



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

8

ROČNÍK 18 (XLVI)
PRAHA
SRPEN 1973
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král (předseda), prof. MVDr. Kolo-
man Boda, 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 Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1973

■
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: 120 56
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 120 56 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 120 56 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 120 56 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
120 56 Prague 2, Slezská 7.

PUFRÁCIA KŔMNEJ DÁVKY MONTMORILLONITOM (BENTONITOM) U PREŽÚVAVCOV V EXPERIMENTÁLNYCH PODMIENKACH

E. Slanina, J. Lehocký, J. Sokol, I. Rosival, O. Burdová

Vysoká škola veterinárska, katedra vnútorných chorôb párnokopytníkov, Košice

SLANINA L., LEHOCKÝ J., SOKOL J., ROSIVAL I., BURDOVÁ O. *Pufrácia kŕmnej dávky montmorillonitom (bentonitom) u prežúvavcov v experimentálnych podmienkach.* Vet. Med. (Praha) 18 (8): 465-474, 1973.

Za účelom pufrácie bachora sme sledovali vplyv montmorillonitu (bentonitu) u oviec (15 g/kus a deň) a hovädzieho dobytká (15 a 27 g/100 kg) v klinických podmienkach po dobu 12, 28, resp. 42 dní na znášanlivosť, ovplyvnenie chuti, tvorbu geosedimentu, bachorovú aciditu, ako aj na niektoré krvné ukazovatele. Montmorillonit nemal negatívny vplyv na chuť, rumináciu, pasáž tráviacej rúry a celkový zdravotný stav zvierat. Nevytváral geosediment v tráviacom trakte (bachor, slez) počas sledovanej doby. Bachorová acidita pri acidogennej kŕmnej dávke u oviec zaznamenala priaznivejšiu dynamiku u pokusných zvierat oproti kontrolným a pritom hodnoty prchavých mastných kyselín boli po celý čas trvania pokusu vyššie u pokusných ako u kontrolných zvierat. Hladina amoniaku v krvi pokusných oviec bola mierne nižšia oproti kontrolným, hladina močoviny ku koncu pokusu poklesla u kontrol a koncentrácia amoniaku v bachorovej tekutine bola nižšia u pokusných oviec, čo svedčí o naviazaní amonných jónov na bentonit. Krátkodobé sledovanie bachorovej mikroflóry po nakŕmení u hovädzieho dobytká ukázalo zvýšenie počtu bachorovej mikroflóry, ale dlhodobé sledovanie mikroflóry u oviec neukázalo oproti kontrolám výraznejší a jednoznačnejší efekt. Hematologické vyšetrenie a niektoré ukazovatele krvného séra nezaznamenali za sledovanú dobu podstatnejšie odchýlky. Celkove možno povedať, že bentonit v použitých dávkach nemal nepriaznivý vplyv na zdravotný stav oviec a hovädzieho dobytká, pričom vhodne upravoval bachorovú aciditu a hodnoty prchavých mastných kyselín.

bachorový pufer; montmorillonit; bentonit; bachorová acidita; bachorová mikroflóra; prchavé mastné kyseliny

Sezónne kolísanie kŕmnej dávky u prežúvavcov, nerovnomerná koncentrácia prchavých mastných kyselín v bachore v priebehu dňa, závislosť množstva a percenta molárneho zastúpenia kyselín v bachore od zloženia krmiva, jeho fyzikálnej štruktúry, ako aj rad fortifikačných zásahov najmä u vysokoproduktívnych dojníc, ale i výkrmového dobytká boli už dávnejšie pohnútkami k použitiu rôznych pufráčnych zmesí v kŕmnej dávke, resp. v bachore. V starších prácach so snahou o „neutralizáciu“ prekyseleného bachorového prostredia nachádzame použitie najmä natrium bikarbonátu (Lebeda a kol. 1971, Colombiari 1971 a iní), fosforečnanových solí (Emmanuel a kol. 1970) a vápenatých a sodných solí prchavých mastných kyselín (Orskov a Allen 1966) bez uspokojúceho hospodárskeho i zdravotného preventívneho efektu.

V ostatnom čase sa prejavujú snahy ovplyvniť najmä narušenú acidobázickú rovnováhu dobytká podobnými zásahmi (Lebeda 1971). Pozornosť vzbudila najmä aplikácia montmorillonitu (bentonitu) do kŕmnej zmesi dojnic u výkrmového dobytká. Bentonit je ílová hornina, hydrosilikát s jemnou vrstevnatou štruktúrou, s veľkým merným povrchom, koloidnou dispergovateľnosťou, vysokou vymeniteľnosťou iónov, so značnou napučiavacou schopnosťou. S vodou dáva gél mydlového charakteru. Jeho vodná suspenzia sa ťažko usadzuje. Obsah montmorillonitu v bentonite je okolo 74 %. Môže sa použiť prírodný alebo natrifikovaný.

Doterajšie literárne práce poukazujú na rozdielnú použitú koncentráciu bentonitu v kŕmnej zmesi u prežúvavcov (2–10 %) (Martin a kol. 1969, Burkitt 1969), a to s prídavkom alebo bez prídavku močoviny. Podľa týchto údajov 2 % bentonit pridaný ku vysokocelulóznej diéte zvyšuje retenciu dusíka. Vyššie koncentrácie bentonitu zvyšovali retenciu fosforu, redukovali retenciu dietného kalcia, ale retenciu dusíka ďalej nezvyšovali. Prídavok 8 % bentonitu v tej istej diéte zvýšil pomer Ca a P v bachorovom obsahu. Podľa zistenia uvedených autorov bentonit adsorbuje čpavok, ak je jeho hladina vysoká, avšak okamžite ho uvoľňuje, keď jeho koncentrácia začína klesať.

U dojnic po použití 5–10 % sodného bentonitu v kŕmnej zmesi (Rindsig a kol. 1969) došlo v porovnaní s kontrolnou skupinou ku vysoko signifikantnému zvýšeniu percenta tuku po predchádzajúcej diéte inhibujúcej tvorbu mliečneho tuku. Rozdiely medzi 5 a 10 % koncentráciou bentonitu neboli štatisticky významné. Súčasne došlo ku štatisticky preukaznému zvýšeniu dojivosti v oboch skupinách. V bachorovom obsahu sa zvýšila koncentrácia acetónu a poklesol obsah propionátu a valerátu. Podobné štatisticky významné zvýšenie tukovosti mlieka a stúpanie acetátu v bachore po skrmovaní 5 % sodného bentonitu u dojnic udáva Bringe a Schulz (1969a, b). Hospodársky efekt pridávaného bentonitu bol pozitívny tiež u výkrmového dobytká (Burkitt 1969), kde zvyšoval prírastky a zvýšil využitie krmiva s výnimkou poslednej periódy výkrmu.

Preventívny efekt skrmovaného bentonitu sme v prístupnej literatúre ne našli.

Cieľom našej práce bolo preskúšať vhodnosť slovenského natrifikovaného bentonitu pre kŕmne účely z nasledovných hľadísk: znášanlivosť a toxicita bentonitu pri vysokých dávkach, vplyv na chuť a na tvorbu geosedimentu v tráviacom trakte, vplyv na bachorovú aciditu a mikroflóru bachora, ako aj na niektoré krvné ukazovatele u hovädzieho dobytká a oviec.

MATERIÁL A METÓDY

Pokusy sa robili v klinických podmienkach na 10 jednoročných ovciach plemena cigája a na štyroch a troch kusoch hovädzieho dobytká, živej. váhy od 135 do 470 kg.

1. U klinických oviec bola živá váha v priemere 23 kg a pokus trval 28 dní. Ovce boli krmené 14 dní pred pokusom a počas celého pokusu kŕmnu zmesou R-53 (0,3 kg), kŕmnu repou (1 kg), senom a vodou *ad libitum*. V uvedenej dennej kŕmnej dávke dostávali ovce rozdelené na dvakrát 15 g purifikovaného a natrifikovaného bentonitu na deň a kus o maximálnej veľkosti partikul 60 μ .

Zloženie použitého bentonitu: SiO_2 — 66,3 %; TiO_2 — 0,20 %; Al_2O_3 — 17,2 %; Fe_2O_3 — 3,7 %; MnO — stopy; CaO — 3,1 %; MgO — 1,25 %; K_2O — 0,65 %; Na_2O — 0,60 %; CO_2 — okolo 0,25 %; hydroskopičnosť — 20,2 % H_2O ; napučíavanie podľa Eustina — 346 ml $\text{H}_2\text{O}/100$ g; viskozita — 21,2 sek; tixotropia 780 ml $\text{H}_2\text{O}/100$ g pri pH 8,5; max. častice — 60 μm s prevahou častíc 40 μm .

Odber bachorového obsahu bol 0 a 3 hod. po nakŕmení v dňoch 0., 3., 9., 16., 23. a 28. pokusu a odber krvi v 0., 12. a 28. dňi pokusu.

Po skončení pokusu pri porážke oviec sa makroskopicky prehliadol obsah predžalúdkov na obsah geosedimentu po použitom bentonite.

2. U hovädzieho dobytku (2 + 2 ks) v klinických podmienkach trval pokus 10 dní (14 dní) pri kŕmení kŕmnom zmesou, repou a senom. Natrifikovaný bentonit sa podával zvieratám do kŕmnej zmesi denne v dávke 15 g/100 kg ž. v. Bachorový obsah sa vyšetroval v 0. a 3. hodinu po nakŕmení 1., 2., 4., 9. a 10. deň a krv v 0. a 14. deň.

