



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

9

ROČNÍK 17 (XLV)
PRAHA
ZÁŘÍ 1972
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král (předseda), prof. MVDr. Kolo-
man Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr.
Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., MVDr.
Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., doc.
MVDr. Jozef Hrušovský, CSc., MVDr. Jaromír Lát, CSc.,
MVDr. Andrej Mačička, CSc., doc. MVDr. Ladislav Polák,
CSc., MVDr. Jiří Srna, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Jovanka Václavíková

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1972

■
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje stu-
die, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech vý-
zkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědecko-
technických informací. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2,
Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—.

■
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзо-
ры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по науч-
ному исследованию в области ветеринарии. Издает Институт
научно-технической информации. 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. Pu-
blished by the Institute of Scientific and Technical Inform-
ation. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7.

■
Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA
veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Ab-
handlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem
Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben von Institut
für wissenschaftlich-technische Informationen. Erscheint mo-
natlich. 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. Publie par l'Institut des Informations Scienti-
fiques et Techniques. Paraît une fois par mois. Rédaction
Prague 2, Slezská 7.

POUŽITÍ AUTOMATICKÝCH POČÍTAČŮ V HEMATOLOGICKÉ DIAGNOSTICE LEUKÓZY SKOTU

B. Hofírek, P. Jagoš

Vysoká škola veterinární, katedra vnitřních chorob přežvýkavců a prasat, Brno

HOFÍREK B., JAGOŠ P. *Použití automatických počítaců v hematologické diagnostice leukózy skotu.* Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 511-516, 1972.

Byla ověřena použitelnost automatických počítaců krevních buněk Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 a Picoscale pro hromadnou hematologickou diagnostiku leukózy skotu, které ve srovnání s Bürkerovou komůrkou dosahují větší přesnosti a podstatně zvětšují kapacitu hematologické laboratoře. Pro práci s automatickým počítačem se osvědčilo použití stabilizované krve chelatonem III s formalinem.

skot; automatické počítací částic; Coulter Counter; Celloscope 101; TUR ZG 1; Picoscale; leukóza skotu; krev

Požadavky na hematologická vyšetření v poslední době neustále narůstají v souvislosti s hromadnými depistážemi na leukózu skotu. Současně je také zřejmé, že dosavadními metodami, spočívajícími na vyhodnocení počtu krvinek v počítacích komůrkách, dále nevystačíme. Tyto metody jsou časově velmi náročné, počet vyšetření je tím značně determinován a je nutné počítat také se značnou chybou, která se stupňuje s únavou pracovníka.

Tyto nedostatky odstraňují automatické počítací částic, používané dnes nejen v humánních, ale i ve veterinárních hematologických laboratořích, a to jak při vyšetřování leukózy skotu, tak při cytologické diagnostice mastitid apod.

Z četných literárních pramenů (Mattern, Brakett, Olson 1957; Ruhenstroth-Bauer, Zang 1960; Gerhartz 1961; Maibauer 1961; Boroviscény 1962; Pfeiffer 1962; Wiegand 1962; Accetto, Cholewa 1963; Beck, Maurer, Warnecke 1963; Heeschen, Krüger 1963; Rojahn, Tolle 1963; Wittmann 1965; Bach, Hohner 1967; Egger 1969; Gönye, Horváth 1971) je zřejmé, že cytologické vyšetření krve nebo mléka pomocí automatických počítaců je vysoce efektivní, přispívá podstatným způsobem k racionalizaci práce hematologické laboratoře, zvyšuje její kapacitu za současné zvýšené objektivnosti a konstantnosti získaných výsledků. Z domácích autorů se touto problematikou ve veterinární medicíně zabýval především Tesař (1967, 1970), který referuje o svých zkušenostech se švédským automatickým počítačem Celloscope 101 při hematologické diagnostice leukózy skotu a při cytologickém vyšetření mléka.

V naší práci chceme podat informace jednak o našich zkušenostech s prací na automatických počítacích, především však výsledky srovnání provozní přesnosti počítaců Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 a Picoscale ve srovnání

s Bürkerovou komůrkou, jednak o výsledcích našich studií protisrážlivých prostředků a jejich použití při vyšetřování krve na automatických počítacích i o údržnosti krevních vzorků.

MATERIÁL A METODY

1. SROVNÁNÍ PROVOZNÍ PŘESNOSTI AUTOMATICKÝCH POČÍTAČŮ COULTER COUNTER, CELLOSCOPPE 101, TUR ZG 1, PICOSCALE S BÜRKEROVOU KOMŮRKOU

K testování bylo použito čtyř jmenovaných automatických počítaců částic:

- a) „Coulter Counter“, model D, fy Coulter Electronics Limited (Anglie); generální zastoupení pro ČSSR fy F. Hellige & Co., Wien;
- b) „Celloscoppe 101“, fy Lars Ljungberg, Stockholm (Švédsko);
- c) „Teilchenzähler TUR ZG 1“, fy VEB Transformatoren und Röntgenwerk, Dresden (NDR);
- d) „Picoscale“, fy Medicor, Budapest (MLR).

Všechny testované přístroje pracují na stejném principu změny elektrického odporu při průchodu nevodivých buněčných elementů kapilární trubici s otvorem o 70 až 140 μ m. Tímto otvorem se nasává pomocí podtlaku získávaného sloupcem rtuti ve skleněné trubici tvaru U (Coulter Counter, Celloscoppe, TUR ZG 1) nebo pístovým zařízením (Picoscale) přesně odměřené množství ředěné krve. Při průchodu buněk otvorem kapiláry dochází ke změně odporu elektrických proudů. Tato změna se elektricky zesiluje a přístroje ji registrují. Správnou registraci buněk je možné sledovat opticky (osciloscop, obrazovka) nebo akusticky.

Na těchto přístrojích a v Bürkerově komůrce byl měřen počet leukocytů vzorku hovězí krve, která byla odebrána na chelaton III a pro vlastní počítáč připravena ředěním s roztokem saponinu podle návodu výrobce jednotlivých počítaců. Pouze u počítáče „Picoscale“ bylo k testování použito lidské krve. Krev byla čerstvá, krátce po odebrání. Na každém přístroji jsme měřili opakovaně tentýž vzorek krve patnáctkrát, jen na maďarském přístroji desetkrát. Vzorek určený pro Bürkerovu komůrku byl ředěn Türkerovým roztokem v baničkách. Výsledky byly statisticky zhodnoceny výpočtem aritmetického průměru $\bar{x}$, směrodatné odchylky s , střední chyby aritmetického průměru $s\bar{x}$ a variačního koeficientu v .

2. STUDIUM PROTISRÁŽLIVÝCH PROSTŘEDKŮ PŘI PRÁCI S AUTOMATICKÝM POČÍTAČEM TUR ZG 1 A ÚDRŽNOST KREVNÍCH VZORKŮ

Při hematologickém vyšetření skotu na leukózu jde o stanovení počtu leukocytů (respektive lymfocytů), což nemusí být vždy bez problému. V běžném provozu leukózní laboratoře se stává, že od okamžiku odběru krevního vzorku do jeho zpracování uplyne více hodin. V průběhu této doby dochází bezpochyby v krevním vzorku ke změnám, které jsou charakterizovány kvalitativními změnami na leukocytech. Abychom mohli diagnostické omyly, vznikající v tomto směru, omezit na minimum, je třeba znát, k jakým změnám dochází, respektive při kterých protisrážlivých prostředcích jsou tyto změny nejmenší.

Byly odebrány krevní vzorky od krávy zdravé a leukemické do čtyř anti-coagulačních substancí — celkem osm vzorků krve.

Použité substance:

a) Roztok podle Wintroba — šfavelan amonný	1,2
šfavelan draselný	0,8
aqua dest.	100,0

Byl napipetován v množství 0,5 ml do skleniček a vysoušen při 90 °C.

b) Roztok podle Wintroba — byl stabilizován 1 ml 40% formalinu a vysoušen jako předcházející.

c) Chelaton III v množství 10 mg ve skleničce.

d) Chelaton III stabilizovaný formalinem ve složení —	
chelaton III	25,0
aqua dest.	225,0
formalin	25,0

0, 25 ml stabilizačního roztoku na 10 ml krve (Mieth, Wittmann 1971).

Na automatickém počítací TUR ZG 1 byl u všech vzorků zjišťován počet leukocytů, krev byla hemolyzována saponinem podle návodu výrobce přístroje. Měřili jsme třikrát — okamžitě po odběru vzorků, za 24 hodiny a 48 hodin. V mezidobí byla krev uchována v ledničce při 4 °C. Při každém měření byl každý vzorek krve počítán 10 X. Celkem bylo provedeno 240 měření.

VÝSLEDKY

Provozní přesnost automatických počítaců částic ve srovnání s Bürkerovou komůrkou zachycuje tab. I.

Změny v počtu leukocytů zdravé a leukózní krve uvádí tab. II.

DISKUSE

Vysoké nároky na hematologické vyšetření ve veterinární medicíně v souvislosti s tlumením leukózy vyvolávají tlak na mechanizaci a automatizaci těchto prací. Vedle jiných pomůcek (automatické pipety, třepačky apod.) podstatným způsobem přispívá k automatizaci práce v hematologické laboratoři použití automatických počítaců krvinek, jejichž pomocí je možné zvládnout velká množství vzorků. V ČSR. jsou postupně zařizovány leukózní hematologické laboratoře, jejichž úkolem má být hematologická depistáž leukózy skotu; podle možností jsou tyto laboratoře vybavovány také automatickými počítacími.

I. Srovnání provozní přesnosti automatických počítaců částic „Coulter Counter“, „Celloscope 101“, „TUR ZG 1“, „Picoscale“ ve srovnání s Bürkerovou komůrkou (počet leukocytů)

Název přístroje	Coulter Counter	Celloscope	TUR ZG 1	Picoscale	Bürkerova komůrka
Aritmetický průměr $\bar{x}$	9570	9540	9820	5900	10350
Směrodatná odchylka s	352	408	462	375	1087
Střední chyba aritm. průměru $s_{\bar{x}}$	94	110	124	125	293
Variační koeficient	3,6 %	4,2 %	4,7 %	6,3 %	10,4 %

II. Změny v počtu leukocytů zdravé a leukózní krve absolutně a v procentech v závislosti na čase při práci s automatickým počítacem ZUR ZG 1

	0 hodin	24 hodiny	48 hodin
	Le absolutně (%)	Le absolutně (%)	Le absolutně (%)
Wintrobova směs	7 408 ± 924 (100 %) 17 503 ± 365 (100 %)	6 132 ± 551 (82,7 %) 16 917 ± 678 (96,6 %)	5 991 ± 941 (80,8 %) 16 864 ± 427 (96,3 %)
Wintrobova směs s formalinem	7 536 ± 723 (100 %) 17 452 ± 326 (100 %)	6 335 ± 326 (84,0 %) 17 113 ± 736 (98,0 %)	6 485 ± 385 (86,0 %) 17 041 ± 993 (97,6 %)
Chelaton III	7 177 ± 759 (100 %) 17 511 ± 340 (100 %)	6 503 ± 874 (90,6 %) 17 067 ± 396 (97,4 %)	6 800 ± 862 (94,7 %) 18 049 ± 388 (103,0 %)
Chelaton III s formalinem	7 360 ± 629 (100 %) 17 730 ± 412 (100 %)	7 094 ± 538 (96,4 %) 17 481 ± 628 (98,6 %)	7 352 ± 312 (99,9 %) 18 119 ± 536 (102,2 %)

Udané hodnoty jsou průměrem z deseti měření každého vzorku

V současné době pracují v hematologických laboratořích dva typy automatických počítaců — Celloscope 101 a TUR ZG 1. Tento stav nelze považovat za zcela příznivý. Bylo by žádoucí vybavit všechny laboratoře nejvhodnějšími přístroji a zajistit operativní servisní službu. Naše práce chtěla přispět do diskuse k této problematice.

Výsledky, kterých bylo dosaženo v první části práce, ukazují, že stanovení počtu krevních buněk — v našem případě leukocytů — pomocí automatických počítaců je vysoce efektivní a perspektivní. Spolu s další mechanizací, jak již bylo vzpomenuo — automatické pipety, třepačky ap. — zvyšuje až čtyřnásobně kapacitu hematologické laboratoře.

Srovnání provozní přesnosti zkoušených automatických počítaců ukázalo, že všechny pracují přesněji než Bürkerova komůrka. Určité zjištěné rozdíly z hlediska provozního mají nepatrný význam, neboť u žádného přístroje nepřesáhla směrodatná odchylka aritmetického průměru 15 respektive 10 měření ± 500 buněk. Posoudíme-li další statisticky vypočtené hodnoty — střední chybu aritmetického průměru a variační koeficient — je i v těchto případech přesnost počítaců nejméně dvakrát vyšší ve srovnání s Bürkerovou komůrkou. V podstatě shodných výsledků v podobném srovnání dosáhli G ö n y e, H o r v á t h (1971), kteří srovnávali švédský Celloscope 101, TUR ZG 1, Microscale a Picoscale P-03.

V druhé části práce, věnované studiu protisrážlivých prostředků při práci s automatickým počítacem, bylo zjištěno, že optimálních výsledků bylo dosaženo s těmi krevními zvonky, které byly konzervovány chelatonem III s formalinem. V tomto případě můžeme skutečně hovořit o stabilizované krvi, neboť pokles

leukocytů za 24 hodiny od odběru byl u zdravé krve jen 3,6 % a u leukózní dokonce jen 1,4 %. Za 48 hodin byl pokles jen 0,1 % u zdravé krve a u krve leukózní dokonce zvýšení proti výchozím hodnotám čerstvé krve o 2,2 %. Tato skutečnost je v každém směru pozoruhodná a byla zaznamenána již v práci Tolle, Jahnke (1965). Tuto skutečnost vysvětlujeme tím, že v procesu stárnutí krve dochází především k rozpadu granulocytů, přičemž jednotlivé fragmenty jejich jader jsou automatickým počítačem registrovány. Tím také se vysvětluje, proč je za určitých okolností možné za 24 hodiny a hlavně za 48 hodin po odběru krevního vzorku naměřit vyšší počty leukocytů, než byly hodnoty výchozí.

Literatura

- ACCETTO B., CHOLEWA A. M., 1963, Vergleiche visueller and automatischer Blutzell-Zählung. *Acta Medico Technica* 2 : 53-54.
- BACH S., HOHNER L., 1967, Die Zählung von Leukozyten aus stabilisierten Rinderblutproben mit dem elektronischen Zählgerät ELMED ZG 1 zur Leukosediagnostik. *Mh. Vet. Med.* 22 : 300-303.
- BECK CH., MAURER H. CH., WARNECKE G., 1963, Blutzellzählung mit automatischen Geräten — Coulter Counter. *Acta medico Technica* 6 : 237-239.
- BOROVICZÉNY K. G., Erfahrungen mit Blutkörperchenzählapparaten. *Das Ärztliche Laboratorium* 8 : 164-178.
- GÖNYE S., HORVÁTH Z., 1971, Ueber Erfahrungen mit den automatischen Blutkörperchenzählgeräten mit besonderem Hinblick auf die hämatologischen Rinderleukoseuntersuchungen. *Arch. exp. VetMed.* 25 : 765-768.
- EGGER B., 1969, Zur Korrelation zwischen der mittels Coulter Counter bestimmten Zellzahl der Milch und den histologischen sowie bakteriologischen Untersuchungsbefunden. *Dis. Zürich.*
- GERHARTZ H., 1961, Quantitative Erfassung geformter Blutelemente mit dem EEL-Blutkörper-Zählautomaten. *Acta Medico Technica* 4 : 157-158.
- HEESCHEN W., KRÜGER K. E., 1963, Zur Anwendung des Celloscopes in der Diagnostik der Rinderleukose. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.* 76 : 145-148.
- MAIBAUER D., 1961, Erfahrungen mit dem Blutkörperchenzählgerät Celloscope. *Acta Medico Technica* 4 : 156-158.
- MATTERN C. F. T., BRAKETT F. S., OLSON J., 1957, Determination of Number and Size of Particles by Electrical Gating Blood Cells. *J. appl. Physiol.* 10 : 56-70.
- MIETH K., WITTMANN W., 1971, Standardisierungsmöglichkeiten der Hämatologischen Diagnose der enzootischen Leukose des Rindes. *Arch. exp. VetMed.* 25 : 727-739.
- PFEIFFER G., 1962, Elektronische Blutkörperchenzählung und Größenverteilungsbestimmung. *Z. med. Labortechnik* 3 : 57-87.
- ROJAN A., TOLLE A., 1963, Die Verwendung des elektronischen Partikelzählgerätes „Coulter Counter“ (Model D) zur hämatologischen Diagnostik der Leukose des Rindes. *Mh. Tierheilk.* 15 : 3 — Rindertuberkulose, Brucellose, Leukose 12 : 37-44.
- RUHENSTROTH-BAUER G., ZANG D., 1960, Automatische Zählmethoden : Das Coulterische Partikelzählgerät. *Blut* 4 : 446-462.
- TESAŘ A., 1967, Některé zkušenosti s použitím automatického počítače „Celloscope 101“ k hematologické diagnostice leukózy skotu. *Sborník referátů z celostátního symposia o leukóze skotu. Pardubice* : 69-77.
- TESAŘ A., 1970, Stanovení počtu mléčných buněk na elektronickém počítači „Celloscope“. *Veterinářství (Brno)* XX : 537-539.
- TOLLE A., JAHNKE D., 1965, Die Stabilisierung von Blutproben und ein Verfahren zur hämatologischen Reihenuntersuchungen auf Rinderleukose. *Zentbl. VetMed.*, 12 B : 210-219.
- WIEGAND D., 1962, Zählung roter und weißer Blutelemente des Rindes mit einem automatischen Blutkörperzählgerät. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.* 75 : 129-131.
- WITTMANN W., 1965, Die Zählung der Leukozyten beim Rind mit dem elektronischen Teilchenzähler ZG 1 des TUR. *Ing. f. Tierärzte* : 8-12.

Došlo dne 29. 5. 1972

ГОФИРЕК Б., ЯГОШ П. (Вышшая школа ветеринарной медицины, Брно, Чехословакия). Некоторые данные, полученные в области применения автоматических счетчиков **Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 Picoscale** в гематологическом диагностировании лейкоза крупного рогатого скота. *Vet. Med. (Praha)* 17 (9) : 511-516, 1972.

Проверяли применимость автоматических счетчиков кровяных клеток **Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 Picoscale** для массовой гематологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота, которые достигают большей точности, чем камера Бюркера, и существенно повышают емкость гематологической лаборатории. Для работы со счетчиками хорошо себя оправдало применение стабилизированной крови при помощи хелатона III с формалином.

крупный рогатый скот; автоматические счетчики частиц; **Coulter Counter; Celloscope 101; TUR ZG 1; Picoscale**; лейкоз крупного рогатого скота; кровь

HOFÍREK B., JAGOŠ P. (University School of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *Use of the Automatic Counters Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 and Picoscale in Hematological Diagnosis of Leucosis in Cattle*. *Vet. Med. (Praha)* 17 (9) : 511-516, 1972.

A trial was undertaken to check the automatic blood-cell counters **Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 and Picoscale** as to their suitability to mass hematological diagnosis of leucosis in cattle. In comparison with Bürker's cell, higher accuracy is obtained when the automatic counters are used. The capacity of the hematological laboratory is considerably increased. The use of blood stabilized with chelaton III and formalin gave good results in the work with the automatic counter.

cattle; automatic blood-particle counters; **Coulter Counter; Celloscope 101; TUR ZG 1; Picoscale**; leucosis in cattle; blood

HOFÍREK B., JAGOŠ P. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno, Tschechoslowakei). *Anwendung automatischer Zählmaschinen Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 und Picoscale in hämatologischer Diagnostik der Rinderleukose*. *Vet. Med. (Praha)* 17 (9) : 511-516, 1972.

Es wurde die Anwendbarkeit der automatischen Blutzellenzähler „**Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 und Picoscale**“ zu Zwecken der hämatologischen Massendiagnostik der Rinderleukose nachgeprüft, die im Vergleich zur Bürkerkammer eine größere Genauigkeit erzielen und auf wesentliche Weise die Kapazität des hämatologischen Laboratoriums erhöhen. Für die Arbeit mit dem automatischen Zähler bewährte sich die Anwendung des mit Chelaton III und Formalin stabilisierten Bluts.

Rind; automatische Teilchenzähler; **Coulter Counter; Celloscope 101; TUR ZG 1; Picoscale**; Rinderleukose; Blut

Adresa autorů:

MVDr. B. Hofírek, CSc, MVDr. P. Jagoš, Vysoká škola veterinární, Brno, Palackého 1-3

STANOVENÍ KONCENTRACE KYSLIČNÍKU VE STÁJOVÉM VZDUCHU DETEKČNÍMI TRUBIČKAMI CO₂ – TYP 1 ‰

K. Kubíček, J. Lisková, J. Lisek

Vysoká škola veterinární, Brno

KUBÍČEK K., LISKOVÁ J., LISEK J. *Stanovení koncentrace kysličníku uhličitého ve stájovém vzduchu detekčními trubičkami CO₂–typ 1 ‰*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 517-525, 1972.

Byla ověřována použitelnost detekčních trubic CO₂–typ 1 ‰ ke stanovení koncentrace kysličníku uhličitého ve stájovém vzduchu. Současně byla měřena koncentrace kysličníku uhličitého interferometrem. Výsledky získané oběma orientačními metodami byly srovnávány s výsledky získanými metodou titrační podle Subbotina — Nagorského, kterou jsme považovali za nejpřesnější. V laboratorních podmínkách jsme obdrželi velmi dobré výsledky pomocí interferometru, kdy v 85,7 ‰ případů byl rozdíl v porovnání s titrací menší než 30 ‰ a rozdíl mezi oběma soubory výsledků byl statisticky neprůkazný. Detekčními trubičkami byly získány horší výsledky. Jen v 56,5 ‰ případů nepřekročil rozdíl v porovnání s titrací přípustnou toleranci 30 ‰ a rozdíl mezi soubory výsledků byl vysoce statisticky průkazný. V praktických podmínkách byly mezi výsledky zjišťovanými oběma orientačními metodami a mezi metodou titrační větší rozdíly než v podmínkách laboratorních. Rozdíl mezi hodnotami zjištěnými trubičkami a titrací byl vysoce statisticky průkazný a jen v 30,6 ‰ případů nepřekročil toleranci 30 ‰. V převážné většině případů (v 90,3 ‰) byly trubičkami naměřené koncentrace vyšší oproti hodnotám zjištěným titrací. Rozdíl mezi koncentracemi získanými interferometrem a titrací byl statisticky neprůkazný a v 54,2 ‰ nepřekročil přípustnou hranici 30 ‰. Detekční trubičky CO₂–typ 1 ‰ není možné doporučit pro objektivní zjišťování koncentrace kysličníku uhličitého ve stájovém vzduchu. Můžeme jimi pouze velmi hrubě zjistit, zda množství kysličníku uhličitého se pohybuje v mezích přípustných hodnot nebo zda je překračuje. V případě, že trubičkami prokážeme hodnoty vyšší než připouští normy, je doporučitelné podle potřeby stanovit koncentraci některou z přesných laboratorních metodik. Z orientačních metod námi zkoumaných se ukázala jako přesnější metoda interferometrická. kysličník uhličitý; stájový vzduch; zjišťování; detekční trubičky

Kysličník uhličitý je stálou příměsí vzduchu v množství 0,03 až 0,04 % obj. Jeho koncentrace se ve volné přírodě téměř nemění. Podle Symona a kol. (1954) byly nalezeny stejné hodnoty ve městě jako na venkově, na horách jako v údolích, před padesáti lety jako dnes. Jen některé meteorologické vlivy, např. mlhy, přechodně mění množství kysličníku uhličitého ve vzduchu.

Mohutným zdrojem kysličníku uhličitého ve stájovém vzduchu jsou ustájená zvířata. Jednotlivé druhy a kategorie hospodářských zvířat produkují dýcháním množství kysličníku uhličitého, odpovídající jejich metabolismu. Určité malé množství kysličníku uhličitého vzniká kvasnými pochody ve střevech a stelivu. Jeho koncentrace ve stájovém vzduchu je zpravidla vyšší než ve venkovním vzduchu (Hojovec a kol. 1969).

ON 73 4502 (1968) uvádí podle druhu a kategorií zvířat přípustnou koncentraci kyslíčnicku uhličitého ve stájovém ovzduší 0,1 až 0,3 % obj.

Podle Fraňka a kol. (1965) nepůsobí kyslíčnick uhličitý při běžných stájových koncentracích toxicky a nemá přímé účinky na fyziologické funkce organismu. Hojovec a kol. (1969) zdůrazňuje, že stanovení koncentrace kyslíčnicku uhličitého má význam nepřímý a jeho koncentraci chápeme jako indikátor výměny vzduchu. Překračuje-li koncentrace kyslíčnicku uhličitého hygienicky přípustnou hodnotu, je možné konstatovat nedostatečnou výměnu vzduchu ve stáji, která je zpravidla doprovázena i vysokou relativní vlhkostí a zvýšenou koncentrací ostatních toxických plynů. Kyslíčnick uhličitý je vhodným indikátorem větrání zejména proto, že jeho koncentrace ve vzduchu přiváděném do stáje větráním je téměř stálá (0,03 % obj.).

Koncentrace kyslíčnicku uhličitého se stanoví podle Rosochy a kol. (1967) orientačními nebo analytickými metodami. K orientačnímu zjištění kyslíčnicku uhličitého doporučuje metodu s použitím přístroje Labora Simplex III A s adaptérem a ampulkami. Ampulky, které byly pro tuto metodu jednorázově vyrobeny, jsou spotřebovávány a toho času není k dispozici vhodná orientační metoda pro stanovení koncentrace kyslíčnicku uhličitého ve stájích. V naší práci jsme se proto zaměřili na ověření použitelnosti detekčních trubiček na kyslíčnick uhličitý — typ 1 %, které jsou určeny pro zjišťování koncentrací kyslíčnicku uhličitého od 1 % do 18 % ve spalínách (ve výfukových nebo kouřových plynech).

MATERIÁL A METODY

Koncentrace kyslíčnicku uhličitého byla měřena současně a ve stejném místě

a) detekčními trubičkami na CO₂ — typ 1 %,
b) interferometricky přístrojem Riken Gas indicator type 21 — japonské výroby,

c) analytickou titrační metodou podle Subbotina - Nagorského.

a) Byly použity detekční trubičky na CO₂ — typ 1 % výrobní šarže 49 spolu s nasávacím zařízením Universal typ 66 (obr. 1). Měřili jsme podle návodu pro detekční trubičky a podle návodu pro nasávač. Aby bylo umožněno odečítání nižších koncentrací, které ve stájích přicházejí v úvahu, byl postup změněn v tom, že zkoušený stájový vzduch byl prosát detekční trubicí nikoliv jedním zdvihem nasávače, jak doporučuje návod, ale deseti zdvihy a výsledná hodnota byla dělena deseti.

b) Interferometricky přístrojem Riken Gas indicator type 21 (obr. 2) bylo měřeno podle návodu.

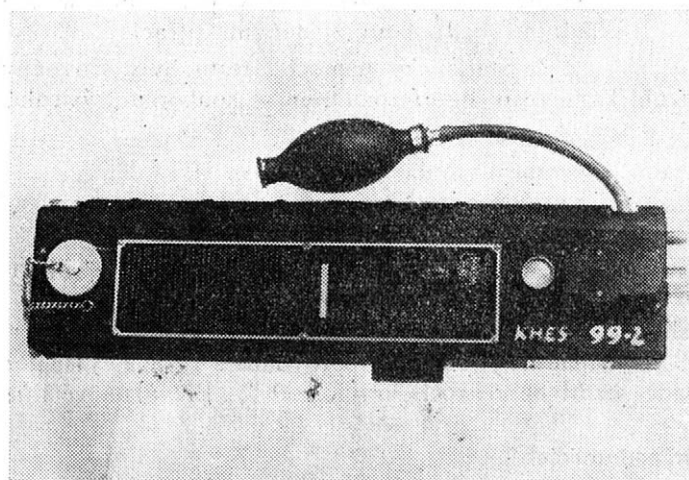
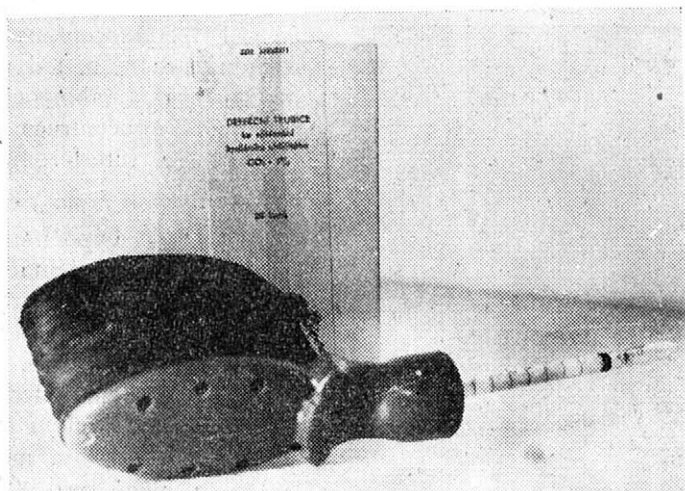
c) Přístrojové vybavení potřebné k titrační metodě podle Subbotina - Nagorského je zřejmé z obr. 3 a 4. Princip této metody je založen na vyvázání kyslíčnicku uhličitého ze známého objemu vzduchu na hydroxid barnatý o známém titru. Vznikne ve vodě nerozpustný uhličitán barnatý, čímž se titr hydroxidu barnatého sníží. Z rozdílu titru hydroxidu barnatého před vyvázáním kyslíčnicku uhličitého a po něm se stanoví množství kyslíčnicku uhličitého. Přesný popis metodiky uvádí Skorochoďko a kol. (1953).

