), Jonova a Timoškina (1961), ktorí však hodnotili jej účinko len na základe klinického pozorovania. Už terapeutické dávky viedli k nahromadeniu kontrakcií bachora v krátkom časovom intervale s následnými dlhými pauzami, čo odpovedá podľa skorších našich zistení (Slanina 1961) spastickej činnosti bachora. Podobný, ba ešte výraznejší inhibičný vplyv na motoriku so súčasným objavením sa spastických kontrakcií sme zistili po špecialite *Pulvis ruminatorius*, ktorá obsahuje okrem iného aj *Radix veratri*. Je možno predpokladať, že pri užití opakovaných predpísaných dávok negatívny vplyv na motoriku sa ešte prehĺbi a zväznie.

Z celej skupiny skúšaných prostriedkov ukázala sa byť vhodná jedine zmes stomachík (HCl + *Tinct. gentianae*) aplikovaná do slezu. Z literatúry sú známe spätne účinky stimulácie predžalúdkov cez slez, či už po priamom mechanickom podráždení interoreceptorov (Zavoronkov 1961) alebo po aplikácii propionátov do slezu, prípadne parenterálne (Russeff 1960). Nami zistený stimulačný účinok zmesi stomachík na motoriku bachora je možno vysvetliť na podobnom mechanizme a možno ho doporučiť pre praktické použitie v terapii sekundárnych dysfunkcií predžalúdkov.

ZÁVER

Bol preskúšaný účinok *Tinct. veratri*, *Pulvis ruminatorius*, *Magnesium sulphuricum* a zmesi HCl s *Tinct. gentianae* na motoriku bachora u 30. zdravých zvierat a u 18 zvierat s dysfunkciami predžalúdkov. Uvedené prostriedky boli aplikované v jednej skupine do bachora, v druhej do slezu pomocou reflexu pažerákového žľazu. Účinok na motoriku bachora bol sledovaný rumenograficky.

Výsledky ukázali, že *Tinct. veratri* aplikovaná do bachora má nevhodný účinok na motoriku bachora: znižuje frekvenciu, zvyšuje arytmiu a vyvoláva kŕčovité kontrakcie bachora. Pri aplikácii do slezu má mierny stimulačný účinok, ale kvalitatívne poruchy sú rovnaké, ako po aplikácii do bachora. *Pulvis ruminatorius* mal inhibičný vplyv na motoriku bachora pri oboch spôsoboch aplikácie.

Magnesium sulphuricum nemalo nijaký účinok na motoriku bachora.

Zmes stomachík (HCl + *Tinct. gentianae*) pri aplikácii do bachora bola takmer bez účinku, kdežto po aplikácii do slezu u zdravých i chorých zvierat došlo k zvýšeniu frekvencie po dobu 3 hodín a k úprave kvalitatívnych úchyliet na rumenograme. Ich aplikácia do slezu je vhodnou terapeutickou metódou najmä pri sekundárnych dysfunkciách predžalúdkov, s výnimkou dysfunkcií traumatického pôvodu.

Došlo dňa 10. 1. 1966

Literatúra

1. DIERNHOFER K.: Diagnose und Behandlung der Indigestionen des Rindes. = „Wien. tierärztl. Mnschr.“ 9, 1953, 513-547. — 2. JONOV P. S. - TIMOŠKIN Z. F.: Primenenie nastojki beloj čemericy pri atonijach predželudkov. = „Veteri-

narija" 38, 1961, 64-65. — 3. FLORIO R.: Sur un traitement original des indigestions des bovins. = „Rév. méd. vét.“ 106, 1955, 321-325. — 4. GDOVIN T. - SLANINA L. a spol.: Vnútorné choroby párnokopytníkov. SVPI Bratislava 1964. — 5. HOFUND S. - NORDSTRÖM G. - HALLGREEN W.: Azetonaemiebehandlung mit Natriumpropinat. = „Dtsch. tierärztl. Wsch.“ 63, 1956, 125-128. — 6. MÜLLER D.: Experimentelle Untersuchungen über die Hauben und Pansenbewegungen unter Einwirkung einiger Pharmaka. Diz. Berlin 1952. — 7. OGANESJAN P. A.: Novye metody lečenia nezaraznych boleznej. = „Armjan. gosud. izdat.“, Erevan 1954. — 8. PHILLIPSON A. T. V.: Advances in veterinary science. = „Acad. Press“, New York. Vol. 2, 1955. — 9. PETROVA E. V. - GORJAINOVA Z. S.: Vlijanie nastojki beloј čemericy na motoriku predželudkov. = „Veterinarija“ 38, 1961, 55-56. — 10. ROSENBERGER G. - DIRKDEEN G.: Erfahrungen mit der ACTH-Behandlung der Azetonurie des Rindes. = „Dtsch. tierärztl. Wsch.“ 63, 1956, 235-237. — 11. RUSSEFF W.: Untersuchung des Einflusses des Propionsäure bei der Labmagensekretion der Schafe. = „Tierärztl. Umschau“ 15, 1950, 244-245. — 12. SLANINA L.: Vonkajšie a vnútorné ovplyvnenie motoriky bachora u hov. dobytku. = „Vet. čas.“ 9, 1960, 521-534. — 13. SLANINA L. - ROSSOW N.: Zur Therapie und Prophylaxe einiger Erkrankungen des Vormagen-Labmagen-Komplexes. = „Mh. Vet. Med.“ 18, 1963, 930-932. — 14. SLANINA L.: Motorická činnost predžalúdkov u zdravých a chorých prezúvavcov. Kand. diz. práca, Brno 1960. — 15. STÜCKLIN K.: Zur Pharmakologie der Rhizoma Veratri an Wand und Inhalt des Pansens beim Rinde. Diz. Zürich 1951. — 16. WESTER J.: Die Physiologie und Pathologie der Vormägen beim Rinde. G. Schoetz, Berlin 1926. — 17. ŽAVORONKOV I. N.: Reflektornaja vzaimozavisimost' motornoj funkcii otdelov želúdočno-kišečnogo trakta u ovec. Kand. diz. Moskva 1961. — 18. WESTER J.: Schlundrinnereflex beim Rind. = „Dtsch. tierärztl. Wsch.“ 46, 1930, 397-402. — 19. WESTER J.: Das Erbrechen bei Wiederkäuern. = „Berl. tierärztl. Wsch.“ 47, 1931, 237-240.

Действие некоторых лекарств (вводимых в рубец и сычуг) на двигательную деятельность рубца

Действие Tinct. veratri, Pulvis ruminatorius, Magnesium sulphuricum и смеси HCl с Tinct. gentianae на двигательную деятельность рубца испытывалось на 30 здоровых животных и на 18 животных с функциональным расстройством первых трех отделов желудка. Названные средства применялись в одной группе в рубец, а у другой группы в сычуг при помощи рефлекса глотки. Действие на двигательную деятельность рубца наблюдалось руменографическим методом.

Результаты показали, что Tinct. veratri при применении в рубец оказывает неблагоприятное влияние на его двигательную деятельность: она снижает частоту, повышает аритмичность и вызывает судорожные сокращения рубца. При введении в сычуг она оказывает умеренное стимулирующее действие, но качественные нарушения такие же, как и при введении в рубец. Pulvis ruminatorius оказывал ингибирующее влияние на двигательную деятельность рубца при обоих способах введения. M. sulphuricum не оказывала никакого действия на двигательную деятельность.

Смесь желудочных средств (HCl + Tinct. gentianae) при введении в рубец не оказывала почти никакого действия, тогда как при введении в сычуг у здоровых и больных животных настало повышение частоты в продолжение 3 часов и восстановление качественных отклонений на руменограмме. Применение этой смеси в сычуг является целесообразным терапевтическим методом, в особенности при вторичных функциональных расстройствах в первых трех отделах желудка, за исключением функциональных расстройств травматического происхождения.

The Effect of Some Drugs (applied in the Rumen and in the Abomasum) on the Motoricity of the Rumen

The effect of Tinct. veratri, Pulvis ruminatorius, Magnesium sulphuricum, and of a mixture of HCL and Tinct. gentianae on the motoricity of the rumen was tested in 30 healthy animals and in 18 animals with dysfunctions of the rumen. The mentioned preparations were applied to the rumen in one group and to the abomasum in the second group by means of the reflex on the pharynx. The effect on the motoricity of the rumen was investigated rumenographically.

The results obtained showed that Tinct. veratri applied into the rumen exercises an unsuitable effect on the motoricity of the rumen: it lowers the frequency, it increases the arrhythmia and causes spasmodic contractions of the rumen. If applied into the abomasum, it has a slightly stimulative effect, but the qualitative disturbances are the same as after application into the rumen. Pulvis ruminatorius had an inhibitive effect on the motoricity of the rumen with both methods of application. Magnesium sulphuricum had no effect whatsoever on the motoricity of the rumen.

The mixture of stomachics (HCL + Tinct. gentianae) applied into the rumen was almost without any effect, whereas if applied into the abomasum of healthy and of sick animals, there occurred an increased frequency for 3 hours and an adjustment of qualitative deviations on the rumenogram. Their application into the abomasum is a suitable therapeutical method particularly in the case of secondary dysfunctions of the rumen with the exception of dysfunctions of traumatic origin.

Wirkung einiger Medikamente (die in den Pansen und in den Labmagen appliziert wurden) auf die motorische Tätigkeit des Pansens

Es wurde die Wirkung der Tinct. veratri, Pulvis ruminatorius, Magnesium sulphuricum und der gemischten Lösungen der HCL mit Tinct. gentianae auf die motorische Tätigkeit des Pansens bei 30 gesunden Tieren und bei 18 Tieren mit Dysfunktionen der Vormägen überprüft. Die angeführten Mittel wurden bei einer Gruppe in den Pansen appliziert, in der zweiten Gruppe in den Labmagen mit Hilfe des Reflexes der Schlundrinne (Sulcus aësofaryngicus). Die Wirkung auf die motorische Tätigkeit des Pansens wurde rumenographisch verfolgt.

Die Ergebnisse beweisen, daß die Tinct. veratri, die in den Pansen appliziert wurde, einen ungünstigen Einfluß auf die motorische Tätigkeit ausübt: Herabsetzung der Frequenz, Erhöhung der Arrhythmie und ruft krampfartige Kontraktionen des Pansens hervor. Die Applikation der Tinct. veratri in den Labmagen hat eine mild stimulierende Wirkung, aber die qualitativen Störungen sind dieselben, wie nach der Applikation in den Pansen. Pulvis ruminatorius übte auf die motorische Tätigkeit des Pansens bei beiden Applikationsarten einen inhibitorischen Einfluß aus.

Magnesium sulphuricum hatte keine Wirkung auf die motorische Tätigkeit des Pansens.

Die gemischten Lösungen von Stomachica (HCL + Tinct. gentianae) waren bei der Applikationen in den Pansen bereits ohne Wirkung, während nach der Applikation in den Labmagen bei gesunden und kranken Tieren eine Erhöhung der Frequenz im Zeitaschnitt von 3 Stunden und eine Regelung der qualitativen Abweichungen auf dem Rumenogramm verzeichnet werden konnten.

Die Applikationen dieser gemischten Lösungen in den Labmagen ist eine geeignete therapeutische Methode vor allem bei sekundären Dysfunktionen der Vormägen, mit Ausnahme der Dysfunktionen traumatischer Herkunft.

Adresa autorov:

Doc. MVDr. Ľudovít Šlanina, CSc., MVDr. Ľudovít Králik,
VSP, veterinárska fakulta, katedra vnútorných chorôb párnokopytníkov,
Košice, Komenského 71

■ Úkolem tohoto výzkumu, prováděného v letech 1962–1964, bylo jednak zjistit *in vitro* účinnost některých léků používaných v terénu při léčbě infekčních průjmů telat a jednak navrhnouti pro klinické zkoušení v terénu nové účinnější látky.

MATERIÁL A METODIKA

Kmeny *E. coli* jsme izolovali z nemocných (rektální výtěry) nebo uhynulých (střeva, orgány) telat z 28 zemědělských závodů převážně Jihomoravského kraje. Ve většině závodů jsme současně prováděli léčbu infekční gastroenteritidy telat.

Zkumavkovou dlužní metodou při použití standardního bujonu bez purinů (Hejzlar a Výmola 1962) jsme přezkoušeli 300 kmenů *E. coli* na citlivost k 8 látkám.

Ze skupiny nitrofuránových derivátů jsme testovali 4 látky:

N-5-nitro-2-furfuryliden-3-amino-2-oxazolidon (Furazolidon)

5-nitrofural-2-oxim (Nifuroxim)

5-nitro-2-furaldehyd semicarbazon (Nitrofurazon)

N-(5-nitro-2-furfuryliden)-1-aminohydantoin (Furadantin)

Ze skupiny antibiotik jsme testovali 4 látky:

chlortetracyklin (Aureomykoin injekce à 250 mg)

streptomycin (*Streptomycinum sulfuricum* à 500 000 m. j. sovětský preparát pro i. m. aplikaci)

neomycin (*Neomycinum sulfuricum* à 1 g base) a

chloramfenikol (*Chloramphenicol solubile* pro inj. à 1 g base).

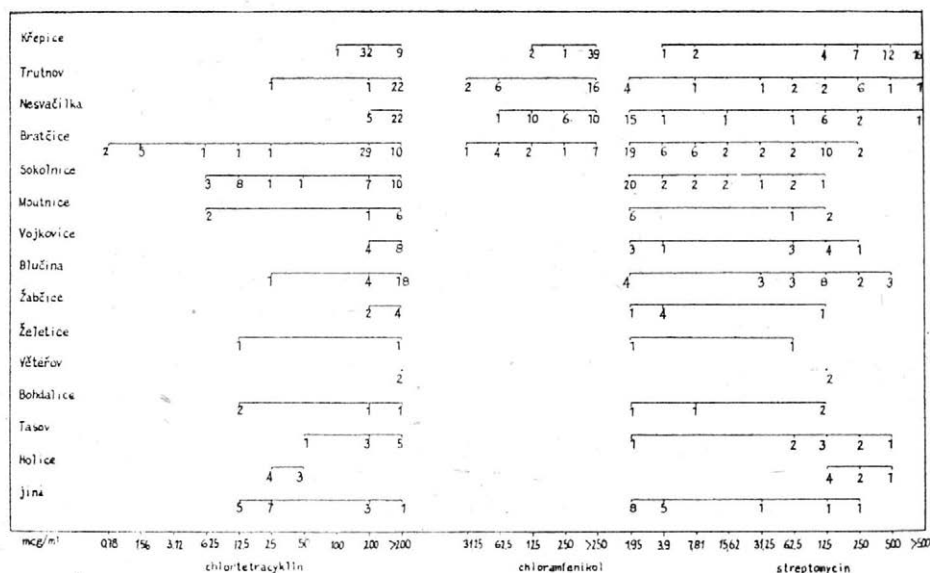
Připomínáme, že v r. 1966 jsme při porovnání účinnosti 2 různých forem injekčních přípravků chloramfenikolu zjistili mnohem nižší účinnost formy rozpustné ve srovnání s formou suspenzní. Tato okolnost ovlivnila i naše výsledky popisované v této práci.

VÝSLEDKY

Na grafech 1, 2, 3 uvádíme rozsah citlivosti kmenů *E. coli* k jednotlivým látkám podle jednotlivých chovů. Z těchto grafů vidíme jednak různý rozsah citlivosti v jednotlivých chovech a též různé počty kmenů, které byly inhibovány v růstu příslušnými koncentracemi zkoušených látek.

Při porovnání výsledků citlivosti z hlediska různých serotypů *E. coli* jsme zjistili, že rezistentní kmeny se vyskytují mezi nejrozličnějšími sérotypy a že tudíž není vznik rezistence vázán jen na některé sérotypy.

V chovech, kde jsme furazolidon nepodávali, zjistili jsme mnohem větší



Graf 1: Rozsah citlivosti jednotlivých kmenů *E. coli* v různých lokalitách. Čísla na úsečkách udávají počet kmenů citlivých k daným koncentracím

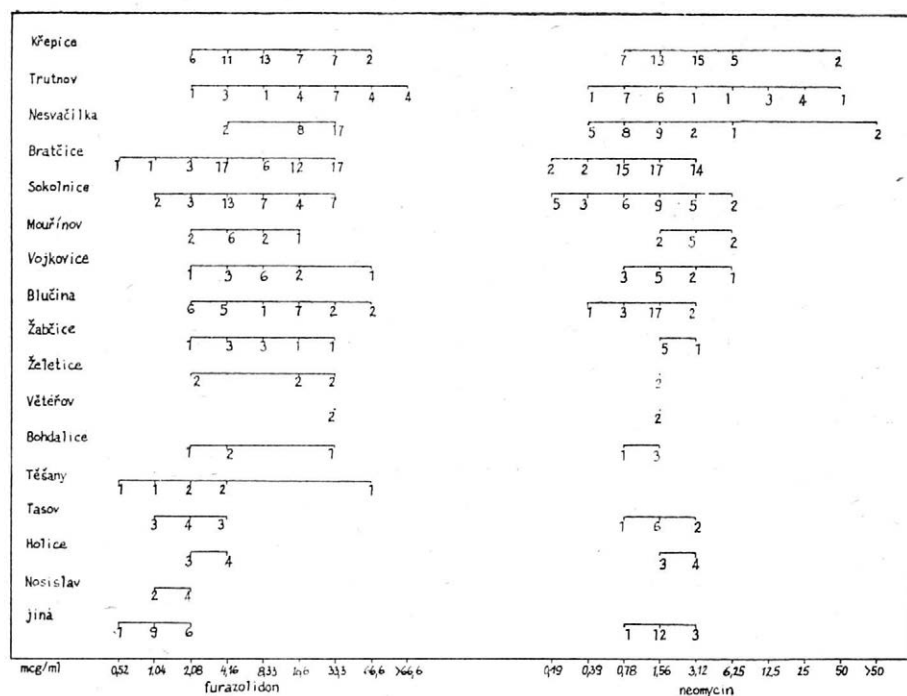
citlivost kmenů *E. coli*: 100 % testovaných kmenů bylo citlivé k 4,16 mcg/ml, zatímco v chovech, v nichž jsme furazolidon podávali, bylo k této koncentraci citlivé pouze 36,8 % kmenů a 1,6 % kmenů nebylo citlivé ani k 66,6 mcg/ml.

V chovech, kde jsme nepodávali neomycin telatům, bylo 100 % testovaných kmenů citlivé k 6,25 mcg/ml, zatímco v chovech, v nichž jsme podávali neomycin, bylo pouze 96,8 kmenů citlivé až při koncentraci 50 mcg/ml. 2,15 % kmenů nebylo citlivé ani k 50 mcg/ml.

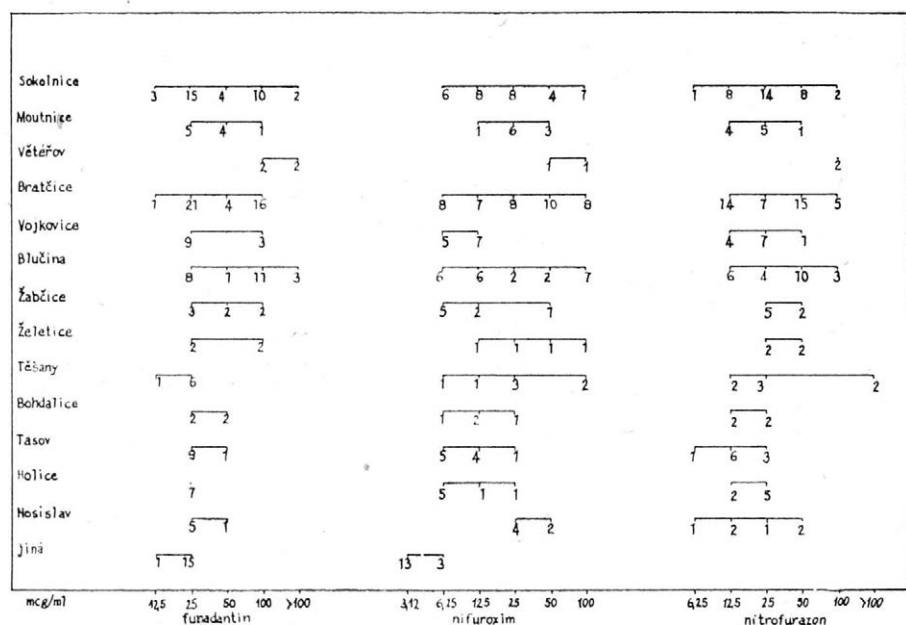
V chovech, kde jsme nepodávali léčebně Furantoin ani jiné furanové deriváty, bylo 100 % kmenů citlivé k Furadantiinu (čs. Furantoin) v koncentraci 50 mcg/ml, zatímco v chovech, kde jsme Furantoin podávali, nebylo citlivé 8 % kmenů ani k 100 mcg/ml. V chovech, kde se nepodával Furantoin, ale podával se příbuzný nitrofuranový derivát furazolidon, byla citlivost přibližně stejná, jako v těch chovech, kde se podával Furantoin.

DISKUSE

Pro určování počtu citlivých a rezistentních kmenů nám mohou sloužit údaje R a šky (1958), který na str. 161 udává citlivost mikrobů na nejužívanější antibiotika. Pro *E. coli* uvádí citlivost k: streptomycinu 6,25 mcg/ml, Aureomycinu 1,25–5,0 mcg/ml, Chloromycetinu 10 mcg/ml, neomycinu 0,4–3,1 mcg/ml.



Graf 2: Rozsah citlivosti jednotlivých kmenů *E. coli* v různých lokalitách. Čísla na úsečkách udávají počet kmenů citlivých k daným koncentracím



Graf 3: Rozsah citlivosti jednotlivých kmenů *E. coli* v různých lokalitách. Čísla na úsečkách udávají počet kmenů citlivých k daným koncentracím jednotlivých látek

Pro *Proteus vulgaris* uvádí citlivost k: streptomycinu 5,0 mcg/ml, Aureomycinu 6,2—100 mcg/ml, Chloromycetinu 2,5—25 mcg/ml, neomycinu 1,0—6,2 mcg/ml. Citlivost *E. coli* k furazolidonu je podle Rogerse a sp. (1956) 0,7 mcg/ml — 1,5 mcg/ml. Tyto údaje nám mohou pomoci k porovnání stupně rezistence mikrobů k různým testovaným látkám.

Závěrem těchto pokusů možno říci, že největší část zárodků *E. coli* je málo citlivá k těm antibiotikům, která se v praxi dosud běžně používají, vlivem vzniku rezistence původu buď adaptačního nebo selekčního, myšleno v měřítku celých chovů. Tato skutečnost byla potvrzena též klinickými zkouškami. Z výsledků vyplývá nutnost klinicky přezkoušet a ev. rozšířit paletu dosavadních léčiv proti gastroenteritidám telat o další antimikrobiální látky, hlavně toho času o neomycin a furazolidon, k nimž byla v době našich výzkumů vyšší citlivost u zkoušených kmenů proti lékům běžně používaným terénní službou. Nutno však připomenout, že u látek, které jsme zavedli v chovech k terapii infekčních průjmů telat: furazolidon, neomycin, nitrofurantoin (zahraniční Furadantin, čs. Furantoin) (Bartoš, Lebduška, Gilka 1963), jsme ze začátku pozorovali větší stupeň citlivosti *E. coli* k těmto látkám, teprve později, až se začaly látky podávat v chovech, jsme zjišťovali více kmenů méně citlivých až rezistentních. Z našich pokusů vyplynulo též doporučení provádět v chovech s výskytem infekční gastroenteritidy telat zkoušky citlivosti k antibiotikům a chemoterapeutikům, jak jsme uvedli již na začátku řešení tohoto úkolu (Bartoš 1963).

Ve světové literatuře u různých autorů je velký rozsah mezi procenty citlivých kmenů *E. coli* izolovaných z telat k různým látkám. (Smith 1954, Barr, Carman, Clarkson 1955, Smith a Crabb 1956, Keller 1957, Smith 1958, Osborne, Mochrie, Batte 1959, Glantz 1962, Buratto a Pozzobon 1962, Ruděnko 1963, Bartoš 1963, Matvienko a Ruděnko 1964, Buratto a Pozzobon 1965 a jiní). Tak např. k chlortetracyklinu se udává počet citlivých kmenů *E. coli* od 0 % do 100 %. Stejný rozsah je zaznamenán u streptomycinu. U chloramfenikolu je zaznamenán počet citlivých kmenů od 10 % do 100 %. U neomycinu od 30,6 % do 100 % kmenů, u polymyxinu od 87,5 % do 100 % kmenů. U všech těchto látek můžeme pozorovat v celosvětovém měřítku, že s přibývajícimi léty používání přibývají též procenta rezistentních kmenů.

Na základě našich zkušeností a celosvětových údajů můžeme předpokládat, že zavedení dalších účinných antibiotik, případně i jiných látek, nerozřeší na trvalo problém léčby infekčních gastroenteritid telat a bude se muset i nadále počítat se vznikem rezistence. Z tohoto důvodu vystupuje požadavek zjišťování citlivosti v jednotlivých chovech ještě výrazněji do popředí.

Výzkum by měl zajistit zavedení celé palety dalších léčiv, aby se mohl vliv vzniku rezistence k léčivům omezit vhodným střídáním léků. V terénu pak by měla být zajištěna cílená léčba, aby byly podávány ty léky, vůči nimž jsou mikroby v tom kterém chovu vnímavé. Toto se dá zajistit pouze zjišťováním citlivosti zárodků k antibiotikům a chemoterapeutikům mikrobiologickou metodou.