3. U troch pokusných dojníc, ž. v. 550–610 kg, sa aplikoval bentonit v dávke 160 g/kus/deň počas 42 dní. Vyšetrenie niektorých hematologických a biochemických ukazovateľov krvi sa prevádzalo v týždňových intervaloch. Počas celého obdobia sa sledovala u dojníc chuť do žrania a prípadné prejavy toxicity skrmovaného bentonitu.

Bachorový obsah oviec a hovädzieho dobytku sa odoberal do termosiek pomocou pažerárovej sondy pre malé prežúvavce a špeciálnou sondou podľa Slaninu (1967). Mikróby sa počítali v špeciálnej komôrke (Slanina a Burdová 1973). Štatistické hodnotenie výsledkov sa previedlo Wilcoxonovým testom (Roth, Josifko 1962). Pri vyšetrovaní biochemizmu bachora sa zisťovala koncentrácia vodíkových iónov (aktuálna acidita) indikátorovými papierikami Phan a potenciometricky, celková (titračná) acidita podľa Jonova (1958) a celkové množstvo prchavých mastných kyselín (Schambyl 1951). Z biochemických ukazovateľov sa sledovala v sére hladina vápnika a horčíka komplexometricky (Vrzgula 1960), anorganického fosforu kolorimetricky (Hořejší a kol. 1957), alkalické fosfatázy kolorimetricky (Homolka 1965), transamináz GOT a GPT Boeringerovým testom, celkových bielkovín krvného séra refraktometricky (Hořejší a kol. 1957), alkalické rezervy krvnej plazmy titračne (Holasek a Flashka 1961), močoviny v krvnej plazme ureázovou metódou (Homolka 1965), amoniaku v krvi mikrodifúziou (Seligson a Seligson 1951, Seligson a Hirahara 1957) a v bachorovej tekutine hladina amoniaku mikrodifúznou technikou (Keil, Šormová 1959).

V krvi sa bežnými hematologickými metódami stanovilo množstvo hemoglobínu, erytrocytov, leukocyto, ako aj hodnota hematokritu a diferenciálny krvný obraz.

VÝSLEDKY

ZNÁŠANLIVOSŤ BENTONITU, TOXICITA A TVORBA GEOSSEDIMENTU PRI VYSOKÝCH DÁVKACH

V klinických podmienkach u troch kráv štyri až osemročných skrmovali sme bentonit v dávkach 160 g/ks a deň počas 42 dní. Denné sledovanie zdravotného stavu a východzie a konečné biochemické vyšetrenia ukázali, že chuť bola dobrá, prežúvanie, regurgitácia, pasáž čreva a defekácia neboli nijako negatívne ovplyvnené.

I. Priemerné a limitné hodnoty bachorovej mikroflóry u oviec v klinických podmienkach po skrmovaní natrifikovaného bentonitu

Odber	Pokusné		Kontrolné	
	$\bar{x}$	n baktérii $\times 10^8$	$\bar{x}$	n baktérii $\times 10^8$
0. deň	53,40 (43–75)	267,00	59,60 (39–81)	179,00
3. deň	41,14 (34–48)	205,70	47,33 (46–49)	236,65
9. deň	31,71 (26–40)	158,55	48,66 (34–79)	243,30
16. deň	34,28 (25–38)	171,40	27,33 (20–35)	136,65
23. deň	35,57 (15–49)	177,85	36,00 (31–40)	180,00
28. deň	145,00 (131–151)	1017,00	119,60 (107–143)	359,00

II. Prehľad niektorých ukazovateľov krvného séra po skrmovaní bachorového pufru v klinických podmienkach u oviec

$nP = 7$

$nK = 3$

Odber		Priemerné hodnoty									Urea ⁺⁺
		Ca	P	Mg	AR	AF	GOT	GPT	CB	NH ₃ ⁺	
Pokusné	0. deň	6,90	7,24	2,16	58,68	9,26	70,20	27,00	6,50	0,13	16,8
	12. deň	7,17	8,50	2,14	56,80	10,20	83,50	24,00	7,29	0,16	20,6
	28. deň	7,37	7,20	2,23	48,06	13,57	88,71	28,28	7,05	0,14	16,9
Kontrolné	0. deň	7,48	5,93	2,40	54,65	9,96	67,30	22,30	6,92	0,13	17,5
	12. deň	7,41	8,80	2,70	54,50	10,11	85,00	33,00	7,53	0,25	21,6
	28. deň	7,54	6,86	2,38	51,28	9,73	84,33	24,66	7,43	0,37	12,1

* = mg/100 ml krvi ($nP = 4$, $nK = 3$)

++ = stanovené v plazme ($nP = 4$, $nK = 3$)

Biochemické ukazovatele sledované aj v ďalších pokusoch neukázali negatívne odchýlky a hodnoty sa pohybovali vo fyziologických medziach. Hodnoty sérového vápnika stúpili v priemere o 0,9 mg %, anorganického fosforu poklesli o 1,0 mg %, alkalická rezerva stúpila o 2 vol % CO₂. Hladina amoniaku v krvi pokusných oviec bola nižšia o 0,09 až 0,23 mg %. Skúšky na funkciu pečene zostali nezmenené a biochemické vyšetrenie moča bolo negatívne.

U dojnice s permanentnou fistulou bachora po 42. dni pokusu a u 7 oviec po 28 dňoch pokusu pri porážke v traviacom trakte nebol zistený geosediment a pitevný nález bol negatívny.

III. Prehľad hematologických ukazovateľov u oviec po skrmovaní bachorového pufru v klinických podmienkach

Odber		Priemerné hodnoty									
		H _b	Hk	Er	Lc	S	T	Eo	Ba	Mo	Ly
Pokusné	0. deň	8,09	29,4	6,87	9,61	38,5	0,28	2,80	0,00	0,85	47,4
	12. deň	8,48	32,7	6,60	8,61	32,2	1,42	7,42	0,14	1,71	57,4
	28. deň	7,17	28,5	7,36	9,65	56,0	2,10	6,28	0,00	2,14	33,4
Kontrolné	0. deň	8,37	29,6	7,70	8,40	45,3	0,66	2,60	0,33	2,00	49,0
	12. deň	9,22	33,6	7,82	8,30	43,6	1,66	3,00	0,00	1,66	50,0
	28. deň	7,57	27,3	7,00	8,30	50,6	0,66	3,30	0,30	1,30	43,6

IV. Priemerné a limitné hodnoty bachorovej mikroflóry u hovädzieho dobytku v klinických podmienkach po skrmovaní nátrifikovaného bentonitu

$$nP = 2$$

$$nK = 2$$

Odber	Pokusné		Kontrolné	
	$\bar{x}$	n baktérií $\times 10^8$	$\bar{x}$	n baktérií $\times 10^8$
0. hod.	39,0 (25–53)	195,0	100,5 (62–139)	502,5
3. hod.	93,0 (44–152)	490,0	111,0 (90–132)	555,0
24. hod.	37,5 (31–44)	187,5	89,0 (82–96)	445,0
48. hod.	36,5 (31–42)	182,5	74,5 (50–99)	372,5
72. hod.	79,5 (66–93)	159,0	—	—

Výsledky hodnôt bachorovej acidity u oviec sú zachytené ako priemerné hodnoty na obr. 1, 2, 3, koncentrácia amoniaku bachorovej tekutiny na obr. 4, výsledky hodnôt bachorovej mikroflóry v tab. I, výsledky biochemického vyšetrenia v tab. II a výsledky hematologického vyšetrenia v tab. III.

Výsledky sledovania mikroflóry bachora u hovädzieho dobytku sú zachytené v tab. IV.

ZHODNOTENIE A VÝSLEDKY

Potreba pufrácie kŕmnej dávky na základe poznatkov z fyziológie a patofyziológie trávenia je dostatočne zdôvodniteľná. Použitý pufer musí spĺňať určité podmienky, ktoré možno zhrnúť: zdravotná nezávadnosť, vysoká pufrčná schopnosť v bachore, event. i v krvi, neovplyvniteľnosť chuti a pasáže čreva, primeraná cena a dostatok domácich zdrojov. Skúšaný pufer vo forme fyzikálne upraveného a nátrifikovaného montmorillonitu (bentonitu) ukazuje sa ako vhodný vzhľadom k úprave biochemizmu bachora.

Pokusy u oviec zreteľne ukázali, že použitím bentonitu v jadrovej zmesi boli hodnoty aktuálnej, celkovej acidity a prchavých mastných kyselín u pokusných zvierat vo svojej dynamike vyrovnanejšie ako u kontrolných zvierat. U oviec pri použitej mierne acidogénnej diéte nedošlo k výchyľkám smerom k bachorovej acidóze. Pri hodnotách aktuálnej acidity v 2. až 9. dni pokusu boli rozdiely štatisticky významné (obr. 1) a dynamika bola oproti kontrolám vyrovnaná, keďže výkyvy sa pohybovali len v rámci fyziologických hodnôt, kým u kontrol došlo k zreteľnej hyperacidite.