Měřili jsme:

v laboratoři, ve které byla měněna koncentrace kyslíčnicku uhličitého při-pouštěním z bomby,

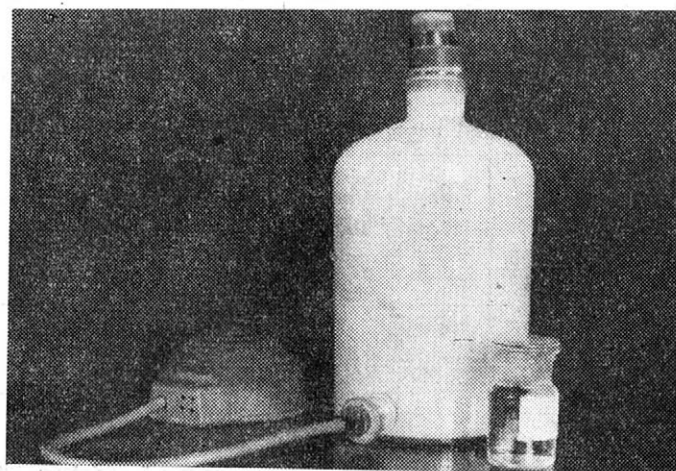
v praktických podmínkách.

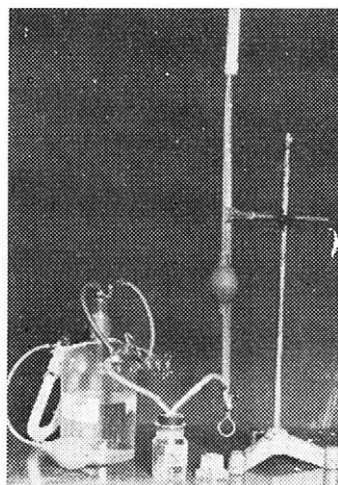
1. Detekční trubička na CO_2 — typ 1/0 s nasávacím zařízením Universal typ 66



2. Japonský přístroj Riken Gas indicator type 21

3. Přístrojové vybavení potřebné k titrační metodě podle Subbotina-Nagorského





4. Přístrojové vybavení potřebné k titrační metodě podle Subbotina-Nagorského

Při hodnocení byly hodnoty zjištěné analytickou titrační metodou podle Subbotina-Nagorského brány jako nejpřesnější a s nimi byly srovnány koncentrace naměřené detekčními trubičkami a interferometrem.

Srovnání bylo dvojí:

1. Bylo vypočítáno, o kolik procent se výsledky získané orientačními metodami liší od výsledků získaných titrační metodou a braných za 100 %. Dále bylo absolutními a relativními hodnotami vyjádřeno, kolik hodnot naměřených trubičkami resp. interferometrem se lišilo proti výsledkům zjištěným titrací o méně než 30 %, o více než 30 % a méně než 60 %, o více než 60 %, a méně než 90 % a konečně o více než 90 %. Bylo přihlédnuto také k tomu, zda hodnoty byly vyšší nebo nižší v porovnání se základními hodnotami zjištěnými titrací.

2. Statisticky pomocí t testu byly srovnány soubory výsledků zjištěné trubičkami resp. interferometrem se souborem výsledků získaných titrací.

VÝSLEDKY

Výsledky získané v laboratorních podmínkách shrnuje tab. I. Z tabulky vyplývá, že koncentrace kyslíčniku uhličitého, zjištěné detekčními trubičkami, byly ve 14,2 % případů shodné, ve 42,3 % případů nepřekročil rozdíl běžnou toleranci 30 %, ale ve 42,3 % případů byl rozdíl v porovnání s titrací vyšší než 30 %. Ani v jednom případě rozdíl nepřekročil hranici 60 %. Převážná většina

I. Výsledky v laboratorních podmínkách

Ve srovnání s titrací	Detekční trubičky				Interferometr			
	celkem		rozdíl oproti titraci		celkem		rozdíl oproti titraci	
			do 30 %	nad 30 % do 60 %			do 30 %	nad 30 % do 60 %
Shodné	2	14,2 %	—	—				
Vyšší	11	78,6 %	5	6	8	57,1 %	7	1
Nižší	1	7,2 %	1	—	6	42,9 %	5	1
Celkem	14		6	6	14		12	2
	100 %		42,3 %	42,3 %	100 %		85,7 %	14,3 %
	$t = 3,72$		(2,16—3,01)		$t = 1,34$		(2,16—3,01)	

hodnot (78,6 %) naměřených trubičkami byla ve srovnání s titrací vyšší. Rozdíl mezi výsledky získanými detekčními trubičkami a titrací byl vysoce statisticky průkazný. Vypočítaná t hodnota 3,72 je vyšší než tabulková hodnota 3,01.

Interferometrem naměřené hodnoty se v 85,7 % případů lišily od hodnot zjištěných titrací o méně než 30 %, což je tolerance, se kterou se u orientačních metod běžně počítá. Jen 14,3 % výsledků se lišilo proti titraci o více než 30 %, ale ani v jednom případě rozdíl nepřekročil 60 %. Zhruba ve stejném počtu případů byly interferometrem naměřeny hodnoty vyšší (57,1 %) a nižší (42,9 %). Rozdíl mezi hodnotami naměřenými interferometrem a titrací je statisticky neprůkazný, neboť vypočítaná t hodnota 1,34 je nižší než hodnota tabulková 2,16.

V praktických stájových podmínkách se výsledky naměřené detekčními trubičkami i interferometrem v porovnání s hodnotami získanými titrací lišily výrazněji než v laboratorních podmínkách. Výsledky jsou shrnuty v tab. II a III.

Z tab. IIa je zřejmé, že koncentrace zjištěné detekčními trubičkami se ve 2,8 % případů shodovaly, ve 27,8 % lišily o méně než 30 %, v 31,9 % se lišily o více než 30 % a méně než 60 % a ve 22,2 % o více než 60 % a méně než 90 % a dokonce v 15,3 % byl rozdíl vyšší než 90 % v porovnání s výsledky získanými titrací. V převážné většině případů, tj. v 90,3 %, byla naměřena trubičkami koncentrace vyšší než je koncentrace zjištěná titrací. Rozdíl mezi výsledky získanými detekčními trubičkami a titrací byl vysoce průkazný — $t = 3,16$ bylo vyšší než tabulková hodnota 2,63.

Z tab. IIb vyplývá, že hodnoty stanovené interferometrem byly ve 4,2 % případů shodné, v 50 % se lišily o méně než 30 %, v 38,9 % případů se lišily o více než 30 % a méně než 60 % a v 6,9 % byl rozdíl vyšší než 60 %. Ani v jednom případě rozdíl nepřekročil hranici 90 %. V 70,8 % případů byly interferometrem naměřeny koncentrace nižší než metodou titrační. Rozdíl mezi souborem výsledků získaných interferometrem a titrací je statisticky neprůkazný. Vypočítaná t hodnota 1,17 je nižší než hodnota tabulková 1,92.

II. Výsledky v praktických stájových podmínkách

a)

Ve srovnání s titrací	Detekční trubičky				
	celkem	rozdíl oproti titraci			
		do 30 %	nad 30 % do 60 %	nad 60 % do 90 %	nad 90 %
Shodné	2 2,8 %				
Vyšší	65 90,3 %	15	23	16	11
Nižší	5 6,9 %	5	—	—	—
Celkem	72 100 %	20 27,8 %	23 31,9 %	16 22,2 %	11 15,3 %
$t = 3,16 \quad (1,92 - 2,63)$					

b)

Ve srovnání s titrací	Interferometr					
	celkem		rozdíl oproti titraci			
			do 30 %	nad 30 % do 60 %	nad 60 % do 90 %	nad 90 %
Shodné	3	4,2 %				
Vyšší	18	25,0 %	13	5	—	—
Nižší	51	70,8 %	23	23	5	—
Celkem	72		36	28	5	—
	100 %		50 %	38,9 %	6,9 %	—
$t = 1,17 \quad (1,92 - 2,63)$						

III. Výsledky v praktických stájových podmínkách

a)

Koncentrace CO ₂ stanovené titrací	Počet stanovení		Detekční trubičky				
			rozdíl oproti titraci				
			shodné	do 30 %	nad 30 % do 60 %	nad 60 % do 90 %	nad 90 %
0 — 0,10 %	9	100 %	—	—	22,3 %	22,3 %	55,4 %
0,11 — 0,20 %	30	100 %	3,3 %	30,0 %	26,6 %	23,3 %	16,6 %
0,21 — 0,30 %	22	100 %	—	31,8 %	40,9 %	22,7 %	4,5 %
0,31 — 0,40 %	10	100 %	10,0 %	40,0 %	30,0 %	20,0 %	—

b)

Koncentrace CO ₂ stanovené titrací	Počet stanovení		Interferometr				
			rozdíl oproti titraci				
			shodné	do 30 %	nad 30 % do 60 %	nad 60 % do 90 %	nad 90 %
0 — 0,10 %	9	100 %	—	44,4 %	44,4 %	11,1 %	—
0,11 — 0,20 %	30	100 %	3,3	53,3 %	36,6 %	6,6 %	—
0,21 — 0,30 %	22	100 %	9,0	45,5 %	40,9 %	4,5 %	—
0,31 — 0,40 %	10	100 %	—	50,0 %	40,0 %	10,0 %	—

Z tabulky IIIa, b můžeme posoudit rozdíl mezi koncentracemi kyslíčnicku uhličitého, prokazovanými trubičkami resp. interferometrem v porovnání s titrací s přihlédnutím k různému množství kyslíčnicku uhličitého ve vyšetřovaném stájovém vzduchu. Zatímco v tab. IIIa je naznačen zřetelně sklon ke zmenšování se rozdílu mezi trubičkami a titrací s přibývajícimi koncentracemi kyslíčnicku uhličitého ve vyšetřovaném vzduchu, vidíme, že z tab. IIIb nemůžeme zjistit zřetelný rozdíl ve výsledcích získaných interferometrem a titrací v závislosti na přibývajících koncentracích kyslíčnicku uhličitého ve vyšetřovaném vzduchu.

Literatura

- FRANĚK B., KNAP J., KEŠNER B., 1965, Úprava stájového prostředí. Praha : 317 s.
HOJOVEC J. a kol., 1969, Hygiena hospodářských zvířat — část obecná. Hygiena prostředí a jeho asanace. Brno : 167 s.
ROSOCHA J., BEŇO V., TOMKA J., 1967, Návod y na praktické cvičenia zo zoohygieny. Bratislava : 177 s.
SKOROCHOĐKO A. K. a kol., 1953, Rukovodstvo dlja praktičeskich zanjatij po gigiene selskoxozjajstvennych životnych. Moskva : 246 s.
SYMON K. a kol., 1954, Vyšetřovací metody v hygieně. (Ovzduší, půda, voda). Praha : 224 s.
ON 73 4502, 1968, Tepelná bilance a větrání stájových prostorů. Praha : 35 s.
—, Sklárn y Kavalier, závod Votice: Nasávací zařízení Universal typ 66. Návod k používání.
—, Technické sklo, n. p., závod 04, Votice: CO₂—typ 1 ‰. Popis detekčních trubiček na kyslíčnik uhličitý a návod k použití.

Došlo dne 21. 4. 1972

КУБИЧЕК К., ЛИСКОВА .И, ЛИСЕК Й. (Вышшая школа ветеринарной медицины, Брно, Чехословакия). Определение концентрации углекислого газа в воздухе животноводческого помещения при помощи детекторных трубок CO₂ — тип 1 ‰. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 517-525, 1972.

Проверяли пригодность детекторных трубок CO₂ — тип 1 ‰ для определения концентрации углекислого газа в воздухе животноводческого помещения. В то же время измеряли концентрацию углекислого газа при помощи интерферометра. Результаты, полученные с помощью обоих ориентировочных методов сравнивались с результатами, приобретаемыми по титровальному методу Субботина—Нагорского, который считался наиболее точным. В лабораторных условиях мы получили очень хорошие результаты при помощи интерферометра, когда в 85,7 ‰ случаев разница по сравнению с титрованием была на 30 ‰ меньше, а разница между обеими группами результатов — статистически недостоверна. При использовании детекторных трубок результаты хуже. Лишь в 56,5 ‰ случаев разница (по сравнению с титрацией) не превысила допустимую толерантность 30 ‰, а разница между группами результатов высокодостоверна. В практических условиях между результатами, определяемыми по обоим ориентировочным методам, и между титровальным методом установлены большие различия, чем в лабораторных условиях. Разница между величинами, установленными при помощи трубок и титрации, высокодостоверна и лишь в 30,6 ‰ случаев не превышает толерантность 30 ‰. В большинстве (90,3 ‰) случаев промеренные при помощи трубок концентрации превышали величины, установленные путем титрования. Разница между концентрациями, определенными путем интерферометра, и титрацией статистически недостоверна и в 54,2 ‰ случаев не превышает допустимую границу 30 ‰. Детекторные трубки CO₂ — тип 1 ‰ не рекомендуются для объективного определения концентрации углекислого газа в воздуха животноводческого помещения. При их помощи можно лишь очень приблизительно определить, находится ли количество углекислого газа в пределах допустимых величин или же их превышает. Если его количество превышает допустимую норму, рекомендуется определить согласно потребностям его концентрацию при помощи некоторой из точных лабораторных методик. Среди испытанных нами методов более точным оказался интерферометрический метод.

углекислый газ; воздух животноводческого помещения; определение; детекторные трубки

KUBÍČEK K., LISKOVÁ J., LISEK J. (University School of Veterinary Medicine Brno, Czechoslovakia). *Usability of Detection Tubes CO₂—Type 1 % for the Assessment of Carbon Dioxide Concentrations in the Air of Stables*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 517-525, 1972.

There has been verified the possibility of using detection tubes CO₂—type 1 % for the determination of carbon dioxide values in the air of stables. Simultaneously, there were also made measurements with interferometers. The results obtained by these two assessment methods were compared with the values of the titration test according to Subbotin-Nagorský, considered by us as the technique offering the highest accuracy. In laboratory conditions we obtained very good results with the use of interferometers. In 85,7 % out of the total number of cases, the differences between the results compared with the titration test remained below the admissible limit of 30 % and between the two sets of records the differences were not statistically significant. Measurements made with the aid of detection tubes proved to be less accurate. In only 56,5 % of the total number of cases, the differences between the obtained values and the titration test did not exceed the accepted norm of 30 % and the differences between the groups of results proved statistically highly significant. The data obtained by the two orientation methods differentiated from the titration values more significantly in field conditions than in the laboratory. The differences between the values registered by the detection tubes and the titration test are statistically highly significant and only in 30,6 % of the total of cases the tolerance limit (30 %) has not been surpassed. In the overwhelming majority of cases (91,3 %) there were measured superior carbon dioxide concentrations compared with the titration test. The differences between the measurements by the interferometers and the titration test values were statistically not significant and in 54,2 % of the cases the tolerance limit of 30 % has not been exceeded. The use of detection tubes CO₂—type 1 % cannot be recommended for objective evaluations of carbon dioxide concentrations in the air of stables where cattle is housed. This method serves only for making rough estimates in order to investigate whether the CO₂ concentrations are still within the accepted norm or have surpassed the tolerance limit. If by detection tubes there are registered values superior to the norm, we recommend to use, if necessary, one of the more accurate laboratory methods for the two orientation methods described by us, measurements by interferometers proved to be more efficient, offering higher accuracy in results.

carbon dioxide; air in stables; assessment; detection tubes

KUBÍČEK K., LISKOVÁ J., LISKA J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno, Tschechoslowakei). *Die Bestimmung der Konzentration von Kohlenoxid in der Stallluft mittels CO₂—Detektionsröhren Typ 1 %*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 517-525, 1972.

Man überprüfte die Verwendbarkeit von CO₂—Detektionsröhren—Typ 1 % zur Bestimmung der Konzentration von Kohlendioxid in der Stallluft. Gleichzeitig wurde die Kohlendioxid-Konzentration mittels Interferometer gemessen. Die durch diese beiden Orientierungsmethoden erreichten Ergebnisse wurden zu den Ergebnissen der Titrationmethode nach Subbotin-Nagorski, die wir für die genaueste hielten, verglichen. Bei Laborbedingungen gelangten wir zu sehr guten Ergebnissen mittels Interferometer, wo in 85,7 % der Fälle der Unterschied im Vergleich zur Titration geringer als 30 % war; der Unterschied zwischen beiden Gesamtheiten der Resultate war statistisch unsignifikant. Mittels Detektionsröhren gewann man schlechtere Ergebnisse. Nur in 56,5 % der Fälle überstieg der Unterschied im Vergleich zur Titration die zulässige Toleranz von 30 % nicht und der Unterschied zwischen den Gesamtheiten der Ergebnisse war statistisch hoch signifikant. Unter praktischen Bedingungen bestanden zwischen den durch die beiden Orientierungsmethoden und der Titrationmethode ermittelten Ergebnissen größere Unterschiede, als es bei Laborbedingungen der Fall war. Der Unterschied zwischen den mittels Röhren ermittelten Werten und der Titration war statistisch hoch signifikant und überstieg nur in 30,6 % der Fälle die Toleranz von 30 % nicht. In überwiegender Mehrheit der Fälle (in 90,3 %) waren die mittels Röhren gemessenen Konzentrationen höher im Vergleich zu den mittels Titration festgestellten Werten. Der Unterschied zwischen den mit dem Interferometer gewonnenen Konzentrationen und der Titration war statistisch unsignifikant und überstieg in 54,2 % der Fälle die zulässige Grenze

von 30 % nicht. Die CO₂ — Detektionröhren — Typ 1 % können für objektive Ermittlung der Konzentration von Kohlendioxid in der Stallluft nicht empfohlen werden. Man kann diesen in einem nur äußerst annähernden Maße feststellen, ob sich die Kohlendioxidmenge innerhalb der zulässigen Werte bewegt, oder ob diese Werte überschritten werden. Im Falle, wenn mittels der Röhren höhere Werte, als die Normen gestatten, nachgewiesen werden, ist es empfehlenswert, ja nach Bedarf die Konzentration mittels einer der genauen Laboratoriumsmethodiken festzustellen. Von den von uns überprüften Orientierungsmethoden erwies sich die interferometrische Methode als die genauere.

Kohlendioxyd; Stallluft; Ermittlung; Detektionsröhren

Adresa autorů:

MVDr. K. Kubíček, CSc., MVC. J. Lisková, MVC. J. Lisek, Vysoká škola veterinární, Brno, Palackého 1-3

XIITH EUROPEAN CONFERENCE ON ANIMAL BLOOD GROUPS AND BIOCHEMICAL POLYMORPHISM

Vyd. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1972; 628 str.

Evropská asociace pro krevní skupiny a biochemický polymorfismus zvířat pořádá pravidelně každé dva roky vědeckou konferenci, kde jsou uveřejňovány nejnovější poznatky získané ve výzkumu krevních skupin a biochemického polymorfismu tělních tekutin zvířat. XII. konference se konala 6. až 11. července 1970 v Budapešti pod patronací ministerstva zemědělství a výživy MLR, Maďarské akademie věd a Vysoké školy veterinární v Budapešti.

Přednesené práce jsou tématicky uspořádány do následujících skupin: I. Obecné shrnující přednášky všeobecného zájmu a skupina experimentálních prací o krevních skupinách a biochemickém polymorfismu, rozčleněných podle zvířat na kapitoly II. skot, III. prasata, IV. drůbež, V. koně, VI. ovce a kozy, VII. ryby, VIII. experimentální zvířata (hlavě krysy, myši a králíci), IX. ostatní zvířata.

Jak lze očekávat podle hospodářského významu uvedených zvířat, je největší pozornost věnována zejména prvním skupinám, tj. skotu, prasatům a drůbeži. Nelze však nezdůraznit i význam a podstatný příspěvek především čs. autorů v části o experimentálních zvířatech. Výsledky v této oblasti zasahují sice převážně problematiku základního významu, ale představují nutnou experimentální práci, která je nezbytná pro poznání vlastností zejména histokompatibilních antigenů, jejichž význam pro transplantaci orgánů a tkání obecně je zřejmý.

Většina prací má dobrou experimentální úroveň a přináší řadu nových poznatků v imunogenetice krevně skupinových systémů u zvířat, jejich genetických vlastností, frekvenci antigenů v populacích, struktuře určujících genetický loků, charakteristice krevně skupinových loků různých regionálních loků, jakož i složitosti bílkovinných komponent tělních tekutin, jako jsou transferiny, albuminy, isoprecipitiny, beta-lipoproteiny, esterázy, hemoglobin aj. Je příznačné, že řada autorů se stále zabývá otázkou nalezení možného vztahu mezi studovanými antigeny a některými užitkovými znaky, jako je heterózní efekt, fertilita produkce a váha vajec apod. Vysokou úroveň prací potvrzují i jména dobře známých autorů, jako je prof. Stormont, dr. Briles, dr. McDermid, dr. Matoušek, dr. Oosterlee, dr. Gasparski a řada dalších.

Sborník jako celek je souborem především experimentálních prací, i když právě jedna z úvodních přednášek (dr. Robertson) o limitaci výzkumu bílkovinného polymorfismu velmi kriticky hodnotí dosud získané množství informací v tomto oboru a obrátě vyjadřuje svou obavu o další osud zmíněné problematiky. „Je nebezpečí, že pro stromy nebude vidět les“ říká podle přísloví dr. Robertson a doporučuje „obrátit pozornost na les a přestat hledat další a další stromy“.

Přes tuto kritickou připomínku, kterou jsem považoval za nutné v recenzi uvést, lze sborník doporučit jako vysoce hodnotnou publikaci naší odborné veřejnosti, z níž budou čerpat informace nejen specialisté pracující v oboru, nýbrž i řada dalších odborných pracovníků.

Dr. I. Hložánek

IZOLÁCIA A IDENTIFIKÁCIA *VIBRIO COLI* A „BORÉLIÁM PODOBNÝCH ZÁRODKOV“ PRI DYZENTÉRII OŠÍPANÝCH

H. Križanová, M. Beseda, Z. Koppel, M. Halaša, J. Horváth

Ústredný štátny veterinárny ústav, Bratislava

Vysoká škola veterinárska, katedra mikrobiológie, Košice

KRIŽANOVÁ H., BESEDA M., KOPPEL Z., HALAŠA M., HORVÁTH J. *Izolácia a identifikácia Vibrio coli a „boréliám podobných zárodkov“ pri dyzentérii ošipaných* Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 527-538, 1972.

Referuje sa o izolácii *Vibrio coli* a dvoch typov „boréliám podobných zárodkov“ z črevného obsahu ošipaných postihnutých hnačkami. Malý počet izolácií nás neoprávňuje tvrdiť, že ide o dyzentériu vibriového alebo boréliového pôvodu; na druhej strane nemožno vylúčiť možnosť, že tieto zárodky sa môžu za určitých okolností uplatniť ako podmienené parogénne agensy. Podávajú sa výsledky štúdií niektorých biochemických a kultivačne diferenciacných testov izolovaných zárodkov. Ku kultivácii „boréliám podobných zárodkov“ najlepšie vyhovoval agar pripravený z mozgosrdcovej infúzie „Difco“ (Brain-heart infusion agar „Difco“) s 20 % čerstvej defibrínovanej baranej krvi, s korekciou atmosféry CO₂. Zárodky sa pomnožovali aj v kuracích embryách, dali sa i reizolovať; zistili sa aj v priamom mikroskopickom nátere z uhynutých embryí. Podľa našich predbežných štúdií nemožno izolované zárodky ako „boréliám podobné zárodky“ zaradiť medzi niektoré z doteraz známych borélií. Štúdium biologických a biochemických vlastností, ako aj možnosti ich patogenného uplatnenia pri choreni ošipaných pokračuje.

Dysenteria suis; Vibrio coli; „zárodky podobné boréliám“

V posledných rokoch sa v literatúre stále častejšie objavujú pojednania o dyzentérii ošipaných (hemoragickej gastroenteritíde, gastroenterokolitíde, atď.) ako hromadného ochorenia nákazlivého charakteru.

Dyzentériu ošipaných ako prvý v Európe opísal Manning (1944) a usudzoval na vírusový pôvod ochorenia.

Schmid a Klingler (1949) opísali „moru podobné ochorenie“ ošipaných, z ktorých izolovali vibrie, ktoré považovali — v súlade s nálezom Doyleho (1945) — za pôvodcu nákazlivej dyzentérie ošipaných.

Uvedení autori pozorovali u behúňov a starších kusov ochorenie, doprevádzané hlienovitou až krvavou hnačkou. Ochorenie malo subakútny priebeh.

Takéto ochorenie sme v minulosti zisťovali aj u nás a stále sa s nim stretávame. Už v r. 1957 sa na našom ústave z takto klinicky chorých izolovali vibrie, ktoré sa identifikovali ako *Vibrio coli* (Bystrický, Stricker 1957).

Söderlind (1957) izoloval z prasiat 44 kmeňov *Vibrio coli*. Päť z týchto kmeňov pochádzalo z kusov klinicky chorých a 39 z kusov bez príznakov ochorenia. Pri sérologickej typizácii s dvomi rôznymi antisérmi sa kmene zaradili do dvoch sérologických skupín. Komplement fixačná reakcia bola pozitívna u 28 kmeňov.

Warner (1965) vyvolal experimentálne toto ochorenie suspenziou črevnej steny aplikovanou perorálne, ale vyvolal ochorenie aj vibriovou kultúrou izolovanou a pasážovanou na kuracích embryách. Nevyvolal však dyzentériu u pokusných zvierat po aplikácii kultúry pestovanej na umelých živných pôdach. Kmene sa nedali navzájom odlišiť na základe biochemických reakcií. Sérologické reakcie poukazovali na antigénnu rozdielnosť väčšiny kmeňov.

Manninger a Csontos (1965) považujú za pôvodcu nekrotických zmien v čreve pri dyzentérii prasiat *Clostridium perfringens* typu C, pričom pripúšťajú, že základným pôvodcom môže byť vírus.

Kielstein, Linke, Günther (1971), hoci sa im vírus (PICORNA virus) podarilo vyizolovať, nedokázali týmto vírusom vyvolať typické ochorenie. Títo autori izolovali *Vibrio coli* z chorých ošipaných v 65 %, zo zdravých v 49 % prípadov. Biochemicky rozoznávajú dva typy *Vibrio coli* podľa tvorby H_2S , ale nimi vyvolané ochorenie nenásvedčovalo pre známy obraz dyzentérie.

Bugeac (1967) opísal priebeh dyzentérie u piatich kusov ošipaných vo váhovej kategórii 16–60 kg. Klinicky sa u nich pozorovala mukohemoragická diareja, neskoršie dehydrácia organizmu.

Terpstra, Akkermans a Ouverkerk (1968) s materiálom, pochádzajúcim z chorých kusov, vyvolali po 7 až 21dňovej inkubačnej dobe u pokusných zvierat typický obraz choroby. Autori svoje vyšetrenia doplnili vyšetrením 50 zdravých ošipaných pomocou techniky fluorescentných protilátok a iba v jednom prípade zistili v rezoch tieto mikroorganizmy. Aj pri pokuse s materiálom z autopsií ošipaných sa dokázala v niekoľkých prípadoch prítomnosť horeuvedených mikroorganizmov.

Kashiovasaki, Namioaka, Yabaki (1971) perorálne podávali *Vibrio coli* šiestim gnotobiotickým prasatám starým tri týždne. Za 14 dní zistili veľké množstvo *Vibrio coli* v hrubom čreve, ojedinele v žalúdku a v tenkom čreve; ostatné orgány boli bez vibrií. Prasatá nejavili príznaky dyzentérie. Pri sérofluorescencii sa zistilo veľké množstvo *Vibrio coli* v lumene kolónu a céka. Sérologicky sa zistila za 14 až 21 dní nízka, alebo žiadna protilátková hladina proti *Vibrio coli*.

Fluorescenciou sa zisťujú vibrie v mukózných membránach po zápalových procesoch; autori usudzujú, že tu hrajú rolu nejaké faktory, poškodzujúce epitel.

V poslednom čase niektorí autori upozorňujú na prítomnosť „boréliám podobných zárodokov“ (Borrelia like organisms) v sliznici hrubého čрева a vo fečes ošipaných trpiacich dyzentériou.

Vallejo (1969) zdôrazňuje nález veľkého množstva typicky ohnutých, pohyblivých zárodokov u ošipaných s klinickými príznakmi dyzentérie, a to v črevnom obsahu a v črevnom hliene. Pohyb flexiou podporuje názor, že uvedené zárodoky postrádajú flagely. Autor predpokladá, že tieto zárodoky majú súvis s klinickými príznakmi, keďže tieto komenzály sú schopné veľmi rýchlo sa pomnožovať v zmenených podmienkach čрева a môžu sa stať primárne patogénnymi.

Todd a Hunter (1970) zistili „boréliám podobné zárodoky“ ako predchádzajúci autori; tieto sice neboli v čistej populácii a posúdili ich len podľa ich morfológických vlastností. V histologických preparátoch našli tieto zárodoky v normálnej i zmenenej sliznici.

Roberts a Simmons (1970) našli obdobné zárodoky u ošipaných z ohnisk, kde sa diagnostikovala dyzentéria.