SOUHRN

V letech 1962—1964 byla zjišťována diluční metodou citlivost 300 kmenů *E. coli* izolovaných z nemocných nebo uhynulých telat z 28 chovů k 8 látkám ze skupiny antibiotik (chlortetracyklin, streptomycin, chloramfenikol, neomycin) a nitrofuranových derivátů (furazolidon, nitrofurazon, nitrofurantoin, nifuro-

xim). Byl zjištěn značný počet rezistentních kmenů k léčivům používaným běžně v terénu při léčbě toxické dyspepsie telat (chlortetracyklin, streptomycin), který byl různě vysoký v jednotlivých chovech. Nebyla zjištěna závislost mezi rezistencí a určitými sérotypy.

Z látek testovaných *in vitro* byl nejúčinnější furazolidon a neomycin. Tyto látky byly doporučeny pro klinické ověřovací zkoušky. Citlivost byla sledována dále i po zavedení těchto látek do léčby dyspepsií telat a byla zjištěna snížená citlivost mikrobů k těmto léčivům po určité době podávání v chovech.

Pro terénní praxi se doporučuje sledovat stupeň citlivosti v chovech k jednotlivým léčivům a jejich časté střídání podle výsledků testů citlivosti.

Došlo dne 20. 9. 1966

Literatura

1. BARR F. S. - CARMAN P. E. - CLARKSON T. B.: Resistance of calf scour-producing organisms to broad spectrum antibiotics. = „American Journal of Veterinary Research“ 16, 1955: 515-516. — 2. BARTOŠ J.: Účinek některých antibiotik a chemoterapeutik na kmeny *Escherichia coli* izolované z nemocných nebo uhynulých telat. = „Věstník VÚ zemědělských“ 10, 1963: 210-212. — 3. BARTOŠ J. - LEBDUŠKA J. - GILKA F.: Účinnost furazolidonu a Furantoinu při léčbě toxické dyspepsie novorozených telat. = „Věstník VÚ zemědělských“, 10, 1963: 465-469. — 4. BURATTO L. - POZZOBON A.: L'antibiogramma per una terapia specifica della diarrea colibacillare nel vitello. = „Veterinaria Italiana“ 16, 1962: 171-175. — 5. BURATTO L. - POZZOBON A.: Variazioni di sensibilità agli antibiotici di alcuni ceppi di *E. coli* in seguito a precedenti interventi terapeutici. = „Veterinaria Italiana“ 16, 1965: 521-526. — 6. GLANTZ P. J.: In vitro sensitivity of *Escherichia coli* to antibiotics and nitrofurans. = „Cornell Veterinarian“ 52, 1962: 552-562. — 7. HEJZLAR M. - VÝMOLA F.: K otázkám standardizace laboratorní práce s antibiotiky. II. část. = „Československá epidemiologie, mikrobiologie, imunologie“ 11, 1962: 260-266. — 8. KELLER H.: Einige Probleme bei der Verwendung von Antibiotika mit besonderer Berücksichtigung der bakteriellen Resistenz. = „Schweizer Archiv für Tierheilkunde“ 99, 1957: 651-658. — 9. MATVIJENKO B. A. - RUDENKO T. P.: Čuvstvitelnost kišečnoj paločky raznych serotipov k antibiotikam. = „Veterinarija“ 41, 1964, č. 1, 22-24. — 10. OSBORNE J. C. - MOCHRIE R. D. - BATTE E. G.: Microbiological and therapeutic aspects in calf enteritis. = „Journal of the American Veterinary Medical Association“ 134, 1959: 173-177. — 11. RAŠKA K.: Mikrobiologické vyšetřovací metody. = Státní zdravotnické nakladatelství, Praha, 1958. — 12. ROGERS G. S. - BELLOFF G. B. - PAUL M. F. - YURCHENCO J. A. - GEVER G.: Furazolidone, a new antimicrobial nitrofurantoin. A review of laboratory and clinical data. = „Antibiotics and Chemotherapeutics“, 6, 1956: 231-242. — 13. RUDENKO T. P.: Léčebná efektivnost antibiotik neomicinového řádu i furazolidonu při kolienteritách novorozených telat. = „Věstník seľskochozjajstvennoj nauki. Alma Ata“ 6, 1963, č. 5: 68-72. — 14. SMITH H. W.: The sensitivity of strains of bacterium coli isolated from cases of calf scours to certain chemotherapeutic agents. = „Veterinary Record“ 66, 1954: 42-43. — 15. SMITH H. W.: Further observations on the effect of chemotherapy on the presence of drug-resistant bacterium coli in the intestinal tract of calves. = „Veterinary Record“ 70, 1958: 575-580. — 16. SMITH H. W. - CRABB W. E.: The sensitivity to chemotherapeutic agents of a further series of strains of bacterium coli from cases of white scours: the relationship between sensitivity tests and response to treatment. = „Veterinary Record“ 68, 1956: 274-277.

Чувствительность *E. coli* телят разных стад к медикаментам

В 1962—64 гг. при помощи дилуционного метода определялась чувствительность 300 штаммов *E. coli*, изолированных у больных или погибших телят из 28 стад, к 8 веществам группы антибиотиков (хлортетрациклин, стрептомицин, хлорамфеникол, неомицин) и из нитрофурановых дериватов (фуразолидон, нитрофуразон, нитрофурантоин, нифуроксим).

Установлено значительное количество устойчивых штаммов к медикаментам, обычно применяемым на местах при лечении токсической диспепсии телят (хлортетрациклин, стрептомицин, хлорамфеникол), которое было разным у отдельных стад. Не было установлено зависимости между устойчивостью и определенными серотипами.

Из тестируемых *in vitro* веществ самыми эффективными оказались фуразолидон и неомицин. Эти вещества рекомендованы для клинических контрольных испытаний. Чувствительность изучалась затем и после введения этих веществ в лечебную практику при диспепсиях телят; обнаружена ослабленная чувствительность микробов к этим медикаментам после определенного срока их дачи в стадах.

Для практики рекомендуется наблюдать степень чувствительности стад к отдельным медикаментам и их частое чередование на основе результатов тестов чувствительности.

The Sensitiveness of *E. coli* from Calves of Various Herds to Drugs

In the years 1962–1964 the dilution method was applied to determine the sensitiveness of 300 strains of *E. coli* isolated from sick or perished calves from 28 herds to 8 substances of the group of antibiotics (chlortetracyclin, streptomycin, chloramphenicol, neomycin) and nitrofurane derivatives (furazolidon, nitrofurazon, nitrofurantoin, nifuroxim). There was determined a considerable number of strains that were resistant to drugs used currently in the field for treatment of toxic dyspepsia of calves (chlortetracyclin, streptomycin, and chloramphenicol) and which was variously high in the individual herds. No mutual dependence between resistance and certain serotypes was found.

On the substances tested *in vitro* most effective were furazolidon and neomycin. Sensitiveness was examined also after introduction of these substances in the treatment of calf dyspepsia, and after a certain time of the administration of these drugs a lowered sensitiveness of microbes was found in the herds.

For the field practice it is recommended that the degree of sensitiveness of herds to the individual drugs should be followed and a frequent alternation according to the results of a testing of sensitiveness should be practised.

Die Empfindlichkeit der *E. coli* aus dem Körper der Kälber in verschiedenen Zuchten gegenüber Medikamente

In den Jahren 1962–1964 prüfte man mittels der Dilutionsmethode die Empfindlichkeit von 300 Stämmen der *E. coli*, die von kranken oder verendeten Kälbern aus 28 Zuchten stammten, gegenüber 8 Stoffen aus der Antibiotika-Gruppe (Chlortetracyclin, Streptomycin, Chloramphenicol, Neomycin) und der Nitrofur-Abkömmlinge (Furazolidon, Nitrofurazon, Nitrofurantoin, Nifuroxim). Man konnte eine beträchtliche Anzahl resistenter Stämme gegenüber den üblich in der Praxis bei der Behandlung der toxischen Dyspepsie der Kälber angewandten Heilmitteln feststellen (Chlortetracyclin, Streptomycin, Chloramphenicol); die Anzahl dieser Stämme war in den einzelnen Zuchten verschieden hoch. Eine Abhängigkeit zwischen der Resistenz und bestimmten Serotypen wurde nicht festgestellt.

Von den *in vitro* geprüften Stoffen war das Furazolidon und Neomycin das wirksamste. Diese Stoffe wurden für klinische Prüfungen empfohlen. Weiters verfolgte man die Empfindlichkeit auch nach der Einführung dieser Stoffe in die Therapie der Dyspepsie der Kälber und man stellte eine herabgesetzte Empfindlichkeit der Mikroben gegenüber diesen Heilmitteln nach einer bestimmten Zeit der Verabreichung in den Zuchten fest.

Für die Praxis im Gelände empfiehlt man die Verfolgung des Empfindlichkeitsgrades in den Zuchten gegenüber einzelne Heilmittel und einen oftmaligen Wechsel je nach den Ergebnissen der Empfindlichkeitsteste.

Adresa autorů:

MVDr. Jaroslav Bartoš, CSc., MVDr. Jaroslav Lebeda, DrSc.,
MVDr. Eduard Salajka, CSc.,
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno - Medlánky,
ředitel doc. MVDr. ing. Jan Vlček

■ Inkompletní virus ve smyslu von Magnusova pojetí představuje anomálii v množení chřipkového viru a je považován za laboratorní artefakt. Jeho existence u člověka ani u prasat nebyla dosud prokázána, přestože byl inkompletní virus získán i v pokusech na myškách, infikovaných velkými dávkami infekčního chřipkového viru. Zdá se, že s možností výskytu inkompletního viru v populaci prasat se dá spíše počítat pro předpoklady, které skýtají životní podmínky, za nichž jsou prasata chována. I když tato práce nesleduje momentální experimentální důkazy pro vyslovenou myšlenku, považujeme za účelné se o ní zmínit jako o konečném cíli, k němuž směřují studie o inkompletním viru chřipky prasat.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Na existenci inkompletního chřipkového viru poprvé poukázal von Magnus (1951). Sukcesivními pasážemi neřaděné alantoidní tekutiny obsahující virus chřipky typu A (kmen PR 8) se mu podařilo ovlivnit jeho infekční aktivitu v subpasážích do té míry, že získal ve třetí nebo čtvrté embryonální pasáži virovou populaci, která se vyznačovala vysokou hemaglutinační aktivitou, ale nízkou infekčností. Virové částice vybavené těmito vlastnostmi, nepředstavující inaktivovaný původně infekční virus, jsou pokládány za inkompletní.

Inkompletní chřipkový virus se vyznačuje relativně nízkým obsahem rozpustného antigenu (Paucker a spol., 1956, 1959) a ribonukleové kyseliny (Ada a Perry, 1955, 1956), minimální nebo vůbec žádnou infekciozitou (von Magnus, 1951), vysokým obsahem lipidů (Uhler a Gard, 1954; Paucker a spol., 1956), schopností adsorbovat se na erytrocyty a eluovat z nich a schopností vyvolávat tvorbu neutralizačních a hemaglutinačně inhibičních protilátek (von Magnus, 1951). Morfologicky jsou inkompletní virové částice pleomorfní, zpravidla větší než infekční viriony, mají oploštělý vzhled a často připomínají prázdné včky s charakteristickou zevní blánou (Werner a Schlesinger, 1954; Voss a Wrengel, 1955; Pye a spol., 1956; Hollós 1957; Horne a spol., 1960).

Von Magnusův způsob získávání inkompletního viru potvrdili na 10 prototypových kmenech viru chřipky typu A a B Fazekas de St Groth a Graham (1954), kteří mimo jiné poukázali na skutečnost, že v kuřecím embryu se nevytváří u jednotlivých kmenů stejné množství inkompletního viru. Během dalších let se studium inkompletního chřipkového viru, jeho vlastností a jeho mechanismu vzniku na různých hostitelských tkáních natolik rozšířilo, že dnes již prakticky neexistují hostitelské systémy v nichž by nebylo možné v tomto směru experimentovat (Bernkopf, 1950; Daniels a spol., 1952; Burnet a spol., 1955; Henle a spol., 1955; Barry, 1961).

V předložené práci sledujeme, v jaké míře se podílejí různé laboratorní techniky pěstování viru na vzniku inkompletní chřipkové populace. Srovnáváme především vývoj inkompletního viru chřipky prasat v deembryonovaných vejcích s jeho vývojem v kuřecích embryích.

MATERIÁL A METODIKA

V pokusech byl použit virus chřipky prasat (kmen MĚROTÍN/57), adaptovaný na kuřecí embryo. Chřipkovou centrálou v Praze byl tento kmen typizován jako influenový virus, náležející do skupiny A. Virus nám laskavě poskytl doc. dr. J. Menšík z VÚVL v Brně. Obdrželi jsme jej v 37. embryonální pasáži.

1. Plně aktivní virus. K získání plně infekčního viru chřipky prasat byla zvolena metoda sériových pasáží na jedenáctidenních kuřecích embryích. Embrya byla inokulována intraalantoicky 0,1 ml terminálně ředěné alantoidní tekutiny obsahující chřipkový virus. Inkubační doba byla v počátečních pasážích stanovena na 48 hodin, v pozdějších pasážích byla upravena podle předběžných výsledků na 30 hodin při 36 °C. Po skončení inkubace byla vejce schlazena, odebrána z nich alantoidní tekutina a určována hemaglutinační aktivita. K další infekci byla vybrána vždy alantoidní tekutina z nejvyššího ředění, v němž se virus ještě pomnožil. Z alantoidní tekutiny, určené k infekci, byl stanoven na kuřecích embryích infekční titr.

2. Inkompletní virus. Populace inkompletního chřipkového viru byla připravována sériovým pasážováním neředěné virové suspenze.

a) Produkce inkompletního viru v kuřecích embryích (podle von Magnus, 1951). — Zpravidla byla inokulována skupina 8 jedenáctidenních kuřecích embryí intraalantoicky neředěnou alantoidní tekutinou v dávce 0,1 ml nebo 0,5 ml. Vejce byla otvírána po 21hodinové inkubaci při 36 °C a získávány z nich alantoidní tekutiny. Smíchané alantoidní tekutiny byly vytitrovány na přítomnost hemaglutininu a pasážovány ještě týž den nebo následující den (přes noc byly uloženy v lednici při 4 °C). Infekční titr byl určován postupně po pasážích během pokusu. Subkultury viru byly označovány jako první, druhá, třetí atd. pasáž neředěného viru.

b) Produkce inkompletního viru v deembryonovaných vejcích. — K pokusům byla vybírána čtrnáctidenní kuřecí embryo. Původní Bernkopfovu metodu (1949) jsme realizovali ve vlastní modifikaci. Deembryonovaná vejce byla třikrát promyta předeřháním (37 °C) pufovaným fyziologickým roztokem s antibiotiky (penicilin 1000 j/ml, streptomycin 100 mg/ml) a naplněna 5,9 ml, 5,5 ml nebo 5 ml media. Očkovali jsme vždy 6 vajec v jedné pasáži. Inokulační dávky neředěné virové suspenze činily 0,1 ml, 0,5 ml a 1 ml pro jedno deembryované vejce. Vejce byla sterilně uzavřena, vložena do polystyrenových kotoučů (s patřičnými otvory pro vejce) a inkubována 21 hodin při 36 °C v termostatu pro Horváthovy kultury. Hemaglutinační a infekční aktivita viru byla určována vždy ve směsi media ze všech 6 vajec.

3 Hemaglutinační aktivita chřipkového viru (HA) byla určována běžnou Salkovou metodou (1944).

4. Infekční aktivita chřipkového viru (KEID₅₀) byla určována titrací na kuřecích embryích, která byla infikována intraalantoicky 0,1 ml příslušného desetinasobného ředění viru. Počet infekčních dávek pro kuřecí embryo na ml alantoidní tekutiny nebo media byl vypočítáván podle Reed a Muencha (1938).

Ukazatelem homogennosti virové populace byl poměr mezi infekční a hemaglutinační aktivitou viru (ID₅₀/HA).

5. Výživná media a roztoky použité k reakcím. Pro pomnožení viru chřipky prasat v deembryonovaných vejcích bylo použito media pro suspendované tkáňové kultury v otáčivých zkumavkách podle Horvátha (1954).

K hemaglutinačnímu testu byla připravována vždy čerstvá 0,5 % suspence slepičích erytrocytů v pufovaném fyziologickém roztoku.

Složení a příprava pufovaného fyziologického roztoku o pH = 7,2–7,4 odpovídala normám standardních fyziologických roztoků.

VÝSLEDKY

VÝVOJ INFEKCE A HEMAGLUTINAČNÍ AKTIVITY VIRU CHŘIPKY PRASAT V KUŘECÍCH EMBRYÍCH, OČKOVANÝCH TERMINÁLNĚ ŘEDĚNOU INFEKČNÍ ALANTOIDNÍ TEKUTINOU

Po třech sériových pasážích chřipkového viru, během nichž vzrostla infekční aktivita virové populace tisíckrát ($KEID_{50} = 10^{9,6}/ml$) a hemaglutinační aktivita se zvýšila čtyřikrát ($HA = 2048/ml$), dosáhl poměr ID_{50}/HA hodnoty 10^6 . Další sériové přenosy chřipkového viru v hraničním ředění již však nevedly v průběhu 48hodinové inkubace ke zvýšení poměru ID_{50}/HA . Vyššího poměru mezi infekční a hemaglutinační aktivitou viru než 10^6 se podařilo dosáhnout, když byla inkubační doba infikovaných embryí zkrácena na 30 hodin.

Vhodnost časového období pro rozvoj populace viru chřipky prasat s největším podílem plně infekčních partikulí potvrdily především výsledky, které byly

I. Vývoj infekční a hemaglutinační aktivity viru chřipky prasat (kmen MĚRO-TÍN/57) v alantoidní tekutině kuřecích embryí, očkovaných terminálně ředěným virovým materiálem

Číslo pasáže	Inokulované ředění inf. al. tekutiny	Množství inokula v ml	Počet infikovaných KE	Výsledek infekce kuřecích embryí za		Titr v ml alantoidní tekutiny*)		ID_{50}/HA
				30 hod.	48 hod.	ID_{50}	HA	
1	10^{-7}	0,1	4		+ - - -	8,5	3,6	4,9
2	10^{-7}	0,1	4		+ + + +	9,6	3,6	6,0
3	10^{-8}	0,1	4		+ - - -	9,6	3,6	6,0
4	10^{-7}	0,1	4	+ + - -		9,3	3,3	6,0
5	10^{-8}	0,1	4	+ + + -		10,1	3,3	6,8
6	10^{-9}	0,1	4	+ + + -		10,6	3,3	7,3
7	10^{-9}	0,1	4	+ - - -		10,6	3,3	7,3
8	10^{-9}	0,1	4	+ + - -		10,7	3,3	7,4

+ = alantoidní tekutiny obsahující virus

- = alantoidní tekutiny, v nichž nebyl prokázán virus

*) hodnoty titrů uváděny v $\log_{10}$

II. Infekční a hemaglutinační aktivita viru chřipky prasat (kmen MĚROTÍN/57) v alantoidní tekutině kuřecích embryí v různých časových intervalech po infekci embryí terminálně ředěnou virovou suspenzí

Délka inkubace v hodinách	Tit v ml alantoidní tekutiny*)	Číslo pasáže terminálního ředění alantoidní tekutiny				
		4	5	6	7	8
10 1/2	ID ₅₀	2,0	3,3	4,0	3,6	4,0
	HA	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
	ID ₅₀ /HA	1,7	3,0	3,7	3,3	3,7
21	ID ₅₀	6,3	8,3	8,6	8,3	8,6
	HA	0,9	1,5	1,5	1,5	1,5
	ID ₅₀ /HA	5,4	6,8	7,1	6,8	7,1
30	ID ₅₀	9,3	10,1	10,6	10,6	10,7
	HA	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3
	ID ₅₀ /HA	6,0	6,8	7,3	7,3	7,4
48	ID ₅₀	9,3	9,7	10,3	10,1	10,1
	HA	3,6	3,6	4,2	3,9	3,9
	ID ₅₀ /HA	5,7	6,1	6,1	6,2	6,2

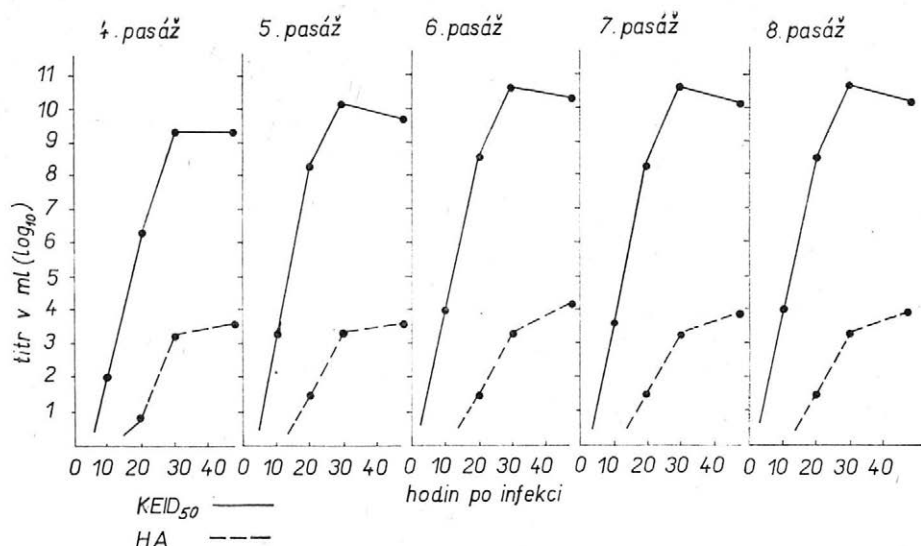
*) = hodnoty titrů uváděny v log₁₀

získány při sledování vývoje infekční a hemaglutinační aktivity viru v průběhu jeho množení v kuřecích embryích.

Infekční a hemaglutinační titry alantoidních tekutin, určené v časových intervalech, odpovídajících délce reprodukčních cyklů, umožnily pak interpolovat růstové křivky jednotlivých pasáží. Jejich srovnáním bylo prokázáno, že jsou v podstatě stejné (viz graf č. 1).

VÝVOJ POPULACE INKOMPLETNÍHO VIRU CHŘIPKY PRASAT V KUŘECÍCH EMBRYÍCH PO INOKLUACI NEŘEDĚNÉ VIROVÉ SUSPENZE

Sériové pasážování alantoidní tekutiny o vysoké koncentraci chřipkového viru vedle k syntéze virových populací, které se vyznačovaly poklesem počtu plně infekčních partikulí. Pasážováním neředěných alantoidních tekutin, v nichž postupně převládaly neinfekční hemaglutinující částice, byla ve třetí embryonální pasáži získána suspenze chřipkového viru, kterou pokládáme na základě jejího nejnižšího poměru ID₅₀/HA (10^{3,6}) za inkompletní. Úroveň hemaglutinačních titrů virových populací nebyla pasážováním neředěné alantoidní tekutiny ovlivněna a prakticky zůstala na stejné úrovni.



Graf. 1. Vývoj infekční a hemaglutinační aktivity viru chřipky prasat v alantoidní tekutině kuřecích embryí po jejich infekci terminálně ředěnými virovými suspensemi

Inkompletní populace viru chřipky prasat se vyvíjela stejným způsobem, byla-li kuřecí embrya očkována 0,1 ml nebo 0,5 ml neředěné alantoidní tekutiny.

Po překonání stadia inkompletnosti se během dalšího pasážování změnily virové populace kvalitativně v tom smyslu, že v nich nabývaly převahy infekční

III. Infekční a hemaglutinační aktivita viru chřipky prasat (kmen MĚROTÍN/57) v alantoidní tekutině kuřecích embryí po inokulaci různých dávek neředěné virové suspence

Inokulum v ml	Délka inkubace v hod.	Titr v ml alantoidní tekutiny*)	Počet pasáží neředěné virové suspence v kuřecích embryích							
			1	2	3	4	5	6	7	8
0,1	21	ID ₅₀	9,0	9,3	7,2	7,0	7,6	8,1	8,0	7,3
		HA	3,6	3,3	3,6	3,0	3,3	3,3	3,0	3,0
		ID ₅₀ /HA	5,4	6,0	3,6	4,0	4,3	4,8	5,0	4,3
0,5	21	ID ₅₀	9,3	8,5	6,3	6,3	9,3	8,5	9,3	
		HA	3,3	3,3	2,7	2,4	3,3	3,3	3,0	
		ID ₅₀ /HA	6,0	5,2	3,6	3,9	6,0	5,2	6,3	

*) hodnoty titrů uváděny v log₁₀

virové částice, i když se infekce kuřecích embryí i nadále děla neředitelnými alantoidními tekutinami. V pozdějších pasážích se jevily tvorby inkompletního viru již neobjevily.

VÝVOJ POPULACE INKOMPLETNÍHO VIRU CHŘIPKY PRASAT V DEEMBRYONOVANÝCH VEJCÍCH PO INOKULACI NEŘEDĚNÉ VÍROVÉ SUSPENZE

Vývoj infekční aktivity viru chřipky prasat v deembryonovaných vejcích byl ovlivněn sériovým pasážováním neředitelné virové suspenze stejným způsobem jako v pokusech na kuřecích embryích. Zpravidla po třetím sériovém přenosu jsme získali virovou populaci o nejnižším poměru ID₅₀/HA. Ani v těchto pokusech neměla různá množství inokulované suspenze vliv na postupný vývoj inkompletní populace viru. Zato však byl zjišťován nápadný pokles hemaglutinační aktivity chřipkového viru ve čtvrté pasáži v deembryonovaných vejcích, inokulovaných 0,5 ml nebo 1 ml neředitelné virové suspenze.