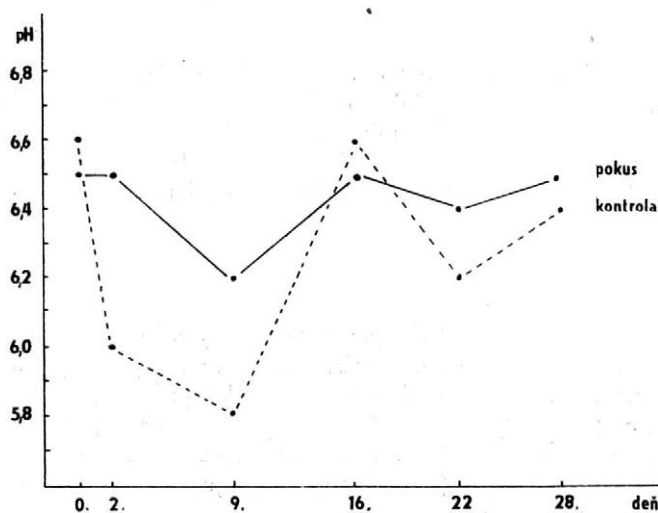
Hodnoty celkovej acidity (obr. 2), ako recipročného ukazovateľa aktuálnej acidity, mali rovnakú dynamiku. Rozdiely priemerov v 9. dni boli veľmi výrazné, pričom aj u pokusných priemerná hodnota bola nad hornou fyziologickou medzou (Slanina 1967). Hodnoty prchavých mastných kyselín (obr. 3) boli v priebehu celého pokusu oproti kontrolám priaznivejšie, dosahovali vyššiu koncentráciu, výraznejšiu zvlášť v druhej polovici pokusu. Koncentrácia amoniaku bachorovej tekutiny bola, okrem 9. a 16. dňa, nižšia u pokusných oviec, čo svedčí o naviazaní amonných iónov na bentonit (obr. 4).

Ukazovatele bachorovej acidity u pokusného dobytky mali podobnú dynamiku ako u oviec, avšak rozdiely medzi pokusnými a kontrolnými boli miernejšie.

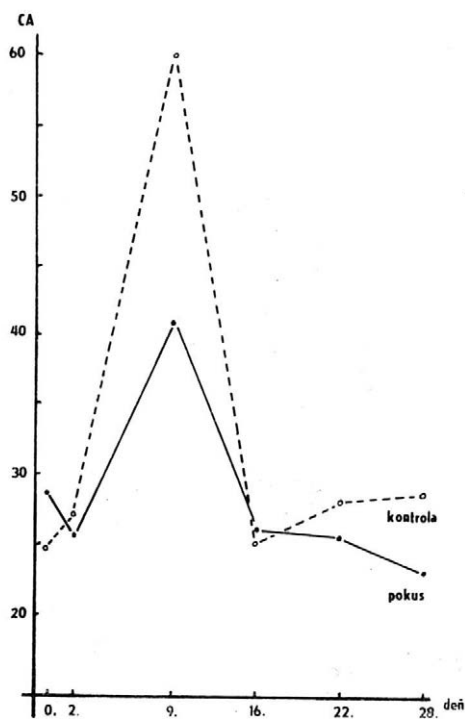
Bachorová mikroflóra u oviec od 0. k 23. dňu (tab. I) neukázala zreteľnejšiu závislosť a nebolo badať stimulačný vplyv. Priemerné počty mikroflóry klesali rovnako v pokusnej i kontrolnej skupine s maximálnym prehlbením u pokusnej v 9. dni a u kontrolnej v 27. dni. Neskôr u obidvoch skupín došlo k výraznému zvýšeniu celkového počtu mikroflóry rozdielne u pokusnej (307 %) a kontrolnej (230 %) skupiny oproti 23. dňu.

Hematologické ukazovatele červenej krvnej zložky u oviec zaznamenali v erytrocytoch v 28. dni všeobecne mierny pokles (tab. III) v obidvoch skupinách. Absolútne hodnoty leukocytov zostali nezmenené, kým v diferenciálnom krvnom obraze bola tendencia k neutrofílii a lymfopénii v obidvoch skupinách.

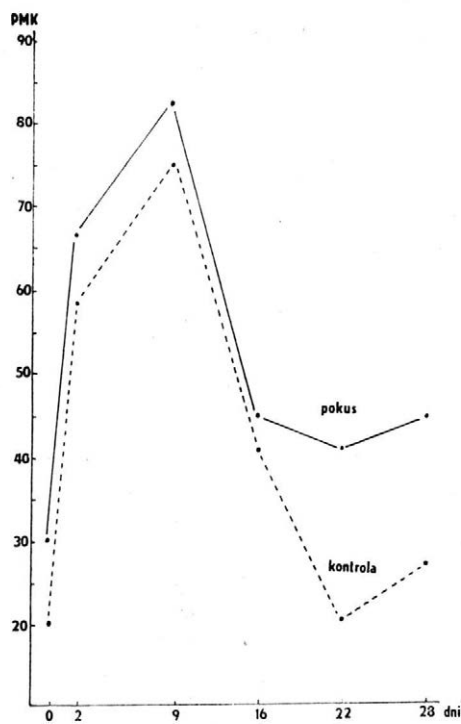
Ukazovatele krvného séra (tab. II) u anorganického fosforu a horčíka zostali v podstate nezmenené. Kým hypokalcémia u pokusných zvierat mala tendenciu k úprave od 0. dňa k 12. a 28. dňu, zatiaľ u kontrolnej skupiny hypokalce-



1. Dynamika aktuálnej acidity (pH) bachorového obsahu u oviec po pufrovej kŕmnej dávke



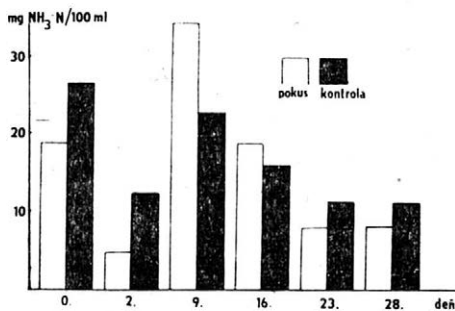
2. Dynamika celkovej acidity bachorového obsahu u oviec po pufrovanej kŕmnej dávke



3. Dynamika celkových prchavých mastných kyselín v bachorovom obsahu u oviec po pufrovanej kŕmnej dávke

mický stav zostal na rovnakej úrovni. Pozoruhodná retencia dietného kalcia v pokusoch Burkitta (1969) a Martina a kol. (1969) s opačnou dynamikou anorganického fosforu v našich pokusoch u oviec nebola zistená. Alkalická rezerva v kontrolnej i v pokusnej skupine vykazovala mierne klesajúcu tendenciu. Hodnoty alkalické fosfatázy mali u pokusnej skupiny postupnú tendenciu zvyšovať sa, ale len v rámci fyziologických hodnôt; u kontrolnej skupiny zostali hodnoty nezmenené. Transaminázy nezaznamenali u GPT takmer žiadne odchýlky, kým u GOT bol v kontrolnej i v pokusnej skupine mierne stúpajúci trend. Hodnota amoniaku v krvi pokusných oviec sa v podstate nemenila, u kontrolných zvierat táto hodnota stúpala mierne nad fyziologickú hranicu. Hladina močoviny v plazme, spočiatku u oboch skupín oviec rovnaká, na konci pokusu klesla u kontrolnej skupiny, ale nevybočila z fyziologických hodnôt.

Pokusy s natrifikovaným bentonitom u hovädzieho dobytku v klinických podmienkach pri pomerne malom počte



4. Koncentrácia amoniaku v bachorovej tekutine oviec po skrmovaní prírodného bentonitu v klinických podmienkach

pokusných a kontrolných zvierat ukázali 3 hod. po nakŕmení vzostup bachorovej mikroflóry u obidvoch skupín, ktorý však bol u pokusnej značne vyšší. Po 24 až 48 hodinách u pokusnej skupiny zostali na východzej úrovni, kým u kontrolnej bola tendencia k poklesu.

Pri zrovnaní s literárnymi údajmi (Rindsig a kol. 1969, Martin a kol. 1969 a iní) použili sme u oviec a hovädzieho dobytku nižšiu koncentráciu bentonitu v kŕmnej zmesi i pri prepočítaní na kg živej váhy. Vzhľadom ku krátkodobým pokusom neuvádzame ukazovatele úžitkovosti, ktoré sú predmetom ďalšej práce.

Na základe pokusov a sledovaní možno zhrnúť, že použitý bentonit u hovädzieho dobytku a u oviec nemal v danom usporiadaní pokusov nepriaznivý vplyv na zdravotný stav zvierat a zreteľne upravoval biochemické deje v bachore.

Literatúra

- BRINGE A. N., SCHULTZ L. H., 1969a, Effects of roughage type or added bentonite in maintaining fat test. *J. Dairy Sci* 52 : 465-471.
- BRINGE A. N., SCHULTZ L. H., 1969b, Clay in ration. *Feedstuffs* 41 : 14-28.
- BURKITT W. H., 1969, Sodium bentonite addition to high concentrate pelleted rations self-fed to finishing yearling cattle. *Feedstuffs* 41 : 32-39.
- COLOMBARINI G., 1971, Alimentazione dei bovini da latte con elevate attitudini produttive. *Informaz. zootecn.* 18 : 9.
- HOLASEK H., FLASCHKA H., 1961, Komplexometrische und andere titrimetrische Methoden des klinischen Laboratoriums. Wien.
- HOREJŠÍ J. a kol., 1957, Základy chemického vyšetřování v lékařství. Praha.
- HOMOLKA J., 1965, Chemická diagnostika v dětském věku. Praha.
- JONOV P. S., 1958, Laboratornyje metody issledovanija vo vet. kliničeskoj diagnostike. Moskva.
- KEIL B., ŠORMOVÁ Z. a kol., 1959, Laboratorní technika biochemie. Praha.
- LEBEDA M., 1971, Acidobazická fyziologie a patofyziologie hospodářských zvířat se základy detekce a terapie poruch. Pardubice.
- MARTIN L. C., CLIFFORD A. J., TILLMAN A. D., 1969, Studies on sodium bentonite in ruminant diets containing urea. *J. Anim. Sci.* 29 : 777-782.
- ORSKOV E., ALLEN D., 1966, Utilisation of salts of UFA by growing sheep. *Br. J. Nutr.* 20 : 307-315.
- ROTH J., JOSIFKO P., 1962, Statistické metody v experimentální medicíně. Praha.
- RINSIG R. B., SCHULTZ L. H., SHOOK G. E., 1969, Effects of the addition of bentonite to high-grain dairy rations which depress milk fat percentage. *J. Dairy Sci.* 52 : 1770-1775.
- SELIGSON D., SELIGSON H., 1951, A microdiffusion method for determination of nitrogen liberated as ammonia. *J. Lab. clin. Med.* 38 : 324.
- SELIGSON D., HIRAHARA K., 1957, The measurement of ammonia in blood, erythrocytes and plasma. *J. Lab. clin. Med.* 49 : 962.
- SLANINA L., 1967, Sonda k odberu bachorového obsahu u hovädzieho dobytku. *Veterinárství* 17 : 171-172.
- SLANINA L., BURDOVÁ O., 1973, Ku kvantitatívnemu stanoveniu bachorovej mikroflóry v komôrke. *Vet. Čas., v tlači.*
- SCHAMBYL P., 1951, Volatile acids and glucose in portal blood of sheep. *Nord. Vet. Med.* 3 : 355-374.
- VRZGŮLA L., 1960, Komplexometrické stanovenie Ca a Mg v krvnom sére domácich zvierat. *Vet. Čas.* 9 : 432-438.