Espinase a Redon (1970) tiež pozorovali u ošipaných postihnutých hemoragickou rektokolitídou zárodoky podobné boréliám. Boli prítomné

v nestálom množstve a mali typickú morfológiu i pohyb. Pohyb. bol dobre viditeľný vo fázovom kontraste. Podľa týchto autorov hrajú tieto zárodky dôležitú úlohu pri vzniku dyzentérie ošipaných.

Šenikov (1958) dyzentériu síce považuje za infekčné enzootické ochorenie, avšak s nevyjasnenou etiologiou. Ako etiologický faktor považuje aj *Balantidium coli*.

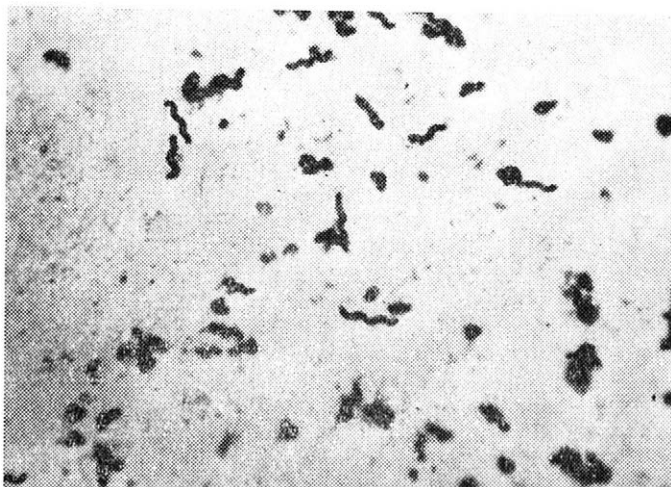
Andreev (1948) pri vyšetrovaní ciciakov a odstavčiat postihnutých nekrotickou dyzentériou izoloval: *Salmonella cholerae suis*, *Proteus vulgaris*, zárodky zo skupiny *Coli-aerogenes*, enterokoky, *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *B. necrophorus*, spirochety a vibrie. U chorých i zdravých zistil aj *Balantidium coli*. Podľa autora je primárnym agensom vírus a zárodky majú len úlohu sekundárneho patogénneho činiteľa. Najvnímavejšie sú 6 až 7 mesačné kusy. Na priebeh nákazy vplýva výživa, zoohygienické pomery v chove a pod. Podobného názoru je aj Cotterau (1971).

Aj 49. zasadanie OIE v Paríži 1971 pripúšťa viacero možných vyvolávateľov dyzentérie ošipaných.

MATERIÁL A METÓDY

Už viac rokov pozorujeme hromadné ochorenie, prevážne vykrmovaných ošipaných rôznych váhových kategórií, doprevádzané striedavo nežravosťou, smädom, vždy hnačkou s riedkym trusom, sfarbeným do siva, kávova až hnedá, premiešaným hlienom a niekedy krvou, odlúpeným epitelom sliznice, nepríjemného zápachu. Teplota iba mierne zvýšená. Ošipané chudnú, ale hynutie neprevyšuje 5 až 10 %. Choroba má chronický priebeh s postupným ochorením ďalších kusov. Zisťujú sa recidívy a zastávanie rastu aj po vyliečení.

Patologicko-anatomicky sa zisťuje hematologická difteroidná gastroenteritída, s prevahou kolitídy alebo tyflokolitídy. Patologicko-anatomický obraz je dosť variabilný. Stena hrubého čreva zhrubnutá, infiltrovaná, s krvavo husepinovitým exsudátom, miestami s tmavofialovým sfarbením. Trus riedky, so stopami krvi a časťami epitelu sliznice, pričom sliznica býva škvrnitá až difúzne



1. „Boréliám podobné zárodky“
Preparát z kultúry —
zväčšené 900X

hemoragicky zapálena, miestami s otrubovite roztrúsenými fibrínovými vločkami a s povrchovou nekrózou epitelu.

Bežnou kultiváciou z takto zmeneného čreva sa izolovali zvyčajne iba zárodoky *E. coli*. Natívny preparát zhotovený z črevného obsahu však okrem dlhých tyčinek vykazoval aj zárodoky, ktoré svojim pohybom a tvarom pripomínali vibrie a niekedy väčšie mikroorganizmy, ktoré svojim vzhľadom a pohybom pripomínali „boréliam podobné organizmy“ (obr. 1).

Z tohoto dôvodu sme bežnú kultiváciu doplnili tiež kultiváciou v mikroaerofilnom prostredí.

Izolácia vibrií sa nám darila, ale k izolácii boréliam podobných zárodkov se ukázal krvný agar, ktorý sa používa pri kultivácii vibrií, ako nevhodný. Modifikované média podľa Todd a Huntera (1970) sme si pre nedostatok ingrediencií nemohli pripraviť. Po mnohých pokusoch sme vypracovali vlastnú metodiku.

METODIKA, IZOLÁCIA, IDENTIFIKÁCIA

V každom prípade sa napred zhotovil natívny preparát zo zoškrabu sliznice, riedený mäsopeptonovým bujónom o pH 7,2. Preparát sa pozoroval vo fázovom kontraste „lumipanu“ pri zväčšení $10 \times 40 \times 1,5$. V preparáte sa pozoroval okrem tyčinkovitých mikrobov a mikroorganizmov vibriového pohybu a tvaru aj onen „hadovitý, boréliam podobný“ pohyb a tvar.

Inokulácia sa robila nasledovne: zoškrab črevnej sliznice sa inokuloval priamo na agar z mozgosrdcovej infúzie (Brain-heart infusion agar Difco),

I. Výsledky predbežného štúdia niekoľkých kmeňov *Vibrio coli*

Použité médium	Vyhodnotenie rastu na použitom médiu	Reakcia
Brain-heart inf. agar Difco s 20 % defibr. baranej krvi s CO ₂	+++	
Krvný agar (Difco) s 20 % defibr. baranej krvi s CO ₂	+++	
Albimi agar (Difco) s CO ₂	+++	
Krvný agar aerobne	—	
Thioglykolátový bujón „Sevac“ agar č. 3 Oxoid, 20 % krvi s CO ₂	+++	
Thioglykolátový bujón s 1 % KNO ₂	+	+
Kazein — hydrolýza	+	+
Žltková reakcia	+	+
Fosfatáza	+	+
Kataláza s 3 % H ₂ O ₂ na skielku		+
Cytochromoxidáza		+

potom sa črevný obsah a zoškrab premiešal s mäsopeptonovým bujonom o pH 7,2 v pomere 1 : 20 a centrifugoval sa pri 4000/min po dobu 20 minút. Supernatant sa inokuloval priamo na uvedený agar (Brain-heart infusion agar Difco) a na krvný agar (Blood agar base č. 2 Oxoid, neskôr Blood agar base č. 2 Difco) s prídavkom 20 % defibrinovanej baranej krvi v korelácii atmosféry s CO₂ pri 37 °C.

Na pôdach vyrastali za 48 hod drobné našedlé kolónie a v natívnom preparáte, zhotovenom z týchto kolónií, sa javil čulý vibriový pohyb. Po niekoľkých dňoch kolónie vibrií tvorili žltavý pigment a v natívnom preparáte z nich pripravenom sa zistil už granulárny rozpad vibrií, ktorý sa nikdy nepozoruje u vibrií izolovaných z hovädzieho dobytku.

Vibrie veľmi dobre rástli aj na Albimi agar „Difco“, TKG-agare, pripravenom z TKG sušeného bujónu „Sevac“, ktorý sa pripravoval ako pevné médium s 2 % agaru č. 3 Oxoid, s prídavkom 10 % defibrinovanej králičej krvi a na agare z mozgo-srdcovej infúzie (Brain-heart infusion agar Difco).

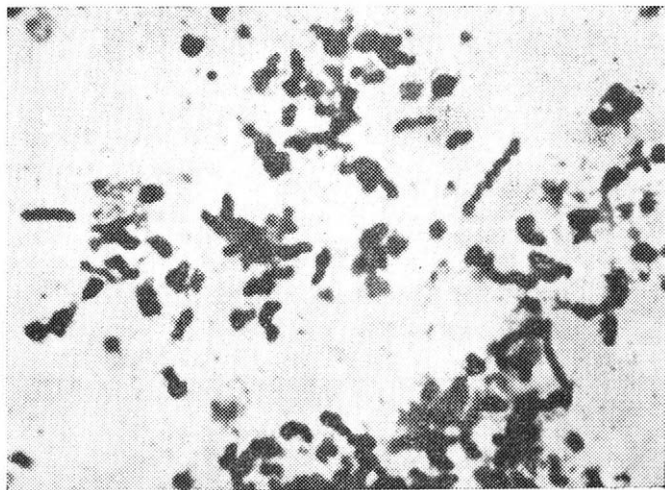
Ku kultivácii a k údržbe kmeňov sme však volili základ pre krvný agar č. 2 (Blood agar base č. 2 Difco) s prídavkom 20 % defibrinovanej baranej krvi. Izolované kmene javili rastové a biochemické vlastnosti, ktoré udáva tab. I.

Na médiach pripravených z mozgosrdcovej infúzie (Brain-heart infusion agar Difco) sa do 2 až 3 dní objavili okrem kolónií bežnej flóry a vibrií aj sivasté povlaky s fialovým nádychom (toto zafarbenie sa v ďalšej subkultivácii strácalo) o priemere cca 3 až 4 mm. V natívnom preparáte zhotovenom z týchto kolónií sa našli boréliám podobné mikoorganizmy, ktoré na 20 % krvnom agare (Blood base č. 2 Oxoid) nevyrástli.

Z podozrivých kolónií sa urobila subkultivácia, ktorá bola na začiatku obtiažna (pokým sa nezistilo, že tieto zárodoky si vyžadujú vždy čerstvo pripravované pôdy). Po obdržaní „čistej kultúry“ sa potom urobila predbežná a neskôr podrobnejšia štúdia izolovaného kmeňa.

Naše skúsenosti ukazujú, že boréliám podobné zárodoky možno izolovať najlepšie vtedy, ak médium sa pripraví tesne pred inokuláciou, ak sa toto používa nevysušené a ak sa k inokulácii použije čerstvý materiál. Vtedy sa boréliám podobné zárodoky tiež omnoho lepšie rozrastajú a vytvárajú súvislé povlaky (kolónie splývajú). Aj v natívnom preparáte z kultúry sa zisťovali čulo pohyblivé zárodoky. Na médiach starších ako 24 hodiny (uložených v chladničke) budú

2. „Boréliám podobné zárodoky“ — kokovité útvary
Preparát zo staršej kultúry - zväčšené 900X



tieto zárodoky nerástli, alebo rástli v oveľa slabších porastoch, v uzatvorených kolóniách, mali sníženú pohyblivosť a aj rekultivácia bola obtiažnejšia.

Rast zárodkov si vyžadoval zvýšenú tenziu CO_2 v atmosfére. Asi po 4 až 5dňovej inkubácii pri 37°C sa zárodoky rozpadali na veľké, kokovité útvary, podobne ako *Vibrio coli*. Kokovité útvary však boli pomerne veľké a neskúseného by viedli k domienke, že ide o veľké koky (obr. 2). Z takýchto starších kultúr bola vždy subkultivácia sťažaná, alebo tieto zárodoky stratili životaschopnosť a nevyrastali. Niekedy sa v natívnom preparáte pozorovali zárodoky značne zhrubnuté a vznikla pochybnosť, či ide o tie isté mikroorganizmy. Niekedy pripomínali svojim vzhľadom až hruškovité, pohyblivé útvary.

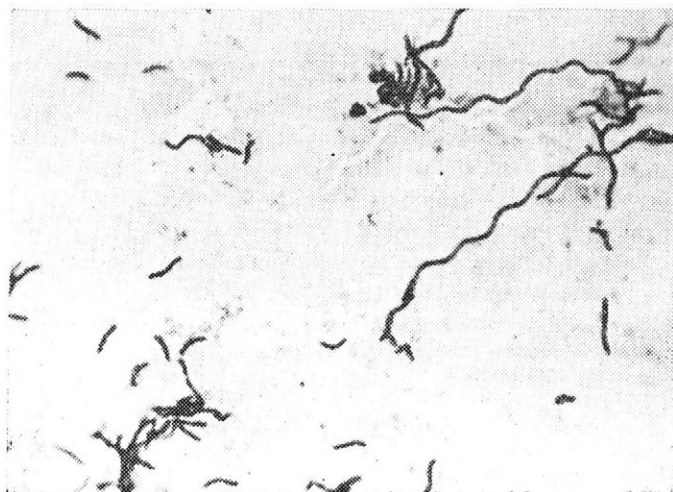
Získaná kultúra sa testovala (vhodnosť média, porast) takto: Pevné média vždy v korekcii atmosféry s CO_2 buď s prídavkom 20 % čerstvej defibrinovanej baranej krvi, alebo bez krvi. Išlo o zárodoky vyžadujúce krv. Získané výsledky sa uvádzajú v tab. II.

Zárodoky sa pomnožovali aj v kuracích embryách; k inokulácii sa použila kultúra z mozgosrdcového agaru, suspendovaná v mäsopeptónovom bujone.

II. Výsledky predbežného štúdia kmeňa „boréliám podobné zárodoky“

Použité médium	Vyhodnotenie rastu na použitom médiu	Reakcia
Brain-heart inf. agar Difco s 20 % defibr. baranej krvi	+++	
Brain-heart inf. agar 20 % defibr. baranej krvi, šikmý, zaliaty Brain hearth inf. a paraf. olejom	+++	
Brain-heart inf. Difco s Ionagar č. 2. Oxoid, 20 % defibr. baranej krvi	+++	
Krvný agar (Difco) 20 % defibr. baranej krvi	+	
Krvný agar aerobne	—	
Albimi agar Difco	+	
Kazeín — hydrolýza	+++	negat.
Želatína — hydrolýza	+++	negat.
Škrob — hydrolýza	++	negat.
Žltková reakcia	++	negat.
Thioglykolátový bujon „Sevac“	nepomnožuje sa	
Fosfatáza	++	pozit.
Kataláza s 3 % H_2O_2 na skielku		negat.
Cytochromoxidáza		±

3. Zárodky javiace sa
ako „pravé borélie“
Preparát z kultúry —
zväčšené 900×



Z 31 inokulácií do žltkového vaku z alantoisovej dutiny sa mikroskopicky zistili u troch kusov a reizolácia sa podarila u štyroch kusov.

Okrem *Vibrio coli* a „boréliam podobných zárodkov“ sa vo fázovom kontraste zistoval občas aj ďalší typ zárodkov, morfológicky a biochemicky odlišný (rozdielna kataláza, diastáza), ktoré pripomínali skôr pravé borélie (obr. 3). Zárodky tohoto typu vyžadovali pre rast tiež korekciu atmosféry, avšak neboli až tak náročné na množstvo pridanej krvi, čo sa dedukovalo z toho, že pomerne veľmi dobre rástli na Albimi agare Difco. Výsledky sledovania tohoto kmeňa sa uvádzajú v tab. III

Pre ďalšiu identifikáciu a typizáciu všetkých izolovaných zárodkov: vibrií, boréliam podobných zárodkov, ako aj zárodkov, ktoré sa javili ako pravé borélie, sa použili tieto média a testy:

Tioglykolátová sušená pôda „Sevac“, doplnená jednotlivými ingredienciami: glukóza, NaCl, KNO₃, alebo ako pevná pôda s 2 % agaru č. 3 Oxoid.

Médium k vyhodnoteniu žltkovej reakcie: vaječný žltok sa roztrepe v 90,0 ml fyziologického roztoku. K 100,0 ml agaru sa pridá v množstve 1–2 %. Kultúra sa očkuje čiarou a pozitívna reakcia sa hodnotí zónou zakalenia pôdy s úzkym pásom lýzy okolo očkovacej čiary.

K vyhodnoteniu hydrolýzy škrobu sa použila pôda tohoto zloženia: 2% agarová báza 100,0 ml, *amylum solubile* 0,2 g.

Po 10 minútach sterilizácie v autokláve pri 115 °C sa pôda rozplnila do Petriho misiek. Naočkovaná kultúra (do polovice platne) sa po 7 dňoch inkubácie pri 37 °C zotrela vatovým tampónom a živná pôda sa preliala Lugolovým roztokom.

Test hydrolýzy želatíny sa robil podľa Clarka: K deviatim dielom mäsopeptónového agaru sa pridal jeden diel želatíny a vylieval sa na platňu. Kultúra sa po 7 dňoch inkubácie zotrela vatovým tampónom a prelievala sa Clarkovým roztokom: (HgCl₂ — 15,0 ml, *Aqua dest.* — 100,0 ml, HCl conc. — 20,0 ml).

Médium pre dôkaz kazeín-hydrolýzy sa pripravovalo podľa Habs-Seeliger (peptón — bujón — agar 1000,0 ml a kazeín [Merck] 10,0 g). Za občasného premiešania sa sterilizovalo v Kochovom hrnci (20 min

III. Výsledky predbežného štúdia kmeňa javiaceho sa ako pravé borélie

Použité médium	Vyhodnotenie rastu na použitom médiu	Reakcia
Brain-heart inf. agar Difco s 20 % defibr. baranej krvi	+++	
Brain-heart inf. agar s 20 % defibr. baranej krvi, šikmý, zaliaty Brain-heart inf. a paraf. olej	+++	
Krvný agar (Difco) 20 % defibr. baranej krvi	+	
Krvný agar aerobne	—	
Albimi agar Difco	+++	
Kazeín — hydrolýza	+++	negat.
Želatína — hydrolýza	+++	negat.
Škrob — hydrolýza	+++	pozit.
Žltková reakcia	+++	negat.
Thioglykolátový bujón „Sevac“	+++	
Thioglykolátový bujón s 1 % NaCl	nepomnožuje sa	
Thioglykolátový bujón s 8 % glukózy	nepomnožuje sa	
Glukóza (v thioglyk. bujóne)	pomnožuje sa	bez zmeny
Fosfatáza	nehodnotila sa	
Kataláza s 3 % H ₂ O ₂ na skielku		pozit.
Cytochromoxidáza		negat.

až do rozpustenia pri 1,1 atm) a vylievalo sa na platne. Vyšetrované kmene sa očkovali do izolovaných kolónií. Po 7dňovej inkubácii sa kultúra zotrela vato-vým tampónom a preliala sa nasýtením roztokom Na₂SO₄ v 1 N — N₂SO₄. Svet-lejšia zóna pod očkovacou čiarou, resp. pod narastenými kolóniami je dôkazom vzniklej kazeín-hydrolýzy (miesto kazeín „Merck“ sa však použil kazeín „Difco“).

Médium k vyhodnoteniu lipázy: Agarová báza s 1 % finál-nou koncentráciou tween 80. Kultúra sa inokulovala čiarou a inkubovala 7 dní.

Korekcia atmosféry sa robila pridaním tuhého CO₂: na obrátenú Petriho misku o priemere 75 mm sa dal tuhý CO₂ vo veľkosti lieskového orecha. Mera-nie tenzie atmosféry nebolo k tomuto účelu potrebné; stačilo iba tenziu takto skorigovať. Miska sa potom uzatvorila parafínovou vrstvou, ktorá znemožnila unikanie CO₂.

Test cytochromoxidázy sa robil podľa metodiky uvedenej Caselitom: 1% vodný roztok dimethyl-p-phenylendiaminhydrochlorid (Merck) sa zmiešal s 1% alkoholickým roztokom alfa naftolu v pomere 3 : 2. Týmto roztokom sa preliali 48hodinové kultúry, ktoré vyrástli na Albimi agare Difco. Reakcia však bola nehodnotiteľná, nakoľko už samotný Albimi agar Difco, preliaty uvedeným roztokom, javil modrasté zafarbenie. Preto sa použila modifikácia Lázničkovej: na filtračný papier, ktorý sa nasýtil týmto roztokom, sa naniesla bakteriologickou kľučkou kultúra z mozgosrdcového agaru. Ako pozitívna kontrola sa použil *Aeromonas shigelloides*.

K testu oxidázy sa 1% vodný roztok dimethyl-p-phenylendiaminhydrochlorid zamiešal v rovnakom pomere s 96% alkoholom.

K príprave pevných médií však bolo treba vždy použiť kvalitnú agarovú bázu, najlepšie firmy Difco, doplnenú potrebnými ingredienciami. Agary dodávané našimi výrobcami nám nedávali hodnotiteľné výsledky a mnohorozy na týchto médiach nevyrastali, čo viedlo zo začiatku k mýlnym uzáverom pri odčítaní.

DISKUSIA

Prácou sa dáva podnet k diskusii o úlohe *Vibrio coli*, prípadne „boréliam podobných zárodkov“ pri dyzentérii ošipaných.

Naše izolácie pochádzali z kusov (z hrubého čreva, v niektorých prípadoch aj zo žlče), ktoré boli klinicky choré, s patologicko-anatomickým obrazom, ako ho opisuje celý rad autorov (Schmid a Klingler 1949, Bugeac 1967, Terpstra a kol. 1968 a iní), ale aj z kusov, kde patologicko-anatomický obraz nebol tak charakteristický.

Mészáros a Szent — Iványi (1960) tvrdia, že v Maďarsku nie je vyvolávateľom dyzentérie *Vibrio coli*.

Z dyzenterických ošipaných sme však izolovali aj „boréliam podobné zárodky“ a máme za to, že sú tie isté, ako ich opísali autori Vallejo 1969, Todd a Hunter 1970; Roberts a Simons 1970; Espinase a Redon 1970. Nie všetci opísali izolačnú techniku, väčšinou sa nepodarilo zárodky izolovať, opierali sa len o nálezy z nativných preparátov a pri impregnačnej histologickej technike.

Tieto zárodky sme zisťovali v črevnom obsahu, ako aj v zoškrabe z črevnej sliznice v dvoch morfológických typoch. Mali charakteristický „hadovitý“ pohyb a boli veľmi náročné na kultivačné média. Kultivácia vyžadovala vždy čerstvo pripravené médium, agar z mozgosrdcovej infúzie (Brain-heart infusion agar Difco) s 20% čerstvej defibrínovanej baranej krvi v korekcii atmosféry s CO₂. Jeden typ morfológicky a kultivačne odpovedal „boréliam podobným zárodkom“, ako ho opísali uvedení autori, druhý sa javil ako pravé borélie, oba kmene sa navzájom líšili v tvorbe katalázy, hydrolýzy škrobu. V štúdiu týchto sa pokračuje.

K predbežnému štúdiu sa vybrali tri kmene (dva kmene „boréliam podobné zárodky“ a jeden kmeň javiaci sa skôr ako pravé borélie.)

Keďže ani v Bergeyovi ani v inej dostupnej literatúre nie je opis ich biochemických a kultivačných vlastností a chovanie sa k určitým diferenčným testom, urobila sa s uvedenými kmeňmi opísaná štúdia.

Literatúra

- ANDREEV P. N., 1948, Infekcionnyje bolezni svinej. Ogiz-Selchozgis, Moskva, 11 : 291-333.
- BUGEAC T., 1967, Observatii asupra unui focar de dizenteria porcului cu *Vibrio coli*. Revista de zootehnie si medicina veterinara.
- BYSTRICKÝ V., STRICKER F., 1957, *Vibrio coli*. Morfológia a tvorba granulárnych útvarov. Veterinársky časopis SAV VI : 29-34.
- COTTERAU P., 1971, Traitement du syndrome entérique hemorrhagique du porc par le dimetridazole. Rev. Met. vet. CXXII : 361.
- COWAN S. T., STEEL K. J., 1966, Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge University Press.
- ESPINASE J., REDON P., 1970, The Control of Swine Dysentery. Vet. Rec. 86, 1 : 24.
- KASHIOVASAKI M., NAMIOKA S., YABAKI T., 1971, Gnotobiotic Pigs exposed to *Vibrio coli*. Natn. Inst. Anim. Hlth Q., Tokyo, 3 : 145-150.
- KIELSTEIN P., LINKE D., GÜNTHER H., 1971, Untersuchungen zur Ätiologie und Epizootologie der Schweinedysenterie. Mh. VetMed. 2 : 55-64.
- MANNINGER R., MÉSZAROS J., IVÁNYI T., 1960, Father Investigations on the Aetiology of inf. Gastro-Enteritis of Pigs. Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 1 : 83-93.
- ROBERTS R. M., SIMMONS J. R., 1970, An Agent Possibly Associated with Swine Dysentery. Vet. Rec. 86, 1 : 22.
- SCHMID G., KLINGLER K., 1949, Über die Schweine-Dysenterie. Schweizer Arch. Tierheilk. XCI, 4 : 232-237.
- SÖDERLIND O., 1965, The Isolation of *Vibrio coli* from pigs. Vet. Rec. 77, 7 : 193-196.
- ŠENIKOV S. T., 1958, Bolezni svinej. Selchozgis : 264-278.
- TERPSTRA J. I., AKKERMANS J. P. W. M., OUVERKERK H., 1968, Investigations into the etiology of vibronic dysentery (Doyle) in pigs. Neth. J. vet. Sci. 1, 1 : 5-14.
- TODD J. N., HUNTER D., 1970, An Agent Possibly with Swine Dysentery. Vet. Rec. 86, 3 : 228.
- VALLEJO M. T., 1969, Spirochetelas Microorganisms : An agent possibly associated with Swine Dysentery. Vet. Rec. 85, 20 : 562-563.
- WARNER D., 1965, Studies on the pathogenesis *V. coli* Infection in Swine. Health Sciences.
- , 1957, Bergey's Manuale of Determinative Bacteriology, Baltimore.

Došlo dne 6. 4. 1972

КРИЖАНОВА Г., БЕСЕДА М., КОППЕЛ З., ГАЛАША М., ХОРВАТ Й. (Центральный государственный ветеринарный институт, кафедра микробиологии, Кошице). Изоляция и идентификация *Vibrio coli* и «подобных борелиям зародышей» при дизентерии свиней. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 527-538, 1972.

Докладывается об изоляции *Vibrio coli* и двух типов «подобных борелиям зародышей» из кишечного содержания свиней, страдающих поносом. Малое количество изоляций не позволяет нам утверждать, что вопрос касается дизентерии вибриозного или борелиозного происхождения; с другой стороны, не исключена возможность, что в определенных условиях эти зародыши могут себя проявить как условно патогенные реагенты. Приводятся данные исследования некоторых биохимических и культивационно-дифференциальных тестов изолированных зародышей. Для культивирования «подобных борелиям зародышей» лучше всего подходит агар из мозговосердечной инфузии «Дифко» (Brain heart infusion agar „Difco“) с 20% свежей дефибриновой бараней крови, с коррекцией атмосферы CO₂. Зародыши размножались также в куриных эмбрионах; их можно было вновь изолировать и обнаружить даже в непосредственном микроскопическом мазке из погибших эмбрионов. Согласно нашим предварительным данным, эти зародыши в качестве «подобных борелиям» нельзя отнести к каким бы то ни было известным до сих пор борелиям. Исследования биологических и биохимических свойств, а также возможности их патогенного использования при заболеваниях свиней продолжаются.

Dysentaria suis; Vibrio coli; подобные борелиям зародыши

KRIŽANOVÁ H., BESEDA M., KOPPEL Z., HALAŠA M., HORVÁTH J. (Central State Veterinary Institute, Bratislava, University School of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Košice, Czechoslovakia). *The Isolation and Identification of Vibrio coli and „Borrelia like Organisms“ in Pig Dysentery*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 527-538, 1972.

The isolation of *Vibrio coli* and two types of „Borrelia like organisms“ from the content of the intestines of pigs affected by diarrhoea is reported by the paper. The small number of isolations does not justify the assertion of the view that the dysentery is of borrelia or virus origin; on the other hand it cannot be excluded that under some conditions these germs can play the role of conditioned pathogenic agents. The paper presents the results of the study of some biochemical and cultivation tests for the differentiation of the isolated germs. The agar prepared from the brain-heart infusion agar „Difco“, with 20 % fresh defibrated ram blood and with corrected CO₂ atmosphere, was the best medium for the cultivation of the „Borrelia like organisms“. The germs were multiplied also in chick embryos; they could also be re-isolated. They were found even in the direct microscopic smear from the dead embryos. As indicated by the results of our preliminary study the isolated „Borrelia like organisms“ cannot be classified as belonging to any of the borrelia known so far. The studies of the biological and biochemical properties and the possibilities of their pathogenic effect in pig diseases are being carried on.

Dysentery suis; Vibrio coli; Borrelia like organisms

KRIŽANOVÁ H., BESEDA M., KOPPEL Z., HALAŠA M., HORVÁTH J. (Zentrales staatliches Veterinärinstitut, Bratislava, Hochschule für Veterinärmedizin, Lehrstuhl für Mikrobiologie, Košice, Tschechoslowakei). *Isolierung und Identifikation von Vibrio coli und „Borrelia-ähnlicher Keime“ bei Schweine-Dysenterie*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 527-538, 1972.