IV. Infekční a hemaglutinační aktivita viru chřipky prasat (kmen MĚROTÍN/57) v deembryonovaných vejcích po inokulaci různých dávek neředitelné virové suspenze

Inokulum v ml	Délka inkubace v hodinách	Titř v ml alantoidní tekutiny*)	Počet pasáží neředitelné virové suspenze v deembryonovaných vejcích					
			1	2	3	4	5	6
0,1	21	ID ₅₀	8,7	6,1	6,8	7,8	8,8	8,6
		HA	2,7	2,4	1,2	2,1	2,4	2,1
		ID ₅₀ /HA	6,0	3,7	5,6	5,7	6,4	6,5
0,5	21	ID ₅₀	7,7	6,3	5,2	6,5	9,0	10,5
		HA	2,7	1,5	2,1	<0,3	2,4	3,0
		ID ₅₀ /HA	5,0	4,8	3,1	>6,2	6,6	7,5
1	21	ID ₅₀	8,3	6,5	4,5	6,7	8,3	
		HA	2,7	2,1	0,6	<0,3	1,8	
		ID ₅₀ /HA	5,6	4,4	3,9	>6,4	6,5	

*) hodnoty titřů uváděny v log₁₀

Toto snížení hemaglutinační aktivity bylo tak pronikavé, že se běžným hemaglutinačním testem nedal virový hemaglutinin vůbec prokázat. Jeho množství se zvýšilo teprve v následujících pasážích. Virové populace vykazovaly v nich již infekční a hemaglutinační aktivitu přibližně stejné úrovně jako populace plně infekčního viru.

Virus chřipky prasat (kmen MĚROTÍN/57), běžně pasážovaný v laboratoři na kuřecích embryích intraalantoicky v ředění 10^3 a inkubovaný po 48 hodin, dával pravidelně populaci viru, jehož infekční titer pro kuřecí embrya se pohyboval mezi 10^6 – 10^7 /ml. Sériovým pasážováním alantoidní tekutiny v hraničním ředění se podařilo zvýšit jeho infekční a hemaglutinační aktivitu natolik, že poměr ID₅₀/HA odpovídá hodnotě 10^6 . Vyššího poměru ID₅₀/HA než 10^6 bylo dosaženo až po zkrácení inkubační doby infikovaných kuřecích embryí na 30 hodin. Našími pokusy jsme prokázali, že tato inkubační doba je dostatečná k produkci maximálního množství plně infekčních virových partiкул v alantoidní tekutině.

Vzhledem k malému počtu infekčních dávek chřipkového viru (2–5 KEID₅₀), sériově pasážovaných na kuřecích embryích, představovala virová populace v alantoidní tekutině výtěžek třetího reprodukčního cyklu. Potvrdily nám to především růstové křivky těchto pasáží. V tomto směru se shodují naše nálezy s poznatky Cairnse a Edneyové (1952) o množení viru chřipky typu A v kuřecích embryích. Jeho první reprodukční cyklus trvá zhruba $10\frac{1}{2}$ hodiny, další cykly jsou zpravidla již kratší. Konstantní množství inokulovaných KEID₅₀ dávalo dále záruku, že se v subpasážích staly virové populace homogenní ve své infekčnosti. Tento způsob množení viru chřipky prasat v kuřecích embryích ze shora uvedených podmínek pokládáme za jistou standardizaci posážování.

Za standardní pasáže označil von Magnus (1951) sériové přenosy infekční alantoidní tekutiny, ředěné vždy 10^6 . Po 44hodinové inkubaci získával virovou populaci s konstantními infekčními a hemaglutinačními vlastnostmi. Poněvadž jsme volili v našich pokusech odlišný způsob, jak dosáhnout homogenní virové populace sériovými pasážemi, označovali jsme výtěžky těchto pasáží jako plně infekční virus.

Sériovým pasážováním neředěné alantoidní tekutiny o vysoké koncentraci chřipkového viru byla získána v kuřecích embryích ve třetí pasáži suspenze inkompletního viru, jehož poměr ID₅₀/HA činil pouze $10^{3,6}$. Inkompletní populace viru chřipky prasat se v kuřecích embryích vyvíjela stejným způsobem, byla-li kuřecí embrya očkována 0,1 ml nebo 0,5 ml neředěné alantoidní tekutiny. Větší množství neředěné alantoidní tekutiny než 0,5 ml nebylo kuřecím embryím inokulováno z toho důvodu, aby nebyla v subpasážích ovlivněna výše hemaglutinačního titru reziduálním virem.

Vývoj inkompletního viru chřipky prasat v deembryonovaných vejcích měl stejný průběh jako v kuřecích embryích až na změny v hemaglutinační aktivitě. Ty se projevíly ve čtvrté pasáži náhlým snížením množství virového hemaglutininu při sériovém přenosu neředěné virové suspenze v množství 0,5 ml a 1 ml. Zatím nemůžeme podat žádné vysvětlení, proč narušení syntézy a kompletizace virových partiкул při tak vysoké multiplicitě je mnohem více patrnější v deembryonovaných vejcích než v kuřecích embryích. Tato otázka si bezpochyby vyžádá podrobné studium.

Přihlédneme-li ke studiím autorů (Burke a Isaacs, 1958; Henle a spol., 1959; Wagner a Levy, 1960), kteří se pokoušeli objasnit např. vztah interferonu k inkompletnímu viru nebo účast interferonu na vzniku inkompletního viru, lze pak uvažovat také o interferonu jako možném činiteli, který ovlivňuje hemaglutinační aktivitu chřipkového viru. V této souvislosti je velmi zajímavé sdělení Reinickeho a Hahnemanna (1965), že v prvních 24 hodinách po infekci 1000 KEID₅₀ chřipkového viru byla v přítomnosti interferonu inhibována hemaglutinační aktivita virové populace více než její infekční aktivita. Zda interferon ovlivnil syntézu hemaglutininu v deembryonovaných vejcích v našich pokusech nemůžeme v současné době ani potvrdit ani vyloučit.

Rozhodujícím faktorem syntézy inkompletního viru jsou kvantitativní vztahy mezi virem a buňkou. Tyto vztahy podrobně studoval Barry (1961), který došel k závěru, že už při dávce inokula, odpovídající přibližně jedné virové částici na jednu buňku, se začíná objevovat rozdíl mezi výtěžkem celkového infekčního viru, který postupem pasáží dosahuje úrovně typické pro inkompletní virus. Počet virových partiкул, inokulovaných v našich pokusech na kuřecích embryích, přesáhl tuto kritickou hranici podle množství inokula 50–250krát. V deembryonovaných vejcích bylo toto množství virových částic ještě vyšší, poněvadž úpravou kultivační techniky byl snížen počet buněk přibližně o 4×10^6 . Za těchto okolností je multiplicita infekce, jež je nezbytně nutná, aby došlo k produkci inkompletního viru, zcela evidentní.

Postupný vývoj inkompletní populace v deembryonovaných vejcích se v našich pokusech liší od vývoje inkompletního viru v pokusech Bernkopfa (1950). Neinfekční formu chřipkového viru se podařilo Bernkopfovi získat hned v první pasáži, očkoval-li deembryonovaná vejce velkým množstvím viru. Další pasáže virové suspence již nevedly k produkci inkompletního viru, ale naopak k výraznému zvýšení infekční aktivity virové populace. Tato skutečnost více méně poukazuje na to, že Bernkopf infikoval buňky nehomogenní virovou populací, v níž značná část partikulí měla již inkompletní povahu; toto inokulum bylo tedy na úrovni virové populace, která poskytuje ve své subpasáži největší rozdíl mezi výtěžkem celkového a infekčního viru. Vyloučí-li se výskyt těchto partikulí ve výchozím materiálu sériovými přenosy virové suspence v hraničním ředění, má vývoj inkompletnosti chřipkového viru v deembryonovaných vejcích stejně charakteristický průběh jako při konsekventních pasážích na kuřecích embryích.

Pokles infekční aktivity inkompletního viru a snížení množství hemagglutininu v populacích, které byly indukovány inkompletním virem na deembryonovaných vejcích, se shoduje s nálezy Burnetovými a spol. (1955), kteří je vysvětlují defektní koordinací syntézy RNK a virového proteinu. Dále uvažují tyto autoři o možnosti vzájemné kooperace mezi jednotlivými infikujícími částicemi, které jeví různý stupeň kompletnosti. Tato vlastnost se zdá být geneticky determinována, jak je patrné u viru chřipky typu B (kmene Lee), u něhož za normálních podmínek, které navozují mnohočetnou infekci, nedochází k tvorbě inkompletního viru. Tento fakt byl dříve uváděn jako důkaz proti názoru, že mnohočetná infekce sama o sobě má primární význam pro tvorbu inkompletního viru (Fazekas de St Groth a Graham, 1953).

Na populaci inkompletního viru lze tedy pohlížet jako na komplex virových částic, mezi nimiž existují inkompletní formy, které jsou při pasážování schopné jednoho nebo omezeného počtu cyklů množení (Burnet a spol., 1955).

SOUHRN

Sériovými pasážemi viru chřipky prasat (kmen MĚROTÍN/57) na kuřecích embryích byly získány kvalitativně rozdílné výtěžky viru v alantoidní tekutině podle toho, za jakých podmínek probíhala infekce kuřecích embryí. Infekce malými infekčními dávkami chřipkového viru vedla k produkci virové populace, vyznačující se značně vysokou infekciozitou. Infekční a hemaglutinační vlastnosti této populace byly po 30hodinové inkubaci konstantní, byly-li sériové přenosy prováděny alantoidní tekutinou v hraničním ředění.

Infekce vysokými infekčními dávkami, tj. neředěnou alantoidní tekutinou, byla příčinou tvorby inkompletního viru. Populace inkompletního viru byla získávána vždy ve třetí embryonální pasáži, i když kuřecí embrya byla inokulována 0,1 ml nebo 0,5 ml neředěné alantoidní tekutiny.

Stejně vydatná produkce inkompletního chřipkového viru byla zjištěna i v deembryonovaných vejcích, a to vždy ve třetí pasáži. Pokles hemagglutininu ve čtvrté pasáži (až pod možnost jeho průkazu) jsme zaznamenali pouze po inokulaci deembryonovaných vajec v dávce 0,5 ml a 1 ml.

Došlo dne 30. 12. 1966

Literatura

ADA G. L. - PERRY B. T.: Infectivity and nucleic acid content of influenza virus. = „Nature“, 175, 1955 : 209. — ADA G. L. - PERRY B. T.: Influenza virus nucleic acid: relationship between virological characteristics of the virus particles and properties of the nucleic acid. = „J. gen. Microbiol.“, 14, 1956 : 613-626. — BARRY R. D.: The multiplication of influenza virus. I. The formation of incomplete virus. = „Virology“, 14, 1961 : 389-397. — BERNKOPF H.: Cultivation of influenza virus

in the chorioallantoic membrane of deembryonated eggs. = „Proc. Soc. exp. Biol. and Med.“, 72, 1949 : 680-682. — BERNKOPF H.: Study of infectivity and hemagglutination of influenza virus in deembryonated eggs. = „J. Immunol.“, 65, 1950 : 571-583. — BURKE D. C. - ISAACS A.: Some factors affecting the production of interferon. = „Brit. J. exp. Path.“, 39, 1958 : 452-458. — BURNET F. M. - LIND P. E. - STEVENS K. M.: Production of incomplete influenza virus in the deembryonated egg. = „Austral. J. exp. Biol. and Med. Science“, 33, 1955 : 127-141. — CAIRNS H. J. F. - EDNEY M.: Quantitative aspects of influenza virus multiplication. I. Production of “incomplete” virus. = „J. Immunol.“, 69, 1952 : 155-160. — DANIELS J. B. - EATON M. D. - PERRY M. E.: Effects of glucose on the growth of influenza virus in deembryonated eggs and tissue culture. = „J. Immunol.“, 69, 1952 : 321-329. — FAZEKAS de St GROTH S. - GRAHAM D. M.: Absence of “incomplete” virus production in certain influenza strains. = „Nature“, 172, 1953 : 1193. — FAZEKAS de St GROTH S. - GRAHAM D. M.: The production of incomplete virus particles among influenza strains: experiments in eggs = „Brit. J. exp. Path.“, 35, 1954 : 60-66. — HENLE G. - GIRADI H. - HENLE W.: A non transmissible cytopathogenic effect of influenza virus in tissue culture accompanied by formation of non infectious haemagglutinins. = „J. exp. Med.“, 101, 1955 : 25-41. — HENLE W. - HENLE G. - DEINHARDT F. - BERGS V. V.: Studies on persistent infections of tissue culture. V. Evidence for the production of an interferon in MCN cells by myxoviruses. = „J. exp. Med.“, 110, 1959 : 525-549. — HIRST G. K.: Adsorption of influenza hemagglutinins and virus by red blood cells. = „J. exp. Med.“, 76, 1942 : 195-209. — HOLLOS I.: Electronmicroscopic examination of complete and incomplete influenza virus particles. = „Acta microbiol. Acad. Sci. Hung.“, 4, 1957 : 459-462. — HORNE R. W. - WATERSON A. P. - WILDY P. - FRANHAM E. E.: The structure and composition of the myxoviruses. I. Electron microscopic studies on the structure of myxovirus particles by negative staining technique. = „Virology“, 11, 1960 : 79-98. HORVÁTH S.: Gewebekulturen und Influenzavirusforschung. = „Ztschr. inn. Med.“, 13, 1958 : 316-322. — von MAGNUS P.: Propagation of the PR 8 strain of influenza A virus in chick embryos. II. The formation of “incomplete” virus following inoculation of large doses of seed virus. = „Acta path. et microbiol. scand.“, 28, 1951 : 278-293. — PAUCKER K. - BIRCH-ANDERSEN A. - von MAGNUS P.: Studies on the structure of influenza virus. I. Components of infectious and incomplete particles. = „Virology“, 8, 1959 : 1-20. — PAUCKER K. - LIEF F. E. - HENLE W.: Studies on the soluble antigen of influenza virus. V. Fractionation of elementary bodies labelled with radioactive phosphorus. = „Virology“, 2, 1956 : 798-806. — PYE J. - HOLDEN H. F. - DONALD H. B.: Sedimentation behaviour and electron microscopic examination of purified influenza virus. = „J. gen. Microbiol.“, 14, 1956 : 634-640. — REED L. J. - MUENCH H.: A simple method of estimating fifty percent end points. = „Amer. J. Hyg.“, 27, 1938 : 493-497. — REINICKE V. - HANNE-MANN F. V.: The influence of interferon and hydrocortisone on the production of incomplete influenza virus in ovo. = „Acta path. et microbiol. scand.“, 63, 1965 : 51-58. — SALK J.: A simplified procedure for titrating hemagglutinating capacity of influenza virus and the corresponding antibody. = „J. Immunol.“, 49, 1944 : 87-97. — UHLER M. - GARD S.: Lipid content of “standard” and “incomplete” influenza virus. = „Nature“, 173, 1954 : 1041. — VOSS H. - WRENGEL E.: Formen des Grippevirus. = „Zbl. Bakt. I. Orig.“, 162, 1955 : 275-285. — WAGNER R. R. - LEVY A. H.: Interferon as a chemical intermediary in viral interference. = „Ann. N. Y. Acad. Sci.“, 88, 1960 : 1308-1312. — WENNER G. H. - SCHLESINGER R. W.: Morphological and quantitative comparison between infectious and non-infectious forms of influenza virus. = „J. exp. Med.“, 100, 1954 : 203-215.

Развитие неполноценного вируса инфлюэнцы свиней на куриных эмбрионах и в деэмбрионированных яйцах

Путем последовательных пассажей инфлюэнцы свиней (штамм MEROVIN/57) на куриных эмбрионах были в аллантоичной жидкости получены качественно различные популяции вируса в зависимости от условий процесса инфекции куриных эмбрионов. Инфекция вызванная небольшими инфекционными дозами вируса инфлюэнцы, обусловила продукцию вирусной популяции, обладающей значительно высокой инфекционной активностью. Инфекционные и гемагглютинационные свойства этой популяции становились после 30 часов про-

должающейся инкубации константными, если последовательные пассажи осуществлялись при помощи максимально разведенной аллантоичной жидкости.

Заражение высокими инфекционными дозами, то есть неразбавленный аллантоичной жидкостью, оказалось причиной образований неполноценного вируса. Популяция неполноценного вируса была получена всегда в третьем последовательном пассаже независимо от того, если куриные эмбрионы заражались дозой в 0,1 мл или 0,5 мл неразбавленной аллантоичной жидкости. Не менее интенсивная также в деэμβрионизированных яйцах, а именно всегда в третьем последовательном пассаже. Понижение гемагглютинаина в четвертом последовательном пассаже (до предела возможности его доказательства) наблюдалось только после заражения деэμβрионизированных яиц вирусом с дозой 0,5 мл и 1 мл.

Development of Incomplete Swine Influenza Virus in Chicken Embryos and in Deembryonated Eggs

By serial passages of swine influenza virus (strain MĚROTĚN/57) in allantoic fluid of chicken embryos the populations of influenza virus were obtained, their characters differing according to the conditions of infection of chicken embryos. Infection beginning with low infectious doses of influenza virus resulted in virus population characterized with high infecting activity. The infectious and haemagglutinating activity of this virus were constant after 30 hours' incubation period upon the serial transfers of high-diluted allantoic fluid.

Infection with high infectious doses, i. e. with undiluted allantoic fluid caused that the formation of incomplete virus took place. The incomplete virus was formed in the third serial passage, chicken embryos should be inoculated either with 0,1 ml or 0,5 ml of undiluted allantoic fluid. The formation of incomplete influenza virus in the third serial passage was found out also in deembryonated eggs. Decrease of haemagglutinin in the fourth serial passage (to the impossibility to prove it) was found out only after the inoculation of deembryonated eggs with virus in 0,5 ml and 1 ml doses.

Die Entwicklung des inkompletten Schweineinfluenza-Virus in den Hühnerembryonen und in den deembryonierten Hühnereiern

Durch die Serienpassagen des Schweineinfluenza-Virus (Stamm MĚROTĚN/57) in den Hühnerembryonen wurden qualitativ verschiedene Virusertäge in der Allantoisflüssigkeit danach gewonnen, unter welchen Bedingungen die Infektion der Hühnerembryonen verlief. Die durch kleine Influenza-Virusdosen verursachte Infektion führte zur Produktion der Viruspopulation, die sich durch die beträchtliche hohe Infektiosität kennzeichnet. Die Infektions- und Haemagglutinationseigenschaften dieser Population waren nach der Inkubation von 30 Stunden konstant im Falle, daß die Serienpassagen mit höchstverdünnten Allantoisflüssigkeit gemacht wurden.

Die Infektion durch hohe Infektionsdosen, d. h. durch unverdünnte Allantoisflüssigkeit, verursachte die Produktion des inkompletten Virus. Diese Population wurde immer in der dritten Serienpassage gewonnen, sollen den Hühnerembryonen entweder 0,1 ml oder 0,5 ml der unverdünnten Allantoisflüssigkeit inokuliert werden.

Gleich ausgiebige Produktion des inkompletten Influenza-Virus wurde auch in den deembryonierten Eiern festgestellt, und zwar immer in der dritten Serienpassage. Den Rückgang des Haemagglutinin in der vierten Serienpassage (unter die Möglichkeiten dessen Nachweises) haben wir nur nach der Inkubation der deembryonierten Hühnereiern durch die Virusdosen von 0,5 ml und 1 ml registriert.

Adresa autorů:

MVDr. František Vařejka, CSc., mř. prof. MVDr. Ludvík Černý,
Ústav mikrobiologie a imunologie veterinární fakulty VřZ, Brno, Palackého 1-3

LITERÁRNY PREHĽAD

■ V oblasti pH 1,0–7,0 sa nachádzajú v krvnom sére proteolytické enzýmy, s rôznymi pH-optimami a aktivitou. Tieto sérové proteázy sledoval v poslednej dobe u nás Janoušek (1959) a Janoušek, Homolka (1959) polarografickou metódou na princípe autoproteolýzy, t. j. za použitia sérových bielkovín ako substrátu. V krvnom sére ľudí zaznamenal Janoušek tri hlavné skupiny proteolytických enzýmov. Prvý proteolytický systém zahŕňa sérový pepsinogén s pH-optimom medzi 2,0–3,0, druhú skupinu predstavujú proteázy katepsínového typu s maximálnym účinkom medzi pH 3,0–4,2. Enzymový systém medzi pH 5,5–7,0 bol stanovený iba v ojedinelých prípadoch a jeho bližšie vlastnosti a pôvod zatiaľ nie sú známe.

Z uvedených sérových proteáz boli určené v ľudskom sére základné hodnoty pepsínu a katepsínu, ako aj ich zmeny v priebehu niektorých ochorení a načrtnutá možnosť ich využitia v laboratórnej diagnostike (Spiro a kol. 1955, 1959, Homolka 1964, Kolář a kol. 1964).

Aktivita pepsínu pre pomerne dobrú koreláciu medzi jeho obsahom v sére a v žalúdku sa sledovala predovšetkým u ochorení spojených so zmenami žalúdočnej sekrécie. Výsledok týchto bádání zatiaľ nevedol k jednotným uzáverom. Niektorí autori pripisujú stanoveniu sérového pepsinogénu určitý diagnostický význam pri nedostatočnej žalúdočnej sekrécii, karcinóme žalúdka a pernicioznej anémii (Janoušek a kol. 1955, Spiro a kol. 1955, 1956, Homolka 1964). Iná skupina pracovníkov poukazuje na nevýrazné rozdiely v aktivite sérového pepsínu u zdravých jedincov a pri chorobách žalúdka (Hradský, Horák, Jícha 1960a, b, Vrabel a kol. 1964). Stanovenie aktivity sérového katepsínu sa ukázalo výhodné v laboratórnej diagnostike ochorení pečene a významom sa dá porovnať podľa J. Homolku so stanovením aktivity transamináz (Homolka 1964, Homolka, Soušek 1965).

V dostupnej literature sme zistili iba jeden údaj zaoberajúci sa sérovým pepsinogénom u zvierat. Šanda (1962) na princípe autoproteolýzy, fotometrickou metódou stanovil hodnoty sérového pepsinogénu u zdravých zvierat a tiež pri rôznych ochoreniach. Analýzy boli prevedené u koní, psov, ošípaných a kráv. Šanda uvádza, že hladina sérového pepsinogénu sa zvyšuje po podaní potravy a aplikáciou histamínu. Choré zvieratá, ktoré neprijímali potravu, mali zníženú hladinu sérového pepsinogénu. Autor usúdil, že výška hladiny sérového pepsinogénu je ovplyvňovaná rozdielnou intenzitou žalúdočnej sekrécie.

Určenie proteolytických enzýmov v kyslej oblasti pH 1,0—7,0 nebolo zatiaľ u domácich zvierat systematicky sledované. (Údaje A. Šand u sa vzťahujú iba na sérový pepsinogén.) V tejto práci vzali sme si preto za úkol určiť proteolytickú aktivitu séra v celej kyslej oblasti pH a stanoviť základné hodnoty sérového pepsínu a katepsínu.

MATERIÁL A METODIKA

ROZTOKY, CHEMIKÁLIE, PRÍSTROJE A BIOLOGICKÝ MATERIÁL

0,5 N NaOH; 0,3 N HCl; 0,02 N HCl; 0,3 N CCl_3COOH ; Folin-Ciocalteovo činidlo (fenolové činidlo) (Keil, Šormová 1959). Štandardný roztok tyrozínu pripravený rozpustením 100 mg tyrozínu v 50 ml 1 N HCl a doplnený do objemu 100 ml destilovanou vodou (Kolář a kol. 1964) 20% kyselina sulfosalicylová. Základné roztoky k príprave citrát-fosforečnanových pufov: 0,1 M $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a 0,2 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$. Brdičková kobaltitá solúcia: K príprave Brdičkovej kobaltitej solúcie (10^{-3} M $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$; 1 N NH_4OH ; 0,1 N NH_4Cl) sa použil chlorid hexamokobaltitý *p. a.* (B. D. H. London). Ostatné použité chemikálie boli domácej výroby, čistoty *p. a.* Tyrozín a kyselina sulfosalicylová boli čistoty *puriss.*

Fotometrické merania sa prevádzali na fotometri Lumetron za použitia oranžového filtra s maximom priepustnosti pri 580 nm. Kontrola pH inkubovaných sér sa diala sklenenou elektródou na sovietskom pH-metri LP-58.

Polarografické krivky boli registrované na Heyrovského polarografe LP-55 zapojenou na zapisovač EZ 2. Citlivosť polarografu bola nastavená na hodnotu 1 : 500. Použila sa Kalouskova nádobka s referentnou nasýtenou kalomelovou elektródou. Konštanty kapiláry: $m = 1,7 \text{ mg} \cdot \text{s}^{-1}$, $t = 4,3 \text{ s}$, pri spojení elektród na krátko v 10^{-3} M roztoku KCl a $h = 50 \text{ cm}$.

- Krvné séra oviec, ošipáných, kráv a koní boli získané od klinicky zdravých zvierat z okolitých hospodárstiev a kliník Veterinárskej fakulty. Séra boli spracované naneskôr do 24 hodín a do doby spracovania vždy boli uchovávané v chladničke asi pri 4 °C.

PRACOVNÉ POSTUPY

Hodnoty pepsínu a katepsínu boli stanovené fotometricky podľa metodiky Kolářa a kol. (1964). Závislosť autoproteolytickej aktivity séra na pH bola určená fotometricky aj polarograficky. Fotometrické stanovenia boli prevádzané citovanou metódou pre stanovenie pepsínu a katepsínu, s tým, že pH séra bolo vždy upravené na príslušnú hodnotu.

Princíp polarografického stanovenia spočíva v určení rozdielu výšky bielkovinnej katalytickej vlny pred a po inkubácii, v amoniakálnych roztokoch solí trojmocného kobaltu.