Došlo dne 17. 4. 1973

СЛАНИНА Л., ЛЕГОЦКИ Я., СОКОЛ Й., РОСИВАЛ И., БУРДОВА О. (Вышшая школа ветеринарной медицины, Кошице, Чехословакия). Буферация кормового рациона монтмориллонитом (бентонитом) у жвачных в экспериментальных условиях. *Vet. Med. (Praha)* 18 (8) : 465-474, 1973.

С целью буферации рубца мы изучали влияние монтмориллонита (бентонита) у овец (15 г/голову в день) и крупного рогатого скота (15 и 27 г/100 кг) в клинических условиях на протяжении 12, 28, или 42 дней на яйценоску, на вкусовые качества, образование геоседимента, рубцовую кислотность, а также на некоторые показатели крови. Монтмориллонит не оказывал отрицательное влияние на вкус, пережевывание, пассаж пищеварительного тракта и общее состояние здоровья животных. Он не создавал геоседимент в пищеварительном тракте (рубец, сычуг) в изучаемый период. Рубцовая кислотность при ацидогенном кормовом рационе у овец отличалась более благоприятной динамикой у опытных животных по сравнению с контрольными, причем, величины летучих жирных кислот на протяжении всего опыта были у опытных животных выше, чем у контрольных. Уровень аммиака в крови опытных овец был немного ниже по сравнению с контрольными уровень мочевины к концу опыта понизился у контроля а концентрация аммиака в рубцовой жидкости была ниже у опытных овец, что свидетельствует о взаимосвязи аммониевых ионов и бентонитом. Кратковременное изучение рубцовой микрофлоры после кормления у крупного рогатого скота свидетельствовало о повышении количества рубцовой микрофлоры, но долговременное изучение микрофлоры у овец по сравнению с контролем не имело более достоверного и однозначного эффекта. Гематологическое исследование и некоторые показатели сыворотки крови в изучаемый период не имели сильных отклонений. В общем можно сказать, что бентонит в примененных дозах не оказывал неблагоприятного влияния на состояние здоровья овец и крупного рогатого скота, причем, хорошо дополнял рубцовую кислотность и величины летучих жирных кислот.

рубцовый буфер; монтмориллонит; бентонит; рубцовая кислотность; рубцовая микрофлора; летучие жирные кислоты

SLANINA L., LEHOCKÝ J., SOKOL J., ROSIVAL I., BURDOVÁ O. (University School of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). *Buffering of Feed Ration with Montmorillonite (Bentonite) in Ruminants under Experimental Conditions*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 465-474, 1973.

With the aim of buffering the rumen, we have observed the influence of montmorillonite (bentonite) in sheep (15 g/head and day) and in cattle (15 and 27 g/100 kg) under clinical conditions in the course of 12, 28, resp. 42 days on the tolerance, appetite, geosediment formation, ruminal acidity as well as on some blood indicators. Montmorillonite has no negative influence on the appetite, rumination, passage through the digestive tract and the general health condition of animals. Geosediment did not appear in the digestive tract (rumen, abomasum) during the period under study. The ruminal acidity in sheep given acidogenous feed ration proved a more favourable dynamics in experimental animals in comparison with controls; the values of volatile fatty acids were higher during the whole course of experiment in the experimental animals than in the controls. The ammonia level in blood of experimental sheep was slightly lower in comparison with controls, the urea level decreased in controls and the ammonia concentration in the ruminal liquor was lower in experimental sheep; that gives evidence of the ammonium ions bond to bentonite. The short-term investigation of ruminal microflora following the feeding of cattle has shown the increase of ruminal microflora; however, the long-term investigation of microflora in sheep has not shown any more significant and unambiguous effect in comparison with the controls. The haematological examination and some indicators of blood serum did not indicate any substantial variation in the course of the investigated period. In general it may be concluded that bentonite in the applied doses had no unfavourable influence on the health condition in sheep and cattle and regulated suitably the ruminal acidity and the values of volatile fatty acids.

ruminal buffers; montmorillonite; bentonite; ruminal acidity; ruminal microflora; volatile fatty acids

SLANINA L., LEHOCKÝ J., SOKOL J., ROSIVAL I., BURDOVÁ O. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice, Tschechoslowakei). *Puffern der Futterration mit Montmorillonit (Bentonit) bei Wiederkäuern unter Versuchsbedingungen*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 465-474, 1973.

Zum Zwecke der Pufferung des Pansens untersuchten wir den Einfluß des Montmorillonits (Bentonits) bei Schafen (15 g/Tier und Tag) und bei Rindern (15 und 27 g/Tier und Tag) unter klinischen Bedingungen 12, 28 und 42 Tage hindurch, und zwar vom Gesichtspunkt der Verträglichkeit, der Geschmacksbeeinflussung, der Geosedimentbildung, der Pansenazidität und einiger Blutkennwerte. Der Montmorillonit wies keine negative Wirkung auf den Geschmack, die Rumination, die Verdauungskanalpassage und den Gesamtgesundheitszustand der Tiere auf. Er bildete kein Geosediment im Verdauungstrakt (Pansen, Labmagen) während der untersuchten Zeitperiode. Die Pansenazidität bei azidogener Diät verzeichnete bei Schafen eine günstigere Dynamik bei den Versuchstieren im Vergleich zu den Kontrolltieren, wobei die Werte der flüchtigen Fettsäuren während der ganzen Versuchszeit bei den Versuchstieren höher waren als bei den Kontrolltieren. Das Ammoniakniveau im Blut der Versuchsschafe war mäßig niedriger als bei den Kontrollschafen. Das Harnstoffniveau verminderte sich zu Ende des Versuchs bei den Kontrollschafen. Die Ammoniakkonzentration in der Pansenflüssigkeit war niedriger bei den Versuchsschafen, was von einer Bindung der Ammoniumionen an Bentonit zeugt. Kurzfristige Verfolgung der Pansenmikroflora beim Rind nach der Fütterung zeigte eine Erhöhung der Menge dieser Mikroflora, aber eine langandauernde Untersuchung der Mikroflora bei Schafen zeigte keinen ausgeprägteren und eindeutigen Effekt des Bentonits im Vergleich zur Kontrolle. Hämatologische Untersuchungen sowie einige Blutserumkennziffern brachten keine wesentlicheren Unterschiede während der Versuchszeitperiode. Insgesamt läßt sich konstatieren, daß der Bentonit in den angewendeten Dosen keinen ungünstigen Einfluß auf den Gesundheitszustand der Schafe und Rinder hatte, wobei er die Pansenazidität und die Werte der flüchtigen Fettsäuren günstig regulierte.

Pansenpuffer; Montmorillonit; Pansenazidität; Pansenmikroflora; flüchtige Fettsäuren

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Ludovít Slanina, CSc., MVDr. Ján Lehocký, CSc., MVDr. Josef Sokol, CSc., MVDr. Ivan Rosival, CSc., MVDr. O. Burdová, Vysoká škola veterinárna, Komenského 71, 041 81 Košice

KULTIVACE VIRU INFEKČNÍ BOVINNÍ RHINOTRACHEITIDY – INFEKČNÍ PUSTULÁRNÍ VULVOVAGINITIDY SKOTU NA STABILNÍ LINII EPITELU TELECÍCH LEDVIN

V. Kabelík, B. Horyna, J. Bratršovský

Ústřední státní veterinární ústav, Praha

KABELÍK V., HORYNA B., BRATRŠOVSKÝ J. *Kultivace viru infekční boviní rhinotracheitidy – infekční pustulární vulvovaginitidy skotu na stabilní linii epitelu telecích ledvin.* Vet. Med. (Praha) 18 (8): 475-484, 1973.