Es wird über eine Isolierung von *Vibrio coli* und zweier Typen „Borrelia-ähnlicher Keime“ berichtet, welche aus dem Darminhalt von mit Durchfall betroffenen Schweinen gewonnen wurden. Die geringe Anzahl der Isolierungen berechtigt keineswegs zur Behauptung, daß es sich um eine durch *Vibrio* oder *Borrelia* verursachte Dysenterie handelt; andererseits ist jedoch die Möglichkeit, daß sich diese Keime unter bestimmten Umständen als bedingt wirkende Pathogenfaktoren betätigen können, nicht zu eliminieren. Es werden Resultate einiger biochemischer und kultivations-differenzierender Tests der isolierten Keime erörtert. Bei der Kultivierung der „Borrelia-ähnlichen Keime“ bewährte sich am besten der mittels Hirn-Herz-Infusion bereitete Agar „Difco“ (Brain-heart infusion agar „Difco“) mit 20 % frischem defibrierten Schafbockblut und mit Korrektur der CO₂-Atmosphäre. Die Keime vermehrten sich auch in Kükenembryen, ließen sich gleichfalls reisolieren; auch im direkten mikroskopischen Ausstrich aus eingegangenen Embryonen waren sie festzustellen. Nach unseren Präliminärstudien ist es kaum möglich die isolierten Keime als „Borrelia-ähnliche Keime“ unter die bisher bekannten Borrelien einzureihen. Das Studium der biologischen und biochemischen Beschaffenheiten, sowie der Möglichkeit ihrer Beteiligung als Erreger von Schweinekrankheiten, wird fortgesetzt.

Dysentery suis; Vibrio coli; Borrelia-ähnliche Keime

KRIŽANOVÁ H., BESEDA M., KOPPEL Z., HALAŠA M., HORVÁTH J. (Institut vétérinaire central d'Etat, Bratislava, Haute école vétérinaire, chaire de microbiologie, Košice, Tchécoslovaquie). *Isolation et identification de Vibrio coli et „de germes ressemblant aux borrelies“ en cas de dysenterie porcine*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 527-538, 1972.

On présente le rapport sur l'isolation de *Vibrio coli* et de deux types de «germes ressemblant aux borrelies» („Borrelia like organisms“), à partir du contenu intestinal des porcs atteints de diarrhées. Le nombre insignifiant d'isolations ne nous donne pas le droit d'affirmer qu'il s'agit de dysenterie dont l'auteurs sont les vibrions ou les borrelies; d'autre part, il n'est pas possible d'éliminer la possibilité que les germes en question peuvent, dans des circonstances déterminées, se faire valoir comme agents conditionnellement pathogènes. On signale les résultats de l'étude portant sur certains tests biochimiques et différenciés par la culture, des germes

isolés. C'est l'agar préparé à partir de l'infusion cérébro-cardiaque «Difco» (Brain-heart infusion agar «Difco»), contenant 20 p. 100 de sang frais de bœuf défibré, et dont l'atmosphère de CO₂ a été rectifiée, qui convenait le mieux à la culture des «germes ressemblants aux borrelies». Les germes se multipliaient également dans les embryons de poulets et on pouvait même les réisoler; on les a même identifiés dans le frottis microscopique direct, prélevé sur les embryons périss. D'après nos études préalables on ne peut pas incorporer les germes isolés comme «germes ressemblant aux borrelies» dans aucune catégorie de borrelies actuellement connues. L'étude de leurs propriétés biologiques et biochimiques, aussi bien que celle des possibilités de leur utilisation pathogène pour les infections porcines, continue à être poursuivie.

Dysenteria suis; *Vibrio coli*; «germes ressemblant aux borrelies»

Adresy autorů:

MVDr. H. Križanová, MVDr. M. Beseda, MVDr. M. Halaša, CSc., MVDr. J. Horváth, Ústr. štát. veter. ústav, Bratislava, doc. MVDr. Z. Koppel, CSc., Vysoká škola veterinárska, Košice

MOŽNOSTI SDRUŽENÉ VAKCINACE NORKŮ PROTI AUJESZKÉHO CHOROBĚ, PSINCE A BOTULISMU

J. Konrád, J. Mouka, R. Dvořák, J. Hanák

Vysoká škola veterinární, I. interní klinika, Brno
Referenční centrum pro masožravá a kožešinová zvířata
SVS OP Kara — rozvoj chovů kožešinových zvířat
ÚSKVBL Ivanovice na Hané

KONRÁD J., MOUKA J., DVOŘÁK R., HANÁK J. Možnosti sdružené vakcinace norků proti Aujeszského chorobě, psince a botulismu. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 539-544, 1972.

V pokuse na 60 norcích se zjišťovala klinická snášenlivost a účinnost kombinovaného očkování současně proti Aujeszského chorobě, psince a botulismu. Bylo použito komerčně vyráběné živé avirulentní lyofilizované vakcíny proti psince a anatoxinu *Cl. botulinum* typu C, vázaného na gel hydroxidu hlinitého. Imunitní odpověď zvířat byla vyhodnocována samostatně u simultánně a sdruženě vakcinovaných norků. Cílem pokusu bylo vyvinout novou metodu vakcinace proti všem třem infekčním chorobám současně. Navržené ochranné očkování spočívá v možnosti jediné inokulace lyofilizovaných vakcín proti Aujeszského chorobě a psince, rehydratovaných ve vakcíně proti botulismu, mláďatům ve stáří 10 až 12 týdnů a revakcinaci proti Aujeszského chorobě a botulismu za čtyři až šest týdnů.

kožešinová zvířata; norek; Aujeszského choroba; psinka; botulismus; sdružená vakcinace; titry protilátek; infekční choroby

Mezi nejčastější infekční onemocnění kožešinových zvířat, zejména norků, patří Aujeszského choroba (ACH), psinka (FCC) a botulismus.

V posledních letech došlo u nás k zakládání většího počtu nových farem kožešinových zvířat, ve kterých je neustále nebezpečí, že vzplane některá z těchto nákaz, jak o tom referujeme v jiné práci (Konrád a kol. 1971). Onemocnění norků psinkou bylo zaznamenáno v posledních letech na několika velkých farmách i u drobných chovatelů. Jen na botulismus uhynulo na farmách během několika dnů přes 2000 norků.

Problémem vakcinace kožešinových zvířat u nás se zabýval Žuffa, Banda, Konrád a Žák (1969, 1970) a vyvinuli sdružené očkování proti Aujeszského chorobě a botulismu, které se již několik roků pro imunizaci kožešinových zvířat s úspěchem používá. Jedná se o sdruženou vakcínu s použitím komerčně vyráběné živé lyofilizované vakcíny proti Aujeszského chorobě a inaktivované vakcíny proti botulismu s obsahem anatoxinu typu C, adsorbovaného na hydroxid hlinitý. Neškodnost a účinnost tohoto imunizačního postupu proti ACH a botulismu byla v praxi prověřena.

Organizaci ochranného očkování kožešinových zvířat proti ACH a botulismu uvádí Konrád (1968b, 1970).

Pro aktivní imunizaci norků proti psince je komerčně vyráběna monovalentní lyofilizovaná vakcína, která po jednorázové s. c. aplikaci chrání zvířata v imunitě asi dva roky.

Banda a Kováč (1967) na základě pokusů informuje v souhlase s literárními údaji (Lölicher 1970, Zielinski 1971), že norci jsou ze všech známých sérotypů *Clostridium botulinum* nejnebezpečnější na toxin typu C. Možností specifické profylaxe proti ACH se u nás zabýval Žuffa (1967). Simultánní podání živé lyofilizované Aujeszského vakcíny (ŽLAV) a botulinového anatoxinu sérotypu C a D (BA-CD) neovlivnilo vývoj imunity proti ACH, přičemž spojení obou očkovacích látek do jednoho inokula vyvolalo dokonce vyšší hladiny neutralizačních protilátek proti ACH než samotná nebo současná, ale oddělená inokulace ŽLAV a BA-CD (Žuffa a kol. 1970).

V zahraničí se zabýval výzkumem suché virusvakcíny proti ACH pro kožesinová zvířata Kasjuk (1970). Opakovaná vakcinace v intervalu 14 až 20 dní vyvolává ustálenou imunitu. Wittenburg (1970) použil k vakcinaci norků aerosolové vakcíny aplikované pistolí spojenou s tlakovou nádrží. Nutnost vakcinace kožesinových zvířat proti infekčním chorobám doporučuje ve své monografii také Lölicher (1970).

V dostupné literatuře jsme nenašli podobnou práci, která by se zabývala hodnocením pokusu se sdruženou vakcinací norků také proti psince, jež by popisovala imunitní odezvy organismu norků po inokulaci živým vakcinačním virem.

Snahou veterinární služby je držet všechny chovy norků v imunitě proti všem třem infekčním chorobám. Organizace imunizačních postupů je v současné době následující: Před začátkem chovné sezóny mají být všechna chovná zvířata v imunitě, aby samičky mohly předat novorozným mláďatům pasivně protilátky v kolostru. Jimi jsou chráněna asi po dobu 10 až 12 týdnů, kdy mají být vakcinována proti ACH a botulismu, ale také současně proti FCC; v té době je hladina kolostrálních protilátek již nízká. Ve stáří 10 až 12 týdnů se vakcinují mláďata proti ACH a botulismu, za dalších 14 dní se vakcinují proti FCC a za další dva až tři týdny se nutně musejí revakcinovat proti ACH a botulismu, aby hladina protilátek byla dostačující. Při této organizaci nastává období 14 dnů, kdy hladina kolostrálních protilátek proti FCC je již nízká a nechrání mláďata před infekcí. Přitom trojí očkování je značně fyzicky i časově zatěžující.

Ve snaze o zjednodušení imunizačních postupů jsme dělali naše pokusy se sdruženým očkováním současně proti těmto třem infekčním chorobám.

MATERIÁL A METODY

Pro pokus se sdruženou vakcinací norků proti ACH, FCC a botulismu byla na farmě v B. vybrána zvířata starší než jeden rok, která byla vyřazena z chovu pro neplodnost, vady exteriéru apod. Jednalo se o 60 norků, kteří byli rozděleni do tří skupin. Všechny 60 norků bylo v červenci (17. 7.) vakcinováno sdruženou vakcínou proti ACH a botulismu v dávce určené návodem.

V říjnu (6. 10.) byli tito norci zařazeni do pokusu a vakcinováni proti ACH, FCC a botulismu třemi různými pokusy. Všechna zvířata byla umístěna v samostatném oddělení I. interní kliniky VŠV v Brně.

I. skupina 20 zvířat byla vakcinována simultánně do kožní řasy pod přední končetiny. Na levou stranu byla aplikována vakcína proti ACH a botulismu, na pravou stranu vakcína FCC; naředěny byly podle návodu.

II. skupina 20 zvířat byla vakcinována sdruženou vakcínou, která vznikla smícháním tří vakcín dohromady. K naředění lyofilizované psinkové

vakcíny bylo použito destilované vody (*aqua pro injectione*). Dávka byla pro-
počítána tak, aby v jednom inokulu zvířata dostala odpovídající množství vakci-
načního viru pro jedno zvíře, požadované výrobním podnikem.

III. skupina 20 norků byla vakcinována rovněž smíchanými třemi
vakcínami. K nařazení lyofilizované vakcíny proti ACH a lyofilizované vakcíny
proti FCC bylo však použito tekuté vakcíny proti botulismu. Také zde byla
vakcinační dávka upravena tak, aby zvířata dostala odpovídající množství
infekčních dávek.

Koncem listopadu byla zvířata utracena a ze srdce v thiopentalové nebo
éterové narkóze jim byla odebrána krev (asi 12 ml), která byla zpracována
pro sérologické vyšetření.

Séra z každé skupiny byla smíchána do dvou vzorků. Tento způsob zpraco-
vání dává přehled o chráněnosti a vyhovuje metodickým požadavkům ÚSKVBL
na hodnocení biopreparátů pro jejich praktické využití. Vzniklé poměrné vzorky
vždy z 10 zvířat byly vyšetřeny na protekční účín proti všem uvedeným choro-
bám. Před vyšetřením byla séra inaktivována 30 minut při 56 °C.

Protilátky proti ACH byly vyšetřeny séroneutralizačním testem s konstantní
dávkou viru $2 \cdot 10^2$ TK ID₅₀. Po inkubaci viru 45 minut při 37 °C byla prove-
dena infekce subkultury po odsátí média dávkou 0,2 ml inokula. CPE bylo
posouzeno po 96 hodinách.

Protilátky proti botulismu typu C byly hodnoceny titrací na myších v po-
rovnání s ochrannou hodnotou standardního séra. Jako protilátková jednotka
(IU/ml) bylo označeno množství antitoxinu uvedeného typu, které vážalo
100 myších DIM při *i. p.* aplikaci homologního botulinového toxinu.

Přítomnost protilátek proti psince byla vyšetřena séroneutralizačním testem
na osmidenních až devítidenních kuřecích embryích s dávkou 10^3 ID₅₀/0,2 ml
viru psinky. Směs viru a séra byla neutralizována 60 minut při laboratorní
teplotě. Změny vyvolané virem psinky na CAM byly hodnoceny po šestidenní
inkubaci.

Při ověřování aktivity séra proti botulismu používáme podle standardizace
biologických přípravků světové zdravotnické organizace z roku 1970 (WHO)
označení IU (0,1017 mg) místo v našich publikacích dosud používaného UA.
Vzhledem k rozdílu obou jednotek je třeba při srovnávání výsledků na UA naše
výsledky násobit přibližně 15 X.

VÝSLEDKY

U všech pokusných zvířat byl po dobu sedmi týdnů klinicky sledován zdra-
votní stav. Lokální zánětlivé reakce v místě vpichu nebyly pozorovány. Zvířata
nejevila změny v celkovém zdravotním stavu, v chování, přijímala normálně
krmivo, byla čilá, po celou dobu pozorování nedošlo k úhynu.

Výsledky zjištěných hodnot neutralizačních protilátek v krevním séru v po-
měrných vzorcích získaných z 18 až 20 pokusných zvířat vakcinovaných uvede-
nými způsoby jsou zachyceny v tab. I. Z ní je patrné, že obsah protilátek proti
ACH vykazuje nejvyšší hodnotu 44,5 u skupiny I. a III. (simultánní a sdružené
očkování). Také obsah protilátek *Clostridium botulinum* typu C je nejvyšší ve třetí
skupině. Virusneutralizační protilátky proti FCC jsou téměř vyrovnané a kromě
jednoho vzorku u skupiny I. jsou přibližně stejně vysoké.

I. Hodnoty neutralizačních protilátek proti jednotlivým chorobám, dosažené u pokusných norků při různých způsobech sdruženého ochranného očkování

Vakcinace	Počet vzorků	ACH titr NP	Botulismus IU/ml	FCC titr NP
Na levé straně s. c. vakcína proti ACH a botulismu; na pravé straně vakcína proti FCC	9	18,8	1–2	88,1
	10	44,5	2	201,6
Naředěná vakcína proti ACH a botulismu smíchaná s vakcínou proti FCC, rozpuštěnou v dest. vodě	9	18,8	1–2	256,0
	9	24,3	1	195,1
Vakcína proti ACH a FCC lyofilizovaná, rozpuštěná vakcínou proti botulismu	10	26,1	2	189,9
	10	44,5	3	195,1

DISKUSE

Z dosažených výsledků vyplývá, že při použitých způsobech očkování byly získány přibližně stejné hodnoty vyšetřovaných sér. Metoda, při které byly lyofilizované vakcíny proti ACH a FCC ředěny vakcínou proti botulismu, se přitom z imunologického a praktického hlediska jeví jako nejvýhodnější.

Tyto naše výsledky můžeme srovnat s prací Žuffy a kol. (1969, 1970) pokud se týká virusneutralizačních protilátek (NP) proti ACH a protilátek proti botulismu. Citovaní autoři dosáhli při simultánním očkování norků proti ACH a botulismu titr séra 16,6 proti viru Aujeszkeho choroby. V našem pokuse při simultánním očkování proti ACH a botulismu na jedné straně a FCC na druhé straně těla jsme u jednoho poměrného vzorku séra dosáhli rovněž titru 18,8 a u druhého 44,5.

Při sdruženém způsobu očkování bylo dosaženo v práci Žuffy a kol. (1969, 1970) po revakcinaci titru 43,1 proti ACH. Při našich pokusech se sdruženým očkováním bylo u skupiny, u které bylo k naředění psinkové vakcíny použito *aqua dest. pro inj.* a potom vakcíny smíchaný a inokulovaný, dosaženo hodnot 18,8 a 24,3.

U III. skupiny zvířat očkovaných sdruženou vakcínou bez použití destilované vody bylo dosaženo titru 26,1. Z uvedeného vyplývá, že dosažené titry protilátek proti ACH jsou přibližně stejné jako u pokusů se sdruženým očkováním jenom proti ACH a botulismu.

Pokud se týká obsahu protilátek proti botulotoxinu typu C, zjistil Žuffa a kol. (1970) při simultánním očkování norků titr protilátek 80 až 290 UA/ml a při sdruženém očkování norků proti ACH a botulismu titr 10 až 80 UA/ml. V naší práci bylo při sdruženém očkování norků smíchaním vakcín bez použití *aqua dest. pro inj.* jako ředidla dosaženo titru 2 až 3 IU/ml, což odpovídá 30 až 45 UA/ml. Při simultánním očkování norků vakcínou proti FCC a sdruženou vakcínou proti ACH a botulismu bylo dosaženo titru 1 až 2 IU/ml, což

odpovídá 15 až 30 UA/ml. I tyto nižší hodnoty je možné považovat za uspokojící protekční protilátky proti botulismu typu C, jak prokazujeme v naší práci.

Zjištěné hladiny protilátek u ACH a botulismu nebyly sníženy přítomností živé lyofilizované vakcíny proti FCC v organismu norků natolik, aby nedošlo k vytvoření uspokojivé imunity. Pokud se týká titrů protilátek proti FCC, bylo téměř ve všech poměrných vzorcích dosaženo přibližně stejné hladiny protilátek.

Tyto výsledky nemůžeme srovnat s žádnou podobnou prací, která by se týkala kombinované vakcinace norků současně více vakcínami.

Výsledky pokusu jsou velmi nadějně pokud se týká hladiny protilátek, snášenlivosti vakcín a odezvy organismu norků na tento postup inokulace vakcín. Ověřený sdružený způsob umožňuje vakcinovat mláďata ve stáří 10 až 12 týdnů proti všem třem chorobám najednou. Za čtyři až šest týdnů se provede nutná revakcinace proti ACH a botulismu. Tím se vyloučí kritické období konce kolostrální imunity mláďat proti FCC a bude usnadněna práce při vakcinaci zvířat, která je při velkých počtech zvířat, nesnadné manipulaci s nimi a při krátkém časovém rozmezí nutném k vakcinaci všech zvířat dost náročná.

Problémy s vícevalentními vakcínami a se sdruženým očkováním proti několika chorobám najednou se týkají nejenom postvakcinačních reakcí a imunitní odpovědi na jednotlivé komponenty, ale i možné interakce mezi jednotlivými komponentami. Podstatným vodítkem pro účinnost vakcíny je titr protilátek zjištěný sérologickým vyšetřením. V další práci chceme uvedené způsoby vakcinace norků ověřit biologickým pokusem při umělé infekci zvířat virem ACH, FCC a botulotoxinem typu C.

Literatura

- BANDA I., KOVÁČ L., 1967, Očkovacia látka proti botulizmu pre kožuštinové zvieratá. *Imunoprofylaxia* 3 : 147-150.
- DZELINSKI E. a kol., 1971, Choroby mięsożernych zwierząt futerkowych. Warszawa, Państwowe wydawnictwo rolnicze i leśne, 165 s.
- KASJUK I. I., 1970, Ispytaniye suhoj virusvacciny protiv bolezni Aujeszkij pušnych zverej. *Veterinarija* 10 : 47-48.
- KONRÁD J., 1968, Výsledky klinických zkoušek první čs. očkovací látky proti botulismu a Aujeszského chorobě u norků. *Chovatel* 4 : 56-57.
- KONRÁD J., 1968b, K organizaci ochranného očkování v chovech norků proti Aujeszského chorobě a botulismu. *Čs. kožešinář* 2 : 14-19.
- KONRÁD J., 1970, Ochranné očkování kožešinových zvířat v ČSSR. *Chovatel* 9, 10 : 231-232.
- KONRÁD J., HANÁK J., MOUKA J., 1971, Výzkum příčin hromadného hynutí kožešinových zvířat. Záv. zpráva VÚ VII-5-1/30, Brno, VŠV, 16. 3. 1972.
- LÖLIGER H. CH., 1970, Peltztierkrankheiten. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- WITTENBURG J., 1970, Die Anwendungen von Staupe-Aerosol-Vaccine in Dänemark. *Blauen Hefte* 44 : 133-135.
- ŽUFFA A., Banda I., KONRÁD J., ŽÁK O., 1969, Kombinované očkovanie noriek proti Aujeszského chorobe a botulizmu. *Imunoprofylaxia* 1 : 15-20.
- ŽUFFA A., Banda I., KONRÁD J., ŽÁK O., 1970, Combined inoculation of minks against Aujeszkij's disease and botulism. *Veterinárski časopis* 13 : 141-151.

Došlo dne 14. 4. 1972

КОНРАД Й., МОУКА Й., ДВОРЖАК Р., ГАНАК Й. (Вышшая школа ветеринарной медицины, Брно, Центр информации по плотоядным и пушным животным СВБ ОП Кара — разведение пушных животных, УСКВБЛ, Ивановице на Гане, Чехословакия). Возможности осуществления комбинированного вакцинирования норки против болезни Ауески, чумы собак и ботулизма. *Vet. Med. (Praha)* 17 (9) : 539-544, 1972.

В ходе опытов с 60 норками определяли клиническую терпимость и действенность комбинированной прививки одновременно против болезни Ауески, чумы собак и ботулизма. Пользовались производимой для торговых целей живой неvirulentной лиофилизированной вакциной против болезни Ауески, живой неvirulentной лиофилизированной вакциной против чумы собак и анатоксином *Cl. botulinum* типа C, связанным с гелем гидроокиси алюминия. Иммунную реакцию животных оценивали самостоятельно у вакцинированных в одновременном и комбинированном порядке норок. Цель опыта состояла в создании нового метода прививки против всех трех инфекционных болезней одновременно. Предлагаемая защитная прививка заключается в возможности единой инокуляции лиофилизированных вакцин против болезни Ауески и чумы собак, вновь гидрированных в прививке против ботулизма молодняка в возрасте 10—12 недель и новой прививке против болезни Ауески и ботулизма спустя 4—6 недель.

пушной зверь; норка; болезнь Ауески; чума собак; ботулизм; комбинированная прививка; титры антител; заразные болезни

KONRÁD J., MOUKA J., DVOŘÁK R., HANÁK J. (University School of Veterinary Medicine, Brno, Reference centre for carnivorous and fur-bearing animals SVS, OP — Kara — development of fur-animals breeding, ÚSKVLB Ivanovice na Hané, Czechoslovakia). *The possibilities of Combined Vaccination of Minks against Aujeszky's Disease, Rabies and Botulism*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 539-544, 1972.

A trial was undertaken in 60 minks to determine the clinical tolerance and the effectivity of the combined vaccination against Aujeszky's disease, rabies and botulism. The following preparations were used: commercially-produced live avirulent lyophilized vaccine against Aujeszky's disease, live avirulent lyophilized vaccine against rabies, and anatoxin *Cl. botulinum* type C bonded to the gel of aluminium hydroxide. The immunity response of the animals was evaluated separately for the minks vaccinated simultaneously and by the combined method. The purpose of the trial was to develop a new method of the vaccination against all the three infectious diseases at the same time. The suggested protective vaccination is based on the possibility of using a single inoculation of the lyophilized vaccines against Aujeszky's disease and rabies rehydrated in the vaccine against botulism applied to young animals at the age from 10 to 12 weeks, and revaccination against Aujeszky's disease and botulism after 4 to 6 weeks.

furskin animals; mink; Aujeszky's disease; rabies; botulism; combined vaccination; titres of antibodies; infectious diseases

KONRÁD J., MOUKA J., DVOŘÁK R., HANÁK J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno, Referenz-Zentrum für fleischfressende-und Pelztiere SVS, OP Kara — Entwicklung der Edelpelztierzuchten, ÚSKVLB Ivanovice na Hané, Tschechoslowakei). *Möglichkeiten einer kombinierten Vakzination der Nerze gegen Aujeszky'sche Krankheit, Staupe und Botulismus*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 539-544, 1972.

In einem Versuch auf 60 Nerzen wurde die klinische Verträglichkeit und Wirksamkeit einer kombinierten Impfung gleichzeitig gegen Aujeszky'sche Krankheit, Staupe und Botulismus ermittelt. Es wurde eine kommerziell erzeugte lebendige avirulente lyophilisierte Vakzine gegen Aujeszky'sche Krankheit, eine lebendige avirulente lyophilisierte Vakzine gegen Staupe und ein auf das Gel des Aluminiumhydroxyds gebundenes Anatoxin *Cl. botulinum* Typ C benutzt. Die Immunitätsantwort wurde selbständig bei simultan und kombiniert vakzinieren Nerzen bewertet. Das Ziel des Versuches war es, eine neue Vakzinationsmethode gegen alle drei Infektionskrankheiten gleichzeitig zu entwickeln. Die vorgeschlagene Schutzimpfung besteht in der Möglichkeit einer einzigen Inokulation von lyophilisierten Vakzinen gegen Aujeszky'sche Krankheit und Staupe, die in einer Vakzine gegen Botulismus rehydratiert worden sind, den Jungtieren im Alter von 10 bis 12 Wochen und einer Revakzination gegen Aujeszky'sche Krankheit und Botulismus nach 4 bis 6 Wochen. Pelztiere; Nerz; Aujeszky'sche Krankheit; Staupe; Botulismus; kombinierte Vakzination; Antikörpertiter; Infektionskrankheiten

Adresy autorů:

Prof. MVDr. J. Konrád, DrSc., MVDr. J. Mouka, MVDr. J. Hanák, Vysoká škola veterinární, Brno, Palackého 1-3

MVDr. R. Dvořák, ÚSKVBL Ivanovice na Hané

E. Král, L. Němeček, J. Pavlica

Vysoká škola veterinární, katedra chirurgie, ortopedie a rentgenologie, Brno

KRÁL E., NĚMEČEK L., PAVLICA J. *Disociační anestézie ketaminem u koček.* Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 545-550, 1972.

Dávka 25 mg/kg ž. v. ketaminu (Ketalar), podaná nitrosvalově, vyvolá tzv. disociační anestézii, trvající průměrně 25 minut, s dostatečnou analgezií pro běžné operativní zákroky. Dávka 5 mg/kg ž. v. ketaminu i. m. s premedikací chlorpromazinu (Plegomazin) vyvolá ve většině případů dostatečnou sedaci i relaxaci k běžnému klinickému a rentgenologickému vyšetření. Anestézie není však dostatečná k operativním zákrokům. Při dávkách 25 mg/kg ž. v. se objevily křeče svalových skupin asi v 15 %, ojediněle byly nutkavé pohyby dopředu. Při dávce 5 mg s chlorpromazinem se objevily jen příznaky neklidu. Běžným doprovodným jevem je mydriáza, slinění a vyplazování jazyka. Ketamin v dávce 25 mg/kg vyvolává depresi dechovou, projevující se snížením jak frekvence dechové, tak i minutového dechového objemu. Dále dochází k mírnému snížení tělesné teploty a ke zvyšování pulsů. Orientační pokusy prokázaly, že ketamin vede ke zvýšení hladiny glukózy v krvi, ale nemá vliv na EKG, krevní obraz a transaminázy (GOT, GPT).

celkové znečitlivění; ketamin; Ketalar; puls; dech; teplota; spirometrie; EKG; glukóza; transaminázy; kočka

Otázka celkového znečitlivění u kočky není dosud uspokojivě vyřešena. Pro potřebu praxe se jeví jako vhodné takové anestetikum, které by se mohlo aplikovat podkožně nebo nitrosvalově a které by vyvolávalo pokud možno hlubokou analgezii s dostatečnou svalovou relaxací pro běžná vyšetření a chirurgické zákroky. Podle zmínky v písemnictví (Frey a kol. 1971) je takovou látkou ketamin (Ketalar firmy Parke-Davis).

Ketalar (Ketamin hydrochlorid, 2-(o-chlorfenyl)-2-(metylamino)-cyklohexanon hydrochlorid) je rychle účinkující nebarbiturátové celkové anestetikum pro nitrožilní a nitrosvalové užití. Dodává se v koncentracích 1 % (v 1 ml je 10 mg ketaminové báze) a 5 % (v 1 ml je 50 mg ketaminové báze).

Podle údajů z humánní medicíny vyvolává kompletní analgezii s povrchním spánkem, přičemž tzv. ochranné reflexy, jako např. kašláni, polykání, reflex víčkový, jsou zachovány (tzv. „dissociation anaesthesia“). Jen viscerální bolesti dostatečně nepotlačuje. Terapeutická šíře ketaminu je relativně velká (1 : 15). Při klinickém použití se objevuje dost často zvýšené napětí až křeče, zvláště svaloviny končetin. Na krevní oběh působí stimulačně. Jeho účinek na dýchání

*) KETALAR: Parke-Davis Company, London, England.

**) Předneseno na odborném semináři sekce chirurgie Společnosti veterinárních lékařů v říjnu 1971.

podle některých autorů není nepříznivý; podle Skuthanové a Pokorného (1972) má respiračně depresivní účinky.

Ve veterinární medicíně je klinicky u koček vyzkoušen Dürrem a Kraftem (1971) a Beckem, Coppockem a Ottem (1971).

Dürr a Kraft (1971) použili „Ketanest“ v dávce 5 mg/kg ž. v. i. m. Nástup anestézie zaznamenali po dvou až šesti minutách, délka anestézie byla 14 až 20 minut. Asi v 9 % případů pozorovali svalové křeče, které se silným dotykem stupňovaly. Asi ve 12 % případů se vyskytla salivace. U mladých koček do váhy 2 kg byla dávka nedostatečná a musela být zdvojnásobena (10 mg/kg ž. v.).