Pracovný postup polarografického stanovenia sme uvravili nasledovne: k 0,5 ml séra sa pridá 2 ml pufru alebo kyseliny soľnej. Polovica zmesi, t. j. 1,25 ml, sa nechá inkubovať 24,00 hod. pri 37 °C. K neinkubovanému podielu sa pridá hneď a k inkubovanej vzorke po 24,00 hod. 1,25 ml 20% kyseliny sulfosalicylovej. Po 10 min. stánia sa filtruje cez Sch. Sch. 602 h. K 3 ml kobaltitej solúcie sa pridá 0,1 ml získaného filtrátu a polarografuje od 1000 mV.

VÝSLEDKY

Aktivita sérového pepsínu pri pH 1,6 bola sledovaná v dvoch paralelných vzorkách u 43 ošípaných, 25 kráv, 23 oviec a 30 koní. Hodnoty katepsínu v sére pri pH 3,6–3,8 boli určené u 31 ošípaných, 23 oviec a 30 koní.

Získané výsledky, udávajúce hodnoty oboch enzýmov v sére jednotlivých druhov domácich zvierat sú uvedené v tabuľke I.

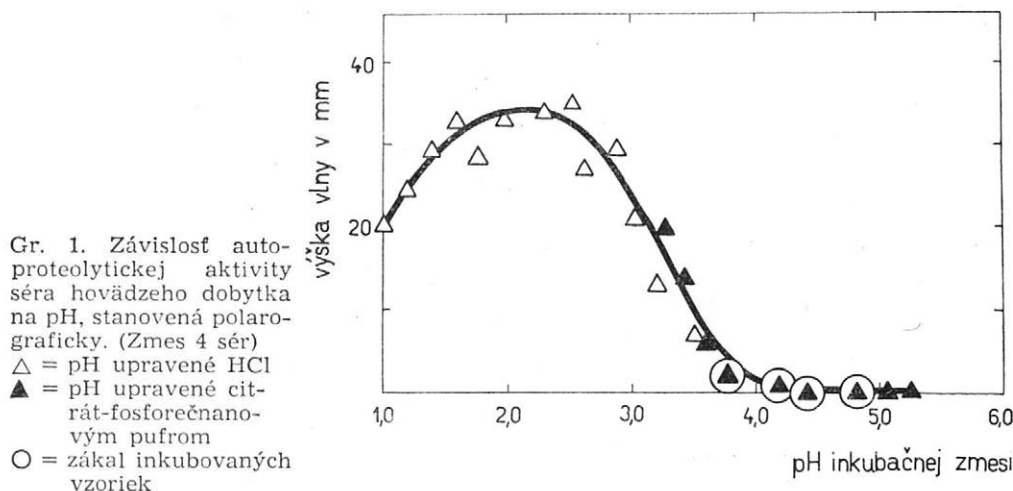
I. Aktivita pepsínu a katepsínu v sére niektorých domácich zvierat

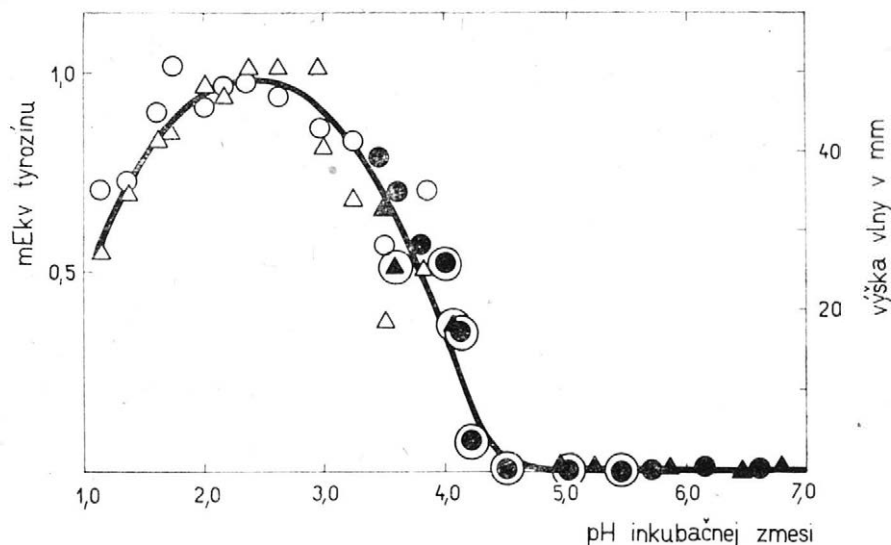
Druh zvierat	Pepsín (pH = 1,5 – 1,6) mEkv tyrozínu	Katepsín (pH = 3,6 – 3,8) mEkv tyrozínu
Ošípané	1,78 ± 0,43 (1,03 – 3,06)	0,56 ± 0,19 (0,24 – 1,04)
Hovädzí dobytok	1,25 ± 0,28 (0,75 – 2,05)	—
Ovce	0,66 ± 0,37 (0,21 – 1,37)	0,42 ± 0,17 (0,18 – 0,65)
Kone	0,24 ± 0,08 (0,11 – 0,44)	0,34 ± 0,11 (0,10 – 0,44)

Najvyššia aktivita sérového pepsínu a katepsínu bola stanovená u ošípaných, najnižšie hodnoty oboch enzýmov boli zistené v sére koní. U jednotlivých druhov zvierat s výnimkou koní hodnoty pepsínu sú oproti katepsínu podstatne vyššie.

Závislosť autoproteolytickej aktivity séra v kyslej oblasti pH od 1,0 do 7,0 sa zisťovala u ošípaných, hovädzieho dobytku a oviec v zmesi 4–5 vzoriek sér zmiešaných v rovnakom pomere. U koní stanovenie závislosti autoproteolýzy na pH sa previedlo individuálne zo séra u 3 zvierat. Hodnoty získané polarograficky a fotometricky u jednotlivých druhov zvierat sú znázornené na obr. 1–4.

U hovädzieho dobytku a oviec je priebeh závislosti autoproteolýzy na pH približne rovnaký s maximálnou aktivitou pri pH 2,3–2,5. Zdá sa, že v niektorých prípadoch u oviec je vyznačený ešte druhý enzymatický systém s maximom

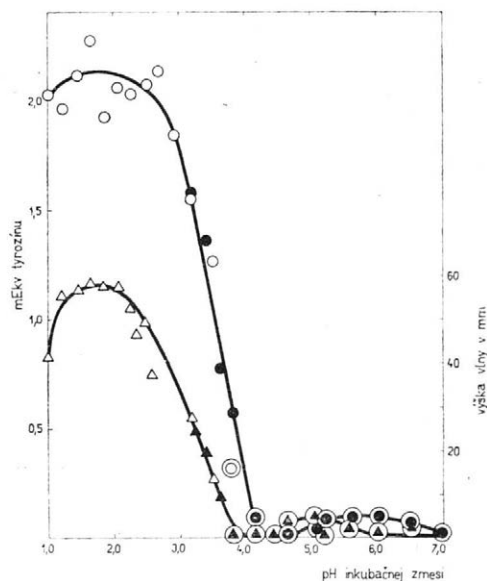




Gr. 2. Závislosť autoproteolytickej aktivity ovčieho séra na pH, stanovená polarograficky a fotometricky. (Zmes 5-tich sér)

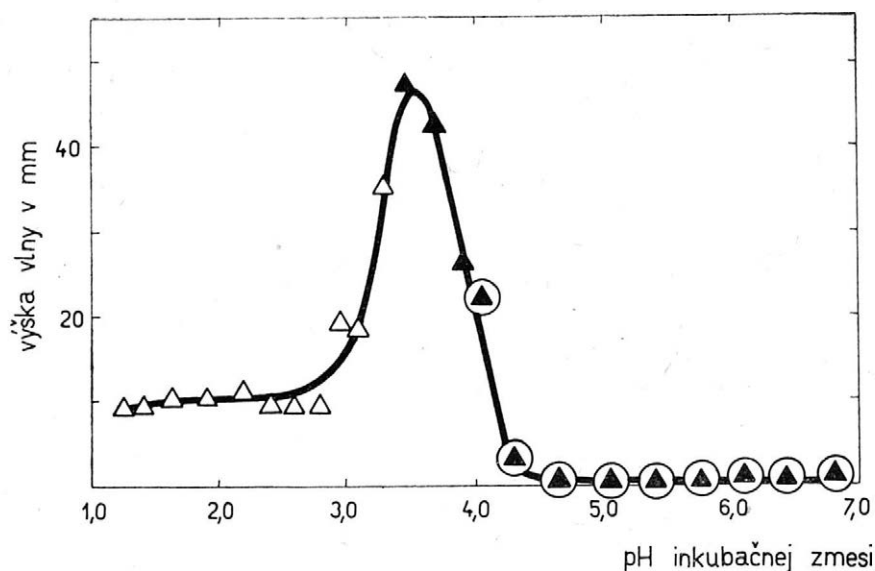
- = fotometrické stanovenie; pH upravené pomocou HCl
- = fotometrické stanovenie; pH upravené citrát-fosforečnanovým pufrom
- △ = polarografické stanovenie; pH upravené pomocou HCl
- ▲ = polarografické stanovenie; pH upravené citrát-fosforečnanovým pufrom
- = zákal inkubovaných vzoriek

pri pH 3,6–3,8. U ošípaných priebeh závislosti autoproteolýzy v kyslej oblasti predstavuje plynulú krivku s maximom aktivity pri pH 1,5–1,8. V porovnaní s ostatnými druhmi zvierat má konské sérum úplne odlišný priebeh autoproteolýzy v kyslej oblasti pH. Maximálna aktivita bola zistená medzi pH 3,0–3,4.



Gr. 3. Závislosť autoproteolytickej aktivity séra ošípaných na pH, určená polarograficky a fotometricky. (Zmes 5-tich sér)

- = fotometrické stanovenie; pH upravené HCl
- = fotometrické stanovenie; pH upravené citrát-fosforečnanovými puframi
- △ = polarografické stanovenie; pH upravené HCl
- ▲ = polarografické stanovenie; pH upravené citrát-fosforečnanovými puframi
- = zákal inkubovaných vzoriek



Gr. 4. Závislosť autoproteolytickej aktivity konského séra na pH, určená polarograficky (sérum od jedného zvieraťa)

△ = pH upravené pomocou HCl

▲ = pH upravené citrát-fosforečnanovými puframi

○ = zákal inkubovaných vzoriek

II. pH udávajúce maximá autoproteolytickej aktivity séra domácich zvierat

Druh zvierata	Maximálna proteolytická aktivita pri pH
Hovädzi dobytok	2,3 – 2,5
Ovce	2,3 – 2,5
Ošipané	1,5 – 1,8
Kone	3,0 – 3,4

DISKUSIA

Nami zistené hodnoty sérového pepsínu u jednotlivých druhov domácich zvierat nie je možné porovnávať s údajmi A. Šand u (1962), keďže pH jeho inkubačnej zmesi nie je z práce presne známe a bolo pravdepodobne od inkubačných zmesí použitých v tejto práci odlišné. V našich experimentoch sme volili pre stanovenie pepsínu pH 1,5–1,6. Uvedený autor úpravu pH previedol pridaním 2 ml pufru o pH 1,5 k 0,5 ml séra. Takto upravené výsledné pH inkubačnej zmesi bolo pravdepodobne vyššie ako pH 1,5 a teda vyššia bola aj proteolytická aktivita, ako to vyplýva z priebehu závislosti autoproteolýzy séra na pH. Sérový pepsinogén zisťovaný u hovädzieho dobytku v našom laboratóriu pomocou rádioaktívneho substrátu (Bartík, Mešter 1965) po prepočítaní hodnôt na mEkv tyrozínu zodpovedá údajom predkladaným v tejto práci.

Na prvý pohľad sa zdá, že proteolytickú aktivitu u hovädzieho dobytku a ošipaných v kyslej oblasti pH tvorí v sére iba jeden enzymatický systém. Pri

blížším štúdiu (Bartík, Mešter 1965) sa však ukázalo, že u hovädzieho dobytká, podobne ako aj u ľudí, sú v danej oblasti pH aktívne dva systémy, a to pepsín a katepsín. V sére ošípaných a oviec sa prítomnosť týchto enzymatických systémov tiež predpokladá, no nebola zatiaľ experimentálne overená. U koní je aktivita pepsínu pri pH 1,6 pri porovnaní s ostatnými druhmi zvierat veľmi malá a vyniká iba aktivita katepsínu pri pH 3,0–3,5.

Je pravdepodobné, že metodika pre stanovenie katepsínovej aktivity u zvierat bude musieť byť v zmysle týchto experimentov úpravená.

Podľa J. Homolky (1964) pepsínová aktivita v humánnom sére pri elektroforéze na papieri sa pohybuje s albumínom; katepsínovú aktivitu ukazuje len alfa- a beta-globulín. Polarograficky detektovateľný substrát je hlavne albumín; alfa- a beta-globulín sa trávi nepatrne a gama-globulín sa netrávi. V našich experimentoch pri sledovaní závislosti autoproteolýzy na pH v inkubačnej zmesi vznikali v rozsahu pH 3,8–6,4 zákal rôznej intenzity. Predkladáme, že uvedené zákal súvisia s vypadávaním bielkovín v izoelektrickom bode. Izoelektrický bod sérových bielkovín je u albumínov pri pH 4,6, u alfa globulínov pri pH 4,8, u beta globulínov pri pH 5,2 a u gama globulínov pri pH 6,4 (Hořejší a kol. 1956). Keďže aktivita pepsínu a katepsínu je viazaná na jednotlivé sérové bielkoviny ich vyvŕkovaním v izoelektrickom bode sa znižuje koncentrácia aj substrátu, čím sa autoproteolytická aktivita pri danom pH znižuje.

ZÁVER

V krvnom sére koní, hovädzieho dobytká, oviec a ošípaných bolo sledované rozloženie proteolytických fermentov v kyslej oblasti pH, a to metódou fotometrickou a polarografickou za použitia vlastných sérových bielkovín ako substrátu. Na princípe autoproteolýzy fotometrickou metódou boli u uvedeného druhu zvierat stanovené aj základné hodnoty sérového pepsínu pri pH 1,6 a katepsínu pri 3,7. Aktivita sérového pepsínu a katepsínu je udaná v mEkv tyrozínu uvoľneného z litra séra, inkubovaného pri danom pH po dobu 24 hod. pri 37 °C. U jednotlivých druhov zvierat aktivita pepsínu a katepsínu bola nasledovná: ošípané — pepsín $1,78 \pm 0,43$, katepsín $0,56 \pm 0,19$, hovädzí dobytok — pepsín $1,25 \pm 0,28$, ovce — pepsín $0,66 \pm 0,37$, katepsín $0,42 \pm 0,17$, kone — pepsín $0,24 \pm 0,08$, katepsín $0,34 \pm 0,11$ mEkv tyrozínu.

Maximum proteolytickej aktivity u hovädzieho dobytká a oviec je v rozsahu pH 2,3–2,5, u ošípaných pri pH 1,5–1,8 a u koní v oblasti pH 3,0–3,4.

Došlo dňa 4. 2. 1966

Literatúra

1. BARTÍK, M. - MEŠTER, J.: Stanovenie autoproteolytickej aktivity hovädzieho séra pomocou rádioaktívneho substrátu. = „Veterinární medicína“, 11, 1965 : 695.
2. HOMOLKA, J.: Polarografie bílkovin a její klinické využití. Státní zdrav. nakladatelství, Praha, 1964. — 3. HOMOLKA, J. - SOUŠEK, O.: Proteolytická aktivita séra a její klinický význam. = „Čas. lék. českých“, CIV, 1965 : 941. — 4. HOŘEJŠÍ, J. a kol.: Bílkoviny krevní plasmy. Státní zdravotnické nakladatelství, Praha, 1956. — 5. HRADSKÝ, M. - HORÁK, M. - JÍCHA, J.: Stanovení uropepsinu a pepsinogenu u našich nemocných. = „Čs. gastroenterologie“ 14, 1960a : 416. — 6. HRADSKÝ, M. - HORÁK, M. - JÍCHA, J.: Uropepsin a pepsinogen ve vztahu k histologickému stavu žaludeční sliznice. = „Čs. gastroenterologie“ 14, 1960b : 505. — 7. JANOUSEK, S.: Srovnávací studie a proteolytické a transaminační aktivity v séru. = „Čas. lék. českých“, 98, 1959 : 206. — 8. JANOUSEK, S. - HOMOLKA, J.: Enzymatická proteolytická

aktivita v mozkomíšním moku za kyselé reakce. = „Čas. lék. českých“ 98, 1959 : 150. — 9. JANOUŠEK, S. a kol.: Polarografická studie o autoproteolytické trávicí schopnosti okyseleného séra a její změna u perniciózní anémie. = „Čas. lék. českých“ 94, 1955 : 83. — 10. KEIL, N. - ŠORMOVÁ, P.: Laboratorní technika biochemie. Nakl. ČSAV, Praha, 1959. — 11. KOLÁŘ, J. a kol.: Fotometrické stanovení autoproteolytické aktivity séra. = „Čs. gastroenterologie“ 18, 1964 : 215. — 12. SPIRO, H. M. a kol.: The utility of the blood pepsin assay in clinical medicine. = „The New England Journal of Medicine“, 1955 : 253-261. — 13. SPIRO, H. M. a kol.: The catheptic contribution to blood acid protease. „Gastroenterology“ 36, 1959 : 431. — 14. SPIRO, H. M. a kol.: The relation of blood pepsin to gastric secretion, with particular reference to anacidity and achylia. = „Gastroenterology“ 30, 1956 : 563. — 15. ŠANDA, A.: Určování sérového pepsinogenu jako nepřímá vyšetřovací metoda k zjišťování činnosti žaludku. = In: Sborník Vysoké školy zemědělské, Brno, Spisy fak. vet., X, 1962 : 41. — 16. VRUBEL, F. a kol.: Autoproteolytická aktivita (pepsinogen a uropepsin) u vředové choroby a rakoviny žaludku. = „Čs. gastroenterologie“ 18, 1964 : 220.

Автопротеолитическая активность сыворотки в зависимости от pH и определение активности пепсина и катепсина у отдельных видов домашних животных

В сыворотке крови лошадей, крупного рогатого скота, овец и свиней изучалось разложение протеолитических ферментов в кислой области pH, а именно фотометрическим и полярографическим методами при использовании собственных белков сыворотки в качестве субстрата. По принципу автопротеолиза у приведенного вида животных фотометрическим методом были определены основные показатели сывороточного пепсина при pH 1,6 и катепсина при 3,7. Активность сывороточного пепсина и катепсина приводится в мэкв тирозина, выделенного из литра сыворотки, инкубированной при данной pH в течение 24 часов при 37 °C. У отдельных видов животных активность пепсина и катепсина была следующей: свиньи — пепсин $1,78 \pm 0,43$, катепсин $0,56 \pm 0,19$, крупный рогатый скот — пепсин $1,25 \pm 0,28$, овцы — пепсин $0,66 \pm 0,37$, катепсин $0,42 \pm 0,17$, лошади — пепсин $0,24 \pm 0,08$, катепсин $0,34 \pm 0,11$ мэкв тирозина.

Максимум протеолитической активности у крупного рогатого скота и овец находится в диапазоне pH 2,3—2,5, у свиней при pH 1,5—1,8 и у лошадей в области pH 3,0—3,4.

The Autoproteolytic Activity of Serum in Dependence on pH and Determination of the Activity of Pepsin and Cathepsin in the Different Species of Farm Animals

In the blood serum of horses, cattle, sheep, and of pigs the distribution of proteolytic ferments in the acid sphere of the pH was examined, and that by means of the photometric and polarographic methods with the application of serum proteins as a substratum. According to the principle of autoproteolysis by means of the photometric method also the basic values of serum pepsin at a pH of 1,6 and of cathepsin at a pH of 3,7 were determined in the mentioned animals species. The activity of the serum pepsin and cathepsin is given in mEquiv of tyrosine freed from one litre of serum incubated at the given pH for 24 hours at a temperature of 37 °C. In the different animal species the pepsin and cathepsin activity was the following: pigs-pepsin $1,78 \pm 0,43$, cathepsin $0,56 \pm 0,19$, cattle-pepsin $1,25 \pm 0,28$, sheep-pepsin $0,66 \pm 0,37$, cathepsin $0,42 \pm 0,17$, horses-pepsin $0,24 \pm 0,08$, cathepsin $0,34 \pm 0,11$ mEquiv of tyrosine.

The maximum proteolytic activity in cattle and in sheep ranges between pH 2,3—2,5, in pigs at pH 1,5—1,8, and in horses at pH 3,0—3,4.

Autoproteolytische Aktivität des Serums in Abhängigkeit von der pH und die Feststellung der Aktivität des Pepsins und Kathepsins bei den einzelnen Haustierarten

Im Blutserum der Pferde, Rinder, Schafe und Schweine wurde die Verteilung der proteolytischen Fermente im sauren pH-Bereich mittels der photometrischen und polarographischen Methode unter Benützung der eigenen Serumeiweißstoffe als Sub-

strat verfolgt. Auf dem Prinzip der Autoproteolyse mittels der photometrischen Methode wurden bei den angeführten Tierarten auch die Grundwerte des Serumpepsins bei pH 1,6 und des Kathepsins bei pH 3,7 festgestellt. Die Aktivität des Serumpepsins und Kathepsins wird in mEkv des Tyrosins angegeben, das aus 1 Liter bei angegebener pH-Zahl in 24 Stunden und bei 37 °C inkubiertem Serum freigeworden ist. Bei den einzelnen Tierarten war die Aktivität des Pepsins und Kathepsins die folgende: Schweine: Pepsin $1,78 \pm 0,43$, Kathepsin $0,56 \pm 0,19$; Rinder: Pepsin $1,25 \pm 0,28$; Schafe: Pepsin $0,66 \pm 0,37$, Kathepsin $0,42 \pm 0,17$; Pferde: Pepsin $0,24 \pm 0,08$, Kathepsin $0,34 \pm 0,11$ mEkv des Thyrosins.

Das Maximum der proteolytischen Aktivität beim Rindvieh und bei Schafen bewegt sich im Bereich von pH 2,3–2,5, bei Schweinen pH 1,5–1,8 und bei Pferden im Bereich von pH 3,0–3,4.

Adresa autorov:

prof. MVDr. Michal Bartík, MVDr. Eva Michnová,
VŠP, veterinárska fakulta, katedra chémie a fyziky, Košice, Komenského 71

**VLASTNOSTI ENTEROBAKTÉRIÍ
Z PROSTREDIA
ZARIADENÍ ŽIVOČÍŠNEJ VÝROBY**

**II. NIEKTORÉ BIOLOGICKE A BIOCHEMICKE VLASTNOSTI
ESCHERICHIA COLI Z PROSTREDIA VEĽKOCHOVOV**

■ Kontaminácia životného prostredia v okolí veľkochovov hospodárskych zvierat nadobúda stále väčší rozsah a stáva sa vážnym problémom pre zdravie ľudí. Tomuto problému treba venovať pozornosť, pretože proces deteriorácie životného prostredia na našom vidieku prebieha, zdá sa, rýchlejšie ako zavádzanie nutných hygienicko-preventívnych opatrení. V tejto súvislosti sa treba zamerať na hygienické dôsledky zmien v živočíšnej a rastlinnej výrobe, ktorá u nás nadobúda charakter veľkých závodov. Výstavba a prestavba zariadení živočíšnej a rastlinnej výroby vedie súčasne k produkcii veľkého množstva odpadových látok, včítane fekálií a moča hospodárskych zvierat, ktoré znečisťujú životné prostredie infiltráciou rôznych mikroorganizmov.

Medzi faktory mikrobiálnej kontaminácie, ktoré majú hygienický význam, patria kmene *Escherichia coli* ako potenciálne patogenné mikroorganizmy. *E. coli* hrá úlohu nielen v patogenéze niektorých zvieracích nákaz, napr. ako etiologický agens hnačky teliec, ale ohrozuje aj zdravie ľudí. Infekcie *E. coli*, najmä v detských kolektívoch, môžu mať nosokomiálny charakter, pričom dochádza k selekcii antibiotiko-resistentných kmeňov.

V predloženej práci sme sa zaoberali štúdiom biologických vlastností *E. coli*, izolovaných z prostredia závodov živočíšnej výroby, a to na základe prijatých kritérií diferenciálnej diagnostiky enterobaktérií. Tieto štúdie sme rozšírili o skúmanie aktivity niektorých enzýmov, ktoré odrážajú biologické vlastnosti mikroorganizmov. V tejto súvislosti sme skúmali katalázovú aktivitu, kde sa predpokladá vzťah k virulencii (Rajtár, Čížňár, Parráková, Krčméry 1966), redukciu trifenyl-tetrazoliumchloridu (= TTC) ako mieru redox-aktivity (Hirsch, Cattaneo 1958), malikodehydrogenázu ako indikátor energetického metabolizmu a glutamo-oxaloctovú transaminázu (CCT), ako predstaviteľa aktivity syntézy proteínov.

MATERIAL A METÓDY

PŮVOD A CHARAKTERISTIKA KMEŇOV

Skúmané kmene boli izolované z prostredia jedného poľnohospodárskeho závodu, zahrňujúceho ošipáren so 4000 ks a krávin so 120 ks hovädzieho dobytku. Priamo v obsluhu zvierat pracovalo cca 10 ľudí. V areáli celého závodu sa nachádzalo aj s ubytovanými osobami 200 až 250 ľudí. V tomto komplexe je dvojtriedna škola. V prostredí a v okolí uvedeného závodu sme izolovali celkove

1168 kmeňov z podčelade *Escherichiae*, z ktorých sme ako reprezentantov *E. coli* vybrali 40 kmeňov.

Tieto kmene sme rozdelili do štyroch skupín podľa bežných taxonomických kritérií. V prvej skupine bolo 21 kmeňov *E. coli*, ktoré skvasovali glukózu, laktózu, sacharózu a manitol, boli indol- a MRT-pozitívne a citrát-, urea-, gelatina- a KCN-negatívne. V druhej skupine bolo 9 kmeňov na rozdiel od prvej skupiny sacharózo-negatívnych. V tretej skupine bolo 7 kmeňov, na rozdiel od prvej skupiny citrát-pozitívnych. V štvrtej skupine sme mali tri kmene, ktoré nepovažujeme za typické *E. coli*, nakoľko sú ureázo- a citrát-pozitívne.