Práce shrnuje výsledky studií infekce stabilní linie epitelu telecích ledvin (TL 72) v porovnání s primárními buňkami kortexu telecích ledvin. Ve zkřížených titracích pomnoží primární buňky virus v hraničním ředění, které je o 0,45 log vyšší proti buňkám stabilní linie. Při vysoké multiplicitě infekce, která zaručuje infekci každé buňky, pomnoží buňky stabilní linie virus přibližně do stejných kvant jako primární buňky. Při nízké multiplícitě infekce 0,1 a 0,01 je však titr pomnoženého viru na linii zřetelně nižší v porovnání s primárními buňkami.

infekční boviní rhinotracheitida; infekční pustulární vulvovaginitida; kultivace viru IBR-IPV

K infekci virem infekční boviní rhinotracheitidy – infekční pustulární vulvovaginitidy (IBR-IPV) se nejčastěji používají primární tkáňové kultury derivované z orgánů a tkání telat. Pro jejich přípravu byly kromě ledvin a varlat použity lymfatické uzliny, embryonální kožní tkáň skotu, nadledviny, thymus, štítná žláza a pankreas. Buněčné kultury připravené z varlat (Menšík, Rozkošný 1969) a zejména z embryonálních tkání jsou pokládány za citlivější k infekci v porovnání s primárními kulturami ledvin narozených telat. Pro studium vlastností původce nákazy IBR-IPV, popřípadě pro izolační pokusy a neutralizační testy použil stabilní linii epitelu telecích ledvin – MDBK Sabin a Parker (1963), Stevens a Groman (1963), Nelson a kol. (1972) a TL 72 (Menšík 1968). Práce zaměřené na studium vnímavosti této tkáňové kultury k infekci virem IBR-IPV nejsou z dostupné literatury známy.

Tato práce předkládá výsledky studií infekce linie TL 72 virem IBR-IPV v návaznosti na výsledky porovnávacích studií s linií buněk prasečích ledvin (linie PK), kterými byla doložena vysoká vnímavost této linie k infekci virem Aujeszkeho choroby (Kabelík, Korych 1968). Citlivost linie TL 72 je porovnávána s citlivostí primárních buněk telecích ledvin na infekci virem IBR-IPV.

VIRUS

Pracovali jsme s pěti kmeny viru IBR-IPV, a to s kmenem V-19, V-25, V-132, V-133⁺ a V-Košice⁺⁺. Kmeny byly pasážovány paralelně na TLP a TLS. Kmeny pasážované na TLP jsou označeny: V-19/25-34*, V-25/29-70, V-132/25-32, V-133/21-26, V-Košice/3-6. Kmeny pasážované na TLS jsou označeny: V-19/XIX-XXIV*, V-25/XX-XXXIV, V-132/XI-XX, V-133/XVI a V-Košice/V-VIII. Všechny kmeny byly uchovávány při teplotě -50 až -60 °C.

TKÁŇOVÉ KULTURY (TK) A JEJICH INFEKCE

Pracovali jsme s neklonovanou buněčnou linií TL 72 (TLS) a s primárními buňkami telecích ledvin (TLP), připravenými běžnou trypsinizační technikou (Dulbecco a Vogt 1954). Kultivovali jsme je v Earlovu roztoku s 0,5 % laktalbuminhydrolyzátu, 0,01 % yestolextraktu a 10,0 % inaktivovaného telecího séra; pH roztoku bylo upravené na hodnotu 7,4. Zkumavkové kultury byly zakládány buněčnou suspenzí o denzitě 250 000 buněk/ml roztoku. V převážné většině experimentů byly k infekci používány buňky TLS po inkubaci 48 hodin a TLP vždy v 1. subpasáži po inkubaci 72 až 96 hodin, neboť v předchozích orientačních pokusech jsme si ověřili, že „stáří“ TLS do 48 hodin a TLP do 96 hodin signifikantně neovlivní morfologické projevy indukované virem, ani kvantum pomnoženého viru. Po infekci a jednodinové adsorpci viru při 20 °C byly TK převrstveny udržovacím Earlovým roztokem s 5 % koňského séra. Titrace viru byly dělány systémem čtyř nebo pěti zkumavek při důsledném zabezpečení porovnatelnosti dosažených výsledků. Infekční titry byly kalkulovány podle Reed-Muenche. Hodnoty jsou vázány na 0,1 ml inokula, kterým byly zkumavkové kultury infikovány. Kvanta viru pomnoženého ve TK byla stanovena titrační metodou na TLP.

Reprodukční cyklus extracelulárního a intracelulárního viru byl sledován na TK ve zkumavkách a 30ml Rouxových lahvích, při multiplicitě zaručující infekci všech buněk (0,1 ml a 3,0 ml viru ředěného 10⁻¹). Po adsorpci a odsátí reziduálního viru byly TK dvojnásobně propláchnuty puřovým roztokem a převrstveny 1 ml, popřípadě 20 ml udržovacího media. Pro sledování replikačního cyklu extracelulárního viru jsme sklízeli a odstředili kultivační roztok vždy ze šesti zkumavek, popřípadě ze dvou Rouxových lahví, v předem stanovených časových limitech. Intracelulární virus jsme získávali opakovaným zmrazením TK a buněčného centrifugátu kultivačního roztoku po předchozím proplachu puřovým roztokem.

IMUNOFLUORESCENCE

Virus ve TK byl detekován přímou imunofluorescencí. Konjugát** z hovězího séra byl užit v pracovním ředění 1 : 16. Sklíčkové kultury byly fixovány acetone a po osušení, převrstvení konjugátem, inkubaci při 36 °C byly prohlíženy mikroskopem ML-2 při zvětšení 320 X.

+) Kmeny pocházejí ze sbírky mikroorganismů VÚVL Brno

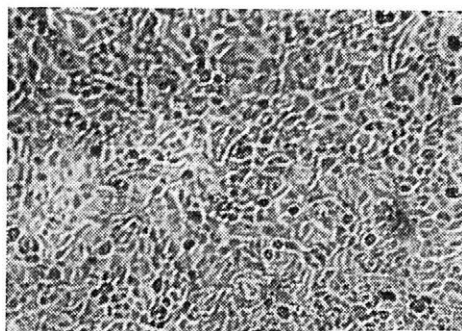
++) Kmen jsme získali laskavostí prof. dr. Vrtíka z VŠV Košice

*) Počet pasáží

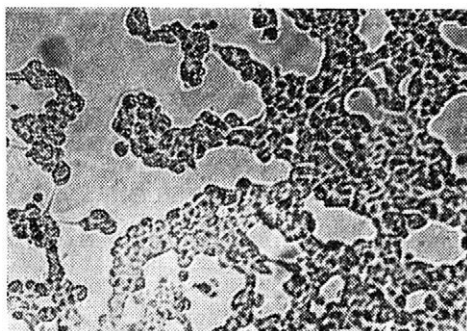
**) Komerční výroba, Bioveta, Nitra

VÝSLEDKY

Virus IBR-IPV vytváří na TLP i TLS zřetelný a charakteristický cytopatický efekt (CPE). Začátek morfologických změn je závislý na koncentraci virové suspenze. Po infekci naředěným virem začínají na obou tkáňových systémech za 12 až 18 hodin, v největších ředěních se vyvíjejí do 144 hodin. Virus o vysokém titru (např. 10^6) vyvolá úplnou destrukci buněk do 36 hodin, postupným ředěním mají cytopatické změny ložiskový charakter (obr. 1, 2, 3). Morfologie CPE na TLP a TLS je velmi podobná a začíná granulací, shlukováním, postupným zakulacováním a síťovitým uspořádáním buněk, které se s postupem času uvolňují od stěny. U TLP se CPE šíří na buňky v širokém okolí, popřípadě přecházejí na celou tkáň. Naproti tomu u TLS se ložiskové morfologické změny často lokalizují, takže okolní tkáň zůstává intaktní.

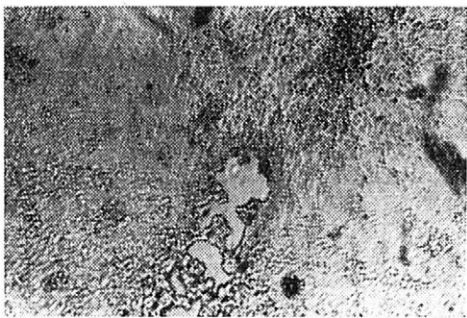


1. Linie buněk TL 72 — kontrolní kultura za 48 hodin (zvětšení 100X)



2. CPE indukovaný virem IBR-IPV v buňkách linie TL 72 za 48 hodin po infekci (zvětšení 100X)

Porovnání replikačního cyklu viru IBR-IPV a stanovení časového limitu ke sklizni největších kvant extracelulárního viru na TLP a TLS je patrné z růstových křivek čtyř studovaných kmenů (obr. 4 až 7). Ukázalo se, že růstové křivky viru IBR-IPV na TLS a TLP mají téměř shodný průběh, s vrcholem dosaženým v časovém rozmezí od 36 do 48 hodin. Mezi konečnými kvanty extracelulárního viru nepozorujeme signifikantní rozdíl. Jistá výjimka byla zaznamenána u kmene V-19/23, a to v kvantech pomnožného viru, která ve stanovených časových limitech jsou u TLP vyšší v porovnání s TLS s maximálním rozdílem 1 log na vrcholu křivky. Replikační cykly mají přibližně stejně dlouhou latentní fázi 8–12 hodin, ve které někdy, nikoliv však pravidelně, může nastat i pokles titru. Porovnáním replikačních cyklů jednotlivých kmenů nebyl pozorován signifikantní rozdíl. Replikační cykly viru intracelulárního a extracelulárního, sledované na

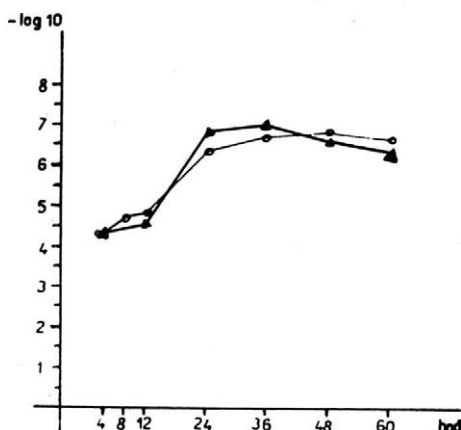


3. CPE — shluk buněk a ložiskový rozpad buněk indukovaný virem IBR-IPV v buňkách linie TL 72 za 40 hodin po infekci (zvětšení 50X)

TLS, mají očekávaný průběh s ekliptickou a latentní fází čtyři až dvanáct hodin a s vrcholem maximálního titru za 24 a 36 hodin (obr. 8–10).