Beck a kol. (1971) použili „Vetalar“ (Parker-Davis) v dávce 5,2 až 56,7 mg/kg ž. v. i. m. s premedikací atropinu (0,044 mg/kg). Dávka 22 mg/kg ž. v. se osvědčila k imobilizaci pro vyšetření, pro menší operativní zákroky a jako úvod do narkózy inhalační. Dávka 22 až 44 mg/kg ž. v. vyvolává „kataleptoidní anestézii“, která je vhodná pro operativní zákroky břišní i pro menší ortopedické zákroky. Trvání této anestézie bylo 20 až 40 minut. Návrat k normálnímu stavu trval 6 až 7 ½ hodiny.

Vedle toho užili Vetalar u koček také v kombinaci s barbituráty, metoxyfluranem, halotanem a kyslíčnickem dusným.

METODY

Pokusy byly konány na kočkách starých jeden až dva roky, ve váze tři až čtyři kilogramy, klinicky zdravých nebo s chirurgickými nemocemi, které neovlivňovaly celkový zdravotní stav pacienta. Při započetí naší práce nebyly ještě publikovány žádné práce s ketaminem u koček. V dávkování jsme vyšli z dávek firemního letáku firmy Parke-Davis. Orientačně jsme vyzkoušeli dávky 5, 10, 15, 20, 25, a 30 mg/kg ž. v. i. m. Jako nejvhodnější se nám jevily dávky 25 mg/kg ž. v. Ve snaze snížit co nejvíce dávku ketaminu jsme kombinovali ketamin s chlorpromazinem (Plegomazin) v dávce 4 mg/kg ž. v. Poněvadž se v orientačních pokusech při vyšších dávkách ketaminu v kombinaci s chlorpromazinem projevil silně depresivní vliv na dech, užívali jsme nadále této kombinace jen při dávkách určených k imobilizaci zvířete. Jako nejvhodnější se nám jevila kombinace v dávkách 4 mg Plegomazinu a 5 mg ketaminu na kg ž. v. Celkem jsme provedli 50 anestézií Ketalarom.

Při pokusech jsme sledovali hodnoty triasu, rychlost nástupu analgezie, její trvání a hloubku pro zvolený vyšetřovací či operativní zákrok, vedlejší příznaky a probuzení.

Orientačně jsme k ověření účinku preparátu sledovali hodnoty dechových objemů, EKG, krevní obraz, hladiny glukózy a transamináz kyseliny glutamo-oxalocetové (GOT) a kyseliny glutamo-pyrohroznové (GPT). Respirometrická a EKG vyšetření jsme konali před aplikací chlorpromazinu a ketaminu a potom za 10, 20, 30 a 60 minut od podání. Krevní vyšetření v časových údobích opět před podáním anestetika a pak za 10, 30 minut a za 4 hodiny po aplikaci ketaminu.

VÝSLEDKY

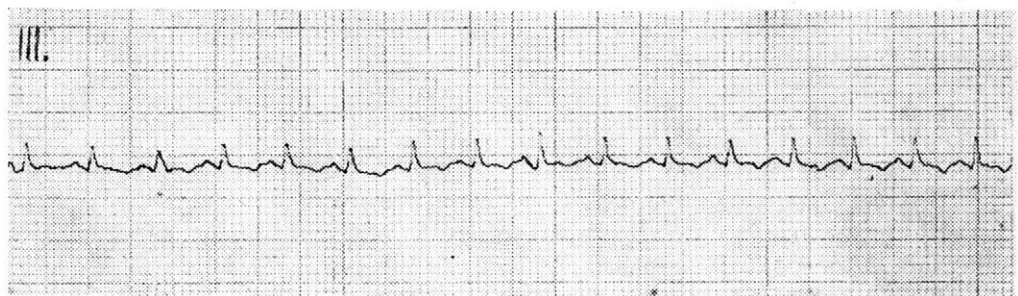
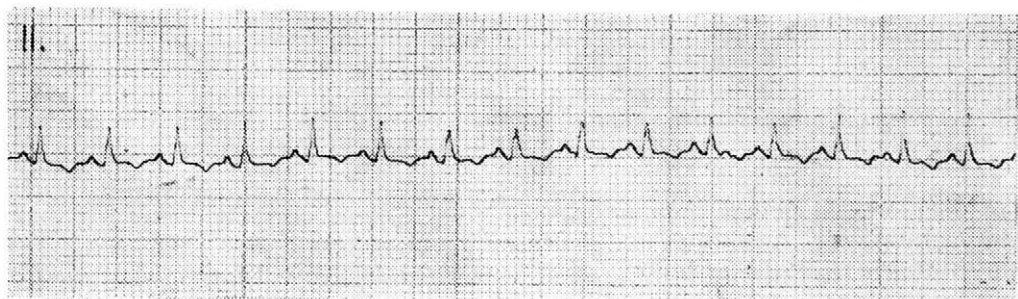
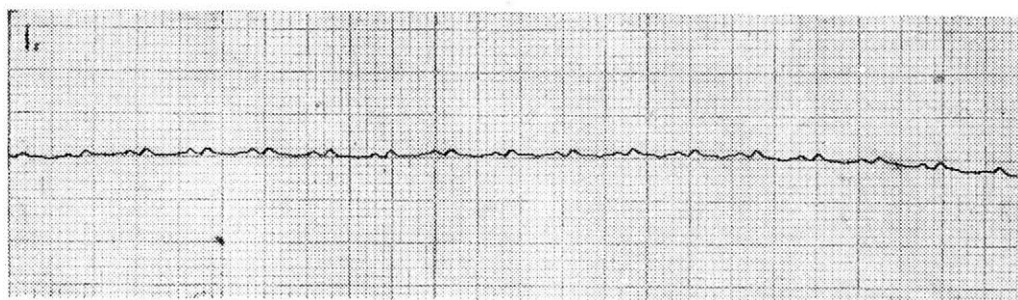
Po dávce 25 mg/kg ž. v. i. m. ketaminu nastávala pravidelně po třech minutách sedace a relaxace, jevící se ulehnutím pacienta. Analgezie nastupuje po pěti minutách po injekci. Doba nejkratšího nástupu byla tři minuty, nejpozděj-

šího sedm minut. Anestézie trvá průměrně 25 minut, nejkratší anestézie byla 15 minut, nejdelší 35 minut. Ve všech případech byla délka anestézie dostatečná k operativnímu zákroku, jako je kastrace, ovariektomie, operace kýl, ošetření ran s komplikací, osteosyntéza, extrakce cizích těles v jícnu atd.

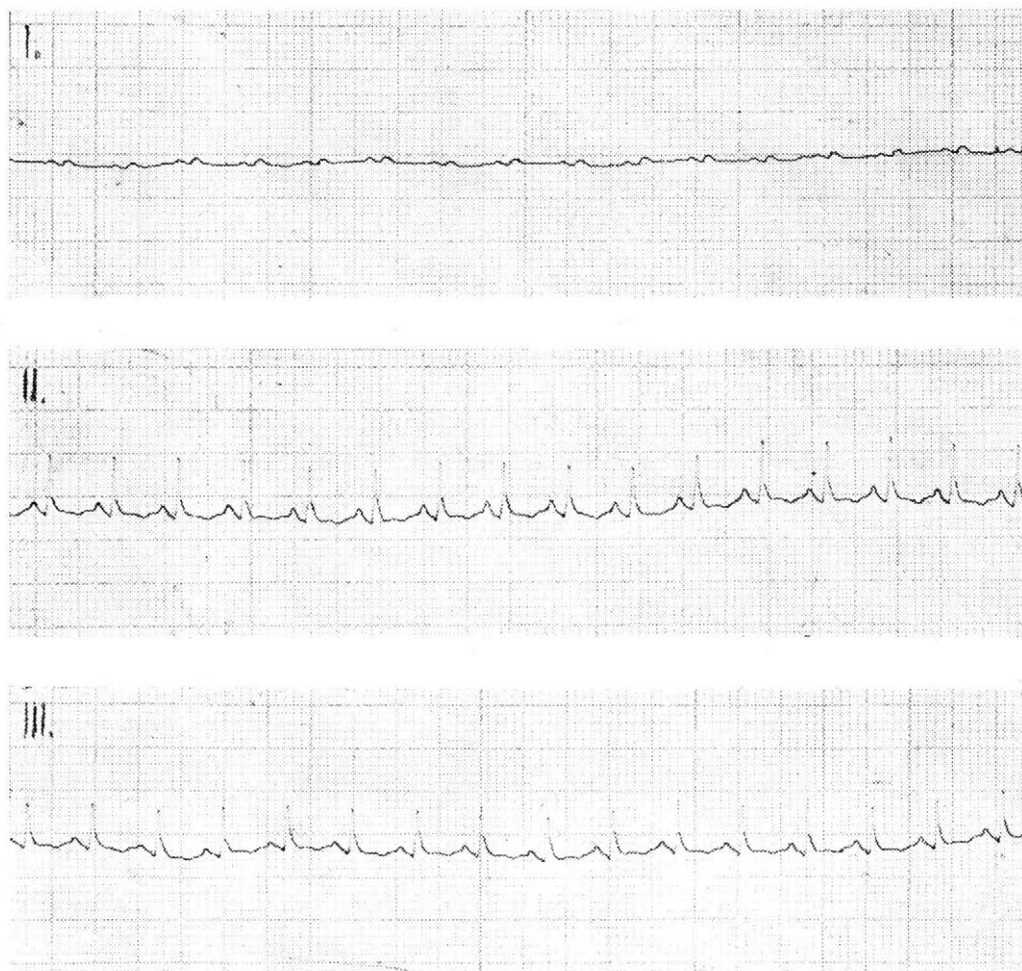
Probuzení bylo plynulé — anestézie přecházela v postnarkotický spánek trvající průměrně pět hodin (nejkratší tři hodiny, nejdelší šest hodin).

Z triasu vykazovala významnější změny frekvence dechová, u níž již v měření za 10 minut od aplikace dochází k poklesu, který trvá po dobu 30 minut a ještě za 60 minut se nevrací zcela na původní hodnoty. U srdeční frekvence jsme zaznamenali kolísání hodnot s tendencí zvyšování. U tělesné teploty docházelo naopak k mírnému poklesu v průměru o $0,3^{\circ}\text{C}$ v časovém úseku 10 až 30 minut od podání ketaminu.

V orientačních pokusech jsme zjistili pokles minutového dechového objemu, a to výrazněji v měřeních za 10 a 20 minut po podání. V dalších měřeních se vrací hodnoty k výchozím údajům.



1. Elektrokardiogramy z I, II. a III. končetinového svodu před aplikací ketaminu



2. Elektrokardiogramy u téhož zvířete v průběhu anestézie ketaminem

Elektrokardiogramy snímané před aplikací vykazovaly velmi nízkou voltáž kmitů a vln v I. svodu (obr. 1) a nebyly vyhodnocovány. V záznamech II. a III. končetinového svodu byla registrována pravidelná srdeční činnost s určitou variabilitou v amplitudách v jednotlivých pokusech.

Při porovnání záznamů v průběhu anestezie ketaminem (obr. 2) s výchozími nálezy jsme nezjistili žádné změny, které by svědčily o ovlivnění elektrokardiogramu použitým anestetikem.

Z krevních vyšetření jsme zaznamenali zvýšení v hladině glukózy hlavně v měření za 30 minut a za 4 hodiny.

Krevní obraz a enzymy (GOT, GPT) byly beze změn.

Při dávce 5 mg ketaminu na kg ž. v. s premedikací 4 mg Plegomazinu/kg nastupuje sedace a relaxace do tří až pěti minut. V převážné většině případů byla sedace i relaxace takového stupně, že bylo možné provést i bolestivé klinické vyšetřování dutiny ústní, jicnu, vyšetření a ošetření ran, rentgenologické vyšetření. K fixaci postačí jeden ošetřovatel, rtg vyšetření bylo možné jen fixací zvířete vyvázáním.

DISKUSE

Dávky, ke kterým jsme v našich pokusech dospěli, se ukazují jako dávky nejnížší k dosažení požadovaného efektu. K sedaci pro vyšetření a jiné nebolestivé zákroky jsme volili stejnou dávku ketaminu jako Dürr a kol. (1971), avšak bez současného použití chlorpromazinu se nám tato dávka jevila jako nedosta- tečná. Naproti tomu Beck a kol. (1971) použili dávek podstatně vyšších. Průběh anestézie, její nástup, trvání a probuzení v našich pokusech odpovídá pokusům citovaných autorů. Přirozeně — v pokusech Becka a kol. (1971) je trvání analgezie i sedace delší, což odpovídá podstatně vyšším dávkám, které užili. Výskyt zvýšeného tonu až svalových křečí zaznamenali všichni autoři, ale v menším počtu než my při dávce 25 mg/kg. Naproti tomu při dávce 5 mg s premedikací 4 mg chlorpromazinu na kg ž. v. jsme nezjistili křeče vůbec, zatímco Dürr a Kraft (1971) uvádějí 9 % případů. V ojedinělých případech jsme však pozorovali projevy určité předrážděnosti.

Při dávce ketaminu 25 mg/kg ž. v. jsme zjistili snížení teploty o 0,3 °C a snížení frekvence dechové a minutového dechového objemu proti Dürrovi a Kraftovi (1971), kteří zaznamenali zvýšení těchto veličin. Tito autoři však používali pouze 5 mg ketaminu na kg ž. v. bez chlorpromazinu. Stejně jako my zjistili depresi dechovou a mírný pokles tělesné teploty Beck a kol. (1971) při rychlé intravenózní aplikaci a při vyšších dávkách podaných intra- muskulárně. U ostatních sledovaných ukazatelů, tj. u frekvence tepu, hladiny glukózy, krevního obrazu a hodnot transamináz byly nálezy shodné s literárními údaji.

Utváření EKG a jeho jednotlivé hodnoty před aplikací kolísaly v rozmezích udávaných Lepeschkinem (1957). V průběhu pokusu jsme zjistili mírnou tachykardii, kterou uvádí i Beck a kol. (1971), k dalším změnám v elektro- kardiogramu však nedocházelo.

Literatura

- BECK C. C., COPPOCK R. W., OTT B. S., 1971, Evaluation of Vetalar (Ketamine HCL). A Unique Feline Anesthetic. Vet. Med. — Small Animal Clinician 66, 10 : 993-997.
- DÜRR U. M., KRAFT W., 1971, Die Anwendung von Ketamin-hydrochlorid („Ketanest“) zur Ruhigstellung von Katzen. Tierärztl. Umsch. 26 : 402-404.
- FREY R., HÜGIN W., MAYERHOFER O., BENZER H., 1971, Lehrbuch der Ana- esthesiologie und Wiederbelebung. 2. Auflage. Springer Verlag Berlin : 1038 s.
- LEPESCHKIN E., 1957, Das Elektrokardiogramm. 3. Auflage, Leipzig, Verlag Th. Stein- kopf : 740 s.
- SKUTHANOVÁ V., POKORNÝ J., 1972, Vliv ketaminu na plicní ventilaci v kap- nografickém obraze. Rozhledy v chirurgii 1 : 10-13.

Došlo dne 31. 5. 1972

КРАЛ Э., НЕМЕЧЕК Л., ПАВЛИЦА Й. (Вышшая школа ветеринарной медицины, Брно, Чехословакия). Диссоциационная анестезия кетаминот у кошек. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 545-550, 1972.

Доза 25 мг/кг ж. в. кетамина (Кеталар) при внутримышечном введении вызывает так наз. диссоциационную анестезию, продолжающуюся в среднем 25 мин., с потерей болевого чувства, достаточной для обычных операционных вмешательств. Доза 5 мг/кг ж. в. с внутримышечным введением и с дачей хлорпромазина (Плегомазин) в большинстве случаев вызывает седативное расслабление, достаточное для нормального клинического и рентгено- логического исследования. Однако анестезия недостаточна для операционных вмешательств. Дозы в 25 мг/кг ж. в. вызывают спазмы мышечных групп примерно в 15 % случаев, в от-

дельных случаях и непроизвольные движения вперед. Доза 5 мг с хлорпромазином вызывает лишь признаки беспокойства. Обычным сопроводительным явлением бывает расширение зрачков, слюновыделение и высовывание языка. Кетамин в дозе 25 мг/кг вызывает дыхательную депрессию, проявляющуюся как понижением частоты дыхания, так и минутного объема дыхания. Кроме того, несколько падает температура тела и учащается пульс. Ориентировочные опыты показали, что кетамин повышает уровень глюкозы в крови, но не влияет на ЭКГ, картину крови и трансаминазу (GOT, GPT).

общая потеря чувствительности; кетамин; Кеталер; пульс; дыхание; температура; спиро-метрия; ЭКГ; глюкоза; трансаминазы; кошка

KRÁL E., NĚMEČEK L., PAVLICA J. (University School of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Orthopedics and Radiology, Brno, Czechoslovakia). *The Use of Ketamine for Dissociation Anesthesia in Cats*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 545-550, 1972.

The dose of 25 mg. of ketamine (Ketalar) per 1 kg. of live weight, applied intramuscularly, produces so-called dissociation anesthesia lasting 25 minutes, on an average with sufficient analgesia for operation. The i. m. dose of 5 mg ketamine per 1 kg. of live weight with chlorpromazin (Plegomazin) premedication produces — in most cases — sufficient sedation and relaxation for ordinary clinical and X-ray examination. However, anesthesia is not sufficient for operation. The doses of 25 mg. per 1 kg. l. w. resulted in spasms of muscular groups in 15 % of the cases, and some individuals showed impulsive forward movements. Restlessness was the only result of the application of the 5 mg. dose in combination with chlorpromazin. Mydriasis is a common accompanying sign, the same being true of salivation and protrusion of the tongue. Ketamine in the dose of 25 mg. per 1 kg. l. w. causes respiratory depression manifested in the reduction of the respiration rate and minute respiration volume. Furthermore, the body temperature is slightly decreased and the pulse shows increasing trend. Informative trials have shown that ketamine increases the level of glucose in blood, without affecting ECG, blood count and transaminases (GOT, GPT).

general anesthesia; ketamine; Ketalar; pulse; respiration; temperature; spirometry; ECG; glucose; transaminases; cat

KRÁL E., NĚMEČEK L., PAVLICA J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Lehrstuhl für Chirurgie, Orthopädie und Röntgenologie, Brno, Tschechoslowakei). *Dissoziationsanästhesie mit Ketamin bei Katzen*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 545-550, 1972

Eine intramuskulär verabreichte Gabe von 25 mg/kg Lebendgewicht von Ketamin (Ketalar) ruft eine sogenannte Dissoziationsanästhesie mit einer für gewöhnliche Operationseingriffe genügenden Analgesie hervor, die im Durchschnitt 25 Minuten dauert. Die Gabe von 5 mg/kg Lebendgewicht von Ketamin i. m. mit einer Chlorpromazin-(Plegomazin)-Prämedikation ruft eine, für die gewöhnliche klinische und roentgenologische Untersuchung genügende Sedation und Relaxation hervor. Die Anästhesie reicht jedoch für Operationseingriffe nicht aus. Bei Gaben von 25 mg/kg Lebendgewicht traten Krämpfe von Muskelgruppen etwa in 15 % der Fälle auf, vereinzelt auch zwingende Bewegungen nach vorne. Bei einer Gabe von 5 mg mit Chlorpromazin kamen nur Symptome der Unruhe zum Vorschein. Mydriasis, Salivation und Zungevorstrecken sind die gewöhnlichen Begleiterscheinungen. Ketamin in einer Gabe von 25 mg/kg ruft eine Atemdepression hervor, die sich durch eine Herabsinkung sowohl der Atemfrequenz, als auch des Minutenatemvolumens bemerkbar macht. Weiter ergibt sich eine mäßige Herabsinkung der Körpertemperatur und eine Pulsbeschleunigung. Orientationsversuche bewiesen, daß Ketamin zu einer Erhöhung des Glukosespiegels im Blut führt, jedoch keinen Einfluß auf das EKG, das Blutbild und die Transaminasen (GOT, GPT) ausübt.

allgemeine Anästhesie; Ketamin; Ketalar; Puls; Atem; Temperatur; Spirometrie; EKG; Glukose; Transaminasen; Katze

Adresa autorů:

Prof. MVDr. E. Král, MVDr. L. Němeček, MVDr. J. Pavlica, CSc., Vysoká škola veterinární, Brno, Palackého 1-3

K. Prokůpek

Bioveta, Ivanovice na Hané

PROKŮPEK K. *Toxický účinek zahřáté kultury Bacillus cereus*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 551-559, 1972.

V pokusech na vnímavých zvířatech při parenterální (intraperitoneální) inokulaci bylo zjištěno, že letální aktivita živé mladé populace *B. cereus* se snižuje se stupněm zahřívání v relaci se zmenšujícím se počtem živých buněk. Jelikož podle běžných představ je nositelem šokového působení lipopolysacharid, očekávali jsme, že i po devitalizaci cereové populace zahřátím si zachová masa usmrčených buněk alespoň větší část své původní šokové aktivity. Zahřátím usmrčenou kulturou se nejen nepodařilo vyvolat letální šok, ale vymizela současně i schopnost navodit klinicky se projevující afekci. Tento neočekávaný výsledek jsme přičítali rušivému zásahu teploty do struktury účinného komplexu, čímž pravděpodobně došlo ke snížení, popřípadě k úplnému vymizení aktivity vyvolávající šok.

B. cereus; zahřátá kultura; šoková aktivita

Možnost vyvolat živou cereovou kulturou letální šok (Prokůpek 1972) vedla k úvaze, zda obdobného účinku lze dosáhnout také populací vystavenou účinku tepla. Tato otázka poutala k sobě velkou pozornost, protože případně prokázaná termostabilita toxické substance by podporovala domněnku, že jde o endotoxinovou aktivitu.

Uemura (1914) zahřál suspenzi antrakoidních bacilů ve vodní lázni na 70 °C po dobu jedné hodiny. 5 ml této suspenze aplikoval morčatům intraperitoneálně. Morčata zašla za šest hodin za obvyklého obrazu těžké hemoragické peritonitidy, provázené šokovými příznaky. Jiným morčatům bylo podáno 5 ml suspenze zahřáté na 95 °C po dobu jedné hodiny intraperitoneálně. Za tři hodiny po podání se objevily příznaky onemocnění, které do pěti hodin dostoupilo vrcholu. Postižená zvířata se však později zotavila a přežila. Uemura (1914) z toho vyvozoval, že živá kultura antraxu podobných bacilů, zahřátá téměř k varu, měla ještě toxické vlastnosti, třebaže ve zmenšené míře.

Patočka (1934) správně poukázal na to, že Uemurovy výsledky mohly být způsobeny přežívajícími spórami. Proto testovanou kulturu devitalizoval autoklávováním. Takovou kulturou se mu nepodařilo vyvolat při intraperitoneální aplikaci morčatům příznaky šoku. Na podkladě tohoto poznání vyslovil autor pochybnost, zda se v tomto případě jednalo o toxickou látku.

Naproti tomu vyvolávají podle Sedláčka a Rische (1961) teplotou 60 °C usmrčené gramnegativní bakterie u vnímavých zvířat toxické symptomy.

MATERIAL A METODY

K pokusům jsme použili pět cereových kmenů-C 19, C 20, C 313, C 314 a C 117, jejichž šoková aktivita byla prověřena již v předchozích pokusech. První čtyři kmeny se vyznačovaly výraznou schopností vyvolávat letální šok, zatímco kmen C 117 projevoval slabší aktivitu. Výsledky dosažené s kmeny cereovými jsme se pokusili srovnat s výsledky některých enterobakterií. Proto jsme do pokusů zařadili několik kmenů salmonel (*S. typhimurium*, *S. cholerae suis*, *S. bareilly*), *Citrobacter* a *E. coli* (hemolytický kmen 5368 a nehemolytický kmen 5356).

Toxická aktivita zahřátých kultur byla testována zkouškou letálního šoku na morčatech. Pětihodinová populace cereových kmenů, suspendovaná ve fyziologickém roztoku, obsahující 10^{10} bacilárních buněk, byla vystavena účinku různě odstupňované teploty ve vodní lázni anebo v autoklávu. Po příslušné expozici byla suspenze rychle ochlazena a pak inokulována pokusným zvířatům. Cereové kultury byly zahřáty na teplotu: 60° – 60 minut, 70° – 60 minut, 80° – 30 minut, 90° – 30 minut, 100° – 15 minut a 110° – 10 minut. Počet živých buněk v zahřáté suspenzi byl stanoven zředovací plotnovou metodou. Morčata (350–400)g byla inokulována intraperitoneálně a test letality byl hodnocen stejně jako v předchozí práci (P r o k ú p e k 1972).

Stupeň sporulace byl kontrolován mikroskopicky (I v a n o v a D a č e v i č 1964), počet živých, klíčení schopných buněk zředovací plotnovou metodou.

Kultury enterobakterií, které jsme použili ke srovnávání s kmeny cereovými, jsme zahřívali na teplotu 40° , 45° , 50° a 60°C , vždy po dobu 30 minut. Příprava suspenzí, celková koncentrace inokula (10^{10}) a aplikace morčatům byly zcela obdobné jako při použití kmenů cereových.

Cereové kmeny jsme zahřívali na vyšší teploty proto, že jsme brali v úvahu tvorbu spór a jejich relativně vyšší odolnost k účinku teploty.

VÝSLEDKY

Experimentálně dosažené výsledky u cereových kmenů je třeba hodnotit ze tří hledisek. Podle toho, zda kultura po zahřátí obsahuje živé vegetativní buňky a plně vitální, aktivované spóry, nebo mrtvé vegetativní buňky a klíčení ještě schopné spóry, nebo konečně kromě ojedinělých přežívajících spór se sníženou klíčovostí jen usmrcené vegetativní buňky a spóry, jejichž toxická složka byla již působením vysokých teplot víceméně denaturována, popřípadě zcela ztratila svou toxickou aktivitu.

Z uvedených hledisek bychom mohli rozdělit dosažené výsledky u cereových kmenů do tří skupin. V první skupině bychom mohli uvést výsledky získané působením kultury zahřáté na teploty do 60°C . V této skupině je možné předpokládat, že se zde uplatnil sice převážně účinek vegetativních forem, ale také spór, projevující se u všech kmenů plnou letální aktivitou, vedoucí k exitu pokusných zvířat šokem za 2 ½ až 6 hodin po inokulaci.

Do druhé skupiny jsme zařadili působení kultur zahřátých na teploty v rozsahu nad 60° do 90°C . Očekávali jsme, že u těchto suspenzí se bude jednat o účinek spór do různého, ale stále ještě vysokého procenta schopných klíčení. Předpokládali jsme totiž, že za podmínek uspořádání pokusu došlo k masivnímu vysporulování kultury. O těchto skutečnostech jsme se přesvědčili tím, že jsme kontrolovali stupeň sporulace, životnost spór a schopnost vyklíčení.

Mohli jsme sledovat, že se stupněm zahřátí ubýval počet přežívajících buněk, klinické příznaky se dostavovaly později a doba, za kterou se dostavoval exitus, se prodlužovala. Při zahřátí na 70 °C se klinické příznaky šoku dostavovaly ještě za jednu hodinu a exitus za tři až pět hodin po inokulaci. Kultura zahřátá na 80 °C vyvolala klinické příznaky za pět hodin a exitus šokem u dvou kmenů za tři až pět hodin, u dalších dvou za dobu zřetelně delší. U jednoho kmene k šoku nedošlo. U suspenzí zahřátých na 90 °C jsme mohli zaznamenat obdobné výsledky, jen doba, za kterou se dostavoval exitus šokem, se ještě více prodloužila.

Je známe, že somatické antigeny spór jsou odlišné od somatických antigenů vegetativních buněk. Protože pokusná zvířata reagovala na inokulaci spór obdobně jako na vpravení vegetativních buněk, je velmi pravděpodobné, že spóry v organismu vyklíčily, což je snadno možné, protože ve vhodném prostředí to je otázka krátké doby.

Abychom si tento předpoklad ověřili, doplnili jsme svoje pozorování pokusem na morčatech, kterým jsme aplikovali dávku obsahující 10^{10} dobře vysporulované kultury několika cereových kmenů intraperitoneálně. K exitu šokem docházelo většinou za šest až deset hodin. V dutině břišní byl zaznamenán typický obraz peritoneálního syndromu. Roztěry prokázaly hojně neopouzdřených tyčinek, ale část buněk (asi 10 až 20 %) zůstala ve formě spór se sníženou klíčivostí a neschopných vyklíčit *in vivo* za dobu konání pokusu. Výsledky těchto pokusů ukázaly, že spórovou suspenzí lze vyvolat u vnímavých pokusných zvířat obdobný letální šok, jak se to daří s mladou populací vegetativních buněk, ale s poněkud protražovanějším účinkem.

Suspence zahřáté na 100 °C po dobu 10, 15 a 20 minut vyvolávaly klinické příznaky onemocnění (za 4 až 5 hodin) a exitus protražovaným šokem (za 8 až 14 hodin). U všech morčat, která zašla šokem, byla nalezena krvavá tekutina v peritoneální dutině. Při delší expozici (30 a 60 minut) nebyly už zaznamenány klinické příznaky šoku. Při zahřátí kultury na 110 °C po dobu 10 minut (8 tisíc živých buněk v inokulu) se dostavily ještě klinické příznaky onemocnění (za 4 až 6 hodin) a exitus šokem (za 14 až 18 hodin). V dutině břišní byla krvavá tekutina. Populace vystavená účinku této teploty po dobu 20 minut už klinické příznaky šoku nevyvolala.