IZOLÁCIE KMEŇOV A PRÍPRAVA SUSPENZIE

Skúmané kmene sme izolovali zo vzoriek pôdy a fekálií odobratých v okolí závodov živočíšnej výroby. Zo vzoriek sa pripravila suspenzia a potrebné riešenie, ktoré sa pomnožili v Kesslerovej pôde. Pomnožené kultúry sa vyočkovali na Endovú pôdu. Z bakteriálnych kolónií vyrastených na Endovej pôde sa robil preparát podľa Grama. Ak sa jednalo o gramnegatívne nesporulujúce tyčinky, urobili sme biochemickú identifikáciu: štiepenie laktózy, sacharózy, manitu, maltózy, glukózy, tvorbu indolu, sírovodíka, skvapalňovanie želatíny, hydrolýzu urey, MRT a KCN-test, amoniumcitrátový test a reakciu podľa Vogesa-Proskauer (tvorba acetylmetylcyanidu).

Izolované kmene sa udržiavali na sérovom agare (hlboký vpich). Pre enzymatické stanovenia sa vyočkovali na mäsopeptonový agar. Po 24hodinovej inkubácii pri 37 °C sa vyrastené kolónie zmyli pufovaným fyziologickým roztokom (pH 7, 14) a hustota suspenzie sa pomocou Langeho fotometra (oranžový filter 5 ccm ml kvety) upravila tak, aby dávala 70 % absorpcie svetla.

STANOVENIE AKTIVITY ENZÝMOV

Stanovenie katalázy: 2,5 ml suspenzie sa smiešalo so 7,5 ml 1% H_2O_2 a po 30 minútach občasného premiešavania pri izbovej teplote sa nerozložený peroxid stanovil titráciou 0,1 N $KMnO_4$.

Určenie redukcie TTC: K 1 ml suspenzie sa pridalo 0,1 ml roztoku TTC. Intenzita farebnej reakcie sa posudzovala po 120 min.

Stanovenie glutamát-oxalóctovej transaminázy sa robilo pomocou Transaminase Screening Test Set (výrobca: Merz & Dade, USA) na princípe reakcie, pôvodne opísanej Babsonom a Phillipsom (1965). Sčervnenie substance (Azoene Fast Violet B, 6-benzamido-4-methoxy-m-toluidín-diazónium chlorid) následkom vytvorenej oxalóctovej kyseliny činnosťou bakteriálnej transaminázy (GOT) sa stanovovalo po 60 min inkubácii pri 37 °C na testovacích diskoch a vyhodnocovalo sa semikvantitatívne ako negatívne, slabá, stredná alebo silná aktivita.

Stanovenie malikodehydrogenázy (MDH) sa robilo kolorimetrickou metódou, založenou na princípe vytvorenia kyseliny pryrohoznovej, jej farebného hydrazónu z kyseliny oxalóctovej. Vzniklý hydrazón bol fotokolorimetrom v alkalickom prostredí pri 530 nm. Pre porovnateľnosť sme prepočítali namerané extinkcie tiež do štyroch semikvantitatívnych stupňov, podobne ako u GOT.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky našich skúmaní sú uvedené v tabuľkách I–IV. Ako vidieť z tabuľky I, medzi 21 kmeňmi k prvej skupine patrilo 5 kmeňov k enteropatogénym sérotypom *E. coli* (0 127, 0 26, 0 111, 0 86, 0 119). Všetky tieto enteropatogénne kmene boli izolované z fekálií. Pri skúmaní vzájomnej korelácie medzi

I. Porovnanie enzymatickej aktivity kmeňov *E. coli* 1. skupiny

Číslo kmeňa	Pôvod kmeňa	Sérotyp	Aktivita katalázy (1)	Redukcia TTC (2)	Aktivita MDH (3)	Aktivita GOT (4)
54	póda	—	2	1	3	1
59	póda	—	3	1	3	2
88	póda	—	4	3	4	1
123	fek. ošip	086	3	1	2	0
142	fek. ošip	—	2	1	2	2
484	fek. ošip	0127	4	2	3	3
487	fek. ošip	—	2	1	3	1
488	fek. ošip	—	3	1	3	2
499	fek. ošip	—	2	1	1	3
500	fek. ošip	0119	3	1	2	2
505	fek. kráv	—	4	3	4	1
518	fek. kráv	026	1	0	4	2
600	póda	—	4	2	2	1
601	póda	—	4	2	2	1
604	póda	—	1	1	1	3
605	póda	—	4	3	4	1
644	fek. ošip	—	2	1	2	0
645	fek. ošip	0111	2	1	1	0
653	fek. ošip	—	1	1	2	2
73	póda	—	3	1	3	1
655	fek. ošip	—	1	1	2	0

- (1) Aktivita katalázy je vyjadrená v mg H₂O₂ (viď metodiku). Označenie:
 - 1 — nízka aktivita (0,5–4,0 mg H₂O₂/30 min.)
 - 2 — stredná aktivita (4,1–9,0 mg H₂O₂/30 min.)
 - 3 — vysoká aktivita (9,1–16,0 mg H₂O₂/30 min.)
 - 4 — veľmi vysoká aktivita (16,0–26,0 mg H₂O₂/30 min.)
- (2) Redukcia TTC je hodnotená takto: 0 — negatívna reakcia (formazán nevznikol).
 - 1 — slabočervené zafarbenie suspenzie.
 - 3 — červené zafarbenie suspenzie.
 - 3 — výrazná reakcia
- (3) Aktivita MDH je označená takto:
 - 1 — nízka aktivita (menej ako 55% absorpcie svetla voči kontrole)
 - 2 — stredná aktivita (menej ako 60% absorpcie svetla voči kontrole)
 - 3 — vysoká aktivita (menej ako 65% absorpcie svetla voči kontrole)
 - 4 — veľmi vysoká aktivita (viac ako 65% absorpcie svetla voči kontrole)
- (4) Aktivita GOT je vyjadrená podľa zafarbenia indikátorového disku takto: 0 — negatívna reakcia. 1 — slabé zafarbenie. 2 — reakcia zreteľne pozitívna. 3 — veľmi silná reakcia.

aktivitami enzymatických reakcií sa v tejto skupine kmeňov zistil jedine vzťah medzi aktivitou katalázy a aktivitou TTC. Kmene s vysokou aktivitou katalázy redukovali TTC veľmi aktívne (č. 88, 484, 505, 600, 605), a naopak kmene s nízkou aktivitou katalázy spravidla redukovali TTC slabšie. Nenašli sme vzťah medzi katalázovou aktivitou a MDH, a katalázou a GOT. Vysoká aktivita katalázy bola obvykle sprevádzaná vysokou aktivitou MDH a veľmi nízka aktivita katalázy veľmi nízkou aktivitou MDH. Niektoré kmene s nízkou aktivitou katalázy vykazovali však vysokú aktivitu MDH (č. 487, 518).

Je zaujímavé, že sme v tejto skupine nenašli žiaden vzťah medzi aktivitou GOT a ktoroukoľvek zo skúmaných enzymatických reakcií. Z tab. I. tiež vidieť že nie je pravidelný vzťah medzi aktivitou redukcie TTC a MDH.

V druhej skupine kmeňov je vysoký počet enteropatogénnych kmeňov *E. coli* (tab. II.), nakoľko z 9 kmeňov bolo 5 enteropatogénnych. Všetky kmene tejto skupiny boli izolované z fekálií. Čo sa týka enzymatickej aktivity, tvoria tieto kmene najhomogénnejšiu skupinu. Sedem z deviatich kmeňov vykazuje extrémne vysokú katalázovú aktivitu, ostatné dva (č. 522 a 511) sú tiež veľmi aktívne. Všetky kmene z tejto skupiny veľmi aktívne redukujú TTC, vykazujú vysokú aktivitu MDH a s výnimkou dvoch kmeňov (č. 515 a 523) veľmi nízku aktivitu transaminázy.

II. Porovnanie enzymatickej aktivity kmeňov *E. coli* 2. skupiny

Číslo kmeňa	Pôvod kmeňa	Sérotyp	Aktivita katalázy (1)	Redukcia TTC (2)	Aktivita MDH (3)	Aktivita GOT (4)
654	fek. kráv	—	4	3	3	1
515	fek. kráv	086	4	3	3	2
522	fek. kráv	—	3	3	4	0
523	fek. kráv	026	4	3	4	2
507	fek. kráv	—	4	3	4	0
509	fek. kráv	0125	4	3	3	1
511	fek. kráv	086	4	3	3	1
513	fek. kráv	—	4	3	4	1
514	fek. kráv	0127	4	3	4	1

Hodnotenie enzymatických reakcií ako v tabuľke I.

V tretej skupine kmeňov (tab. III) boli zo 7 kmeňov 4 enteropatogénne. Charakteristickým znakom v tejto skupine je pomerne veľmi aktívna redukcia TTC, s výnimkou jedného kmeňa (498). V aktivite MDH aj GOT sú značné rozdiely. Katalázová aktivita je u prevážnej väčšiny kmeňov vysoká. Celkove enzymatické vlastnosti kmeňov tejto skupiny nie sú tak konzistentné ako v druhej skupine. Zatiaľ čo možno vidieť pomerne dobrú koreláciu medzi aktivitou KA a TTC, aktivita MDH je variabilná a nekoreluje s aktivitou ostatných enzýmov.

Do štvrtej skupiny (tab. IV) sme zahrnuli 3 kmene s netypickými vlastnosťami: aktivita všetkých skúmaných enzýmov je veľmi nízka, pričom tieto kmene vôbec neredukujú TTC. Uvedené kmene vzhľadom na ich odlišné biochemické vlastnosti (citrát a úrea⁺) nemožno pokladať za pravé kmene *E. coli*.

III. Porovnanie enzymatickej aktivity kmeňov *E. coli* 3. skupiny

Číslo kmeňa	Pôvod kmeňa	Sérotyp	Aktivita katalázy (1)	Redukcia TTC (2)	Aktivita MDH (3)	Aktivita GOT (3)
76	póda	—	3	3	3	1
57	póda	—	3	2	1	2
483	fek. ošíp.	086	4	3	3	3
486	fek. ošíp.	026	3	3	3	1
494	fek. ošíp.	086	4	3	4	1
495	fek. ošíp.	086	4	3	2	3
498	fek. ošíp.	—	1	1	1	2

Hodnotenie enzymatických reakcií ako v tabuľke I.

IV. Porovnanie enzymatickej aktivity u troch netypických kmeňov

Číslo kmeňa	Pôvod kmeňa	Sérotyp	Aktivita katalázy (1)	Redukcia TTC (2)	Aktivita MDH (3)	Aktivita GOT (4)
178	fek. ošíp.	086	2	0	2	1
163	fek. kráv	—	1	0	1	0
186	fek. kráv	—	2	0	1	0

Hodnotenie enzymatických reakcií ako v tabuľke I.

SÚHRN

Skúmali sa biochemické a enzymatické vlastnosti kmeňov *E. coli* izolovaných z prostredia závodov živočíšnej veľkovýroby. Spolu s biochemickými testami diferenciálnej diagnostiky sa kvantitatívne a semikvantitatívne stanovovala aktivita katalázy, reduktáz, GOT a malikodehydrogenázy. Podľa kvality enzymatických reakcií bolo možné izolované kmene zdeliť do štyroch skupín s charakteristickými vlastnosťami.

Podakovanie. Za spoluprácu pri stanovení MDH a GOT ďakujeme Dr. Kellenovi.

Došlo dňa 27. 6. 1966

Literatúra

1. BABSON, A. L. - PHILLIPS, G. E.: An improved colorimetric transaminase assay. = „Cin. Chemistry“, 11, 1965 : 535-537. — 2. HIRSCH, A. - CATTANEO, C.: Reduktion der Tetrazolium-Salze bei Mykobakterien. = „Z. Hyg. Infektionskr.“, 145, 1958 : 71-83 (pozri tiež HIRSCH, A., „Z. f. Infektionskr.“, 145, 1958 : 355). — 3. RAJTAR, V. - ČIŽNAR, I. - PARRÁKOVÁ, E. - KRČMĚRY, V.: Vzťah katalázovej aktivity k niektorým biologickým vlastnostiam enterobaktérií. = „Vet. medicína“, 11, 1966 : 183-191.

I. Некоторые биологические и биохимические свойства *E. coli*

Изучались биохимические и ферментатические свойства штаммов *E. coli*, изолированных из среды промышленных животноводческих предприятий. Наряду с биохимическими тестами дифференциальной диагностики, в количественном и полуквантитативном порядке определялась активность каталазы, редуктаз, GOT и маликодегидрогеназы. На основе активности ферментатических реакций изолированные штаммы можно было разделить на четыре группы с характерными свойствами.

The Characteristics of Enterobacteriaceae of the Environment of Establishments of Livestock Production. — II. Some of the Biological and Biochemical Characteristics of *E. coli*

There were investigated the biochemical and enzymatic characteristics of *E. coli* strains isolated from the environment of establishments of large-scale livestock production. Simultaneously with biochemical tests of the differential diagnostics the activity of catalase, reductase, GOT, and of malicodehydrogenase was determined quantitatively and semiquantitatively. According to the activity of enzymatic reactions it was possible to divide the isolated strains into four groups with characteristic properties.

Eigenschaften der Enterobakterien aus dem Milieu der Einrichtungen für tierische Produktion. — II. Einige biologische und biochemische Eigenschaften der *E. coli*

Wir untersuchten die biochemischen und enzymatischen Eigenschaften der *E. coli*-Stämme, die aus dem Milieu der Betriebe für tierische Großproduktion isoliert wurden. Gemeinsam mit den biochemischen Testen der Differentialdiagnostik wurde die Aktivität der Katalase, Reduktase, GOT und Malikodehydrase quantitativ und semiquantitativ festgestellt. Nach der Aktivität der enzymatischen Reaktionen war es möglich, die isolierten Stämme in vier Gruppen mit charakteristischen Eigenschaften einzuteilen.

Adresa autorov:

MUDr. Edita Parráková, CSs., ing. Vladimír Krčméry, CSc.,
Výskumný ústav hygieny, Bratislava, ul. Čsl. armády 40

■ V předkládané práci shrnujeme výsledky histochemického vyšetření aktivity některých hydrolytických enzymů v normální žaludeční sliznici prasete, protože v literatuře tyto údaje chybí.

V diskusní části srovnáváme výsledky s nálezy u člověka a jiných živočišných druhů, jak jsou známy z literatury.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky sliznice ze žláznaté části žaludku byly odebírány celkem od 24 prasat českého bílého ušlechtilého plemene, vykrmovaných na velkovýkrmně. Živá váha se pohybovala mezi 36–61 kg. Prasata byla krmena jednotně připravenou krmnou směsí.

S výjimkou zvířat, u nichž byl odběr sliznice proveden bioptickou žaludeční sondou, šlo o zvířata odeslaná k nutnému odpořádání na sanitní jatky pro zranění končetin nebo jiná traumata. Sliznice nebyla odebírána od prasat s poruchou celkového zdravotního stavu a dále ze žaludků, na kterých byly po odpořádání patrné makroskopické patologické změny.

Odběr byl prováděn třemi různými způsoby:

1. ze stěny žaludku po skončení obvyklého porážecího postupu. Tímto způsobem byly získány vzorky od 5 prasat.
2. ze stěny žaludku vyjmutého z dutiny břišní po vykrvení, tedy před pařením a dalším opracováním. Takto se podařilo získat vzorky sliznice od 13 prasat vždy ve velmi krátké době po usmrcení zvířete (do 2–5 minut). Vzorky byly při obou způsobech odběru odebírány z části kardiální, fundální a pylorické.
3. bioptickou sací žaludeční sondou v Hradského modifikaci (1962). Bioptickou sondou se získají terčiky žaludeční sliznice o průměru asi 3 mm. Tato technika odběru umožňuje získat vzorky sliznice od živých zvířat. Dosahuje se při ní maximálního zkrácení doby mezi odběrem a vložením vzorků do fixačního roztoku.

Nevýhodou však je, že nelze jednoduchým způsobem kontrolovat, která část žaludeční sliznice bude do sondy nasáta, a že tak ztrácíme možnost plánovitěho odebírání sliznice z určitého místa. Z které části vzorek sliznice pocházel zjistíme až při mikroskopickém vyšetření.

Bioptickou sondou bylo odebráno 6 vzorků žaludeční sliznice od 6 prasat. Z toho šlo čtyřikrát o sliznici z části kardiální, dvakrát z části fundální. V žádném případě nebyla nasáta sliznice z *pars pylorica*.

Odebrané vzorky žaludeční sliznice byly bezprostředně po odběru vloženy do vychlazeného Bakerova formol-kalciového fixačního roztoku na dobu 2–6 hodin. Enzymy byly prokazovány ve zmrazených řezech azokopulační metodou (Lojda 1958, Burstone 1962) s těmito substráty a diazotáty:

- Pro alkalickou fosfatázu — naftol AS-TR fosfát a Fast Blue RR salt nebo tetrazofluoroborát o-dianisidinu
- pro kyselou fosfatázu — naftol AS-TR fosfát a p-nitrofenyl-diazonium-fluoborát
- pro nespecifickou esterázu — alfa-naftylacetát, naftol AS-acetát a tetrazofluoroborát o-dianisidinu nebo Fast blue RR salt.

Aktivita byla posuzována podle intenzity vybarvení podle této stupnice: žádná 0, stopy ($\pm$), slabá $\pm$, střední +, silná 2 +, velmi silná 3 +.

K přehlednému vyhodnocení (tabulka I.) byla aktivita určována v epitelu areol a foveol, krčcích žlaz, v tělech žlaz, v proximální části a u báze, ve vazivu *lamina propria mucosae*, v *lamina muscularis mucosae*, v lymfatických folikulech a v endotelu krevních kapilár.

Současně byla prováděna mikroskopická kontrola struktury v parafinových řezech barvených hematoxylinem-eosinem.

I.

Enzym	Část žaludeční sliznice	Povrchový epitel		Žlazový epitel		
		areol	foveol	krčky	proximální část	distální část
Alkalická fosfatáza		—	—	—	—	—
Kyselá fosfatáza	kardiální	—	$\pm$	($\pm$)	$\pm$	$\pm$
	fundální	—	+	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	pylorická	$\pm$	+	+	$\pm$	+
Nespecifická esteráza	kardiální	+++	++	+	+	+
	fundální	+++	+++	+	++	++
	pylorická	+++	+++	+	++	++

VÝSLEDKY

1. ALKALICKÁ FOSFATÁZA (OBR. 1.)

Silná aktivita alkalické fosfatázy byla prokazována jen v krevních kapilárách opřádajících žlazové tubuly. Kromě toho byly aktivní ojedinělé leukocyty, rozptýlené v reticulu slizničního vaziva s větším nahromaděním při bazích žlázek. Nálezů jsou naprosto konstantní.

2. KYSELÁ FOSFATÁZA

V žaludeční sliznici prasete je aktivita kyselé fosfatázy celkově nízká. Konstatovali jsme určité kvantitativní rozdíly u jednotlivých zvířat.

V kardiální části je povrchový epitel neaktivní. V epitelu foveol je slabá aktivita. Žlázové krčky mají jen stopy kyselé fosfatázy. Žlázy kardiie projevují slabou aktivitu. Aktivita žlázového epitelu je o něco vyšší při dnu žlázek.

Vazivo *lamina propria mucosae* je slabě pozitivní. Aktivita je také v některých buňkách velmi četných lymfatických uzlíků. Podle Braunsteina a spol. (1958) jsou výrazně aktivním elementem v lymfatických folikulech histiocyty.

Hladká svalovina *laminae muscularis mucosae* a endotel kapilár je negativní.

V *pars fundica* je povrchový epitel neaktivní, epitel foveol jeví aktivitu středního stupně. Fundální žlázy jsou slabě aktivní. Nejsou zjistitelné rozdíly v aktivitě buněk hlavních a krycích.

V *pars pylorica* povrchový epitel jeví slabou aktivitu. Pylorické žlázy jsou slabě aktivní. V krčkách a u dna žlázek je aktivita středního stupně (obr. 2).

O vazivu *lamina propria mucosae*, hladké svalovině a kapilárách platí pro část fundální a pylorickou totéž, co bylo řečeno u kardiie.

3. NESPECIFICKÉ ESTERÁZY

Aktivita nespecifické esterázy je ve všech částech žaludeční sliznice prasete vysoká a mezi jednotlivými zvířaty nejsou výraznější rozdíly. Oba použité substráty (alfa-naftylacetát a naftol AS-acetát) jeví v povrchovém a žlázovém epitelu shodnou lokalizaci.

V *pars cardiaca* (obr. 3) je v povrchovém epitelu aktivita velmi silná. Epitel foveol jeví aktivitu silnou, jen o něco nižší. Kardiální žlázový epitel je středně pozitivní, aktivita je rovnoměrná ve všech částech žlázek.

Následující platí rovněž pro ostatní části žaludku. V *lamina propria mucosae* nebyla aktivita zjištěna. Slabou aktivitu dávají lymfatické folikuly se silně aktivními buňkami. Podle Braunsteina, Freimanna a Galla (1958) jde o histiocytv. V *lamina muscularis mucosae* je alfa-naftyl esteráza slabě pozitivní, na rozdíl od AS-esterázy, která je zde negativní.

V povrchovém epitelu *pars fundica* (obr. 4) je nejvyšší aktivita esteráz ze všech 3 sledovaných částí žaludku. Je velmi silná v epitelu na vrcholu areol i ve foveolách. Oblast žlázových krčků je nejméně aktivní. Žlázové tubuly jeví silnou aktivitu, která je ve většině případů ještě o něco vyšší při dnu žlázek. Aktivita v buňkách krvcích byla většinou vyšší než v buňkách hlavních.

V *pars pylorica* (obr. 5) je velmi silná aktivita v povrchovém epitelu. Oblast žlázových krčků je o něco méně aktivní. Bohatě rozvětvené žlázy mají silnou aktivitu, stejnoměrně rozloženou.

DISKUSE

1. ALKALICKÁ FOSFATÁZA

Podle zjištění Kolba a Schütze (1961) odpovídá množství alkalické fosfatázy v zaživacím traktu prasete intenzitě resorpčních pochodů příslušného úseku. Tyto pochody jsou v žaludku z celého zaživacího traktu nejmenší. Kolb

a Schütze zkoumali aktivitu jednotlivých částí žaludeční sliznice metodou biochemickou, určením počtu mg fenolu uvolněného 1 g sliznice ze substrátu k ní přidávaného. Zjistili, že nejsou podstatné rozdíly v aktivitě alkalické fosfatázy u *pars oesophagea*, *fundica* a *pylorica* a že ve všech těchto úsecích je aktivita minimální.

S tímto zjištěním jsou v souladu naše výsledky, které prokazují, že ve všech třech částech žaludeční sliznice prasete není alkalická fosfatáza přítomna nikde jinde než v kapilárách a ojedinele rozptýlených leukocytech.

Stejný nález potvrzují histochemicky všichni autoři, např. Gomori (1939), Takamatsu (1939), Rutenburg, Monis, Banks (1958), Planteydt a Willighagen (1960), Mauro, Comoglio (1961), Planteydt, Leemhuis a Willighagen (1962), Correia, Filipe a Santos (1963), Dawson, Pryse-Davies (1963), Langr a spol. (1963), Ploscowe, Berg a Segal (1964), kteří na základě zkoumání normální lidské žaludeční sliznice zjistili, že alkalická fosfatáza je přítomna pouze v endotelu kapilár a menších cév.

Výsledky vyšetřování u jiných zvířat nejsou již tak jednoznačné. Tak např. u krysy (Burstone 1951, Kozłowska 1962), a myši (Planteydt a spol. 1962) je alkalická fosfatáza pouze v kapilárách. U psa (Pařízek a spol. 1965) je silně pozitivní vazivo *lamina propria mucosae*, které překrývá aktivitu kapilár. Podobně je tomu u kočky a morčete. U bobra Kämmerer, Wetzig (1965) dokumentují obrázkem aktivitu v apikálních pólech epiteliálních buněk tubulů pylorických žlázek.

2. KYSELÁ FOSFATÁZA

Práce, které se zabývaly lokalizací a zjišťováním aktivity kyselé fosfatázy v žaludeční sliznici nevyznívají jednotně. Kyselá fosfatáza je rozptýlena po celém zažívacím traktu mnohem rovnoměrněji.

Podle našich výsledků je aktivita kyselé fosfatázy ve všech částech sliznice žaludku prasete nízká. Tento poznatek souhlasí se zjištěním Kolba a Schütze (1961), kteří prokazovali ferment biochemicky a dostali nízké hodnoty ve všech částech vepřového žaludku.

V našich vyšetřeních nebyla buď žádná nebo velmi slabá aktivita enzymu prokázána v povrchovém epitelu areol, výraznější ve foveolách všech částí žaludku. Tento poznatek je do určité míry ve shodě s údaji Rosemana, Simona, Sleisengera (1959), Planteydta a spol. (1960), Correia a spol. (1963), kteří pracovali se sliznicí lidských žaludků a užívali azokopulačních metod. Naproti tomu při použití původní metody s PbS zjistil Gomori (1941) u lidí, u psů Ragins a spol. (1964) aktivitu povrchového epitelu mnohem výraznější.