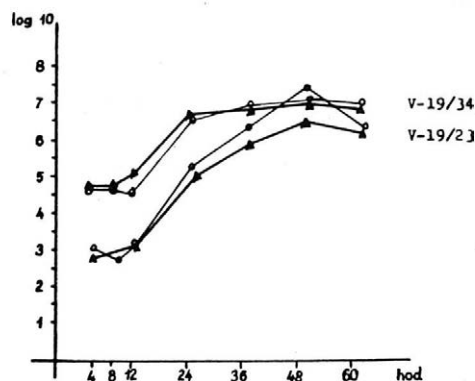
Vnímavost TLS a TLP k infekci virem IBR-IPV byla zjišťována zkříženými titracemi pasážovaných kmenů viru na obou TK. U kmenů pasážovaných na TLP bylo uděláno 11 až 37 rychlých sukcesivních pasáží, podobně u kmenů pasážovaných na TLS bylo uděláno 16 až 29 pasáží.

Z výsledků shrnutých v tab. I je zřejmé, že TLP v porovnání s TLS jsou schopné za formace CPE pomnožit kvanta viru v hraničním ředění, v průměru o 0,45 log vyšším. Přitom je pozoruhodné, že vliv adaptačních pasáží na TLS se neprojevil.



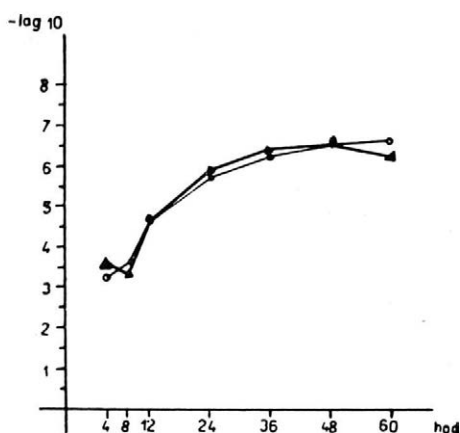
4. Růstová křivka kmene V-25/21 na primárních buňkách telecích ledvin a linii TL 72; titr 6,23

▲ — stabilní linie TL 72
○ — primární buňky



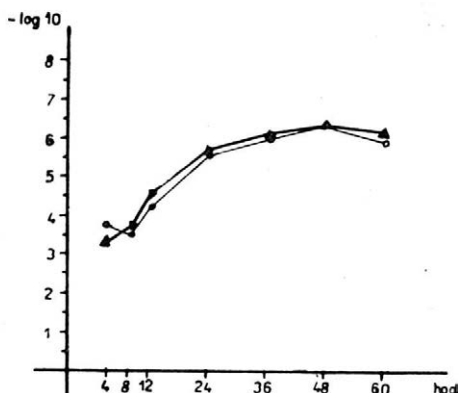
5. Růstová křivka kmene V-19/23 a V-19/34 na stabilní linii TL 72 a primárních buňkách telecích ledvin; titr V-19/23 — 5,50; titr V-19/34 — 7,3

▲ — stabilní linie
○ — primární buňky



6. Růstová křivka kmene V-132/22 na primárních buňkách telecích ledvin a linii TL 72; titr 6,66

▲ — stabilní linie
○ — primární buňky



7. Růstová křivka kmene V-133/18 na primárních buňkách telecích ledvin a linii TL 72; titr 6,00

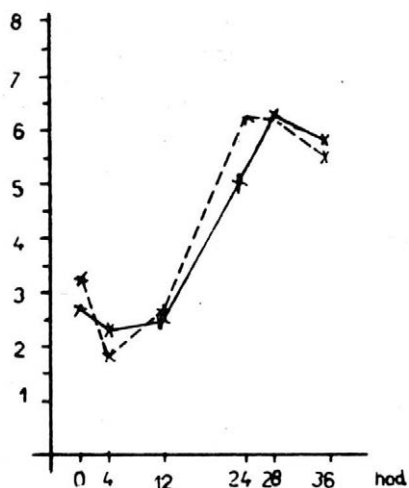
▲ — stabilní linie
○ — primární buňky

I. Porovnání citlivosti primárních buněk telecích ledvin a linie TL 72 k infekci virem IBR-IPV

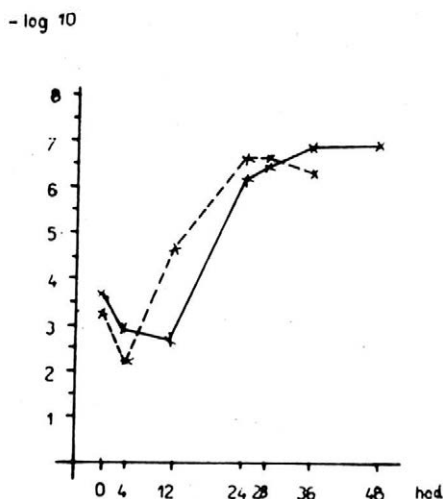
Kmeny pasážované na primárních buňkách telecích ledvin				Kmeny pasážované na linii TL 72			
kmen	titry viru na		rozdíl	kmen	titry viru na		rozdíl
	TLP	TLS			TLP	TLS	
V-19/25	7,49 ⁺	7,16	0,33	V-19/XIX	7,49	7,07	0,42
V-19/33	6,50	6,00	0,50	V-19/XXIX	5,76	5,50	0,26
V-19/51	5,33	4,50	0,83	V-19/XXVII	6,66	6,23	0,43
V-25/53	6,83	6,63	0,20	V-25/XX	6,47	5,83	0,64
V-25/58	6,66	6,33	0,33	V-25/XXIX	6,54	6,50	0,04
V-25/70	7,66	7,00	0,66	V-25/XXXII	7,00	6,33	0,67
V-132/25	6,16	5,63	0,53	V-132/XX	7,16	6,62	0,54
V-132/32	7,50	7,33	0,17	V-132/XVI	6,50	6,16	0,34
V-133/22	6,16	5,49	0,67	V-Košice/V	7,66	7,00	0,66
V-133/26	7,23	7,00	0,23	V-Košice/VI	6,50	6,00	0,50

+ $\log_{10}/0,1 \text{ ml}$

$-\log_{10}$



8. Růstová křivka intracelulárního a extracelulárního viru na linii TL 72; kmen V-25/XXXII; titer 6,33
 ----- intracelulární virus
 ————— extracelulární virus



9. Růstová křivka intracelulárního a extracelulárního viru na linii TL 72; kmen V-132/XI; titer 6,66
 ----- intracelulární virus
 ————— extracelulární virus

II. Porovnání vnímavosti primárních buněk telecích ledvin a linie TL 72 k infekci virem IBR-IPV po slepé pasáži na TL 72

Kmen	TLP	TLS	Rozdíl	TLS _p ++	Rozdíl	Rozdíl TLS _p - TLS
V-19/34	6,16 ⁺	5,37	0,79	5,83	0,33	0,46
V-25/29	5,66	5,50	0,16	5,50	0,16	0,00
V-132/25	6,16	5,63	0,53	5,83	0,33	0,20
V-133/22	6,16	5,49	0,67	5,83	0,33	0,34
V-Košice/3	7,66	7,33	0,33	7,54	0,12	0,21

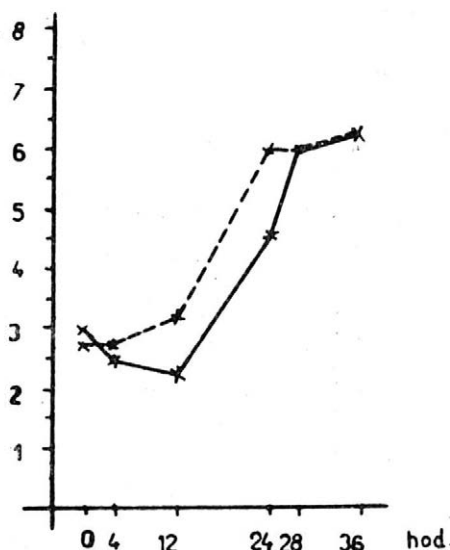
⁺ log₁₀/0,1 ml

⁺⁺ titry po pasáži na linii TL 72

Otázku, zda malá kvanta inokulovaného viru na TLS vedou v každém případě k cytopatickým změnám, nebo zda virus se pomnoží bez formace CPE, měla objasnit jedna subpasáž s tkáňovým médiem hraničního ředění viru (tab. II). Ukázalo se, že ve čtyřech případech z pěti bylo třeba korigovat původní titrační výsledky. I když logaritmický rozdíl mezi výsledky titrací na TLP a TLS se v průměru snížil o 0,25 log, vždy titry dosažené na TLS zůstaly — v porovnání s TLP — nižší. Vnímavost TLS se zřetelně nezvýšila ani při infekci buněčné suspenze, jen morfologické projevy byly poněkud výraznější.