Přehled o počtu přežívajících buněk zahřáté cereové kultury je uveden v tab. I.

I. Počet živých buněk v zahřáté pětihodinové kultuře (°C/min.) B. *Cereus*

<i>Bacillus cereus</i>	Počet živých buněk při teplotě (°C) a době expozice (min)					
	60°—60'	70°—60'	80°—30'	90°—30'	100°—15'	110°—10'
C 19	900 M	650 M	150 M	28 M	150 T	8 T
C 20	980 M	800 M	420 M	48 M	40 T	3 T
C 313	700 M	360 M	180 M	40 M	12 T	0
C 314	840 M	350 M	20 M	400 T	40 T	0
C 117	18 M	6 M	1,2 M	300 T	35 T	0

M = milión; T = tisíc

II. Letální aktivita zahřáté kultury *B. cereus*

Označení cereového kmene	Teplota zahřátí (°C) a doba expozice (min)					
	60° – 60'	70° – 60'	80° – 30'	90° – 30'	100° – 15'	110° – 10'
			exitus za hodin			
C 19	21/2 – –4	3 – 4	3 – 5	4 – 6	8 – 12	10 – 18
C 20	21/2 – –31/2	3 – 4	3 – 4 1/2	5 – 7	8 – 12	10 – 15
C 313	3 – 4	3 – 5	5 – 10	8 – 15	10 – 15	—
C 314	3 – 5	4 – 6	8 – 10	8 – 12	12 – 18	—
C 117	5 – 6	8 – 10	—	—	—	—

Toxický účinek zahřáté suspenze pět hodin staré kultury u pěti sledovaných cereových kmenů je v přehledu uveden v tab. II.

Z našich výsledků vyplývá, že celkem shodné výsledky daly cereové kmeny (C 19 a C 20). Další dva kmeny (C 313 a C 314) měly poněkud slabší účinek. Nejmenší toxický účinek měl kmen C 117.

Všechna morčata, u nichž byl zaznamenán exitus, zašla za typického klinického obrazu a patomorfologického nálezu v dutině peritoneální. Obecně docházelo k exitu pokusných zvířat při podstatně nižším počtu přeživších buněk v zahřáté suspenzi (v některých případech jen při několika tisících), než byla-li aplikována samotná živá kultura. V žádném případě nedošlo k exitu pokusných zvířat šokem po inokulaci umrtvené kultury, třebaže se někdy klinické příznaky onemocnění v lehčí formě dostavily.

V další části pokusů jsme srovnali výsledky, které jsme dosáhli u cereových kmenů, s výsledky pokusů za použití některých kmenů enterobakterií, za týchž experimentálních podmínek, s tím jediným rozdílem, že kultury byly zahřívány na nižší teploty.

S. typhimurium

40 °C — 30 minut. V zahřáté suspenzi bylo asi 900 miliónů živých bakteriálních buněk. U očkovaných morčat se objevila za dvě hodiny po inokulaci lehká malátnost, která záhy vymizela. Pouze jedno zvíře ze skupiny zašlo za 14 hodin po inokulaci. V dutině břišní bylo nalezeno cca 2 ml zkalené červeno-hnědé tekutiny.

45 °C — 30 minut. V zahřátém inokulu bylo stanoveno asi 700 miliónů živých bakteriálních buněk. Po dvou hodinách se objevily lehčí příznaky malátnosti, které po několika hodinách odezněly a pokusná zvířata zůstala čilá.

50 °C — 30 minut. Zahřátá kultura obsahovala asi 400 miliónů živých bakteriálních buněk. Mírná malátnost se dostavila za tři hodiny, ale po několika hodinách mizela a morčata zůstala čilá.

60 °C — 30 minut. V zahřáté suspenzi nebyla prokázána přítomnost živých bakteriálních buněk. Přechodná malátnost pokusných zvířat mizí po několika hodinách.

Podobně probíhaly pokusy s ostatními kmeny salmonel. Obecně při zahřátí kultury na 60 °C po dobu 30 minut jsme nezjišťovali v inokulu už žádné živé bakteriální buňky.

Citrobacter

40 °C — 30 minut. V zahřáté kultuře je asi 960 miliónů živých bakteriálních buněk. U očkovaných morčat se objevily příznaky onemocnění za jednu až dvě hodiny. Malátnost se stupňovala a k exitu došlo za pět až osm hodin po inokulaci. V dutině peritoneální typický nález 4–8 ml zkalené, mírně krvavé tekutiny.

45 °C — 30 minut. Bakteriální suspenze obsahovala asi 650 miliónů živých bakteriálních buněk. Za dvě až tři hodiny se dostavily příznaky malátnosti, která trvala v mírné formě po řadu hodin. Po odeznění se morčata zotavila a zůstala už čilá, kromě dvou, u nichž se příznaky onemocnění stupňovaly a která zašla za 8 až 12 hodin po inokulaci. V dutině peritoneální bylo 4–6 ml lehce zkalené narůžovělé tekutiny.

50 °C — 30 minut. V zahřáté kultuře je asi 400 tisíc živých bakteriálních buněk. Očkovaná pokusná zvířata zůstala buď bez klinické odezvy, anebo se u nich dostavila lehká krátkodobá malátnost. Pouze u jednoho morčete se tato malátnost stupňovala až k exitu, který nastal za 25 hodin po inokulaci. V dutině peritoneální jsme našli 4 ml lehce zkalené narůžovělé tekutiny.

Při zahřátí na 60 °C — 30 minut a vyšší teplotu neobsahovala kultura živé bakteriální buňky a inokulum už nevyvolávalo klinickou odezvu pokusných zvířat.

E. coli 5368 (hemolytická)

40 °C — 30 minut. V zahřátém inokulu je asi 580 miliónů živých bakteriálních buněk. Klinické příznaky se dostavily za dvě hodiny, k exitu došlo za tři až čtyři hodiny. V dutině peritoneální bylo cca 6–8 ml krvavé tekutiny.

45 °C — 30 minut. Bakteriální suspenze obsahuje asi 350 miliónů živých buněk. Za dvě hodiny se dostavila malátnost, která se stupňovala. K exitu došlo za pět až šest hodin. V dutině peritoneální bylo asi 5–6 ml krvavé tekutiny.

50 °C — 30 minut. V zahřáté kultuře je asi 20 miliónů živých zárodků. Očkovaná morčata byla zpočátku lehce malátná, později bez klinických příznaků.

60 °C — 30 minut. V zahřátém inokulu nebyly zjištěny živé zárodky. Očkovaná morčata byla krátkodobě mírně malátná, pak bez klinické odezvy.

70 °C — 30 minut. Obdobný výsledek.

E. coli 5356 (nehemolytická)

40 °C — 30 minut. Zahřátá suspenze obsahuje asi 650 miliónů živých buněk. Lehčí malátnost se dostavuje za dvě hodiny, později se stupňuje a exitus nastává za 8 až 12 hodin. V dutině peritoneální 11–14 ml sanguinolentní tekutiny.

45 °C — 30 minut. V inokulu je asi 380 miliónů živých bakteriálních buněk. Lehká malátnost se dostavila za dvě hodiny, výrazná za šest hodin. Exitus nastal za 10 až 16 hodin. V dutině peritoneální 3–8 ml zkalené lehce krvavé tekutiny.

50 °C — 30 minut. V kultuře je asi 10 miliónů živých bakteriálních buněk. Inokulovaná morčata po krátkodobé mírné malátnosti zůstávají čilá.

V kultuře zahřáté na 60 °C — 30 minut nebyly žádné živé buňky *E. coli*. Naočkovaná morčata zůstala bez klinické odezvy.

Údaje o poměrně malé odolnosti mladé kultury použitých kmenů enterobakterií k zahřátí, vyjádřené počtem přeživších bakteriálních buněk, jsou uvedeny v přehledné tabulce III a toxická aktivita těchto suspenzí v tab. IV.

Z uvedených výsledků je patrné, že pětihodinová kultura enterobakterií je při teplotách do 60 °C citlivější k působení teploty než stejně stará kultura

III. Počet živých bakteriálních buněk v zahřátém inokulu mladé kultury některých enterobakteriaceí

Kmen	Počet živých mikrobů při teplotě (°C) a době expozice (min)				
	40°–30'	45°–30'	50°–30'	50°–60'	60°–30'
<i>S. typhimurium</i>	900 M	700 M	400 M	3 M	0
<i>S. cholerae suis</i>	700 M	350 M	180 M	20 M	0
<i>S. bareilly</i>	800 M	450 M	240 M	6 M	0
<i>Citrobacter</i>	960 M	650 M	460 T	0	0
<i>E. coli</i> 5368	580 M	350 M	20 M	600 T	0
<i>E. coli</i> 5356	650 M	380 M	10 M	300 T	0

M = milión; T = tisíc

IV. Letální aktivita zahřáté kultury některých enterobakteriaceí

Kmen	Teplota (°C) a doba expozice (min)			
	40° – 30'	45° – 30'	50° – 30'	60° – 30'
		exitus za hodin		
<i>S. typhimurium</i>	—*)	—	—	—
<i>S. cholerae suis</i>	—	—	—	—
<i>S. bareilly</i>	—	—	—	—
<i>Citrobacter</i>	5—6	8—12	—	—
<i>E. coli</i> 5368	3—4	5—6	—	—
<i>E. coli</i> 5356	6—10	8—15	—	—

*) Jedno morče ze skupiny zašlo za 14 hodin po inokulaci s typickým nálezem v dutině peritoneální.

cereová. Úlohu zde může hrát vyšší stabilita koloidů, která je druhově specifická, podmíněná vyšším podílem vázané vody v protoplazmě a vyšším obsahem mastných kyselin. U kultur přežívajících var musí hrát roli i přítomnost spór, vytvořených mechanismem endotrofní sporulace.

Výsledky uvedené v tab. IV nasvědčují tomu, že zahřáté kultury uvedených enterobakterií ztrácejí podstatně dříve svou toxickou aktivitu než stejně stará populace kmenů cereových. Zatímco u všech těchto kmenů byla při zahřátí kultury na 60 °C letální aktivita ještě plně zachována, nebyla u všech použitých kmenů enterobakterií (včetně kmenů *E. coli*) při zahřátí na 50 °C zaznamenána v testu letality na morčatech žádná toxická aktivita. Tento nález je jistě pozoruhodný a bylo by třeba jej prověřit na větším počtu kmenů.

DISKUSE

Analyzujeme-li experimentálně získané výsledky, je třeba účinek intraperitoneálně podané cereové kultury pokusným zvířatům posuzovat zvlášť u kultur skládajících se převážně jen z vegetativních forem, zvlášť u suspenzí, ve kterých

prežily jen spóry bez podstatného snížení klíčivosti a konečně zvláště u kultur, u kterých již pravděpodobně došlo k poškození klíčivosti spór a komponenty vyvolávající šok. Mladá kultura několika namátkově vybraných cereových kmenů si uchovala v pokusech na vnímavých zvířatech ještě po relativně vysokém zahřátí svou letální aktivitu, vyjádřenou primárním šokem. Při zahřátí suspenze v rozsahu do 60 °C se uplatňují svým účinkem z převážné části vegetativní formy. U suspenzí zahřátých na vyšší teplotu je kultura zastoupena výhradně spórami, jejichž klíčivosti se stoupající teplotou postupně ubývá. U teplot vyšších než 100 °C dochází i k jejich usmrcení a současně se s největší pravděpodobností narušuje také toxická složka vyvolávající šok.

Kultury zahřáté na 60 a 70 °C vykazovaly výsledky velmi si podobné. U suspenzí zahřátých na 80 až 100 °C se ubývání klíčivosti spór projevovalo pozvolným prodlužováním doby exitu pokusných zvířat. Se zřetelem k tomu, že somatické antigeny spór jsou odlišné od somatických antigenů vegetativních buněk a protože pokusná zvířata reagovala na inokulaci spor obdobně jako na vpravení vegetativních buněk, bylo možno předpokládat, že spóry v organismu vyklíčily. V pokuse s vysporulovanou kulturou cereového kmene C 19, podanou intraperitoneálně morčatům v dávce 10^{10} , jsme pozorovali exitus šokem za 6 až 10 hodin. V dutině peritoneální jsme našli ještě hojně spór. Protrahovanější účinek spórové suspenze souvisel pravděpodobně s tím, že poměrně značná část spór ještě nevyklíčila. Kultury zahřáté nad 100 °C se skládaly převážně z usmrcených spór a vyznačovaly se ztrátou schopnosti vyvolávat letální šok. Pouze v několika případech zůstalo relativně velmi malé množství přežívajících a klíčení schopných spór (3—8 tisíc). Avšak i takové inokulum bylo ještě schopné vyvolat letální šok, ale už značně protrahovanější.

Za vyvolavatele šoku je třeba považovat nejen buňky přežívající tepelný šok, ale i somatické, relativně termostabilní antigeny usmrcených buněk. Narušení složky vyvolávající šok působením tepla se projevuje snížením toxicity, popřípadě její úplnou ztrátou. Zahřátí kultury nad 100 °C už při krátké časové expozici vede k úplné ztrátě schopnosti vyvolávat letální šok, anebo dochází k exitu po značně protrahované inkubační době.

U suspenzí zahřátých na 80 až 100 °C se ubývání klíčivosti spór projevovalo vitu při zahřátí kultury do 45 °C pouze *Citrobacter* a oba kmeny *E. coli*. Zejména *E. coli* 5368 se svým účinkem podobala šokové aktivitě cereového kmene C 19. Avšak už zahřátí kultury na 50 °C mělo za následek také u tohoto hemolytického kmene *E. coli* ztrátu toxické aktivity, projevující se ztrátou schopnosti vyvolat u vnímavých zvířat šok, zatímco populace všech v pokuse použitých cereových kmenů, zahřátá na teplotu do 60 °C, vykazovala ještě úplnou letální šokovou aktivitu. Tento výrazný rozdíl v toxické aktivitě lze jen stěží vysvětlit tím, že by zahřátím kultury na 50 °C po dobu 30 minut došlo k tak značnému narušení lipopolysacharidového komplexu, které by vedlo ke ztrátě šokové aktivity. Rozdíl v šokovém účinku zahřátých kmenů cerea a enterobakterií lze vysvětlit hlavně tím, že z cereové populace přežívá mnohem více buněk. Zvýšenou snášenlivost cereových kmenů k účinku teploty potvrzuje ve svých pokusech také Strukova (1967).

Experimentálně získané výsledky nasvědčují tomu, že zahřátím na určitou teplotu ztrácí kultura svou toxicitu, projevující se letálním šokem na vnímavých zvířatech. V našich pokusech u enterobakterií to bylo už při 50 °C, u aerobních sporulujících mikrobů až při teplotě nad 100 °C.

Je zřejmé, že výraznou šokovou aktivitou se vyznačuje živá kultura. Z výsledků našich pokusů lze usuzovat, že pro použité cereové kmeny se pohybovala

kritická mez pro vyvolání typického a časově limitovaného letálního šoku při parenterální aplikaci v rozsahu asi mezi 10^5 a 10^6 živých buněk. Tato mez bude jistě dosti pohyblivá a bude záviset také na aktuální aktivitě mikrobiálního kmene a na individuální citlivosti organismu. Pozoruhodné je však poznání, že směsí živé kultury s usmrcenými buňkami lze vyvolat letální šok snáze, než stejnou dávkou živé kultury.

Tyto poznatky by bylo třeba doplnit pokusy provedenými cestou perorální, aby byl osvětlen význam *B. cereus* pro vznik alimentárních onemocnění.

Technická spolupráce: Jan K u b e š.

Literatura

- IVANOV M. M., DAČEVIČ L. J., 1964, Opredeľenie živých i mrtvých spor sibirsko-jazy. Trudy GNKI vet. prep. 12 : 171-173.
- PATOČKA F., 1934, Experimentální studie o patogenních možnostech mikrobů podobných bacilu antraxu. Monografie. Nakl. české akademie věd a umění, Praha.
- PROKŮPEK K., 1972, Letální šok vyvolaný živou kulturou *Bacillus cereus*. Vet. Med. (Praha) 4 : 225-232.
- SEDLAK J., RISCHE H., 1961, Enterobacteriaceae - Infektionen. Verl. G. Thieme, Leipzig.
- STRUKOVA L. M., 1967, *Bac. cereus* kak vozmožnyj vozбудitel piščevykh otravlenij i jeho biologičeskaja charakteristika. Tr. Leningr. inst. epid. mikrobiol. 32 : 112-119.
- UEMURA H., 1914, Untersuchungen über Milzbrandähnliche Bacillen. Zentbl. Bakt. I. Abt. Orig. 75 : 21-35.

Došlo dne 10. 2. 1972

PROKŮPEK K. (Bioveta, Ivanovice na Hané, Českoslovakia). Toksické působení podohřáté kultury *Bacillus cereus*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 551-559, 1972.

V ходе опытов на восприимчивых животных при парентеральной (внутрибрюшной) инокуляции было установлено, что летальная активность живой молодой популяции *B. cereus* слабеет по мере степени нагрева в связи с сокращающимся количеством живых клеток. Так как (согласно обычным представлениям) носителем шокового действия является липополисахарид, мы ожидали, что и после девитализации популяции *cereus* путем нагрева масса умерщвленных клеток сохраняет большую часть своей первоначальной шоковой активности. Путем нагрева умерщвленной культуры не только, что не удалось вызвать летального шока, но исчезла в то же время и способность управления клинически проявляющейся афекцией. Этот неожиданный результат мы приписывали вмешательству температуры в структуру действующего комплекса, что вызвало, по всей вероятности, ослабление или и полное прекращение активности, причиняющей шок.

B. cereus; подогретая культура; шоковая активность

PROKŮPEK K. (Bioveta, Ivanovice na Hané, Czechoslovakia). The Toxic Effect of a Warmed *Bacillus cereus* Culture. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 551-559, 1972.

It was revealed in trials with parenteral (intraperitoneal) inoculation performed in susceptible animals that the lethal activity of the live young population of *B. cereus* decreased with the degree of heating, in relation with the decreasing number of living cells. Due to the common view that lipopolysaccharid was the carrier of the shock effect we expected the mass of dead cells to save a larger part of its original shock activity, even after the heating devitalization of the *cereus* population. The culture, killed by heat, not only produced no lethal shock but at the same time it entailed the extinction of the ability to produce clinical affection. This unexpected result we ascribed to the interfering effect of temperature on the structure of the effective complex which probably reduced or totally removed the activity producing the shock.

B. cereus; warmed culture; shock activity

PROKŮPEK K. (Bioveta, Ivanovice na Hané, Tschechoslowakei). *Toxischer Effekt der erwärmten Kultur des Bacillus cereus*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 551-559, 1972.

In Versuchen auf empfindlichen Tieren wurde bei einer parenteralen (intraperitonealen) Inokulation festgestellt, daß die Letalaktivität der lebendigen jungen Population des *B. cereus* mit dem Grad der Erwärmung in Relation mit der sich vermindernenden Anzahl lebendiger Zellen zurückgeht. Da, den üblichen Vorstellungen gemäß, das Lipopolysaccharid der Träger der Schockwirkung ist, haben wir erwartet, daß auch nach der Devitalisierung der *Cereus*-Population durch Erwärmung die Masse der getöteten Zellen mindestens den größeren Teil ihrer ursprünglichen Schockaktivität behalten wird. Mit der durch Erwärmung getöteten Kultur ist es nicht nur nicht gelungen einen letalen Schock hervorzurufen, sondern gleichzeitig verschwand auch die Fähigkeit eine klinisch sich bemerkbar machende Affektion hervorzurufen. Dieses unerwartete Ergebnis haben wir dem störenden Eingriff der Temperatur in die Struktur des wirksamen Komplexes zugeschrieben, wodurch wahrscheinlich eine Verminderung, bzw. vollkommene Verschwindung der den Schock hervorrufenden Aktivität verursacht wurde.

B. cereus; erwärmte Kultur; Schockaktivität

Adresa autora:

MVDr. K. Prokůpek, CSc., Bioveta, Ivanovice na Hané

NEUROBIOLOGY OF INVERTEBRATES

Vyd.: Akadémiai Kiadó, Budapest, 1968; 501 str.

Kniha je souborem referátů ze Symposia pořádaného Biologickým výzkumným ústavem maďarské Akademie věd v Tihány v roce 1967. Obsahuje práce předních světových odborníků z oblasti neurobiologie červů, měkkýšů, korýšů a hmyzu. Je rozvržena do čtyř oddílů. První část obsahuje práce neuromorfologické, zahrnující submikroskopickou stavbu, cytochemii a histochemii. Druhá část obsahuje referáty týkající se biofyzikálních a farmakologických procesů, probíhajících na buněčné úrovni. Třetí část se zabývá specifickými problémy aktivních substancí a enzymů v nervovém systému a srdci. Čtvrtá část je věnována referátům o neurální integraci, speciálně problémům o chování živočichů.

Všechny příspěvky obsahují mnoho dokumentačního materiálu, grafy, mikro-fotografie, schémata a tabulky. Za každou prací je uveden seznam literatury a na závěr jsou zachyceny diskusní otázky ze Symposia a odpovědi autora. Soubor těchto prací je cenným přínosem na poli neurobiologie bezobratlých živočichů.

J. Crha

LYZYLARYLAMIDÁZOVÁ AKTIVITA V KRVNÝCH SÉRACH DOMÁCIH ZVIERAT

M. Molnárová, M. Bartík, A. Šamo

Vysoká škola veterinárska, Ústav biochémie a toxikológie, Košice

MOLNÁROVÁ M., BARTÍK M., ŠAMO A. *Lyzylylarylamidázová aktivita v krvných sérach domácich zvierat*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 561-568, 1972.

Zisťovali sa normálne aktivity sérových lyzylylarylamidáz (enzýmov štiepiacich L-lyzyl-p-nitroanilid) u domácich zvierat a žien. V sérach oviec, prasiat, kráv, koní a žien sa stanovili nasledujúce priemerné aktivity: 11,4; 9,6; 2,3; 1,9 a 6,0 U (30 °C). Previedli sa niektoré kinetické štúdiá. pH optimum sérových enzýmov štiepiacich L-lyzyl-p-nitroanilid v Tris/HCl pufoch je 7,5. Hodnoty K_m nepurifikovaných enzýmov ovčieho, prasačieho, kravského a konského séra sú nasledovné: $2,58 \cdot 10^{-4}$; $2,25 \cdot 10^{-4}$; $7,50 \cdot 10^{-4}$ a $9,25 \cdot 10^{-4}$ M. Lyzylylarylamidázy vykazovali stabilitu počas 120 minút inkubácie pri 25 °C a v rozmedzí pH 6 až 8. Zisťovala sa tiež teplotná stabilita sérových lyzylylarylamidáz pri 50 a 60 °C a závislosť aktivity na inkubačnej teplote v rozmedzí 0° až 60 °C. Elektroforézou na polyakrylamidovom géli sme detekovali tri enzymatické frakcie hydrolyzujúce L-lyzyl-p-nitroanilid. Aktivita sérových lyzylylarylamidáz po aplikácii CCl_4 ovciam (per os 0,5 ml/kg ž. v.) vzrastala. Maximálna aktivita sa zistila 24 hodín po aplikácii. Pri elektroforetickom rozdelení enzýmov na polyakrylamidovom géli zvyšovala sa tretia, najpomalejšie putujúca frakcia.

arylamidázy; otrava CCl_4 ; enzymatická diagnostika

Úlohou tejto práce, ktorá nadväzuje na predchádzajúce zdelenia (Bartík, Blahovec 1971; Blahovec, Blahovcová, Bartík 1971; Bartík, Michnová 1971; Šamo, Bartík 1972), je sledovať štiepenie L-lyzyl-p-nitroanilidu enzýmami krvných sér niektorých druhov domácich zvierat a pokúsiť sa o predbežnú charakteristiku enzýmov zodpovedných za túto hydrolyzu. Enzýmy, ktoré hydrolyzujú L-lyzyl-p-nitroanilid, nazývame v texte lyzylylarylamidázami, i keď niekedy sú v literatúre označované ako aminopeptidáza B (Hopsu a kol. 1966, 1968).

MATERIÁL A METÓDY

BIOLOGICKÝ MATERIÁL

Ako zdroj enzýmu sme použili krvné séra klinicky zdravých oviec, hovädzieho dobytku, ošípaných a koní. Krvné séra boli skladované v chladničke pri 0° až 4 °C a spravované najneskôr do 24 hodín po odbere krvi.

ROZTOKY

- 10^{-1} M L-lyzyl-p-nitroanilid . 2 HBr v destilovanej vode;
- 0,1 N HCl (pre zastavenie reakcie okyslením);
- 0,05 M Tris-HCl pufer pH 7,5;

d) univerzálne pufré podľa Britton-Welforda (Biochem. Handbook, London 1961);

e) 0,1 M fosfátový pufré pH 7,5.

METÓDY

Stanovenia aktivity sérových arylamidáz štiepiacich L-lyzyl-p-nitroanilid sme prevádzali fotometricky na spektrálnom fotometri SF-D-2 (ZSSR) meraním množstva p-nitroanilínu, uvoľneného hydrolýzou.

Podmienky: dĺžka vlny 400 nm, extinkčný molárny koeficient p-nitroanilínu $\epsilon_{400\text{nm}} = 10\,900\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$, hrúbka kvety $d = 1\text{ cm}$, merania extinkcií (A) eproti slepej vzorke, doba inkubácie 60 minút pri teplote 30°C , výsledná koncentrácia substrátu v inkubačnej zmesi $[S] = 10^{-2}\text{ M}$.

Inkubačný roztok: 0,7 ml (c) + 0,2 ml séra + 0,1 ml (a). Po 60 min. inkubácie sme reakciu zastavili pridaním 0,5 ml (b) a merali extinkciu (A_1).

Slepý (kontrolný) roztok: 0,7 ml (c) + 0,2 ml séra + 0,5 ml (b) + 0,1 ml (a). Odmeria sa extinkcia (A_2).

Výpočet jednotiek aktivity U:

$$U(30^\circ\text{C}) = \frac{\Delta A}{\epsilon \cdot d} \cdot 10^6 \cdot \frac{V_k}{V_a} \cdot \frac{1}{t} = 11,5 \cdot \Delta A$$

kde

ΔA — rozdiel extinkcií $A_1 - A_2$

$\epsilon_{400\text{ nm}}$ — $10900\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$

d — 1,00 cm

V_k — konečný objem (= 1,5 ml)

V_a — objem analyzovanej vzorky (= 0,2 ml)

t — doba inkubácie (= 60 min)

Elektroforetické delenie enzýmov hydrolyzujúcich L-lyzyl-p-nitroanilid sme prevádzali metódou podľa Ornsteina a Davisa (1962) v 7% polyakrylamidovom géli v Tris-glycínovom pufrí pH 8,3, pri 5 mA na jednu trubičku po dobu 75 minút. Detekciu bielkovín sme prevádzali vyfarbením v 1% roztoku amidočerne 10 B v 7% kyseline octovej. Lokalizáciu enzymatickej aktivity sme prevádzali podľa Mäkinena a Raekalia (1969). Stĺpce gélu sme prične rozrezali na 1,5 mm dieliky a jednotlivu preniesli do skúmaviek s 0,1 M fosfátovým pufróm, pH 7,5. Elúcia enzýmu prebiehala 24 hodín. Potom sme inkubovali takto vyeluovaný enzým s roztokom L-lyzyl-p-nitroanilidu 5 hodín pri 30°C . Koncentrácie substrátov v inkubačných zmesiach boli $5 \cdot 10^{-3}\text{ M}$. Množstvo uvoľneného p-nitroanilínu sme merali pri 400 nm.

Kontrolu pH inkubačných roztokov sme prevádzali na pH-metri LP 58 (ZSSR) sklenenou elektródou.

Zmeny oproti uvedeným údajom a pracovným postupom, pokiaľ to vyžadovala povaha skúmaných závislostí, uvádzame v ďalšom texte alebo pri obrázkoch.

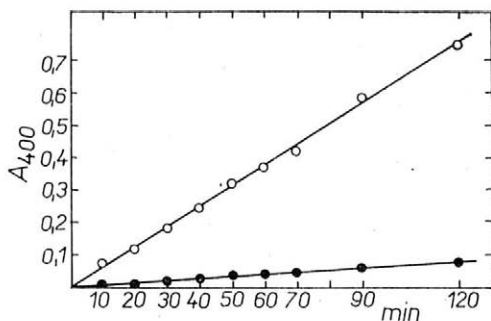
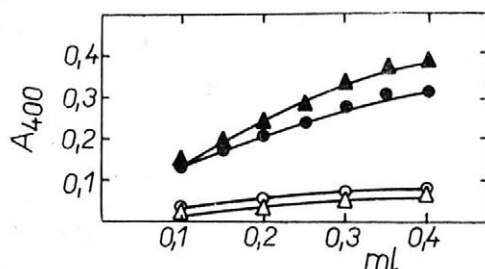
VÝSLEDKY

VPLYV KONCENTRÁCIE ENZÝMU NA HYDROLÝZU SUBSTRÁTU

Priebeh hydrolýzy L-lyzyl-p-nitroanilidu v závislosti na množstve enzýmu je na obr. 1. Množstvo enzýmu je vyjadrené v ml použitého séra v 1 ml inkubačnej zmesi. pH inkubačnej zmesi bolo 7,6. Použili sme štyri druhy zmesných sér, a to ovčie, prasačie, kravské a konské.