Žlázy kardiální a fundální jeví se převážně slabou aktivitu, v pylorické části téměř žádnou. Přitom nebilo možno konstatovat, že by některý typ žlázo-vých buněk jevil jiný stupeň aktivity než ostatní. Gomori (1941) u člověka zjistil, že krycí buňky jeví nižší aktivitu, hlavní buňky vyšší. Planteydt a spol. (1960) mluví o silné aktivitě žláz v dolní třetině fundu člověka, mírné ve žlá-zách pyloru. Roseman, Simon, Sleisenger (1959) popsali též vyšší aktivitu při basích žlázek. Mvší žaludky jeví v pylorické části (Planteydt 1962) nižší aktivitu než lidské. V obou posledních pracech je uváděno, že v lid-ském žaludku je aktivita krycích buněk nulová, v hlavních výrazná, kdežto v ža-ludku myši je tomu opačně. Correia a spol. (1963) udávají slabou aktivitu

v krčcích žlázek lidského fundu, žádnou aktivitu v krycích buňkách, silnou v hlavních buňkách. Při použití 6-benzoyl-2-naftylfosfátu jako substrátu zjistili Reiner, Rutenburg, Seligmann (1957) velikou variabilitu aktivity v povrchovém epitelu a ve žlázkách nejvyšší aktivitu v krycích buňkách.

Kozłowska (1962) mluví o velmi slabé aktivitě kyselé fosfatázy, v žláзовých buňkách u bílých krys. Ragins a spol. (1964) udává stopovou aktivitu v krčcích žláz žaludeční sliznice psa a stopovou až silnou v tělech žláz. Aktivitu krycích buněk označuje jako stopovou až slabou, hlavních buněk velmi silnou až slabou. Ragins při těchto vyšetřeních používal obou metod a zdůrazňuje velkou nepravidelnost výsledků. Burstone (1958) vyšetřoval na přítomnost kyselé fosfatázy žaludky zdravých krys a myši a ferment vůbec neprokázal. Rovněž v žaludeční sliznici bobra nebyla prokázána žádná aktivita (Kämmerer a Wetzig 1965).

O aktivitě subepiteliálního vaziva se zmiňuje Correia a spol. (1963), kteří ji klasifikují jako středně silnou, ale nelocalizují ji přesněji.

Velikou různost výsledků je možno vysvětlit odlišným druhovým původem žaludeční sliznice a též rozdílnými metodami na zjišťování kyselé fosfatázy.

3. NESPECIFICKÁ ESTERÁZA

Naše výsledky ukázaly, že aktivita alfa-naftyl esterázy i naftol AS-esterázy je ve všech částech žaludeční sliznice prasete vysoká. Literární údaje ukazují na četné mezidruhové rozdíly v lokalizaci a aktivitě esteráz. Tak např. aktivitu nespecifické esterázy v povrchovém epitelu žaludeční sliznice člověka označuje Planteydt a spol. (1962), Correia a spol. (1963) a Langra a spol. (1963), Dawson, Pryse-Davies (1963) jako výrazně pozitivní, bylo-li k průkazu použito alfa-naftylacetátu. Byl-li použit naftol AS-acetát, zjistil Planteydt aktivitu slabou, Langra žádnou. Zde již shoda s nálezy u prasete není.

U pokusných zvířat se naopak Planteydtovi jevila aktivita povrchového epitelu u myši při obou substrátech jako slabá, Kozłowské (1962) u bílých krys při obou substrátech jako pozitivní.

Zjišťování aktivity esteráz ve žláзовém epitelu žaludku různými autory přineslo výsledky často protichůdné. Např. Gomori (1956) při použití alfa-naftylacetátu prokázal ve vývodech fundálních žláz lidského žaludku slabou aktivitu, v buňkách hlavních a krycích aktivitu výraznou. Jestliže použil naftol AS-acetát byla aktivita ve vývodech slabá, rovněž slabá i v buňkách hlavních, ale značně silná v krycích buňkách. Žádná aktivita nebyla v pylorických žlázkách. Nachlas a Seligman (1949) popsali u králíka silnou aktivitu ve žlázkách, u psa výhradně v povrchovém epitelu, u morčete shodně s člověkem nejvyšší aktivitu při bázych žlázek. U všech druhů chyběla aktivita v pylorické části.

Kozłowska (1962) zjistila u bílých krys při použití alfa-naftylacetátu i naftol AS-acetátu vysokou aktivitu esteráz v buňkách žláz žaludku. Correia a spol. (1963) naopak neprokázal žádnou aktivitu v krycích buňkách žláz lidského fundu, ale vysokou v buňkách hlavních. Langra a spol. (1963) pozoroval značnou aktivitu při obou acetátech v buňkách hlavních i vedlejších.

Výsledky získané vyšetřením žaludeční sliznice prasat prokázaly výraznou aktivitu, i když slabší než u povrchového epitelu ve všech typech žláz. Relativně nízkou aktivitu jeví krčky pylorických žláz. O fundálních žlázkách nelze tvrdit, že by její buňky hlavní nebo krycí byly aktivnější. Někdy byly intenzivněji vybarveny buňky krycí, jindy hlavní.

Je známo, že základní typy buněk žaludeční sliznice (povrchový epitel, buňky krčku, hlavní a krycí buňky, enterochromaffinní buňky) se u savců neliší v běžném rutinním histologickém barvení. Nebyly také dosud zaznamenány nálezy o rozdílech v ultrastruktuře buněk fundálních žláz mezi různými druhy savců. Ovšem velmi rozdílné enzymatické vybavení naznačuje, že u jednotlivých živočišných druhů asi buňky pracují za rozdílných funkčních podmínek. Naskýtají se tedy dvě nové závažné otázky: V čem jsou příčiny rozdílného histochemického obrazu u jednotlivých druhů? Odráží-li se rozdílný histochemický obraz žaludeční sliznice ve způsobu žaludeční sekrece?

Závěrem je možno porovnat rozdíly v histochemickém obrazu žaludeční sliznice prasete a člověka:

1. Distribuce alkalické fosfatázy je shodná a její aktivita je pouze v endotelu kapilár.
2. Aktivita kyselé fosfatázy je v žlázových buňkách u prasete mnohem slabší (na rozdíl od člověka.)
3. Aktivita nespecifické esterázy je proti člověku u prasete vyšší v povrchovém epitelu a naopak nižší ve žlázových buňkách.

Celkově je však histochemický obraz žaludeční sliznice prasete člověku mnohem blíže (i když se zcela nekryje), než např. žaludek psi, který je nejčastěji používán v experimentálních studiích.

SOUHRN

Práce popisuje distribuci alkalické fosfatázy, kyselé fosfatázy a nespecifické esterázy v *pars cardiaca*, *fundica* a *pylorica* žaludeční sliznice prasete (*Sus scrofa*). K průkazu enzymů bylo použito azokopulační metody. Vzorky žaludeční sliznice byly získány od 24 prasat trojím způsobem odběru.

Došlo dne 20. 5. 1966

Poděkování. Za provedení odběru sací bioptickou sondou děkujeme doc. MUDr. B. Fixovi z II. interní kliniky LF KU v Hradci Králové.

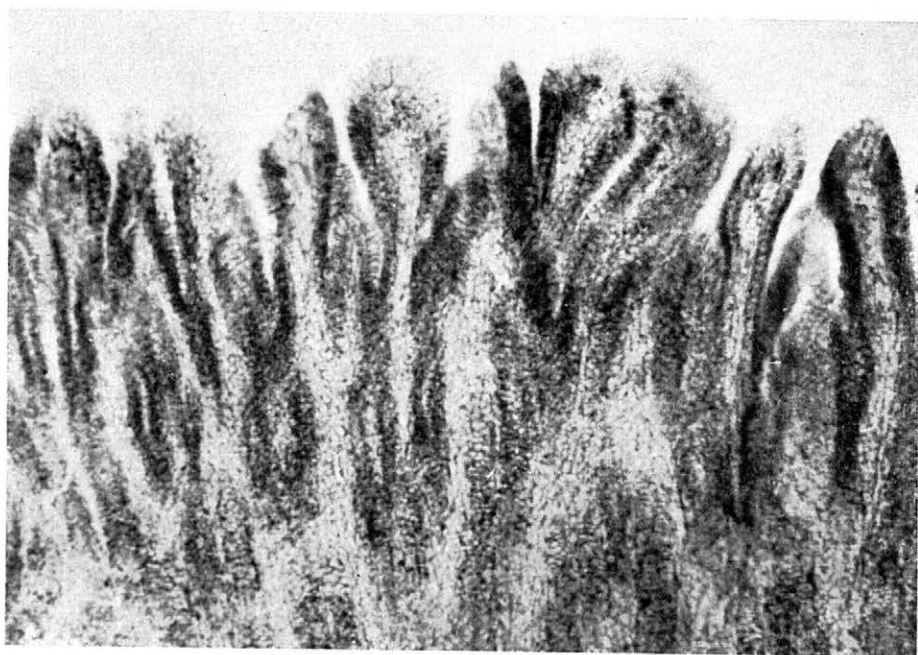
Literatura

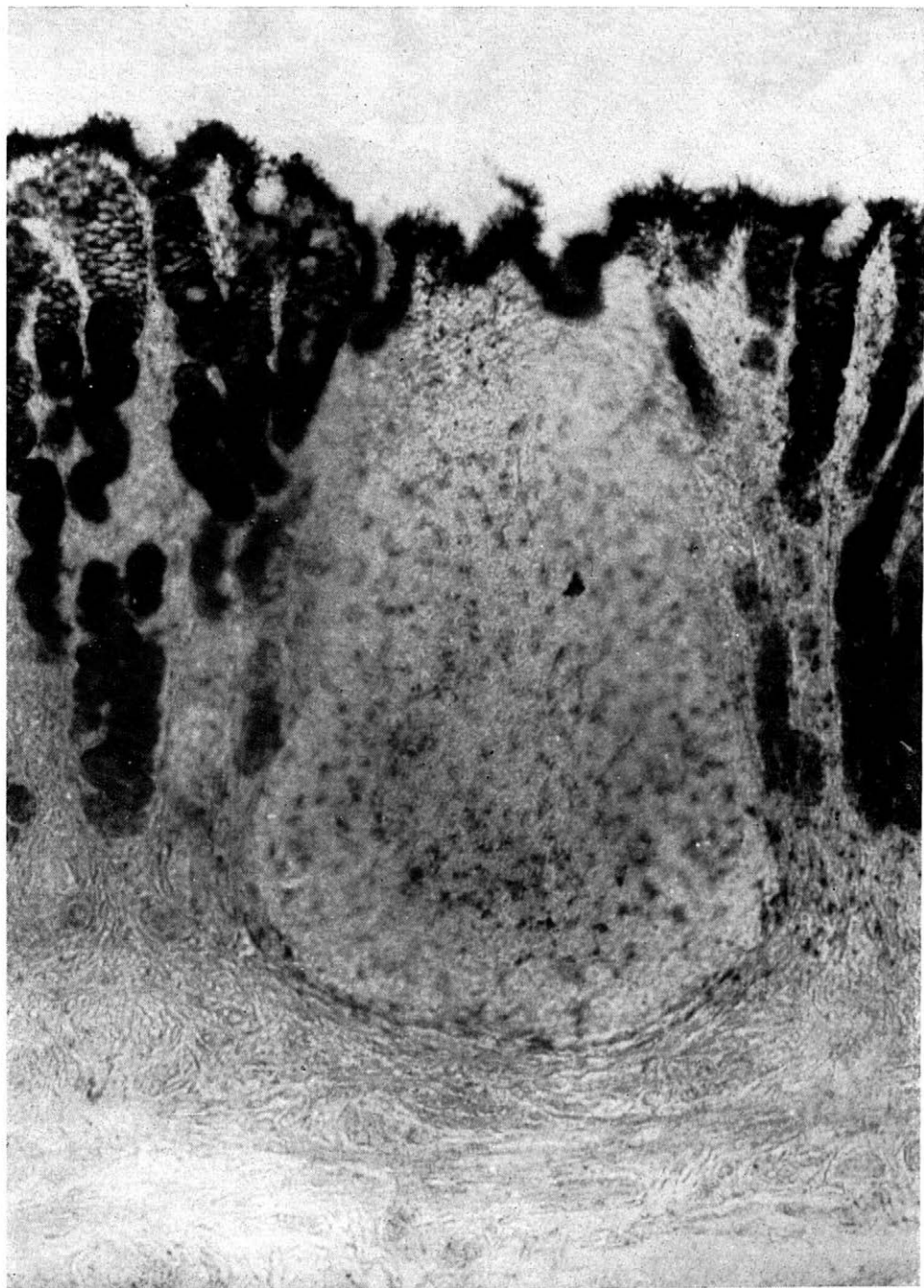
BRAUNSTEIN, H. - FREIMAN, D. G. - GALL, E. A.: A histochemical study of the enzymatic activity of lymph nodes. = „Cancer“ 11: 829, 1958. — BURSTONE, M. S.: Histochemical demonstration of acid phosphatases with naphtol AS-phosphates. = „J. nat. Cancer Inst.“ 21: 523, 1958. — BURSTONE, M. S.: Histochemical demonstration of phosphatases in frozen sections with naphtol AS-phosphates. = „J. Histochem. Cytochem.“ 9: 146, 1961. — BURSTONE, M. S.: Enzyme histochemistry and its application in the study of neoplasms. = „Academic press“, New York, London 1962. CORREIA, J. P. - FILIPE, M. I. - SANTOS, J. C.: Histochemistry of the gastric mucosa. = „Gut“ 4: 68, 1963. — DAWSON, I. - PRYSE-DAVIES, J.: The distribution of certain enzyme systems in the normal human gastrointestinal tract. = „Gastroenterology“, 44: 745, 1963. — GOMORI, G.: Microtechnical demonstration of phosphatase in tissue section. = „Proc. Soc. exp. Biol.“ (N. Y.) 42: 23, 1939. — GOMORI, G.: Microtechnical demonstration of phosphatases in tissue section. = „J. Cel. comp. Physiol.“ 17: 71, 1941. — GOMORI, G.: Histochemical methods for acid phosphatase. = „J. Histochem. Cytochem.“ 4: 453, 1956. — HRADSKÝ, M. - HEROUT, V. - RŮ-



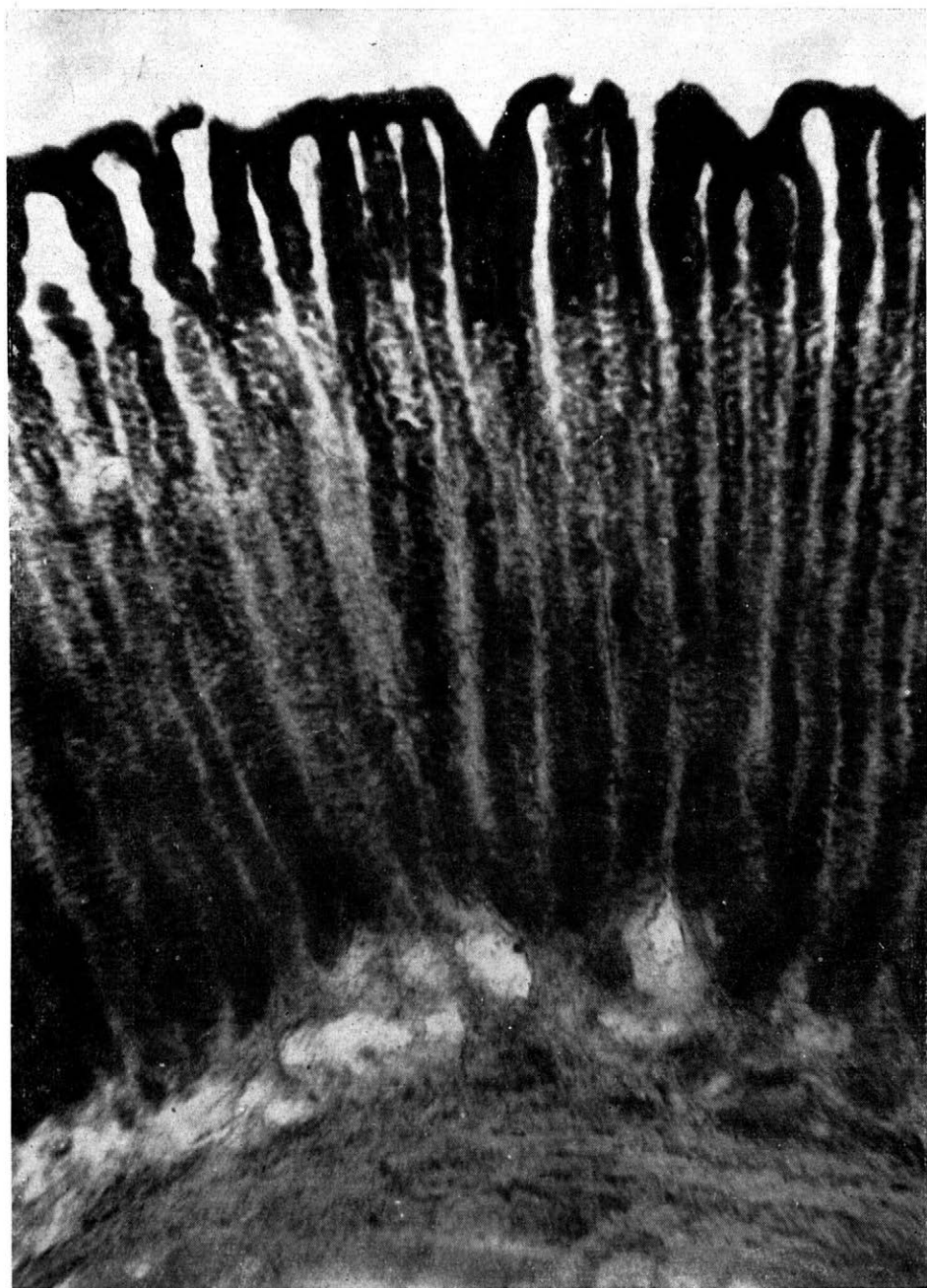
Obr. 1 (vlevo). *Pars fundica* žaludeční sliznice prasete. Bioptický vzorek. Alkalická fosfatáza. 70X. Aktivita je v endotely kapilár a ojedinelých leukocytech.

Obr. 2 (dole). *Pars pylorica* žaludeční sliznice prasete. Kyselá fosfatáza. 70X. Slabá aktivita v epitelu foveol.





Obr. 3. *Pars cardiaca* žaludeční sliznice prasete. Nespecifická esteráza. 70X. Silná aktivita je v povrchovém i žlázovém epitelu. V lymfatickém folikulu je vysoká aktivita v histiocytárních elementech.



Obr. 4. *Pars fundica* žaludeční sliznice prasete. Nespecifická esteráza. 70X. Aktivita je velmi silná v povrchovém epitelu, slabá v krčcích žlázek a střední v tělech žlázek.



Obr. 5. *Pars pylorica* žaludeční sliznice prasete. Nespecifická esteráza. 70X. Silná aktivita v povrchovém epitelu, směrem ke dnu žlázek aktivity ubývá.

ZÍČKA, J.: Gastrobiopsie u nemocných s žaludeční dyspepsií. = „Čs. Gastroent. Výž.“ 15 : 143, 1961. — KÄMMERER, D. - WETZIG, H.: Histologische und histochemische Untersuchungen am Magen des Sumpfbibers *Myocastor coypus* Mol. = „Acta histochem.“ (Jena) 20 : 248, 1965. — KOLB, E., SCHÜTZ, W.: Untersuchungen über die Aktivität der sauren und alkalischen Phosphatase in der Schleimhaut verschiedener Abschnitte des Magen-Darm-Kanals beim Schwein. = „Arch. exp. Vet-Med.“ 15 : 1274, 1961. — KOZŁOWSKA, K.: Histotopochemie błony śluzowej żołądka szcra białego. = „Folia morph.“ (Warszawa) 23 : 497, 1962. — LANGR, F. - HRADSKÝ, M. - VORTEL, V. - PARÍZEK, J.: Die Aktivität der Esterase, der alkalischen Phosphatase und der Aminopeptidase in der Magenschleimhaut beim Kranken mit dem Sjögren-Syndrom. = „Z. ges. inn. Med.“ 18 : 369, 1963. — LANGR, F. - PARÍZEK, J. - HRADSKÝ, M. - VORTEL, V.: Die Aktivität der Esterase, der alkalischen Phosphatase und Aminopeptidase in der Magenschleimhaut bei einigen präkanzerösen Zuständen. = „Gastroenterologia“ 104 : 213, 1965. — LOJDA, Z.: Azokopulační reakce v histochemickém průkaze enzymů. = Babáková sbírka sv. 7, SZN Praha 1958. — MAURO, G. - COMOGLIO, A.: Ricerche istochimiche su biopsie gastriche di soggetti anziani (Mucoproteine, Fosfatasi alcalina). = „Minerva gastroent.“ (Torino) 7 : 154, 1961. — NACHLAS, M. M. - SELIGMAN, A. M.: The comparative distribution of esterase in the tissues of five mammals by a histochemical technique. = „Anat. Rec.“ 105 : 677, 1949. — PARÍZEK, J. - FIXA, B. - KOMÁRKOVÁ, O. - KOS, J. - VYČICH, J. - LANGR, F.: Vliv celotělového ozáření Co^{60} na histochemický obraz žaludeční sliznice psa. = „Sbor. věd. prací Hradec Králové“, 8 : 109, 1965. — PLANTEYDT, H. T. - WILLIGHAGEN, R. G.: Enzyme histochemistry of the human stomach, with special reference to intestinal metaplasia. = „J. Path. Bact.“ 80 : 317, 1960. — PLANTEYDT, H. T. - LEEMHUIS, M. P. - WILLIGHAGEN, R. G. J.: Enzyme histochemistry of gastric tumors in animals. = „J. Path. Bact.“ 83 : 31, 1962. — PLOSSCOWE, R. P. - BERG, G. G. - SEGAL, H. L.: Enzyme histochemical studies of human gastric and jejunal biopsy specimens in normal and disease states. = „Amer. J. dig. Dis.“ 8 : 311, 1963. — RAGINS, H. - DITTBRENNER, M. - DIAZ, J.: Comparative histochemistry of the gastric mucosa: a survey of the common laboratory animals and man. = „Anat. Rec.“ 150 : 179, 1964. — REINER, L. - RUTENBERG, A. M. - SELIGMAN, A. M.: Acid-phosphatase activity in human neoplasms. = „Cancer“ 10 : 563, 1957. — ROSEMAN, D. M. - SIMON, D. - SLEISINGER, M. H.: The concentration and distribution of acid phosphatase in the human stomach, with particular reference to gastric carcinoma. = „Gastroenterology“ 36 : 589, 1959. — RUTENBURG, A. M. - MONIS, B. - BANKS, B. M.: Histochemical distribution of hydrolytic enzymes in the alimentary tract in man in health and disease. — „J. Histochem. Cytochem.“ 6 : 102, 1958. — TAKAMATSU, H.: Histologische und biochemische Studien über die Phosphatase. = „Soc. Path. Japan“ 29 : 492, 1939.

Распределение щелочной фосфатазы, кислой фосфатазы и неспецифической эстеразы в нормальной слизистой оболочке желудка свиньи (*Sus scrofa* f. *domestica*)

В работе описано распределение щелочной фосфатазы, кислой фосфатазы и неспецифической эстеразы в *pars cardiaca*, *fundica* и *pylorica* слизистой оболочки свиньи (*Sus scrofa*). Для выявления ферментов применялся азокопуляционный метод. Образцы слизистой оболочки были взяты у 24 свиней тремя способами взятия.

The Distribution of Alkaline Phosphatase, Acid Phosphatase, and of Non-specific Esterase in the Normal Mucous Membrane of the Stomach of Pigs (*Sus scrofa* f. *domestica*)

This work describes the distribution of the alkaline phosphatase, of the acid phosphatase, and of the non-specific esterase in the *pars cardiaca*, *fundica*, and *pylorica* of the mucous membrane of the stomach of the pig (*Sus scrofa*). For the demonstration of enzymes the azocopulation method was used. Samples of the mucous membrane of the stomach were obtained from 24 pigs by means of three methods of taking.

Die Distribution der alkalischen Phosphatase, der sauren Phosphatase und der unspezifischen Esterase in normaler Magenschleimhaut des Schweines (*Sus scrofa f. domestica*)

Die Arbeit beschreibt die Distribution der alkalischen Phosphatase, der sauren Phosphatase und der unspezifischen Esterase im pars cardiaca, fundica und pylorica der Magenschleimhaut des Schweines (*Sus scrofa*). Zum Nachweis der Enzyme wurde die Azokopulationsmethode benützt. Die Magenschleimhautproben wurden von 24 Schweinen auf drei Arten der Entnahme gewonnen.

Adresa autorů:

MVDr. Jarmil Janda, MUDr. Jiří Pařízek,
lékařská fakulta Karlovy university, katedra anatomie, Hradec Králové,
přednosta prof. MUDr. Jan Hromada, DrSc.

■ Diéta mladých prežúvavcov určitý čas počas vývoja obsahuje veľké množstvo tuku. Keď sa telatá krmili plnotučným mliekom, bolo zvyšovanie hladiny tuku plazmy a táto bola v tesnej korelácii s množstvom podávaného tuku v diéte (Lambert so spol. 1955). Avšak počas rastu mladých prežúvavcov mení sa množstvo prijímaného tuku v diéte a postupne sa mení typ prijímaného krmiva. Súčasne s rastom mladých prežúvavcov v značnom rozsahu sa vyvíjajú i ich tráviace funkcie (viď napr. Kóna 1965). Výsledky našich predchádzajúcich pokusov (Pauer a Kóna 1964, Kóna a Pauer 1965, 1966) ukázali, že počas vývoja teliat i jahniat 2—3 hodiny po normálnom kŕmení histochemickým stanovením sa našlo nerovnomerné rozloženie neutrálneho tuku v sliznici jednotlivých častí tenkého čreva. Sledovanie resorpcie olivového oleja *in vivo* z tenkého čreva, po jeho priamom podaní do duodéna jahniat rôzneho veku ukázalo, že resorpcia oleja z tenkého čreva (v g/m) sa s pribúdaním veku zvyšuje. Tieto poznatky umožnili predpokladať, že nájdené rozmiestnenie lipidov v sliznici jednotlivých častí tenkého čreva bude zčasti výrazom resorpčnej schopnosti jednotlivých častí tenkého čreva a zčasti funkciou posunu chýmusu črevom. Preto v tejto práci sme si dali za úkol zistiť u jahniat rôzneho veku resorpčnú schopnosť pre olivový olej zvlášť duodéna a zvlášť jejúna ako aj histochemicky stanoviť rozmiestnenie neutrálneho tuku v sliznici duodéna a jejúna u týchto zvierat a tiež stanoviť rozmiestnenie tuku v sliznici oboch častí čreva v jednotlivých časových intervaloch do troch hodín po podaní oleja.