Závislost maximálního kvanta pomnoženého viru na velikosti inokula je shrnuta v tab. III. Infikována byla jak buněčná suspenze TLP a TLS, tak monolayer obou TK, po předchozí 48-hodinové inkubaci. Uvedené časové limity pro sklizeň viru jsou dány na jedné straně úplnou destrukcí infikovaných TK, na druhé straně maximálními hodnotami dosažených titrů. Při multiplicitě infekce 0,01 (M 0,01) u TLS maximální titry nebyly většinou provázeny úplnou destrukcí tkáně. Ukázalo se, že TLS při multiplicitě infekce 0,1 (M 0,1) pomnoží virus do titru, který je v porovnání s TLP v průměru o 0,47 log nižší. Při multiplicitě 0,01 se rozdíl v dosažených titrech zvýšil v průměru na 1,14 log. Porovnáním výsledků titrací po infekci buněčné suspenze a monolayeru TLP a TLS při M 0,1 jsou titry viru na TLS dokonce o 1–2 log nižší. Je třeba zdůraznit, že u TLP při obou multiplicitách infekce nebyl prokázán signifikantní rozdíl v kvantech pomnoženého viru, ať se již jednalo o infekci buněčné suspenze nebo monolayeru.

-log 10



10. Růstová křivka intracelulárního a extracelulárního viru na linii TL 72: kmen V-Košice/VI; titr 5,66
 - - - - - intracelulární virus
 ————— extracelulární virus

III. Porovnání vnímavosti primárních buněk telecích ledvin a linie TL 72 k viru IBR-IPV při multiplicitě infekce 0,1 a 0,01

Kmen	Infekce buněčné suspenze								Infekce monolayeru			
	multiplicita infekce 0,1				multiplicita infekce 0,01				multiplicita infekce 0,1			
	hod.	TLP	TLS	rozdl	hod.	TLP	TLS	rozdl	hod.	TLP	TLS	rozdl
V-25/XXXII titr 6,33	48	6,66	6,66 ⁺	0,34	72	7,54	6,66	0,88	48	7,00	5,66	2,00
	72	7,00	6,66		96	7,00	5,66		72	7,66	5,00	
V-132/XI titr 6,66	48	6,00	6,33	0,21	72	6,66	5,66	1,00	48	7,66	6,66	1,00
	72	7,54	7,33		96	6,66	5,33		72	7,00	6,66	
V-Košice/VI titr 5,66	48	7,00	6,54	0,88	72	6,83	5,66	1,54	48	7,50	3,23	1,84
	72	7,54	6,66		96	7,54	6,00		72	7,33	5,66	

* log₁₀/0,1 ml

11. CPE indukovaný virem IBR-IPV v buňkách linie TL 72 za 24 hodiny po infekci – imunofluorescentní průkaz antigenu (zvětšení 180×)



Imunofluorescencí lze virus prokázat ve tkáňových kulturách TLP a TLS za 12 až 15 hodin po infekci. Imunofluorescenčními protilátkami bylo možné antigen prokázat pouze v místech morfologických změn, tzn., že titry kalkulovaly při zkřížených titracích na TLP a TLS na základě CPE byly shodné s výsledky titrací odečtených imunofluorescenční technikou (obr. 11).

DISKUSE

Předložená práce shrnuje výsledky studií kultivace viru IBR-IPV na stabilní linii epitelu telecích ledvin v porovnání s primárními buňkami telecích ledvin.

Virus IBR-IPV vytváří na TLP i TLS zřetelný a charakteristický CPE. Nástup CPE po infekci vysokým kvantem viru začíná za 12 až 18 hodin; 144 hodiny je maximální doba nutná pro formaci morfologických změn, a to i pro nejmenší kvanta viru. Tato zjištění jsou v soulase s údaji Armstronga a kol. (1961) a Menšíka (1968). Detekce antigenu imunofluorescenčními protilátkami byla vázána na místa morfologických změn.

U kinetiky replikace viru IBR-IPV na TLP a TLS mají časové limity pro jednotlivé fáze cyklu platnost pro obě uvedené TK. Při multiplicitě infekce, při které byly infikovány všechny buňky, latentní fáze replikačního cyklu trvala 8 až 12 hodin; následná fáze vzestupu titru extracelulárního viru byla ukončena ve většině případů za 36 hodin, nejpozději za 48 hodin po infekci. Pouze u kmene V-25 a kmene V-19 tato fáze dosáhla vrcholu téměř za 24 hodiny, popřípadě za 28 hodin. Uvedené časové limity leží v rozmezích, která uvádějí pro TLP Hahnefeld a kol. (1965), Jasty a Chang (1969), House a Baker (1971), Buening a Gratzek (1967), Bindrich (1960) a pro TLS (linie MDBK) Sabina a Parker (1963) a Stevens a Groman (1963). Podobně ekliptická fáze na TLS, trvající čtyři hodiny, je ve shodě s údaji Sabina a Parkera (1963), Hahnefelda a Schulze (1965) a jiných. Vrchol maximálního vzestupu intracelulárního viru byl dosažen za 24 hodiny proti údajům Hahnefelda a kol. (1970), House a Bakera (1971), Bueninga a Gratzeka (1967), kteří uvádějí 14 až 16 hodin. Časové intervaly mezi sklizněmi viru jsou však v našich experimentech delší, takže období 16 hodin není podchyteno. U TLS uvádějí Sabina a Parker (1963), podobně jako Stevens a Groman (1963), podstatně kratší dobu této fáze — 10 až 12 hodin.

Pro replikační cykly viru IBR-IPV na TLP a TLS je podstatné, že u růstových křivek není signifikantní rozdíl nejen mezi jejich průběhem v závislosti na času, ale také mezi jejich vzájemným postavením. Obě TK, až na jednu výjimku, pomnožily virus do kvant, mezi kterými nebyl rovněž signifikantní rozdíl. V průběhu replikačního cyklu mohou odchylky ve vzájemném postavení růstových křivek do jisté míry naznačovat rychlost uvolňování extracelulárního viru. Interval mezi detekcí intracelulárního a extracelulárního viru je indikací v buňce po jistou dobu zadrženého viru před jeho následným uvolněním.

Vnímavost porovnávání TK na infekci virem IBR-IPV byla sledována zkříženými titracemi kmenů o různém počtu „adaptačních“ pasáží na obou tkáňových systémech. TLP v porovnání s TLS jsou schopné pomnožit s formací CPE kvantum viru v hraničním ředění vždy vyšším, v průměru o 0,45 log (v rozmezí od 0,17 do 0,83 log u kmenů pasážovaných na TLP a od 0,04 do 0,67 log u kmenů pasážovaných na TLS). Vliv pasáží na stupeň adaptace se neprojevil. I když výsledky titrací u TLS, po jedné slepé pasáži s mediem hraničního ředění, bylo nutné ve čtyřech případech z pěti korigovat, zůstala výška titrů u TLP v průměru o 0,25 log vyšší.

Porovnání titrů na TK stejného typu u kmenů pasážovaných na TLP nebo TLS odpovídá postavení růstových křivek na TLP a TLS a současně ukazuje, že při multiplicitě infekce, zaručující infekci každé buňky, je schopnost TLP a TLS pomnožit virus, co do konečných kvant, stejná.

Závislost maximálního kvanta pomnoženého viru na velikosti inokula byla sledována za užití multiplicity infekce 0,1 (M 0,1) a 0,01 (M 0,01) u obou TK. Ukázalo se, že TLP jsou při infekci buněčné suspenze schopné pomnožit virus bez ohledu na velikost inokula do stejných titrů. Pro sklizeň maximálních kvant viru u TLP rovněž nerozhoduje způsob infekce — zda je infikována buněčná suspenze či monolayer. Naproti tomu u TLS je nejen závislost kvanta pomnoženého viru na velikosti inokula zřejmá, ale i způsob infekce může mít podstatný vliv na množení viru. Jestliže u M 0,1 při infekci buněčné suspenze pomnožily TLP proti TLS virus do titru, který je v průměru o 0,47 log vyšší, pak u M 0,01 jsou kvanta pomnoženého viru na TLS v průměru o 1,14 log

nižší. Také v závislosti na způsobu infekce mohou být titry viru na TLS o 1 log nižší proti výsledkům titrací na TLP.

Z porovnávacích studií zjišťujeme na jedné straně, že TLP a TLS při vysoké multiplicitě infekce mají schopnost pomnožit virus do kvant, mezi kterými není signifikantní rozdíl, na druhé straně při nízké multiplicitě infekce jsou titry viru u TLS proti TLP zřetelně nižší. Tato skutečnost je projevem snížené vnímavosti TLS k infekci virem IBR-IPV. I když by bylo třeba vysvětlení doložit podrobným studiem, lze soudit, že u TLS se uplatňují mechanismy, které narušují šíření viru v tkáni. Interferonový mechanismus se nám nepodařilo prokázat. Složkou vlastnostmi podobnou interferonu by však mohly být buněčné receptory, které jsou schopné změnit virus bez poškození tak, že po eluci není schopen infikovat buňky sousední.