HYDROLÝZA SUBSTRÁTU V ZÁVISLOSTI NA DOBE INKUBÁCIE

Sledoval sa vzrast aktivít sérových arylamidáz štiepiacich L-lyzyl-p-nitroanilid v 10-minútových intervaloch. Výsledky sú znázornené na obr. 2.



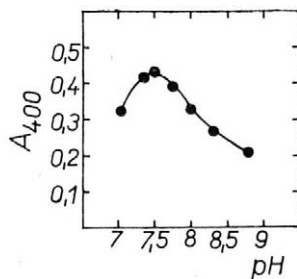
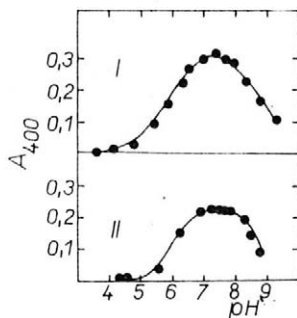
1. Priebeh hydrolyzy L-lyzyl-p-nitroanilidu v závislosti na množstve enzýmu. Množstvo enzýmu v 1 ml inkubačnej zmesi je vyjadrené v ml použitého séra od štyroch druhov zvierat. Extinkcia pri 400 nm udáva množstvo hydrolyzou uvoľneného p-nitroanilínu

2. Závislosť hydrolyzy substrátu na dobe inkubácie

Z priebehu hydrolyzy pri koncentrácii enzýmu, aj zo závislosti na čase sme sa presvedčili, že zvolené množstvá enzýmu (0,2 ml séra) a inkubačná doba (30 a 60 min) v našom pracovnom postupe vyhovujú metodickým požiadavkám.

RÝCHLOSŤ HYDROLÝZY SUBSTRÁTU V ZÁVISLOSTI NA pH

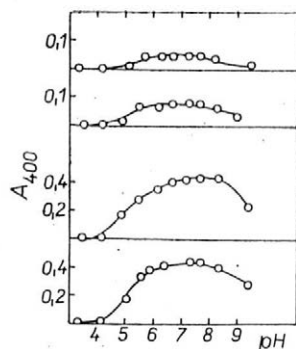
Sledovala sa závislosť hydrolyzy sérových lyzylarylamidáz u štyroch druhov hospodárskych zvierat na pH, a to u oviec, hovädzieho dobytku, ošípaných a koní. V rozmedzí pH 3,5 až 9,3 inkubácia sa diala v univerzálnom pufrí a v rozmedzí pH 7,05 až 8,7 v Tris-HCl pufrí. Hodnoty pH, uvedené na obr. 3 a 4, predstavujú namerané hodnoty pH v inkubačných roztokoch. Maximálna hydrolyza substrátu bola v rozmedzí pH 7,4 – 7,6.



3. Vplyv pH na rýchlosť hydrolyzy L-lyzyl-p-nitroanilidu sérových enzýmov ošípaných (1) a oviec (2). Použitý bol univerzálny pufer podľa Brittona, Welforda

4. Vplyv pH na rýchlosť hydrolyzy L-lyzyl-p-nitroanilidu sérovými enzýmami oviec. Použitý bol Tris-HCl pufer

STABILITA ENZÝMOV V ZÁVISLOSTI NA pH



Sledovali sme stabilitu arylamidáz štiepiacich L-lyzyl-p-nitroanilid v prostredí o rôznom pH. Pripravili sme zmesi sér a pufov v pomere 1 : 1 o rôznom pH, inkubovali tieto 120 minút pri 25 °C a potom stanovili aktivity lyzylarylamidáz obvyklým spôsobom. Závislosti sú uvedené na obr. 5.

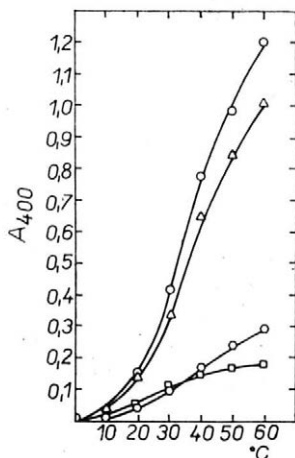
5. Stabilita sérových lyzylarylamidáz v prostredí o rôznom pH

ZÁVISLOSŤ AKTIVITY ENZÝMU NA KONCENTRÁCII SUBSTRÁTU A HODNOTY K_m

Vzťah medzi koncentráciou substrátu a rýchlosťou hydrolýzy L-lyzyl-p-nitroanilidu sérovými aminopeptidázami sa sledoval pri pH 7,5 a teplote 25 °C. V inkubačnej zmesi boli nasledovné koncentrácie substrátu: 10^{-4} M, $2 \cdot 10^{-4}$ M, $3 \cdot 10^{-4}$ M, $5 \cdot 10^{-4}$ M a 10^{-3} M. Výpočet K_m sme previedli grafickým postupom podľa Lineweavera a Burka (1934) a získané hodnoty sú uvedené v tab. I.

I. Hodnoty K_m pre sérové lyzylarylamidázy

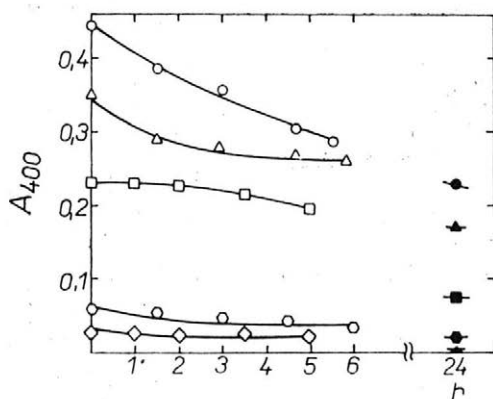
Sérové enzýmy	K_m
Ovčie	$2,58 \cdot 10^{-4}$
Prasacie	$2,25 \cdot 10^{-4}$
Konské	$9,25 \cdot 10^{-4}$
Hovädzie	$7,50 \cdot 10^{-4}$



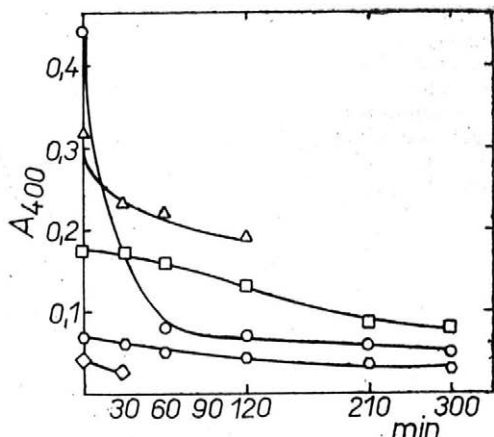
ZÁVISLOSŤ AKTIVÍT SÉROVÝCH LYZYLARYLAMIDÁZ NA INKUBAČNEJ TEPLOTE A ICH TEPLOTNÁ STABILITA

Vplyv inkubačnej teploty na aktivitu sérových arylamidáz štiepiacich L-lyzyl-p-nitroanilid sme sledovali v rozmedzí teplôt 0° až 65 °C. Pri teplotách nad 60 °C sa objavovali zákaly, preto hodnoty neuvádzame (obr. 6). Sledovali sme tiež teplotnú stabilitu týchto enzýmov zahrievaním zmesných sér pri 50 až 60 °C. Získané závislosti uvádzajú obr. 7 a 8.

6. Závislosť aktivít sérových lyzylarylamidáz na inkubačnej teplote u rôznych druhov zvierat



7. Stabilita sérových lyzylarylamidáz pri 50 °C



8. Teplotná stabilita sérových lyzylarylamidáz pri 60 °C

AKTIVITY SÉROVÝCH LYZYLARYLAMIDÁZ U ZDRAVÝCH ZVIERAT

Určili sme celkové aktivity enzýmov v sérach klinicky zdravých zvierat, a to u 30 oviec, 30 ošípaných, 30 koní, 30 kráv a pre porovnanie aj u 30 žien. Zistené aktivity enzýmov štiepiacich L-lyzyl-p-nitroanilid u rôznych druhov domácich zvierat sú vyjadrené v mikromóloch uvoľneného p-nitroanilínu/1000 ml séra za min. pri 30 °C (tab. II). Individuálne stanovenia aktivít sa neprieviedli pre nedostupnosť väčšieho množstva substrátu, a preto získané hodnoty sú len informatívne.

III. Aktivity sérových lyzylarylamidáz u niektorých druhov hospodárskych zvierat a žien

Druh séra	Počet jedincov	Aktivita (U)
Ovčie	30	11,4
Prasačie	30	9,6
Hovädzie	30	2,3
Konské	30	1,9
Ženské	30	6,0

PRIEBEH ZMIEN AKTIVÍT SÉROVÝCH ARYLAMIDÁZ PO APLIKÁCIÍ CHLORIDU UHLIČITÉHO U OVIEC

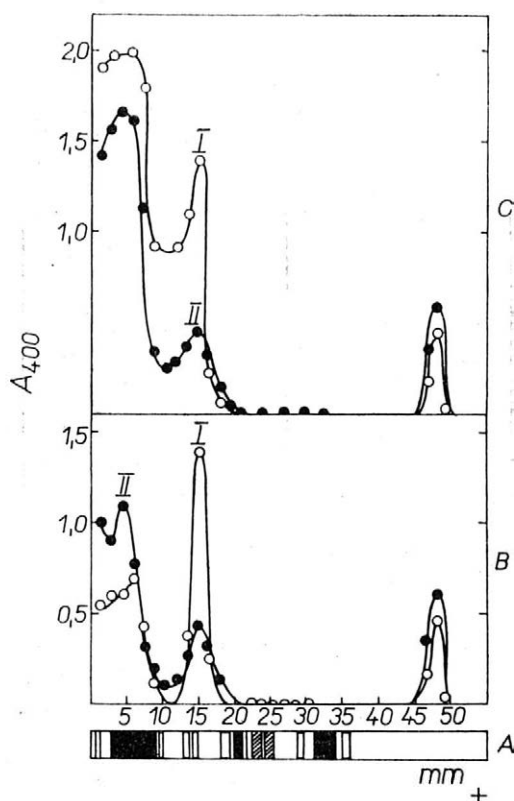
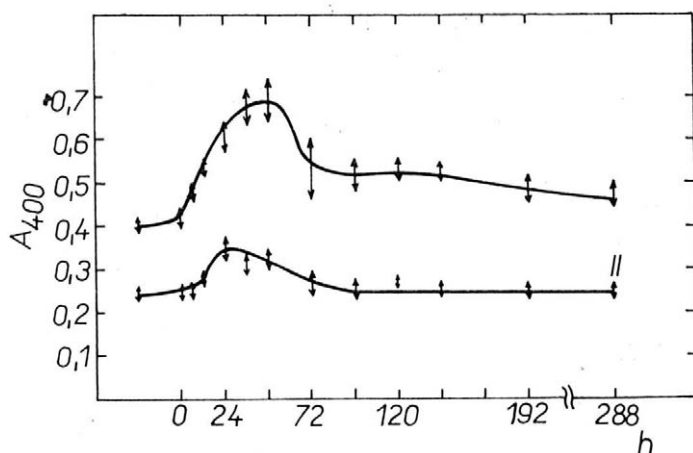
V krvných sérach oviec, ktorým bol perorálne aplikovaný CCl_4 v množstve 0,5 ml/kg ž. v., stanovovali sa celkové aktivity enzýmov štiepiacich L-leucyl-p-nitroanilid a L-lyzyl-p-nitroanilid. Závislosť aktivity na dobe inkubácie po podaní CCl_4 uvádza obr. 9.

U tých istých zvierat stanovovali sa tiež aktivity uvedených enzýmov po rozdelení elektroforézou na polyakrylamidovom géli. Detekovali sme tri frakcie štiepiace L-lyzyl-p-nitroanilid a tiež tri frakcie štiepiace L-leucyl-p-nitroanilid. Po podaní CCl_4 ovciám sa zvyšuje aktivita tretej frakcie s leucylarylamidázovou aktivitou a tretej frakcie s lyzylarylamidázovou aktivitou. Pozorovali jsme prioritné časové zvýšenie u frakcie lyzylarylamidázy s maximom po 24 hod. oproti leucylarylamidázovej aktivite s maximom po 48 hod. po aplikácii CCl_4 . Po kvantitatívnej stránke sa frakcia s aktivitou k L-lyzyl-pNA zvýši len asi 1,6krát, oproti tomu frakcia s aktivitou k L-leu-pNA sa zvýši približne 5krát. Elektroforetické rozdelenie enzýmových aktivít je znázornené na obr. 10. Z obrázku sú vidieť tiež rozdiely v elektroforetickej mobilite.

9. Priebeh zmien aktivít sérových arylamidáz po perorálnej aplikácii CCl_4 u oviec

I — priebeh aktivít sérových leucylarylamidáz

II — priebeh aktivít sérových lyzylarylamidáz



10. Elektroforeogram arylamidázových frakcií ovčieho séra

A — bielkovinné spektrum

B — rozdelenie arylamidáz — stav pred podaním CCl_4

C — rozdelenie arylamidáz — stav po podaní CCl_4 (v čase maximálnej celkovej aktivity)

I — leucylarylamidázy

II — lyzylarylamidázy

DISKUSIA

Pri elektroforetických deleniach už v našich predchádzajúcich prácach (Š a m o, B a r t í k 1972) sme zistili signifikantné zvýšenie hladín sérových enzýmov hydrolyzujúcich L-leucyl-p-nitroanilid u oviec po perorálnom podaní CCl_4 . Elektroforézou na agare sme detekovali dve enzymatické frakcie, u ktorých aktivita pomalšie putujúcej frakcie sa zvyšovala 9násobne po aplikovaní toxikkej dávky CCl_4 . Výsledky dosiahnuté pri delení týchto enzýmov pomocou elektroforézy na polyakrylamidovom géli sú veľmi podobné a porovnateľné s pred-

chádzajúcimi. Rozdiel v počte detekovaných frakcií môže byť vysvetľovaný tým, že prvá (najrýchlejšia) frakcia, ktorá je relatívne ďaleko pred albumínami, je pravdepodobne nízkomolekulárnym fragmentom neurčenej povahy, ktorý javí hydrolytickú aktivitu k chromogénnym substrátom. Tento predpoklad potvrdzujú práce Schrama (1970) a Blahovca a kol. (1971), ktorí pri delení krvných sér na Sephadex G-200 zistili podobnú aktivitu v oblasti látok s malou molekulovou váhou. Elektroforetické štúdium enzýmov krvného séra hydrolyzujúcich L-leu-pNA a L-lyz-pNA, ako aj experiment so štúdiom aktivity po aplikácii CCl_4 ukazujú, že ide o dva rôzne enzýmy.

Sme si vedomí nedostatkov vznikajúcich pri kinetických štúdiách použitím celkového séra ako zdroja enzýmu a nie purifikovaného enzýmu. K takémuto prístupu nás viedla potreba predbežného štúdia a snaha po prispôbení metodík k praktickému klinickému použitiu. Práce so štúdiom vlastností purifikovaných enzýmov budú publikované na inom mieste.

Literatúra

- BARTÍK M., BLAHOVEC J., 1971, Arylamidázová aktivita v pečeni a ľadvinách hovädzieho dobytky — rozdelenie aktivity v subcelulárnych frakciách. *Vet. Med. (Praha)* 2 : 91-98.
- BARTÍK M., MICHNOVÁ E., 1971, Arylamidázová aktivita v krvných sérach domácich zvierat. *Vet. Med. (Praha)* 7 : 449-456.
- BLAHOVEC J., BLAHOVCOVÁ K., BARTÍK M., 1971, Arylamidázová aktivita v niektorých orgánoch kurčiat. *Vet. Med. (Praha)* 5 : 319-327.
- HOPPS V. K., MÄKINEN K. K., GLENNER G. G., 1966, Characterization of Aminopeptidase B: Substrate specificity and Affector Studies. *Arch. Biochem. Biophys.* 114 : 567-575.
- HOPPS V. K., MÄKINEN K. K., GLENNER G. G., 1968, Purification of a Mammalian Peptidase Selective for N-Terminal Arginine and Lysine Residues: Aminopeptidase B. *Arch. Biochem. Biophys.* 114 : 557-566.
- MÄKINEN K. K., RAEKALLIO I., 1969, Characterization on Four Arylaminopeptidase of Rat Skin. *Enzymologia* 36 : 93-110.
- ORNSTEIN L., DAVIS B. J., 1962, Disc electrophoresis (preprint publication distillation). Products Industries Eastman Kodak Co.
- SCHRAM A. C., 1970, Serum Proteins of the Domestic Goose *Anser Anser*. *Comp. Biochem. Biophys.* 32 : 81-87.
- ŠAMO A., BARTÍK M., 1972, Heterogenita arylamidáz štiepiacich L-leucyl-p-nitroanilid v krvných sérach hospodárskych zvierat. *Vet. Med. (Praha)* 4 : 243-248.

Došlo dne 10. 5. 1972

МОЛНАРОВА М., БАРТИК М., ШАМО А. (Ветеринарный институт, Институт биохимии и токсикологии, Кошице, Чехословакия). Лизилариламидазная активность сыворотки крови домашних животных. *Vet. Med. (Praha)* 17 (9) : 561-568, 1972.

У домашних животных и женщин определяли нормальную активность сывороточных лизилариламидаз ферментов, расщепляющих Л-лизил-п-нитроанилид. В сыворотках овец, свиней, коров, лошадей и женщин определяли следующие средние величины активности: 11,4; 9,6; 2,3; 1,9; 6,0 У (30 °C). Были осуществлены некоторые кинетические изучения; рН оптимум сывороточных ферментов, расщепляющих Л-лизил-п-нитроанилид в буферах Tris/HCl равняется 7,5. Величины K_m непурифицированных ферментов овечьей, свиной, коровьей и лошадиной сывороток следующие: $2,58 \cdot 10^{-4}$; $2,25 \cdot 10^{-4}$; $7,50 \cdot 10^{-4}$ и $9,25 \cdot 10^{-4}$ М. Лизилариламидазы были устойчивыми в течение 120 мин. инкубации при 25 °C примерно в пределах рН 6—8. Определяли также тепловую устойчивость сывороточных лизилариламидаз при 50 и 60 °C и зависимость активности от инкубационной температуры

в пределах 0° — 60°C . При помощи электрофореза на полиакриламидном геле мы обнаружили 3 ферментные фракции, гидролизующие L-лизил-p-нитроанилид. Активность сыровоточных лизилариламидаз после дачи CCl_4 овцам (пер ос 0,5 мл/кг ж. в.) возрастала. Максимальная активность обнаружена спустя 24 часа после дачи. При электрофоретическом распределении ферментов на полиакриламидном геле возрастала третья, наиболее медленно перемещающаяся фракция.

ариламидазы; отравление CCl_4 ; энзимная диагностика

MOLNÁROVÁ M., BARTÍK M., ŠAMO A. (University School of Veterinary Medicine, Institute of Biochemistry and Toxicology, Košice, Czechoslovakia). *Blood Serum Lysyl-Arylamidase Activity in Domestic Animals*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 561-568, 1972.

There was studied the normal blood serum lysylarylamidase activity (enzymes splitting L-lysyl-p-nitroanilide) in domestic animals and women. The medium values for ovine, porcine, bovine, equine and human serum are as follows: 11,4; 9,6; 2,3; 1,9 and 6,0 U (30°C). The investigations included also some kinetic studies. Optimum pH for blood serum enzymes breaking down L-lysyl-p-nitroanilide was found in a tris/HCL buffer with 7,5. The K_m values of not purified serum enzymes in sheep, pigs, cows and horses are: $2,58 \cdot 10^{-4}$; $2,25 \cdot 10^{-4}$; $7,50 \cdot 10^{-4}$ and $9,25 \cdot 10^{-4}$ M. The lysyl-arylamidas showed constancy during incubation for 120 minutes at a temperature of 25°C and pH vacillating in the range between 6—8. Temperature stability studies were made at 50 — 60° and the lysyl-arylamidase activities investigated from the aspect of their dependency on the incubation temperature ranging from 0° — 60°C . By the electrophoretic technique on polyacrylamide gel there were detected 3 enzymatic fractions hydrolyzing L-lysyl-p-nitroanilide. It has been observed that the serum lysyl-arylamidase activity increased in sheep having received *per os* administrations of CCl_4 in dosis of 0,5 ml/kg live weight. Maximum values of activity were registered 24 hours after the treatment. The electrophoretic separation of the enzymes on polyacrylamide gel revealed increasing values registered by the third and most slowly migrating fractions.

arylamidas; CCl_4 intoxication; enzymatic diagnostics

MOLNÁROVÁ M., BARTÍK M., ŠAMO A. (Veterinärmedizinische Hochschule, Institute für Biochemie und Toxikologie, Košice, Tschechoslowakei). *Lysylarylamidaseaktivität in den Blutserum von Haustieren*. Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 561-568, 1972.

Normale Aktivitäten der Serum-Lysylarylamidasen (der L-Lysyl-p-Nitroanilid spaltenden Enzyme) bei Haustieren und Frauen wurden ermittelt. In Seren von Schafen, Schweinen, Kühen, Pferden und Frauen wurden folgende durchschnittliche Aktivitäten festgestellt: 11,4; 9,6; 2,3; 1,9 und 6,0 U (30°C). Einige kinetische Studien wurden vorgenommen. Das Optimum des pH-Wertes der das L-Lysyl-p-Nitroanilid in Tris/HCl-Puffern spaltenden Enzyme beträgt 7,5. Die K_m -Werte der nicht purifizierten Enzyme des Schaf-, Schweine-, Kuh- und Pferdeserums sind die folgenden: $2,58 \cdot 10^{-4}$; $2,25 \cdot 10^{-4}$; $7,50 \cdot 10^{-4}$ und $9,25 \cdot 10^{-4}$ M. Lysylarylamidasen wiesen eine Stabilität während 120 Minuten der Inkubation bei 25°C , annähernd in einem Bereich von pH 6—8 auf. Man ermittelte auch die Wärmestabilität der Serum-Lysylarylamidasen bei 50 — 60°C und die Abhängigkeit der Aktivität von der Inkubationstemperatur in einem Bereich von 0° — 60°C . Mittels Elektrophorese auf Polyakrylamid-Gel erfaßten wir drei enzymatische Fraktionen, die das L-Lysyl-p-Nitroanilid hydrolysieren. Die Aktivität der Serum-Lysylarylamidasen stieg nach der Applikation von CCl_4 an Schafe (*per os* 0,5 ml/1 kg Lebendgewicht) an. Bei elektrophoretischer Verteilung der Enzyme auf Polyakrylamid-Gel erhöhte sich die dritte, am langsamsten migrierende Fraktion.

Arylamidasen; Vergiftung durch CCl_4 ; enzymatische Diagnostik

Adresa autorů:

MVDr. M. Molnárová, prof. MVDr. M. Bartík, MVDr. A. Šamo, Vysoká škola veterinárska, Košice, Komenského 71

HLADINY OXYTETRACYKLINU V KREVNÍM SÉRU U SLEPIC, KRŮT A HOLUBŮ PO APLIKACI OXYMYKOIN^R SPOFA PLV. SOLUB. AD USUM VET.

M. Dvořák, B. Ševčík, K. Plíšek

SPOFA, Výzkumné středisko pro veterinární léčiva, Jílové u Prahy

DVOŘÁK M., ŠEVČÍK B., PLÍŠEK K. *Hladiny oxytetracyklinu v krevním séru u slepic, krůt a holubů po aplikaci Oxymykoin^R SPOFA plv. solub. ad usum vet.* Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 569-575, 1972.

V pěti dílčích pokusech jsme sledovali hladiny oxytetracyklinu (OTC) v krevním séru slepic, krůt a holubů po orální aplikaci ve vodě rozpustného preparátu Oxymykoin^R SPOFA plv. solub. ad us. vet. (obsahuje 5% OTC HCl a 1% Septonexu). V pokusech na slepicích jsme zjišťovali sérové hladiny OTC po jednorázové aplikaci v dávkách 50 mg, 75 mg a 100 mg OTC HCl/kg ž. v. a po čtyřdenním podávání Oxymykoinu v 0,5%, 1% a 3% koncentraci v pitné vodě. Během podávání 0,5% roztoku jsme našli tyto účinné hladiny: 12. hod. (od začátku aplikace) — $0,44 \pm 0,30$; 24. hod. — $0,50 \pm 0,12$; 48. hod. — $0,40 \pm 0,08$; 72. hod. — $0,55 \pm 0,27$; 96. hod. — $0,33 \pm 0,15$ (údaje v μg OTC/ml). Dostatečně vysoké terapeutické hladiny (nad $0,3 \mu\text{g}$ OTC/ml) jsme zjistili v krevním séru u krůt, kterým byl podáván 1% roztok po dobu dvou dnů, ve 12. hod. — $1,06 \pm 0,24$; 24. hod. — $0,60 \pm 0,27$; 48. hod. — $0,34 \pm 0,12$ a u holubů po třídní aplikaci 4% roztoku Oxymykoin plv. solub. ve 24. hod. — $0,85 \pm 0,49$; 48. hod. — $0,53 \pm 0,24$ a 72. hod. — $0,46 \pm 0,14$. Ve všech pokusech byly roztoky Oxymykoin plv. solub. zvířatům velmi dobře přijímány.

Oxymykoin^R SPOFA plv. solub. ad. us. vet.; sérové hladiny; oxytetracyklin; slepice; krůty; holubi

V této práci navazujeme na předchozí sdělení (Dvořák, Ševčík, Plíšek 1972), ve kterém jsme popsali dynamiku sérových hladin oxytetracyklinu (OTC) v krevním séru u kuřat po aplikaci přípravku Oxymykoin^R SPOFA plv. solub. ad. us. vet.

V souvislosti s klinickým zkoušením tohoto preparátu jsme sledovali v pěti dalších dílčích pokusech výši sérových hladin OTC u slepic po jednorázové a čtyřdenní p. o. aplikaci (pokusy č. 1, č. 2 a č. 3), u krůt po dvoudenním (pokus č. 4) a u holubů po třídním podávání (pokus č. 5).

MATERIÁL A METODY

Složení použitého preparátu Oxymykoin^R SPOFA plv. solub. ad us. vet. v procentech:

oxytetracyklin hydrochlorid (OTC HCl)	5,0
Septonex	1,0
vehikulum (sacharóza, kyselina citrónová, solubilizační a antioxidační přísady)	do 100,0

Pokus č. 1

Slepice plemene LB ve stáří 13 měsíců, o průměrné váze 1,85 kg (1,55–2,20), jsme rozdělili do tří pokusných skupin po 10 kusech. Jednotlivým skupinám jsme aplikovali jednorázově *p. o.* (sondou do volete) 20%, 30% a 40% roztoky Oxymykoin^R *plv. solub.* v dávkách 50 mg, 75 mg, 100 mg OTC HCl/kg ž. v., všechny dávky v objemu 8 až 12 ml destilované vody podle individuální váhy slepic.

Vzorky krve na stanovení OTC jsme odebírali srdeční punkcí před aplikací, dále ve 3., 6., 12. a 24. hodině po aplikaci.

Pokusy č. 2 a č. 3

V pokuse č. 2 jsme slepice plemene LB ve stáří 12 měsíců, o průměrné váze 1,80 kg (1,45–2,10) rozdělili do dvou skupin po 12 kusech a aplikovali jsme jim *ad libitum* 1% a 3% roztok Oxymykoin *plv. solub.* v pitné vodě po dobu 96 hodin.

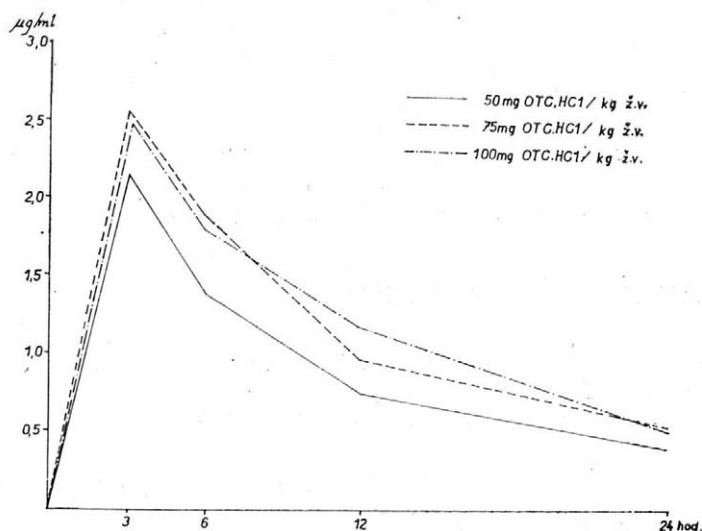
V pokuse č. 3 jsme 12 slepic plemene LB ve stáří 18 měsíců o průměrné váze 2,15 kg (1,90–2,40) aplikovali rovněž *ad libitum* 0,5% roztok Oxymykoin *plv. solub.* v pitné vodě po stejnou dobu. Vzorky krve jsme odebírali v obou pokusech srdeční punkcí před podáváním a dále ve 12., 24., 48., 72., 96. a 120. hodině od zahájení aplikace, vždy od osmi slepic z každé skupiny. Slepice v pokusech č. 1 až č. 3 byly chovány v boxech a krmeny kompletní směsí pro nosnice. Slepice byly klinicky zdravé a v 50% snášce.