MATERIÁL A METODIKA

V pokuse sa použilo 14 kusov jahniat plemena merino vo veku jedného, štyroch a dvanástich týždňov. Zvieratá sa odchovávali obvyklým spôsobom, cicali materské mlieko a prikrmovali sa senom a šrotom, po prirodzenom odstave sa pásli na zelenej tráve a prikrmovali sa senom a šrotom.

Resorpcia olivového oleja *in vivo* z duodéna a jejúna sa v podstate sledovala podobným spôsobom ako v predchádzajúcej práci (Kóna a Pauer 1966), avšak previedlo sa samostatné podviazanie úsekov duodéna a jejúna, do ktorých sa injikoval olivový olej. Zvieratá hladovali 11 hodín a potom v allobarbitalovej narkóze (35 mg/kg ž. v. i. m. a i. v.) sa previedla laparatómia. Duodenum sa podviazalo za žľovým a pankreatickým vývodom, druhý podváz sa urobil 70—140 cm kaudálnejšie, jejúnium sa podviazalo v úseku kľučiek ležiacich vo ventrálnej časti brušnej dutiny v dĺžke 75—180 cm. Olivový olej sa injikoval

v priemernom množstve 3,7 g/kg ž. v. do každého úseku podviazaného čreva a pod miestom vpichu sa črevo znovu podviazalo. Dutina brušná sa hneď uzavrela a po troch hodinách od podania oleja sa zvieratá usmrtili vykrvácáním. Podviazané úseky tenkých čriev sa opatrne vypreparovali a po ich pozdĺžnom rozstrihaní sa tuk extrahoval éterom trojnásobným premývaním. Neresorbovaný tuk sa vážením stanovil vo filtráte črevného preplachu. Po vypreparovaní úsekov tenkých čriev a po ich voľnom položení do vodorovnej polohy sa merala dĺžka čreva. Výsledky sa vyjadrili v gramoch resorbovaného oleja na meter dĺžky podviazaného duodéna a podviazaného jejúna a v gramoch resorbovaného oleja v oboch úsekoch podviazaného čreva.

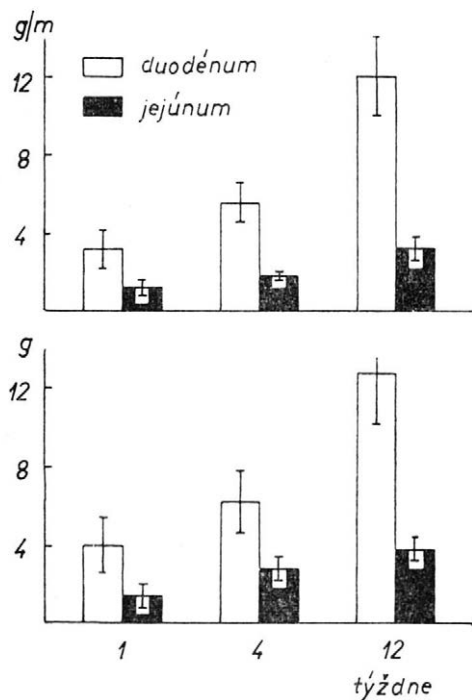
K histochemickému určeniu rozmiestnenia tuku v sliznici duodéna a jejúna sa odoberali vzorky čriev za prvým podväzom vo vzdialenosti 1–1,5 cm za 15, 30 a 180 min. po podaní olivového oleja. Vzorky sa fixovali vo vychladenej Bakerovej zmesi a zmrazené rezy sa farbili na neutrálny tuk Sudanom III., rezy sa súčasne prehľadne farbili hematoxylíneozínom. Hodnotenie množstva neutrálneho tuku v sliznici úsekov tenkého čreva sa prevádzalo vizuálne.

Použitý metodický prístup možno považovať za vyhovujúci i keď pri takomto zákroku sa nemožno vyhnúť určitej traumatizácii. Keďže podmienky pre obe časti čreva i u všetkých zvierat rôznych vekových skupín boli rovnaké, možno dosiahnuté výsledky porovnávať.

VÝSLEDKY

Výsledky pokusov resorpcie olivového oleja z podviazaného úseku duodéna a jejúna ukazujú, že resorpcia u všetkých vekových skupín je v priemere vyššia v duodéne ako v jejúne, či už sa vyjadri v gramoch na meter čreva (obr. 1 hore), alebo v gramoch z podaného množstva (obr. 1 — dole).

Hoci počet zvierat v jednotlivých skupinách je pomerne malý a zaznamenali sa individuálne rozdiely v resorpčnej schopnosti medzi jednotlivými zvieratmi v rámci tej istej skupiny, možno uviesť, že zatiaľ čo zistený rozdiel resorpcie (vyjadrený v g/m) medzi duodénom a jejúnom u týždňových zvierat nie je významný ($0,10 < P$), u 4 resp. 12 týždňových zvierat zistený rozdiel je významný ($P < 0,05$, resp.

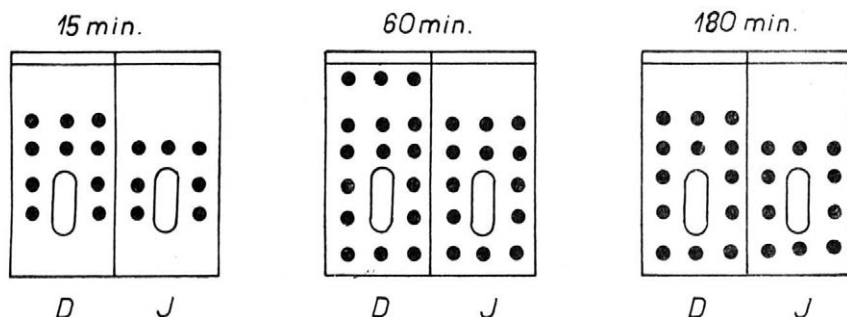


Obr. 1. Resorpcia olivového oleja z podviazaného duodéna a jejúna jahniat vo veku jedného, štyroch a dvanástich týždňov po troch hodinách, vyjadrená v gramoch na meter dĺžky podviazaného čreva (horná časť) a v gramoch z podaného množstva oleja. Biele stĺpce — duodenum, čierne stĺpce — jejúnium. Vertikálne úsečky v stĺpcoch — stredná chyba.

$P < 0,02$). Významná resorpcia v gramoch z podaného množstva bola len u 12-týždňových zvierat ($P < 0,05$).

Keď sa porovnáva resorpcia olivového oleja z duodéna a tiež z jejúna u zvierat rôzneho veku, vidieť, že so zvyšovaním veku sa zvyšuje resorpcia z oboch úsekov tenkého čreva, či už sa vyjadrí v gramoch a meter čreva, alebo v gramoch z podaného množstva. Avšak priemerné zvýšenie resorpcie (vyjadrené v g/m) u 4 týždňových jahniat v porovnaní s jednotýždňovými nie je významné ako u duodéna tak i u jejúna. Zvýšenie resorpcie u 12 týždňových zvierat v porovnaní so 4 týždňovými je významné v oboch úsekoch tenkého čreva ($P < 0,05$). Keď sa porovnáva resorpcia u týždňových a 12 týždňových zvierat, zisťuje sa taktiež významné zvýšenie ako v duodéne ($P < 0,02$), tak i v jejúne ($P < 0,05$).

Histochemické vyšetrenia ukázali, že pri porovnávaní množstva neutrálneho tuku v sliznici duodéna a jejúna zisťuje sa výrazne väčšie množstvo neutrálneho tuku v sliznici duodéna než v sliznici jejúna a to vo všetkých sledovaných časových intervaloch po podaní oleja, t. j. po 15,60 a 180 minútach (obr. 2). Naproti tomu v jednotlivých vekových skupinách zvierat, t. j. u 1,4 a 12 týždňových jahniat nezistili sa výrazné rozdiely ani v celkovom množstve, ani v rozmiestnení neutrálneho tuku v sliznici duodéna a jejúna.



Obr. 2. Rozmiestnenie neutrálneho tuku v sliznici duodéna (D) a jejúna (J) jahniat 15, 60 a 180 minút po podaní olivového oleja do podviazaného duodéna a jejúna, určené histologicky. Čierne body označujú množstvo neutrálneho tuku v enterocytoch.

Po podaní olivového oleja za 15 min. hromadia sa častice neutrálneho tuku v cytoplazme enterocytov, predvážne nad jadrom buniek v podobe drobných kvapiek. Najintenzívnejší nález tukových kvapiek v sliznici bol 60 min. po podaní olivového oleja. Nahromadené kvapky neutrálneho tuku sa navzájom zlievajú do pomerne veľkých tukových vakuol, ktoré skoro úplne vyplňujú cytoplazmu enterocytov a často dislokujú jadro smerom k báze, resp. k laterálnej bunecnej membráne. Na báze bunky majú tukové kvapky pretiahly tvar a prechádzajú do strómy klkov smerom k centrálnym miazgovým kapilárom klkov, ktoré sú často výrazne rozšírené a naplnené tukom. Tukové častice sa tiež nachádzajú voľne v stróme klkov, alebo sú viazané na cytoplazmu makrofágov. Najväčšie množstvo tukových kvapiek sa nachádzalo v epiteli a v stróme hrotu, resp. hornej tretine klkov a smerom k báze klkov sa nápadne zmenšovalo. V kefkovitom leme sliznice sa však v žiadnom prípade tukové častice nezistili. Podobný, avšak menej intenzívny obraz rozmiestnenia neutrálneho tuku v sliznici sa zisťoval i 180 minút po podaní olivového oleja v oboch úsekoch čreva.

Výsledky pokusu resorpcie olivového oleja z podviazaného úseku duodéna a jejúna ukázali, že resorpcia u všetkých vekových skupín je v priemere vyššia z duodéna ako z jejúna, no významný rozdiel sa zisťuje len u 4 a 12týždňových zvierat. Tento nález ukazuje, že u jahniat v krátkom období po narodení resorpcia oleja z duodéna je pomerne malá a neodlišuje sa výrazne od resorpcie z jejúna, avšak v pozdejšom období vývoja, najmä v období a po období prechodu na objemové a jadrové krmivá resorpcia oleja z duodéna je významne vyššia ako z jejúna, podobne ako je tomu u dospelých monogastričných zvierat. Ďalej dosiahnuté výsledky svedčia o tom, že resorpcia olivového oleja z duodéna a tiež jejúna sa so zvyšovaním veku zvierat zvyšuje, čo je v súlade s našimi predchádzajúcimi výsledkami (Kóňa a Pauer 1966) zvyšovania resorpcie olivového oleja *in vivo* z tenkého čreva jahniat rôzneho veku po jeho priamom podaní do duodéna. Keďže sa sledovala resorpcia oleja z podviazaných úsekov ako duodéna tak i jejúna, možno sa domnievať, že zvyšovanie resorpcie z duodéna i jejúna so zvyšovaním sa veku zvierat no i zvyšovanie rozdielov v resorpcii z duodéna a jejúna počas rastu, je výrazom vývoja resorpcnej schopnosti oboch častí čreva, čo by mohlo súvisieť s morfológickým dozrievaním častí tenkého čreva, najmä duodéna jahniat po narodení, ako zistili u krýs Anisimova so sp. (1959) a Hrubý (1959). Avšak nielen morfológická zrelosť čreva a jeho zväčšujúca sa plocha na jednotky dĺžky bude ovplyvňovať resorpcnú schopnosť, ale i aktuálne množstvo žlče a pankreatickej šťavy v tenkom čreve pred sledovaním resorpcie oleja, ktoré u starších zvierat bude väčšie než u mladších, pretože sa zistilo (Kuimov 1961), že vylučovanie pankreatickej šťavy a žlče u jahniat sa s pribúdaním veku zvyšuje. Tento názor podporuje i naše histochemické sledovanie rozmiestnenia tuku v sliznici oboch úsekov čreva po podaní olivového oleja. V sliznici duodéna bolo výrazne väčšie množstvo neutrálneho tuku než v sliznici jejúna, a to vo všetkých časových intervaloch, avšak v sliznici duodéna a taktiež jejúna sa medzi jednotlivými vekovými skupinami zvierat nezistili výrazné rozdiely ani v celkovom množstve a ani v rozmiestnení neutrálneho tuku. Tento histochemický nález poukazuje tiež na to, že v mechanizme resorpcie tuku nemusia byť výrazné rozdiely medzi mladými a staršími zvieratmi. Predtým nájdené nerovnomerné rozloženie neutrálneho tuku v sliznici jednotlivých častí tenkého čreva u jahniat po normálnom cicaní (Kóňa a Pauer 1966) možno z hľadiska týchto výsledkov pripísať výrazne sa zvyšujúcej resorpcnej schopnosti duodéna so zvyšovaním veku zvierat, pričom vzhľadom k posunu živín črevom bude však resorpcia v ďalších častiach tenkého čreva opozdená. V pozdejšom veku zvierat bol prirodzene znížený príjem tuku krmivom, čo sa tiež prejavilo v množstve tuku v sliznici čreva. Resorpcia rozdielného množstva oleja z čreva v tomto pokuse a v predchádzajúcom (Kóňa a Pauer 1966) súvisí s tým, že v predchádzajúcom pokuse sa resorpcia prepočítala na celú dĺžku čreva, kde sa mohlo po prepočte zahrnúť i črevo nezúčastňujúce sa resorpcie, zatiaľ čo v tomto pokuse resorpcia sa prepočítala len na dĺžku podviazaných úsekov čreva. Po podaní oleja jahňatám do izolovaných úsekov čreva najväčšie nahromadenie tuku v sliznici duodéna tak i jejúna bolo za 60 min. a potom množstvo klesalo. Podobné rozmiestnenie tuku v sliznici tenkého čreva u psov po podaní olejov pozoroval i Razumov (1962).

Význam tukov diéty počas mliečnej výživy je značný a poznávanie funkcií tráviaceho systému počas vývoja i u dospelých prispieva nielen k porozumeniu potrieb zvierat v jednotlivých živinách a ich prípadnej náhrady, ale i k porozumeniu patologických zmien, ku ktorým dochádza počas odchovu.

ZÁVER

U jahniat vo veku jedného, štyroch a dvanástich týždňov sa *in vivo* sledovala resorpcia olivového oleja po 3 hodinách z podviazaných úsekov duodéna a jejúna. Ďalej sa histochemicky sledovala rozmiestnenie neutrálneho tuku v sliznici duodéna a jejúna 15, 60 a 180 min. od podania olivového oleja.

Resorpcia olivového oleja (vyjadrená v gramoch na meter dĺžky čreva) u všetkých vekových skupín je v priemere vyššia z podviazaného duodéna ako z jejúna. So zvyšovaním veku zvierat sa zvyšuje resorpcia ako z duodéna tak i z jejúna.

Histochemicky sa zistilo, že v sliznici duodéna je výrazne väčšie množstvo neutrálneho tuku než v sliznici jejúna, a to vo všetkých sledovaných časových intervaloch, t. j. po 15, 60 a 180 min. po podaní oleja. Po podaní oleja najväčšie nahromadenie tuku ako v sliznici duodéna tak i jejúna bolo za 60 minút. Medzi jednotlivými vekovými skupinami zvierat, t. j. medzi 1, 4 a 12 týždňovými jahňatami sa v sliznici duodéna i jejúna nezistili výrazné rozdiely ani v celkovom množstve ani v rozmiestnení neutrálneho tuku.

Došlo dňa 30. 6. 1966

Literatúra

1. ANISIMOVÁ E. - VACEK Z. - KOLDOVSKÝ O. - HAHN P.: Histochemické sledování tukového metabolismu ve sliznici tenkého střeva kryších mládat. = „Čs. Fysiol.“, 8, 1959, 392, Abstr. — 2. HRUBÝ L.: Postnatální vývoj epitelu jejunoileu krysy. = „Čs. Morfol.“, 7, 1959, s. 390-395. — 3. KÓNA E.: Vývoj funkcí trávicího systému prežúvavcov. = „Stud. inform. — Živ. výroba“, Praha, 4, 1965, s. 1-76. — 4. KÓNA E. - PAUER T.: Príspevok k rozmiestneniu lipidov v tenkom čreve teliat počas postnatálneho vývoja. = „Živ. výroba“, Praha, 10, 1965, s. 19-24. — 5. KÓNA E. - PAUER T.: Resorpcia olivového oleja a rozmiestnenie neutrálneho tuku v tenkom čreve jahniat rôzneho veku. = „Vet. Méd.“, Praha, 11, 1966, s. 389-396. — 6. KUIMOV D. K.: Sekretornaja dejatel'nost' syčuga, podželudčnoj železy i otdel'nyje žel'ci u oviec. = „Fiziol. Ž. SSSR“, 47, 1961, s. 1314-1318. — 7. LAMBERT M. R. - JACOBSON N. L. - ALLEN R. S. - BELL M. R.: The relation of growth, feed consumption, and certain blood constituents to changes in the dietary of young dairy calves. = „J. Dairy Sci“, 38, 1955, s. 6-12. — 8. PAUER T. - KÓNA E.: Príspevok k morfológickému a biochemickému štúdiu rozmiestnenia lipidov v tenkom čreve cicajúcich teliat. = „Čs. fysiol.“, 13, 1964, s. 256-257, Abstr. — 9. RAZUMOV I. M.: Roľ kletok kíščného epitelija vovsínok v mechanizme vsasyvanija pičševych žirov. = „Vopr. Pitaniya“, 21, 1962 : 20-25.

Резорбция оливкового масла из двенадцатиперстной и тощей кишки у ягнят разного возраста

У ягнят в возрасте одной, четырех и двенадцати недель изучалась *in vivo* резорбция оливкового масла в продолжение 3 час. из подвязанных секторов двенадцатиперстной и тощей кишок. Затем в гистохимическом порядке изучалось расположение нейтрального жира в слизистой оболочке двенадцатиперстной и тощей кишок спустя 15, 60 и 180 мин. после дачи оливкового масла.

Резорбция оливкового масла (выраженная в граммах на метр длины кишки) у всех возрастных групп в среднем выше у подвязанной двенадцатиперстной кишки, чем у тощей. С возрастом животных резорбция увеличивается как у двенадцатиперстной, так и у тощей кишок.

Гистохимическим способом установлено, что в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки содержится гораздо больше нейтрального жира, чем в слизистой оболочке тощей кишки во всех наблюдаемых интервалах времени, т. е. спустя 15, 60 и 180 мин. после дачи масла. После дачи масла наибольшее скопление жира в слизистой оболочке как двенадцатиперстной, так и тощей кишок произошло спустя 60 мин. Между отдельными возрастными группами животных, т. е. между 1, 4 и 12 недельными ягнятами, в слизистой оболочке двенадцатиперстной и тощей кишок не наблюдалось больших различий ни в общем количестве, ни в расположении нейтрального жира.

Resorption of Olive Oil from the Duodenum and from the Jejunum of Lambs of Various Age

In lambs of the age of one, four, and twelve weeks the resorption of olive oil from ligated sections of the duodenum and of the jejunum was investigated *in vivo* for 3 hours. Furthermore the distribution of neutral fat in the mucous membrane of the duodenum and of the jejunum in 15, 60, and 180 minutes after administration of olive oil was examined histochemically.

The resorption of olive oil (expressed in grams per meter of the length of the intestine) in all age groups is on the average higher from the ligated duodenum than from the jejunum. Together with increasing age the resorption increases both from the duodenum and from the jejunum.

Histochemically it was found that in the mucous membrane of the duodenum there is a distinctly larger quantity of neutral fat than it is in the mucous membrane of the jejunum, and that in all examined time intervals, i. e. 15, 60, and 180 minutes after administration of the oil. After the administration of the oil the largest accumulation of fat, both in the mucous membrane of the duodenum and of the jejunum, occurred in 60 minutes. Between the various age groups of animals, i. e. between 1, 4, and 12 weeks old lambs, no pronounced differences in the total quantity or in the distribution of neutral fat were found in the mucous membrane of the duodenum and of the jejunum.

Die Resorption von Olivenöl aus dem Duoden und Jejunum der Lämmer verschiedenen Alters

Bei Lämmer im Alter von einer, vier und zwölf Wochen verfolgte man *in vivo* die Resorption des Olivenöls nach 3 Stunden aus unterbundenen Abschnitten des Duodens und Jejunums. Ferner verfolgte man histochemisch die Verteilung von neutralem Fett in der Schleimhaut des Duodens und Jejunums nach 15, 60 und 180 Minuten nach dem Verabreichen von Olivenöl.

Die Resorption von Olivenöl (ausgedrückt in Gramm je 1 m Darmlänge) ist bei sämtlichen Altersgruppen aus dem unterbundenen Duodenteil durchschnittlich höher als aus dem Jejunum. Die Resorption wird mit ansteigendem Alter der Tiere sowohl aus dem Duoden als auch aus dem Jejunum erhöht.

Man konnte histochemisch feststellen, daß sich in der Schleimhaut des Duodens eine bedeutend höhere Menge des neutralen Fettes als in der Jejunum-Schleimhaut befindet, und zwar in allen verfolgten Intervallen, d. h. nach 15, 60 und 180 Minuten nach dem Verabreichen von Öl. Die höchste Anhäufung von Fett sowohl in der Duoden- als auch in der Jejunum-Schleimhaut wurde nach 60 Minuten festgestellt. Zwischen den einzelnen Altersgruppen der Tiere, d. h. im Alter von einer, vier und zwölf Wochen, wurden in der Schleimhaut des Duodens und Jejunums keine signifikanten Unterschiede in der Gesamtmenge und Verteilung des neutralen Fettes ermittelt.

Adresa autorov:

MVDr. Tibor Pauer, CSc., doc. MVDr. Eugen Kóňá, CSc.,
VSP, veterinárska fakulta, Ústav patologickej morfológie a Ústav patologickej
fyziológie, Košice, Komenského 71

■ K vyvolání enzymatického účinku je mimo nedialyzující bílkovinné struktury nutná přítomnost koenzymu, tj. látky, která má nebílkovinný charakter, malou molekulární váhu a lze ji dialyzovat. Tato prostetická skupina uvnitř proteidů bývá různá podle druhu enzymů. Tak např. pro transaminaci, dekarboxylaci a dehydrogenaci aminokyselin je prostetickou skupinou pyridoxalfosfát, který se jako kofaktor uplatňuje též při metabolismu tuků v organismu. Poněvadž při transaminaci jde o vitaminy v roli koenzymů, uvažuje se o existenci poměrů mezi hladinou pyridoxinu a aktivitou transamináz při deficienci v organismu (Brin 1954). Dnes je již známo, že vesměs všechny ve vodě rozpustné vitamíny mimo vitamín C, jsou obsaženy v nejrůznějších enzymech, kde většinou působí jako kofaktory.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Jak uvádí Kiošhia Ashida (cit. Albanese 1963) působí hypovitaminózy změny u jistých aktivit enzymů, kterých lze naopak využít k odhalení deficitu vitamínů. Podle Babcocka (1959) je odpověď na aplikaci pyridoxinu při transaminaci tak rychlá, že aktivity transamináz mohou být diagnostickým testem v tomto směru. U deficientních zvířat byl zaznamenán signifikantní vzestup transaminázy kyseliny glutamoxalotové za 24 hodin po podání pyridoxinu. Další pokusy ukázaly, že citlivěji k nedostatku pyridoxinu se chová transamináza kyseliny pyrohroznové. Jaký vliv mají na aktivitu transamináz léky, ukazuje dále u člověka aplikace izonikotinylhydrazidu, který redukuje v organismu transaminázu kyseliny glutamové oxalotové. Restaurace aktivity této transaminázy však nastává po podání pyridoxinu, Babcock (1959). U krys s deficiencí pyridoxinu je variace aktivity transamináz dále odvislá od obsahu proteinů v dietě a stáří krys. Deficience pyridoxinu snižuje nejen aktivitu transamináz v plazmě, ale také ve tkáni jaterní, přičemž je rovněž nižší aktivita transaminázy kyseliny glutamové pyrohroznové. Nedostatek proteinů snižuje na jedné straně aktivity mnoha jaterních enzymů, na druhé straně zvyšuje však aktivitu alkalické fosfatázy. Ruku v ruce s deficiencí vitamínů a bílkovin jde také hladovění, které způsobí od 4. dne snížení aktivity transaminázy kyseliny glutamové oxalotové, transamináz kyseliny glutamové pyrohroznové, argináz, aldolázy, fumarázy a sukcinildehydhydrogenáz. Že hladovění u koní a skotu působí spíše snížení aktivity transamináz a aldoláz, jsme sami prokázali (Šlesingr 1965). Proč je tomu tak, je již zřejmé z výše uvedeného.