Pokus č. 4

Deseti krůtám plemene bílé širokoprsé ve stáří čtyř měsíců o průměrné váze 5,1 kg (4,0–6,0) jsme aplikovali *ad libitum* 1% roztok Oxymykoin *plv. solub.* v pitné vodě po dobu 48 hodin. Vzorky krve jsme odebírali (z *v. ulnaris*) před zahájením pokusu a dále ve 12., 24., 48. a 72. hodině po zahájení aplikace vždy od šesti kusů. Krůty byly umístěny v boxu a krmeny kompletní směsí pro krůty.

Pokus č. 5

V první skupině jsme osmi poštovním holubům obojího pohlaví ve stáří osm týdnů, o průměrné váze 387,6 g (355–418), podávali *ad libitum* 2% roz-



1. Výsledky pokusu č. 1
Hladiny OTC v krevním
séru u slepic

tok, v další skupině rovněž osmi holubům o váze 396 g (360–438) 4% roztok Oxymykoin *plv. solub.* v pitné vodě po dobu 72 hodiny. Holubi byli umístěni v kletkách a krmeni granulovanou směsí N. Holubi nehnězdili a byli klinicky zdraví. Vzorky krve (z *v. ulnaris*) jsme odebírali před zahájením pokusu, dále ve 24., 48., 72. a 96. hodině po zahájení aplikace, vždy střídavě od čtyř kusů ve skupině.

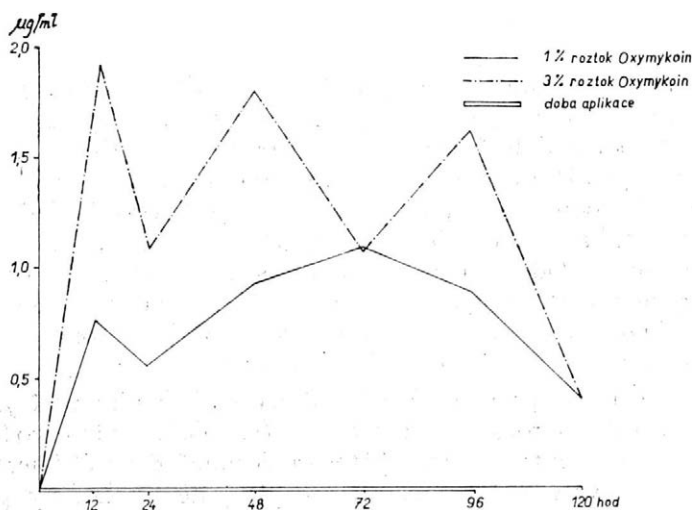
Krev v pokusech č. 2 až č. 5 jsme odebírali (vyjma odběru po 12.00 hod.) vždy dopoledne mezi 9.00 až 10.00 hodinou. Roztoky Oxymykoinu si zachovávají plnou účinnost minimálně 48 hodin. Přesto jsme připravovali ve všech pokusech čerstvé roztoky každé 24 hodiny.

Ke stanovení OTC v krevním séru jsme použili difúzní plotnovou metodu podle Grova a Randall'a (1955) s *B. cereus* ATCC 9634 jako s testovacím mikroorganismem. Citlivost metodiky byla 0,15 μg OTC/ml séra při ředění fosfátovým pufrům (pH 4,5) 1 + 3. K přípravě standardního roztoku jsme použili národní standard OTC ze Státního ústavu pro kontrolu léčiv v Praze s účinností 900 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

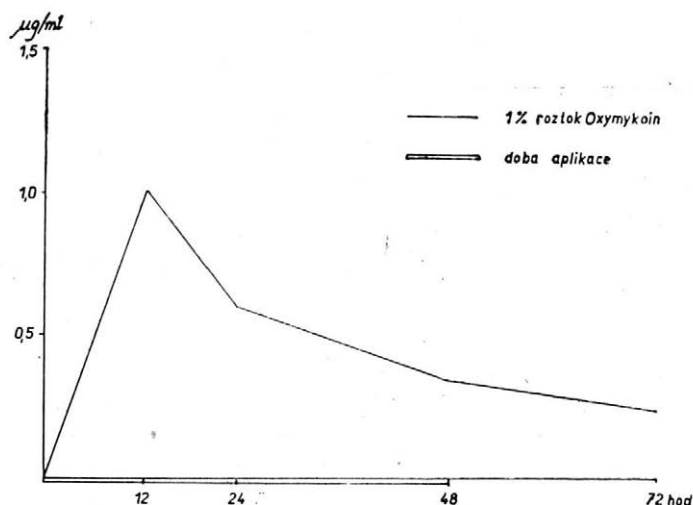
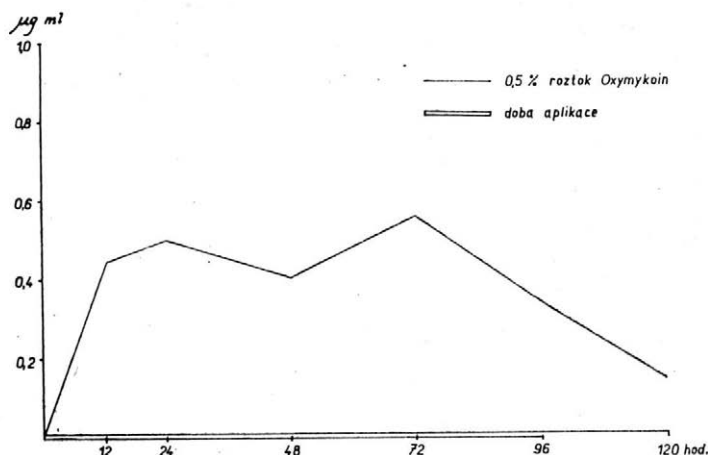
VÝSLEDKY

Výsledky pokusu č. 1 jsou uvedeny na obr. 1, výsledky pokusů č. 2 a č. 3 na obr. 2 a 3. V séru roztoků, které byly odebrány před zahájením pokusů, jsme nezjistili stopy OTC. Potenciační vliv subinhibičních koncentrací vstřebaných krmných antibiotik byl zřejmě velmi nepatrný. Spotřeba roztoků Oxymykoin *plv. solub.* v pokusech č. 2 a č. 3 činila 250 až 300 ml na kus a den.

Výsledky pokusu č. 4 jsou uvedeny na obr. 4. V kontrolních odběrech před pokusem jsme OTC nezjistili. Spotřeba roztoků Oxymykoinu byla 750 ml na kus a den, což odpovídá dávce 53,9 mg OTC HCl/kg ž. v. Na obr. 5 jsou uvedeny výsledky pokusu č. 5. V séru vzorků krve, odebraných před aplikací, jsme zjistili jen stopy inhibičních látek. Spotřeba roztoku Oxymykoinu nebyla sledována. Teplota prostředí se pohybovala v rozmezí od 15 do 21 °C, relativní vlhkost nepřesáhla 75 %.



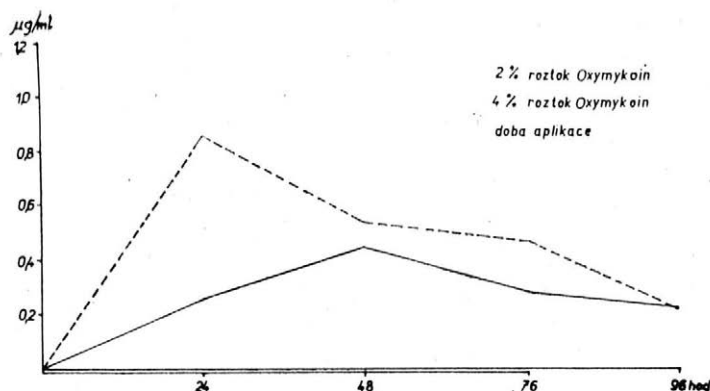
2. Výsledky pokusu č. 2
Hladiny OTC v krevním séru u slepic



DISKUSE

Dynamiku hladin OTC v krevním séru dospělých slepic po jednorázové *p. o.* aplikaci roztoků Oxymycoin *plv. solub.* jsme sledovali v pokuse č. 1. Preparát jsme aplikovali v dávkách, které odpovídaly 50 mg, 75 mg a 100 mg OTC HCl/kg ž. v. a ve všech případech jsme zjistili terapeutické hladiny (minimálně 0,3 μg/ml), které přetrvávaly v séru 24 hodiny po aplikaci. Porovnáme-li sérové hladiny OTC ve 3. a 6. hodině po aplikaci dávek 75 a 100 mg OTC HCl/kg ž. v., zjistíme, že dávka 75 mg vytvořila hladiny nepatrně vyšší. Nasvědčovalo by tomu, že vstřebávání OTC z trávicího traktu bylo (zejména u dávky 100 mg) některými inhibičními činiteli brzděno. Stejně zkušenosti jsme získali v pokuse na kuřatech (Dvořák, Ševčík, Plíšek 1972).

V dalších pokusech č. 2 a č. 3 jsme sledovali výši sérových hladin po čtyřdenní aplikaci 0,5 %, 1,0 % a 3,0 % roztoku Oxymycoin *plv. solub.* v pitné vodě. Během podávání 1 % a 3 % koncentrace jsme zjišťovali dostatečně vysoké terapeutické hladiny, které přetrvávaly v krevním séru slepic ještě 24 hodiny po



skončení aplikace. Rovněž 0,5 % roztok Oxymykoín *plv. solub.* vytvořil hladiny OTC, které je možné pokládat za účinné na dobře citlivé kmeny. Při spotřebě 250 až 300 ml roztoku na kus a den dostávaly slepice denní dávku 29,0 až 34,8 mg OTC HCl/kg ž. v. Ovšem za 24 hodiny po skončení aplikace byly zjištěny hladiny nižší než 0,3 µg OTC/ml.

Tyto výsledky jsou ve shodě s nálezy V y h n á l k a (1971), který během čtyřdenní aplikace Oxymykoín *plv. solub.* (1. den 0,75 %; 2.—4. den 0,50 % roztok) v pitné vodě tříměsíčním kohoutkům LB zjistil terapeutické hladiny v krevním séru. Upozornil však na poměrně nízké hladiny OTC (15—47 % obsahu v séru) v některých orgánech, zejména v játrech, plicích a svalovině, což zdůvodňuje špatným vstřebáváním OTC z trávicího traktu při *p. o.* aplikaci.

Rovněž Astrachancev a Gorev (cit. V y h n á l e k 1971) zaznamenali po perorální aplikaci OTC v orgánech a tkáních značně nižší koncentrace než po jeho podání.

V pokuse na slepicích sledoval F a d i n (1970) obsah OTC v krevním séru, plicích, játrech a ledvinách po jednorázové orální aplikaci v dávce 30 mg OTC na kus (neuvádí se v jaké formě) a aerosolové (inhalační) aplikaci. Uvádí, že OTC se dobře vstřebává jak z plic, tak i z trávicího traktu a rychle proniká do krve a orgánů, přičemž vyšších hladin (hlavně v plicích) je dosahováno inhalační metodou. Zajímavé je porovnání obsahu OTC zjištěného tímto autorem v krevním séru a plicích po orální aplikaci. Průměrné hodnoty nalezené v plicích totiž ve dvou odběrech (0,5 hodin a 5 hodin po aplikaci) značně převyšují sérové hladiny OTC a ve všech stanoveních dosahují terapeutické hladiny.

Vzhledem k poněkud rozdílnému názoru několika autorů na hladiny OTC v orgánech a zejména v plicích po orální aplikaci OTC budou nejlepším vyhodnocením terapeutického efektu hladin OTC výsledky z praktického použití v terénu.

V pokuse č. 4 byl 1 % roztok Oxymykoín *plv. solub.* krůtami dobře přijímán a ve všech odběrech provedených během aplikace jsme stanovili v krevním séru dostatečně vysoké léčebné hladiny. U holubů (pokus č. 5) jsme zjistili minimální léčebné hladiny v krevním séru až po aplikaci 4 % roztoku Oxymykoín *plv. solub.* Při podávání 2 % koncentrace byly hladiny OTC většinou nižší než 0,3 µg/ml. Pro léčebné použití u holubů je tedy vhodná 4 % koncentrace preparátu v pitné vodě.

Literatura

- DVOŘÁK M., ŠEVČÍK B., PLÍŠEK K., 1972, Hladiny oxytetracyklinu v krevním séru u kuřat po aplikaci Oxymykoin *plv. solub. ad usum. vet.* Vet. Med. (Praha) 5 : 265-272.
- FADIN V. S., 1970, Koncentracija oksitetracyklina v organizme kur. Veterinarija 47, 9 : 82-83.
- GROVE D. C., RANDALL W. A., 1955, Assay methods of antibiotics. Medical Encyclopedia, Inc., New York : 1-238.
- VYHNÁLEK J., 1971, Koncentrace oxytetracyklinu a přetrvávání jeho reziduí v organismu kuřat po aplikaci přípravku „Oxymykoin *plv. sol.*“ I. pracovní konference o drůbeži. Sborník referátů, Blansko : 193-201.

Došlo dne 27. 2. 1972

ДВОРЖАК М., ШЕВЧИК Б., ПЛИШЕК К. (Спофа, Научно-исследовательский центр ветеринарных медикаментов, Йилове-Прага, Чехословакия). Уровень окситетрациклина в сыворотке крови кур, индеек и голубей после введения препарата Охумикойн^R SPOFA *plv. solub. ad us. vet.* Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 569-575, 1972.

В ходе 5 отдельных опытов мы изучали уровень окситетрациклина (ОТС) в сыворотке крови кур, индеек и голубей после орального введения растворимого в воде препарата Охумикойн^R SPOFA *plv. solub. ad us. vet.* (5 % ОТС HCl и 1 % Септонекса). У кур мы определяли сывороточный уровень ОТС после однократового введения препарата в дозах 50 мг, 75 мг и 100 мг ОТС HCl/кг ж. в. и после 4-дневной дачи Оксимикойна в 0,5 %, 1 % и 3 % концентрации в питьевой воде. В процессе дачи 0,5 %-го раствора мы определили следующие активные уровни: спустя 12 час. (с начала введения) — $0,44 \pm 0,30$; спустя 24 часа — $0,55 \pm 0,27$; спустя 96 час. — $0,33 \pm 0,15$ (данные в $\mu\text{г}$ ОТС/мл). Высокий терапевтический уровень (свыше 0,3 $\mu\text{г}$ ОТС/мл) мы установили в сыворотке крови у индеек, которым давали 1 % раствора в течение 2 дней, спустя 12 час. — $1,06 \pm 0,24$; спустя 24 часа — $0,60 \pm 0,27$; спустя 48 час. — $0,34 \pm 0,12$, а у голубей спустя 3-дневного введения 4 %-го раствора Охумикойн *plv. solub.* спустя 24 часа — $0,85 \pm 0,49$; спустя 48 час. — $0,53 \pm 0,24$ и спустя 72 часа — $0,46 \pm 0,14$. В ходе всех опытов растворы Охумикойн *plv. solub.* хорошо усваивались животными.

Охумикойн^R SPOFA *plv. solub. ad us. vet.*; уровень сывороток; окситетрациклин; куры; индейки; голуби

DVOŘÁK M., ŠEVČÍK B., PLÍŠEK K. (SPOFA Research Centre for Veterinary Drugs, Jílové u Prahy, Czechoslovakia). The Levels of Oxytetracycline on the Blood Serum of Hens, Turkeys and Pigeons after the Application of Oxymykoin^R SPOFA *plv. solub. ad usum. vet.* Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 569-575, 1972.

Five partial trials were undertaken to study the levels of oxytetracycline in the blood serum of hens, turkeys and pigeons after the peroral application of the preparation Oxymykoin SPOFA *plv. solub. ad us. vet.* (soluble in water), containing 5 % ОТС HCl and 1 % Septonex. The trials in hens were carried out to determine the serum levels of ОТС after single application of the doses of 50 mg., 75 mg. and 100 mg. ОТС HCl/1 kg. 1. w., and after four-day application of Oxymykoin in 0.5 %, 1 % and 3 % concentration in drinking water. The following effective levels were observed in the course of the application of the 0.5 % solution: after 12 hours (from the beginning of application) — 0.44 ± 0.30 ; after 24 hours — 0.55 ± 0.27 ; after 48 hours — 0.40 ± 0.08 ; after 72 hours — 0.55 ± 0.27 ; after 96 hours — 0.33 ± 0.15 (data indicated as μg . ОТС per 1 ml.). Sufficiently high therapeutic levels (over 0.3 μg ОТС/ml.) were found in the blood serum of turkeys to which a 1 % solution was applied for a period of two days; after 12 hours — 1.06 ± 0.24 ; after 24 hours — 0.60 ± 0.27 ; after 48 hours — 0.34 ± 0.12 ; and in pigeons, as a result of three-day application of the 4 % solution of Oxymykoin *plv. solub.*: after 24 hours — 0.85 ± 0.49 ; after 48 days — 0.53 ± 0.24 , and after 72 hours — 0.46 ± 0.14 . The solution of Oxymykoin *plv. solub.* were well-accepted by the animals in all trials.

Охумикойн^R SPOFA *plv. solub. ad us. vet.*; serum levels; oxytetracycline; hens; turkeys; pigeons

DVOŘÁK M., ŠEVČÍK B., PLÍŠEK K. (Spofa, Forschungszentrum für Veterinärarzneimittel, Jilové bei Prag, Tschechoslowakei). *Oxytetracyklinniveaus im Blutserum bei Hühnern, Puten und Tauben nach Applikation von Oxymykoin^R SPOFA plv. solub. ad us. vet.* Vet. Med. (Praha) 17 (9) : 569-575, 1972.

In fünf Teilversuchen haben wir die Oxytetracyklinniveaus (OTZ) im Blutserum von Hühnern, Puten und Tauben nach einer oralen Applikation des im Wasser löslichen Präparates Oxymykoin SPOFA *plv. solub. ad us. vet.* (erhält 5% OTZ HCl und 1% Septonex) verfolgt. In Versuchen mit Hennen verfolgten wir die Serumspiegel des OTZ nach einmaliger Oxymykoin-Applikation 50 mg, 75 mg, und 100 mg OTZ HCl je 1 kg Lebendgewicht und nach viertägiger Verabreichung von Oxymykoin in 0,5 %, 1 % und 3 % Konzentration im Trinkwasser. Im Verlauf der Verabreichung der 0,5 % Lösung wurden folgende wirksame Spiegel festgestellt: nach 12 Stunden (vom Beginn der Applikation) — $0,44 \pm 0,30$; nach 24 Stunden — $0,50 \pm 0,12$; nach 48 Stunden — $0,40 \pm 0,08$; nach 72 Stunden — $0,55 \pm 0,27$; nach 96 Stunden — $0,33 \pm 0,15$ (Angaben in μg OTZ/ml). Ausreichend hohe therapeutische Spiegel des OTZ nach einmaliger Oxymykoin-Applikation 50 mg, 75 mg, und 100 mg bei denen die 1 % Lösung im Laufe von zwei Tagen verabreicht wurde, u. zw. in der 12. Stunde — $1,06 \pm 0,24$; in der 24. Stunde — $0,60 \pm 0,27$; in der 48. Stunde — $0,34 \pm 0,12$; bei Tauben denn, nach dreitägiger Applikation von 4 % Lösung des Oxymykoin *plv. solub.* in der 24. Stunde — $0,85 \pm 0,49$; in der 48. Stunde — $0,53 \pm 0,24$ und in der 72. Stunde — $0,46 \pm 0,14$. In allen Versuchen wurden die Lösungen des Oxymykoin *plv. solub.* die Tiere sehr gut aufgenommen.

Oxymykoin^R SPOFA *plv. solub. ad us. vet.*; Serumspiegel; Oxytetracyklin; Hühner; Puten; Tauben

Adresa autorů:

RNDr. M. Dvořák, MVDr. B. Ševčík, CSc., MVDr. K. Plíšek, Spofa, Výzk. středisko pro veterinární léčiva, Jilové u Prahy

Výběr z nových přírůstků
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI
na úseku veterinární medicína

STARKE G. D 59.847
Praktičeskaja virusologija. Moskva, Kolos 1970. 349 s. obr. tab. (Virologie živočišná — příručky)

RONDHUIS P. R. D 51.973/47
Bovine adenovirussen. Een vergelijkend, serologisch en experimenteel onderzoek. Proefschrift aan de Rijksuniversiteit Utrecht. (Souhrn angl.) Utrecht, n. vl. 1970. 218 s. 56 obr. 42 tab. (Skot — nemoci virové — adenoviry — výzkum — Holandsko)

ČERKASSKIJ Je. S. E 35.096
Čuma i čumopodobnyje bolezni plotojadnych. Moskva, Kolos 1971. 197 s. 8 obr. (Masožravci — nemoci — psinka — brožury)

BOJKO A. A., ŠULJAK F. S. D 59.810
Jaščur. Biologo-ekologičeskij aspekt problemy. Moskva, Kolos 1971. 351 s. 11 obr. 7 tab. (Slinavka a kulhavka — příručky)

BOCH J., SUPPERER R. D 59.166
Veterinärmedizinische Parasitologie. Berlin, P. Parey 1971. 408 s. 105 obr. (Veterinární parazitologie — příručky)

D 59.827
Diagnostika gribnych boleznej (mikozy i mikotoksikozov) životnych. Moskva, Kolos 1971. 143 s. 248 obr. (Hospodářská zvířata — nemoci — mykózy a mykotoxikózy — diagnostika — příručky)

ZASTROV D. E 33.351/186
Die Wirksamkeit von Methylbenzoate als Coccidiostaticum. Inaug.-Diss. d. Justus Liebig-Universität Giessen. Giessen, Inst. f. Geflügelkrankheiten 1970. 45 s. 3 obr. 8 tab. (Drůbež — nemoci — kokcidióza — ochrana — kokcidiostatika — Methylbenzoate — výzkum — NSR)

D 59.349
Sbornik rabot po gelmintologii. Posvjaščen 90-letiju so dnja roždenija akademika K. I. Skrjabina. Moskva, Kolos 1971. 471 s. obr. tab. (Veterinární helmintologie — sborníky — SSSR)

CVETAJEVA N. P. E 34.915
Patomorfologija osnovnych gelmintozov ptic. Moskva, Kolos 1971. 254 s. 41 obr. 9 tab. (Helmintózy — drůbež — morfologie patologická — příručky)

MCDONALD M. E. C 18.299/126
Catalogue of helminths of waterfowl (Anatidae). Washington, U. S. Department of the Interior 1969. VIII-692 s. Special sci. report — wildlife No. 126. (Ptáci vodní — nemoci parazitární — helmintózy — seznamy — USA)

D 54.746/24/1970
Liver fluke disease. Belfast, Advisory services 1970. 6 s. obr. Leaflet No. 24. (Skot a ovce — nemoci parazitární — motolice jaterní)

KLOOSTERMAN A. D 28.142/71/10
Observations on the epidemiology of trichostrongylosis of calves. Wageningen, Landbouwhogeschool 1971. 114 s. 30 tab. 21 obr. Mededelingen 71—10 (1971). (Telata — nemoci parazitární — vlasovky — výzkum — Holandsko)

OBSAH

Hofírek B., Jagoš P.: Použití automatických počítáčů v hematologické diagnostice leukózy skotu	511
Kubiček J., Lisková J., Lisek J.: Stanovení koncentrace kyslíčniku ve stájovém vzduchu detekčními trubičkami CO ₂ — typ 1%	517
Křižanová H., Beseda M., Koppel Z., Halaša M., Horváth J.: Izolácia a identifikácia <i>Vibrio coli</i> a „boréliám podobných zárodkov“ pri dysentérii ošipaných	527
Konrád J., Mouka J., Dvořák R., Hanák J.: Možnosti sdružené vakcinace norků proti Aujeszského chorobě, psince a botulismu	539
Král E., Němeček L., Pavlica J.: Disociační anestézie ketaminem u koček	545
Prokúpek K.: Toxický účinek zahřáté kultury <i>Bacillus cereus</i>	551
Molnářová M., Bartík M., Šamo A.: Lyzylarylamidázová aktivita v krvných sérach domácich zvierat	561
Dvořák M., Ševčík B., Plíšek K.: Hladiny oxytetracyklinu v krevním séru u slepic, krůt a holubů po aplikaci oxymykoin ^R SPOFA <i>plv. solub. ad usum vet.</i>	569

СОДЕРЖАНИЕ

Гофирек Б., Ягош П.: Некоторые данные, полученные в области применения автоматических счетчиков Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 Picoscale в гематологическом диагностировании лейкоза крупного рогатого скота	516
Кубичек К., Лискова И., Лисек Й.: Определение концентрации углекислого газа в воздухе животноводческого помещения при помощи детекторных трубок CO ₂ — тип 1%	523
Крижанова Г., Бесед М., Коппел З., Галаша М., Хорват Й.: Изоляция и идентификация <i>Vibrio coli</i> и «подобных борелиям зародышей» при дисентерии свиней	536
Конрад Й., Моука Й., Дворжак Р., Ганак Й.: Возможности осуществления комбинированного вакцинирования норков против болезни Ауески, чумы собак и ботулизма	543
Крал Э., Немечек Л., Павлица Й.: Диссоциационная анестезия кетамин у кошек	549
Прокупек К.: Токсическое действие подогретой культуры <i>Bacillus cereus</i>	558
Молнарова М., Бартик М., Шамо А.: Лизилариламидазная активность сыворотки крови домашних животных	567
Дворжак М., Шевчик Б., Плишек К.: Уровень окситетрациклина в сыворотке крови кур, индеек и голубей после введения препарата Охумикойн ^R SPOFA <i>plv. solub. ad usum vet.</i>	574

CONTENT

Hofírek B., Jagoš P.: Use of the Automatic Counters Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 and Picoscale in Hematological Diagnosis of Leucosis in Cattle	516
Kubiček J., Lisková J., Lisek J.: Usability of Detection Tubes CO ₂ —Type 1% for the Assessment of Carbon Dioxide Concentrations in the Air of Stables	524
Křižanová H., Beseda M., Koppel Z., Halaša M., Horváth J.: The Isolation and Identification of <i>Vibrio coli</i> and „Borrelia like Organisms“ in Pig Dysentery	537
Konrád J., Mouka J., Dvořák R., Hanák J.: The Possibilities of Combined Vaccination of Minks against Aujeszky's Disease, Rabies and Botulism	544
Král E., Němeček L., Pavlica J.: The Use of Ketamine for Dissociation Anesthesia in Cats	550
Prokúpek K.: The Toxic Effect of a Warmed <i>Bacillus cereus</i> Culture	558
Molnářová M., Bartík M., Šamo A.: Blood Serum Lysyl-Arylamidase Activity in Domestic Animals	568
Dvořák M., Ševčík B., Plíšek K.: The Levels of Oxytetracycline on the Blood Serum of Hens, Turkeys and Pigeons after the Application of Oxy-mykoin ^R SPOFA <i>plv. solub. ad usum vet.</i>	574

Hofírek B., Jagoš P.: Anwendung automatischer Zählmaschinen Coulter Counter, Celloscope 101, TUR ZG 1 und Picoscale in hämatologischer Diagnostik der Rinderleukose	516
Kubiček J., Lisková J., Lisek J.: Die Bestimmung der Konzentration von Kohlenoxid in der Stallluft mittels CO ₂ -Detektionsröhren Typ 1 0/0	524
Křižanová H., Beseda M., Koppel Z., Halaša M., Horváth J.: Isolierung und Identifikation von <i>Vibrio coli</i> und „Borrelia-ähnlicher Keime“ bei Schweine-Dysenterie	537
Konrád J., Mouka J., Dvořák R., Hanák J.: Möglichkeiten einer kombinierten Vakzination der Nerze gegen Aujeszky'sche Krankheit, Staupe und Botulismus	544
Král E., Němeček L., Pavlica J.: Dissoziationsanästhesie mit Ketamin bei Katzen	550
Prokůpek K.: Toxischer Effekt der erwärmten Kultur des <i>Bacillus cereus</i>	559
Molnárová M., Bartík M., Šamo A.: Lysylarylamidasenaktivität in den Blutseren von Haustieren	568
Dvořák M., Ševčík B., Plíšek K.: Oxytetracyklinniveaus im Blutserum bei Hühnern, Puten und Tauben nach Applikation von Oxymykoin [®] SPOFA plv. solub. ad us. vet.	575

TABLE DES MATIÈRES

Hofírek B., Jagoš P.: Emploi des calculateurs pour le diagnostic hématologique de la leucose bovine (res. An, Al/516)
Kubiček J., Lisková J., Lisek J.: Détermination de la concentration du gaz carbonique dans l'atmosphère d'étable par les tuyaux de détection CO ₂ — type 1 0/0 (res. An, Al/524)
Křižanová H., Beseda M., Koppel Z., Halaša M., Horváth J.: Isolation et identification de <i>Vibrio coli</i> et „de germes ressemblant aux borrelies“ en cas de dysenterie porcine (537)
Konrád J., Mouka J., Dvořák R., Hanák J.: Possibilités de vaccination associée des visons contre la maladie d'Aujeszky, le mal de chien et le botulisme (res. An, Al/544)
Král E., Němeček L., Pavlica J.: Anesthésie de dissociation des chats provoquée par la kétamine (res. An, Al/550)
Prokůpek K.: Effet toxique de la culture échauffée de <i>Bacillus cereus</i> (res. An/558, Al/559)
Molnárová M., Bartík M., Šamo A.: Activité de la lysylarylamidase dans les sérums sanguins des animaux domestiques (res. An, Al/568)
Dvořák M., Ševčík B., Plíšek K.: Niveaux de l'oxytétracycline dans le sérum sanguin des poules, dindes et pigeons à la suite de l'application de la préparation oxymykoin [®] SPOFA plv. solub. ad usum vet. (res. An/574, Al/575)