Vztahy enzymů a jejich kofaktorů byly studovány na laboratorních zvířatech a potom u lidí. Nejsou však prostudovány u domácích zvířat. Z tohoto důvodu a dále z poznatků nízkých aktivit transaminázy kyseliny glutamové pyrohroznové v krevním séru a jaterní tkáni u koní lze předpokládat některé vztahy mezi obsahem pyridoxinu a aktivitou této transaminázy u koní. Chceme se proto v této práci zabývat zjištěním hladiny pyridoxinu za fyziologického stavu u koní a vztahu jeho hladiny k aktivitě transaminázy kyseliny glutamové pyrohroznové, transaminázy kyseliny glutamové oxalocetové a leucinaminopeptidázy. Leucinaminopeptidáza se aktivuje při patologických změnách intra- a extrahepatických cest žlučových. Poněvadž její aktivita v krevním séru domácích zvířat není do té míry prošetřena, tím méně ve vztahu k pyridoxinu, sledovali jsme ji současně v této práci.

Práce byla proto uspořádána tak, aby řešila otázku zda lze zvýšit aktivitu transaminázy kyseliny glutamové pyrohroznové zvýšením hladiny kofermentu této transaminázy, tj. pyridoxinu v krvi u koní, kde je tato hladina immořádně nízká v porovnání s jinými zvířaty.

METODIKA

K pokusu jsme si zvolili 4 koně, valachy, přibližně stejného stáří (8 r.), stejného druhu a váhy. Fyziologické hladiny pyridoxinu i sledovaných enzymů jsme určovali opakovaně po týdenních intervalech, a to šestkrát u každého koně. Krev jsme získávali z *vena jugularis* před přijímáním potravy. Po dobu pokusu byly koně krmeny stejnou potravou. Po zjištění hladiny pyridoxinu v krvi jsme koním aplikovali do svalu pyridoxin v dávce pro každého koně 0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg a 1,2 mg na 1 kg ž. v. Šetření bylo opakováno v týdenních intervalech pro každou dávku pyridoxinu na každém koni vždy třikrát. Krev jsme odebírali po aplikaci pyridoxinu za 2,6 a 24 hodin. Hodnoty pyridoxinu v krevním séru udáváme v průměrných hodnotách v gama procentech. Pyridoxin, tj. sumy jeho tří členů — pyridoxolu, pyridoxalu a pyridoxaminu jsme stanovovali biologickou metodou, založenou na specifické citlivosti kvasinky kmene *Saccharomyces carlbergensis* 4228 (Jednotné mikrobiolog. metodv 1964). Podstata metody spočívá v měření zákalu buněk *Saccharomuces carlbergensis*. Citlivost metody je 0,001—0,020 mikro g pyridoxinu, spolehlivost metody je $\pm 0,5$ mg/ml.

Ze stejných odběrů krve, použitých ke stanovení pyridoxinu jsme stanovili aktivity transamináz, leucinaminopeptidázy a hladiny žlučových barviv. Aktivity transamináz kyseliny glutamové oxalocetové (GOT) a transaminázy kyseliny glutamové pyrohroznové (GPT) jsme stanovili v krevním séru metodou Reitmana Frankela (P o j e r 1963) a tyto jsou udány v mikromolech kyseliny glutamové a pyrohroznové. Aktivitu leucinaminopeptidázy (LAP) jsme stanovili metodou podle Goldbarga a Rutenbura (P o j e r 1963) a je udána v mikromolech enzymaticky uvolněného betanaftylaminu. Aktivity byly měřeny na spektrofotometru Coleman iun při 505 a 580 milimikronech.

Bilirubin jsme stanovili podle metody Jendrassik Grofa (1938) a je udán v mg%. Ke stanovení hodnot bilirubinu bylo použito spektrofotometru Koucký a extinkce byla odečítána při 600 milimikronech. Nebilirubinoidní barvivo bylo měřeno při extinkci 460 a 575 milimikronech ($E = E_{460} - E_{575}$). Bylo stanoveno ze séra krevního podle metodiky uveřejněné v dřívější práci (Šlesinger 1964)*).

*) Za technickou spolupráci při stanovení hladin pyridoxinu děkují paní Sv. Kopečkové.

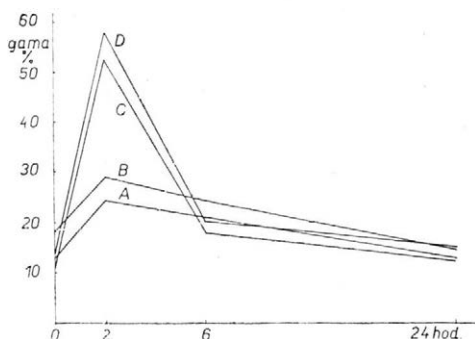
VÝSLEDKY A DISKUSE

Hladiny pyridoxinu v krevním séru u koní před aplikací se pohybovaly v průměru od 10–18 gama %. Tyto hladiny pokládáme za normální pro tento druh zvířat. Také u laboratorních zvířat jsme naměřili významné hladiny pyridoxinu v krevním séru. U králíka $16,1 \pm 0,9$ gama % a u drůbeže dokonce $34,6 \pm 1,1$ gama %. Po intramuskulární aplikaci pyridoxinu v dávkách 0,5 mg, 0,75 mg, 1 a 1,2 mg/kg ž. v. se do 2 hod. zvýšila v průměru hladina pyridoxinu v krvi u koní na 23, 28, 53 a 57 gama %. Získané hladiny jsou v korelaci s velikostí použité dávky pyridoxinu. Za další 4 hodiny poklesly hladiny pyridoxinu. Za 24 hod. po aplikaci odpovídaly hladiny pyridoxinu hladinám před aplikací. Nejvyšší naměřená hladina pyridoxinu v krevním séru u koní odpovídala také nejvyšší aplikované dávce.

Z grafu 1. je zřejmá závislost mezi hladinou pyridoxinu a jeho dávkou po 2 hod. intramuskulární aplikace. Exkrece a metabolismus pyridoxinu závisí pravděpodobně od mnoha okolností. Řešit podrobněji tuto otázku nebylo úkolem práce. Přesto můžeme říci, a to také z práce vyplývá, že důležitou úlohu hraje dávkování a způsob aplikace. Obdobné pozorování učinili v tomto smyslu Rabonowitz a Snell cit. Albanese (1963), kteří prokázali, že exkrece pyridoxinu, pyridoxalu a pyridoxaminu u krys po zatížení vitaminem B₆ kolísá co do kvality i kvantity, což závisí podle mínění autorů od způsobu zkrmování.

Podle Babcocka (1959) nastává signifikantní zvýšení GOT za 24 hod. po perorální aplikaci pyridoxinu. Poněvadž jsme předpokládali rychlejší účinnosti pyridoxinu na transaminázy po jeho intramuskulární aplikaci, sledovali jsme aktivitu enzymů po 24 hodin od aplikace. Především nás zajímal vliv pyridoxinu na aktivitu GPT, neboť jsme se sami přesvědčili, že tato aktivita transaminázy v krevním séru a játrech koně je velmi nízká (0,1–0,3 μ M). Po intramuskulární aplikaci pyridoxinu se během 24 hodin aktivita GPT u 3 koní nezměnila. U 4 koní jsme zaznamenali mírné zvýšení za 2 hod. po aplikaci pyridoxinu. Potom aktivita poklesla. Uvádí se, že aktivita GPT je citlivější k pyridoxinu, nežli aktivita GOT (Babcock 1959). V našem sledování jsme u všech koní zaznamenali naopak zvýšení aktivity GOT, které nastalo již za 2 hod. po aplikaci pyridoxinu. Z pokusu nevysvítá, že by zvýšená aktivita GOT byla úměrná dávce pyridoxinu. Spíše se jeví vztah mezi hladinou pyridoxinu v krevním séru koní před aplikací a aktivitou GOT. Z charakteru pokusu a hladin aktivity GOT vylučujeme vliv práce koní na zvýšenou aktivitu. Po dobu pokusu koně pracovali velmi lehce. Neovlivněná aplikací pyridoxinu zůstala u všech koní aktivita LAP.

Poněvadž koně po aplikaci pyridoxinu nebyli téměř fyzicky zatíženi, přikládáme malé zvýšení hladin bilirubinu jednak tomuto vlivu a dále fyziologickým denním výkyvům jeho hladin v krvi. Již dříve jsme se přesvědčili, že žlučová barviva neovlivňují aktivitu enzymů a že tomu není ani naopak. Poněvadž



Graf 1. Závislost opadávání hladin pyridoxinu na dávce v krevním séru u koní
 A 0,5 mg/kg
 B 0,75 mg/kg
 C 1,0 mg/kg
 D 1,2 mg/kg

I. Hladina pyridoxinu v krevním séru u koní ve vztahu k enzymatickým aktivitám před a po aplikaci pyridoxinu

Doba	Pyridoxin před ap.	Hladina pyridoxinu po intra-muskulární aplikaci (gama %)		
		2 hod.	6 hod.	24 hod.
Pyridoxin v séru	A 12,4 ± 2,50	23 ± 4	21,6 ± 3,10	12,5 ± 2,50
	B 18,3 ± 3,10	28,2 ± 0,50	24,4 ± 2,20	14,0 ± 3,00
	C 10,2 ± 4,20	53,6 ± 6,20	18,3 ± 4,10	13,0 ± 6,00
	D 12,9 ± 1,10	57,8 ± 2,30	22,7 ± 2,70	14,6 ± 1,90
GOT	A 4,0 ± 0,60	4,8 ± 1,10	4,8 ± 0,90	4,8 ± 0,60
	B 3,2 ± 0,40	3,3 ± 0,70	3,7 ± 0,70	3,3 ± 1,20
	C 3,8 ± 0,70	4,5 ± 0,55	4,6 ± 0,58	4,5 ± 0,90
	D 3,2 ± 0,05	4,9 ± 0,21	5,0 ± 0,04	4,8 ± 0,33
GPT	A 0,3 ± 0,10	0,3 ± 0,05	0,3 ± 0,10	0,3 ± 0,05
	B 0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,02
	C 0,25 ± 0,03	0,4 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,25 ± 0,02
	D 0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,03	0,18 ± 0,01	0,2 ± 0,015
LAP	A 0,24 ± 0,05	0,24 ± 0,10	0,26 ± 0,02	0,23 ± 0,03
	B 0,25 ± 0,04	0,24 ± 0,03	0,21 ± 0,10	0,27 ± 0,06
	C 0,37 ± 0,06	0,35 ± 0,05	0,29 ± 0,04	0,89 ± 0,04
	D 0,25 ± 0,04	0,2 ± 0,03	0,2 ± 0,04	0,25 ± 0,03
Bo	A 0,14	0,14	0,15	0,14
	B 0,18	0,14	0,18	0,18
	C 0,12	0,12	0,13	0,13
	D 0,16	0,16	0,15	0,16
Bt	A 0,77 ± 0,20	0,97 ± 0,10	0,98 ± 0,30	0,74 ± 0,05
	B 0,8 ± 0,10	0,9 ± 0,30	0,96 ± 0,30	0,7 ± 0,10
	C 0,9 ± 0,05	0,8 ± 0,20	0,97 ± 0,40	1,0 ± 0,20
	D 0,85 ± 0,02	0,82 ± 0,05	0,85 ± 0,04	0,9 ± 0,06
NB	A 2,40	2,50	2,30	2,40
	B 2,60	2,70	2,90	2,70
	C 2,80	2,90	2,90	2,80
	D 2,90	2,80	2,70	2,90

Bo = přímý bilirubin

Bt = celkový bilirubin

NB = nebilirubinoidní barvivo

pyridoxin v gama %

enzymatické aktivity v mikromolech

bilirubin v mg %

již sama aktivita transamináz je citlivým ukazatelem zdravotního stavu koní, přece jen k doplnění pohledu na zdravotní stav koní jsme sledovali hladiny bilirubinoidů a nebilirubinoidních barviv. Vliv pyridoxinu na tato barviva jsme nepředpokládali.

ZÁVĚR

V práci byla řešena otázka zda lze zvýšit aktivitu transaminázy kyseliny glutamové pyrohroznové zvýšením hladin kofermentu, tj. pyridoxinu.

Výsledky práce jsou vyvozeny ze 128 analýz enzymatických aktivit, 96 analýz bilirubinoidních a nebilirubinoidních barviv 86 analýz pyridoxinu.

Na základě těchto rozborů bylo zjištěno, že pyridoxin, který byl aplikován koním intramuskulárně v dávce 0,5, 0,75, 1,0 a 1,2 mg/kg ž. v. se neprojevil v ovlivnění aktivity transaminázy kyseliny glutamové pyrohroznové. Jak z práce vyplývá, reagovala zvýšenou aktivitou jen na nejvyšší dávku pyridoxinu transamináza glutamová oxalocetová. Aplikací pyridoxinu zůstala neovlivněná aktivita leucinaminopeptidázy.

Žlučová barviva, jejichž hladin společně s aktivitami enzymů bylo současně použito ke kontrole zdravotního stavu koní, nebyla ovlivněna aplikací pyridoxinu. Zvýšené hladiny žlučových barviv v průběhu pokusu u koní nepřesáhly fyziologické denní výkyvy.

Z výsledků práce je dále zřejmá závislost mezi výší hladin pyridoxinu a jeho dávkou po 2 hod. od intramuskulární aplikace.

Došlo dne 12. 11. 1966

Literatura

1. ALBANESE A. A.: Newer Methods of Nutritional Biochemistry. = „Academic Press“, New York, London 1963. — 2. BABCOCK M. J.: Serum glutamic-oxalacetic transaminase Activity of vit. B₆ deficiency rats. = „J. Nutrition“ 67, 1959 : 205. — 3. BRIN M. - OLSON R. E. - STARE F. J.: Metabolism of cardiac muscle. = „J. Biol. Chem.“ 210, 1954 : 435. — 4. Jednotné mikrobiologické metody pro stanovení vitamínů č. 2, řada A, 2-13, 1964. — 5. JENDRASSIK S. - GROF S.: Bestimmung des Bilirubins im Blutserum. = „Biochem. Zschr“ 297, 19338 : 81. — 6. POJER, J.: Enzymologie srdečního infarktu. Thomayerova sbírka 241, Praha, SZN, 1963, 197. — 7. ŠLESINGR, L.: Aktivita GOT, GPT, ALD, FHI, LDH, MDH v některých tkáních a tekutinách zdravých koní. = „Vet. časopis“ 6, 1959 : 583. — 8. ŠLESINGR L.: Karence potravy a její vliv na aktivitu některých enzymů, krevních bílkovin, bilirubinu u koní a skotu. = „Vet. med.“ 4, 1965 : 233. — 9. ŠLESINGR L.: Hodnoty bilirubinoidního a nebilirubinoidního barviva v krevním séru dom. zvířat. = „Med. weterynaryjna“ 5, 1964 : 293. — 10. STRAUB F. B.: Biochemie. Praha ČSAZV, 1962, 635 s. — 11. WILLIAM J. MONSON: Nutritional Considerations in skin and Coat maintenance. = „Vet. Medicine“ 1, 1965 : 54.

Влияние пиридоксина на активность энзимов в сыворотке крови у лошадей

В работе решался вопрос, можно ли повысить активность трансаминазы глутамово-пировиноградной кислоты путем повышения уровней кофермента, т. е. пиридоксина.

Результаты работы основаны на 128 анализах энзиматических активностей, 96 анализах билирубиноидных и небилирубиноидных красителей и 86 анализах пиридоксина.

На основе этих анализов было установлено, что пиридоксин, который вводился лошадям внутримышечно в дозе 0,5, 0,75, 1,0 и 1,2 мг/кг живого веса, не влиял на активность трансаминазы глутамово-пировиноградной кислоты. Как вытекает из работы, повышенной активностью только на самую большую дозу пиридоксина реагировала трансаминаза глутамово-оксалоуксусная. Применение пиридоксина не влияло на активность лейцинаминопептидазы.

Желчные красители, уровни которых вместе с активностями энзимов одновременно применялись для контроля состояния здоровья лошадей, не менялись от применения пиридоксина. Повышенные уровни желчных красителей во время опыта у лошадей не превышали физиологических суточных отклонений.

Из результатов работы далее явно вытекает зависимость между размером уровней пиридоксина и его дозой спустя 2 часа от его внутримышечного введения.

The Influence of Pyridoxine on the Activity of Enzymes in the Blood Serum of Horses

This work deals with the problem whether it is possible to raise the activity of the transaminase of glutamic-pyruvic acid by means of a raising of the coferment level, i. r. of pyridoxine.

The results obtained in the work are based on 128 analyses of enzymatic activities, on 96 analyses of bilirubinoid and non-bilirubinoid stains, and on 86 analyses of pyridoxine.

On the basis of these analyses it was found that pyridoxine, which had been applied intramuscularly to horses in doses of 0,5, 0,75, 1,0, tad 1,2 mg/kg of live weight, did not influence the activity of the transaminase of glutamic-pyruvic acid. As has been shown by the work, the transaminase of glutamic-oxalecetic acid reacted only to the highest dose of pyridoxine. The activity of leucinaminopeptidase was not influenced by the application of pyridoxine.

The biliary colouring matters, the level of which together with the activities of enzymes were used simultaneously for the checking of the state of health of horses, were not influenced by the application of pyridoxine. In the course of the tests the raised levels of biliary colouring matters in horses did not exceed the physiological daily fluctuations.

The results obtained in the work also show an obvious connection between the height of the pyridoxine level and its dose 2 hours after intramuscular application.

Einfluß des Pyridoxins auf die Aktivitäten der Enzyme im Blutserum der Pferde

In dieser Arbeit wurde die Frage gelöst, ob die Aktivität der Transaminase der Glutamin-Brenztraubensäure udrch die Erhöhung der Koferment-Niveaus, d. i. des Pyridoxins, erhöht werden kann.

Die Ergebnisse der Arbeit sind aus 128 Analysen der enzymatischen Aktivität, 96 Analysen der bilirubinoiden und nicht bilirubinoiden Farbstoffe und 86 Analysen des Pyridoxins abgeleitet.

Auf Grund dieser Analysen stellte man fest, daß das Pyridoxin, das an Pferde intramuskulär in einer Dosis von 0,5, 0,75, 1,0 und 1,2 mg/kg Lebendgewicht appliziert wurde, durch die Beeinflussung der Aktivität der Transaminase der Glutamin-Brenztraubensäure nicht zum Vorschein kam. Wie aus der Arbeit hervorgeht, reagierte die Transaminase der Glutamin-Oxalessigsäure nur auf die höchste Dosis durch eine erhöhte Aktivität. Durch die Applikation von Pyridoxin blieb die Aktivität der Leucinaminopeptidase unbeeinflusst.

Die Gallenfarbstoffe, deren Niveau gemeinsam mit den Aktivitäten der Enzyme gleichzeitig zur Kontrolle des Gesundheitszustandes der Pferde benützt wurden, wurden durch die Applikation von Pyridoxin nicht beeinflusst. Die erhöhten Niveaus der Gallenfarbstoffe überstiegen während des Versuches bei Pferden nicht die physiologischen Tagesschwankungen.

Aus den Ergebnissen ist weiter eine Abhängigkeit zwischen der Höhe des Niveaus von Pyridoxin und seiner Dosis nach zwei Stunden nach der intramuskulären Applikation ersichtlich.

Adresa autora:

MVDr. Lubomír Šlesinger, Výzkumný ústav výživy zvířat, Pohořelice u Brna

Podepsáno k tisku 13. 2. 1967

OBSAH

Slanina L., Králík L.: Účinek niektorých liečiv (aplikovaných do bachora a do slezu) na motorickú činnosť bachora	119
Bartoš J., Lebduška J., Salajka E.: Citlivosť <i>E. coli</i> z teliat v rôznych chovech k lékum	127
Vařejka F., Černý L.: Vývoj inkompletního viru chřipky prasat v kuřecích embryích a v deembryonovaných vejcích	133
Bartík M., Michnová E.: Autoproteolytická aktivita séra v závislosti na pH a stanovenie aktivity pepsinu a katepsinu u jednotlivých druhov domácich zvierat	143
Parráková E., Krčméry V.: Vlastnosti enterobaktérií z prostredia zariadení živočišnej výroby. II. Niektoré biologické a biochemické vlastnosti <i>E. coli</i> z prostredia veľkochovov	151
Janda J., Pařízek J.: Distribuce alkalické fosfatázy a nespecifické esterázy v normální žaludeční sliznici prasete (<i>Sus scrofa f. domestica</i>)	157
Pauer T., Kóňa E.: Resorpcia olivového oleja z duodéna a jejúna jahniat rôzneho veku	165
Šlesinger L.: Vliv pyridoxinu na aktivity enzymů v krevním séru u koní	171

СОДЕРЖАНИЕ

Сланина Л., Кралик Л.: Действие некоторых лекарств (вводимых в рубец и сычуг) на двигательную деятельность рубца (125). — Бартош Я., Лебдушка Я., Салайка Е.: Чувствительность *E. coli* телят разных стад к медикаментам (131). Варжейка Ф., Черни Л.: Развитие неполноценного вируса инфлюэнцы свиней на куриных эмбрионах и в деэмбрионизированных яйцах (141). — Бартик М., Михнова Е.: Автопротеолитическая активность сыворотки в зависимости от pH и определение активности пепсина и катепсина у отдельных видов домашних животных (149). — Паракова Е., Крчмери В.: Свойства энтеробактерий в среде животноводческих помещений. I. Некоторые биологические и биохимические свойства *E. coli* (156). — Янда Я., Паржизек Й.: Распределение щелочной фосфатазы, кислой фосфатазы и неспецифической эстеразы в нормальной слизистой оболочке желудка свиньи (*Sus scrofa f. domestica*) (163). — Пауер Т., Коня Е.: Резорбция оливкового масла из двенадцатиперстной и тощей кишки ягнят разного возраста (169). — Шлесингр Л.: Влияние пиридоксина на активность энзимов в сыворотке крови у лошадей (175).

CONTENT

Slanina L., Králík L.: The Effect of Some Drugs (applied in the Rumen and in the Abomasum) on the Motoricity of the Rumen (125). — Bartoš J., Lebduška J., Salajka E.: The Sensitiveness of *E. coli* from Calves of Various Herds to Drugs (132). — Vařejka F., Černý L.: Development of Incomplete Swine Influenza Virus in Chicken Embryos and in Deembryonated Eggs (142). — Bartík M., Michnová E.: The Autoproteolytic Activity of Serum in Dependence on pH and Determination of the Activity of Pepsin and Cathepsin in the Different Species of Farm Animals (149). — Parráková E., Krčméry V.: The Characteristics of Enterobacteriaceae of the Environment of Establishments of Livestock Production. — II. Some of the Biological and Biochemical Characteristics of *E. coli* (156). — Janda J., Pařízek J.: The Distribution of Alkaline Phosphatase, Acid Phosphatase, and of Non-specific Esterase the Normal Mucous Membrane of the Stomach of Pigs (*Sus scrofa f. domestica*) (163). — Pauer T., Kóňa E.: Resorption of Olive Oil from the Duodenum and from the Jejunum of Lambs of Various Age (170). — Šlesinger L.: The Influence of Pyridoxine on the Activity of Enzymes in the Blood Serum of Horses (176).

INHALT

Slanina L., Králík L.: Wirkung einiger Medikamente (die in den Pansen und in den Labmagen appliziert wurden) auf die motorische Tätigkeit des Panses (126). — Bartoš J., Lebduška J., Salajka E.: Die Empfindlichkeit der *E. coli* aus dem Körper der Kälber in verschiedenen Zuchten gegen-

über Medikamente (132). — Vařejka F., Černý L.: Die Entwicklung des inkompletten Schweineinfluenza-Virus in den Hühnerembryonen und in den deembryonierten Hühnereiern (142). — Bartík M., Michnová E.: Autoproteolytische Aktivität des Serums in Abhängigkeit von der pH und die Feststellung der Aktivität des Pepsins und Katepsins bei den einzelnen Haustierarten (149). — Parráková E., Krčmery V.: Eigenschaften der Enterobakterien aus dem Milieu der Einrichtungen für tierische Produktion. — II. Einige biologische und biochemische Eigenschaften der *E. coli* (156). — Janda J., Pařízek J.: Die Distribution der alkalischen Phosphatase, der sauren Phosphatase und der unspezifischen Esterase in normaler Magenschleimhaut des Schweines (*Sus scrofa f. domestica*) (164). — Pauer T., Kóňa E.: Die Resorption von Olivenöl aus dem Duoden und Jejunum der Lämmer verschiedenen Alters (170). — Šlesingr L.: Einfluß des Pyridoxins auf die Aktivitäten der Enzyme im Blutserum der Pferde (176).

TABLE DES MATIÈRES

Slanina L., Králík L.: Effet de certains médicaments (appliqués au rumen et à la caillette) sur l'activité motrice du rumen (res. An/125, Al/126). — Bartoš J., Lebeduška J., Salajka J.: Sensibilité des *E. coli*, provenant des veaux de différents élevages, aux médicaments (res. An/132, Al/132). — Vařejka F., Černý L.: Evolution du virus incomplet de la grippe des porcs dans les embryons de poulets et dans les oeufs, dont on a enlevé les embryons (res. An/142, Al/142). — Bartík M., Michnová E.: Activité autoprotéolytique du sérum en fonction de pH et de détermination de l'activité de pepsine et de cathépsine chez les différentes espèces d'animaux de ferme res An/149, Al/149). — Parráková E., Krčmery V.: Propriétés des entérobactéries provenant du milieu des installations de la production animale. — II. Certaines propriétés biologiques et biochimiques de *E. coli*, provenant du milieu des grands élevages (res. An/156, Al/156). — Janda J., Pařízek J.: Distribution de la phosphatase alcaline et de la phosphatase acide et de l'estérase non spécifique dans la muqueuse stomacale normale du porc (*Sus scrofa, f. domestica*) (res. An/163, Al/164). — Pauer T., Kóňa E.: Résorption de l'huile d'olive de duodénum et jéjunum des agneaux de différents âges (res. An/170, Al/170). — Šlesingr L.: Influence de pyridoxine sur l'activité des enzymes dans le sérum sanguin des chevaux (res. An/176, Al/176).