Technická spolupráce: E. Pechoušová, B. Císařová

Literatura

- ARMSTRONG J. A., PEREIRA H. G., ANDREWS C. H., 1961, Observations on the Virus of Infectious Bovine Rhinotracheitis and its Affinity with the Herpesvirus Group. *Virology* 14 : 276-285.
- BINDRICH H., 1960, Untersuchungen über das Virus des Bläschenausschlages des Rindes (*Exantema coitale vesiculosum bovi*). *Arch. Exp. Vet. Med.* 14 : 656-675.
- BUENING G. M., GRATZEK J. B., 1967, Comparison of Selected Characteristics of Four Strains of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus. *Am. J. vet. Res.* 126 : 1257-1267.
- DULBECCO R., VOGT M., 1954, Plaque Formation and Isolation of pure Lines with Poliomyelitis Viruses. *J. exp. Med.* 99 : 167-183.
- HAHNEFELD H., SCHULZE P., 1965, Untersuchungen zum Ausbreitungsmodus des Virus der Infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) und Bläschenausschlages des Rindes (IPV) in Kälbernieren- Einschichtzellkulturen. *Arch. exp. VetMed.* 19 : 1405-1429.
- HAHNEFELD H., URBANECK D., LIEBERMANN H., BERGMANN H., 1970, Infektiöse Bovine Rhinotracheitis (IBR). Nachweis von IBR Virus bei einem Kalb mit *Stomatitis erosiva*. *Mh. Vet. Med.* 25 : 222-228.
- HOUSE J. A., BAKER J. A., 1971, Bovine Herpesvirus IBR-IPV. The Antibody Virus Neutralization Reaction. *Cornell Vet.* 51 : 320-335.
- JASTY V., CHANG P. N., 1969, Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus in Bovine Kidney Cells. Sequence of Viral Production Cellular Changes and Localization of Viral Nucleic Acid and Protein. *Am. J. vet. Res.* 30 : 1325-1332.
- KABELÍK V., KORYCH B., 1968, Möglichkeiten der Kultivierung des Aujeszky-virus in der Stabilen Zell-Linie des Kortex der Schweineniere (PK-Linie). *Arch. exp. Vet. Med.* 20 : 935-946.
- MENŠÍK J., 1968, Příspěvek k diagnostice respiračních infekcí skotu. Závěrečná zpráva, VÚV Brno.
- MENŠÍK J., ROZKOŠNÝ V., 1969, Průkaz viru IBR v souvislosti s akutním onemocněním telat a mladého skotu. *Vet. Med. (Praha)* 12 : 653-664.
- NELSON D. R., MARÉ C. J., GLOCK R. D., 1972, Infectious Bovine Rhinotracheitis (*Herpesvirus bovis*) Infection in Swine. *Am. J. vet. Res.* 33 : 1209-1216.
- SABINA L. R., PARKER R. C., 1963, Studies of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus. I. Plaque Assay and some Characteristics in Bovine Kidney Cells. *Can. J. Microbiol.* 2 : 567-579.
- STEVENS J. G., GROMAN N. B., 1963, Infectious Bovine Rhinotracheitis Replication, Cytopathology and Plaque Formation in Presence and Absence of Nucleic Acid Analogues. *J. Bact.* 87 : 446-453.

Došlo dne 19. 12. 1972

КАБЕЛИК В., ГОРИНА Б., БРАТШОВСКИ Я. (Центральный государственный ветеринарный институт, отдел вирусологии, Прага, Чехословакия). Культивирование вирусов инфекционного бычьего ринотрахеита — инфекционного пустулезного вульвовагинита крупного рогатого скота (IBR-IPV) на стабильные линии эпителия телячьих почек (ТП 72). Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 475-484, 1973.

В работе подытожены результаты изучения инфекции стабильной линии эпителия телячьих почек (ТП 72) в сравнении с первичными клетками коры телячьих почек. В скрещенных титрациях первичные клетки умножают вирус в предельном разбавлении, которое на 0,45 log выше по сравнению с клетками стабильной линии. При разнообразии инфекции, гарантирующей заражение каждой клетки, клетки стабильной линии умножают вирус приблизительно на такое же количество, как первичные клетки. При низкой разнообразии инфекции 0,1 и 0,01 титр умноженного вируса на линию явственно ниже по сравнению с первичными клетками.

инфекционный бычий ринотрахеит; инфекционный пустулезный вульвовагинит; культивация вируса IBR-IPV

KABELÍK V., HORYNA B., BRATRŠOVSKÝ J. (Central State Veterinary Institute, Department of Virology, Prague, Czechoslovakia). *The Cultivation of the Virus of Infectious Bovine Rhinotracheitis — Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV) in a Stable Line of Calf Kidney Epithelium (TL 72)*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 475-484, 1973.

The paper sums up the results of the studies in the infection of a stable line of calf kidney epithelium (TL 72) in comparison with the primary cells of the kidney cell cortex. In crossed titrations the primary cells multiply the virus in a marginal dilution which is higher by 0.45 log than in the cells of the stable line. If the infection multiplicity is high, with all cells being infected, the cells of the stable line multiply the virus approximately to the same quantity as the primary cells. On the other hand, if the infection multiplicity is low (0.1 and 0.01), the titre of the multiplied virus is much lower in the line than in the primary cells.

infectious bovine rhinotracheitis; infectious pustular vulvovaginitis; cultivation of the IBR-IPV virus

KABELÍK V., HORYNA B., BRATRŠOVSKÝ J. (Zentralstaatsinstitut für Veterinärwesen, Abteilung der Virologie, Praha, Tschechoslowakei). *Kultivation des Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis — infektiösen pustularen Vulvovaginitis der Rinder (IBR-IPV) auf der stabilen Epithellinie der Kalbsnieren (TL 71)*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 475-484, 1973.

Die Arbeit faßt die bei dem Studium der Infektion der stabilen Epithellinie der Kalbsnieren (TL 72) gewonnenen Ergebnisse zusammen, im Vergleich zu den primären Zellen des Kalbsnierenkortexes. In gekreuzten Titrationen vermehren die primären Zellen das Virus in einer Grenzverdünnung, die im Vergleich zu den Zellen der stabilen Linie um 0,45 log höher ist. Bei einer hohen Infektionsmultiplizität, die die Infektion einer jeden Zelle gewährleistet, vermehren die Zellen der stabilen Linie das Virus ungefähr auf dieselben Quanten wie die primären Zellen. Bei einer niedrigen Infektionsmultiplizität von 0,1 und 0,01 ist jedoch der Titer des vermehrten Virus auf der Linie deutlich niedriger im Vergleich zu den primären Zellen.

infektiöse bovine Rhinotracheitis; infektiöse pustuläre Vulvovaginitis; Kultivation des Virus IBR-IPV

Adresa autorů:

MVDr. V. Kabelík, MVDr. B. Horyna, MVDr. J. Bratršovský, Ústřední státní veterinární ústav, Kamýčká ulice, 165 03 Praha 6 — Lysolaje

VYUŽITÍ OTISKOVÝCH PREPARÁTŮ V IMUNOFLUORESCENČNÍ DIAGNOSTICE VIROVÉ GASTROENTERITIDY PRASAT

B. Horyna

Ústřední státní veterinární ústav, Praha

HORYNA B. *Využití otiskových preparátů v imunofluorescenční diagnostice virové gastroenteritidy prasat.* Vet. Med. (Praha) 18 (8): 485-489, 1973.

Imunofluorescenční vyšetření otiskových preparátů střev selat nemocných virovou gastroenteritidou lze využít pro rychlé stanovení diagnózy. Byla porovnávána metoda histologických řezů s imunofluorescenčním vyšetřením otiskových preparátů střev selat nemocných virovou gastroenteritidou. Podle výsledků lze tuto rychlou diagnostickou metodu použít pro rutinní vyšetřování selat z přirozených epizootií VGP. Ovšem upozorňujeme na její 90% spolehlivost při srovnání s konformní metodou histologických řezů.

virová gastroenteritida; imunofluorescence; otiskové preparáty

V poslední době nabývá imunofluorescenční stanovení diagnózy infekčních chorob stále většího uplatnění.

U virové gastroenteritidy prasat (VGP) představuje tato metoda zatím nejschůdnější cestu pro rychlé a poměrně spolehlivé stanovení diagnózy. Diagnostika této nákazy podle klinických příznaků, patologicko-anatomického nálezu a epizootologické situace je nedostatečná, využití biologického pokusu je časově náročné a někdy i obtížné. Histologickým vyšetřením tenkých střev (Trapp a kol. 1966, Žuravlev 1964) a hematologickým vyšetřením (Olson 1971) se zjišťují změny všeobecného charakteru, které je možno pozorovat při průjemových onemocněních selat.

Pro přímou imunofluorescenční diagnostiku VGP je zavedena metoda histologických řezů jejunu a ilea, jak ji popsal Pospíšil a kol. (1969). Průkaz viru VGP v otiskových preparátech z tenkých střev, mezenterálních mízních uzlin a tonsil popisují Konishi a Bankowski (1967), kteří k tomu účelu použili experimentálně infikovaných SPF selat. Kromě toho pro studium této nákazy využívali tkáňových kultur, stejně jako Norman a kol. (1968), McClurkin (1965) a Štěpánek a kol. (1969).

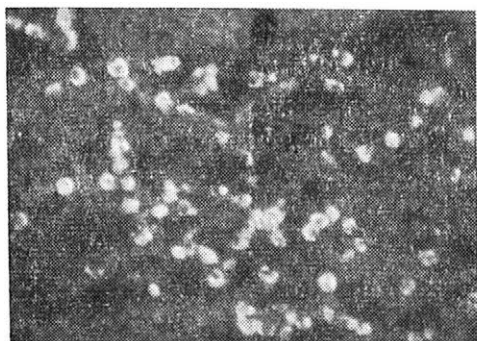
V předkládané práci jsme porovnávali spolehlivost vyšetření VGP metodou otiskových preparátů a metodou histologických řezů.

MATERIÁL A METODY

Byla vyšetřena celkem 262 selata ze 61 lokality ve stáří od tří do deseti dnů pro potvrzení nebo vyloučení VGP.

Zpracování materiálu: Ihned po usmrcení selat byly odebrány vzorky pro histochemické vyšetření a asi 1 cm dlouhé vzorky v různých úseku tenkého střeva pro otiskové preparáty. Otiskové preparáty byly zhotoveny přitlačením nahřátého podložního sklíčka k podélně rozstřiženému úseku střev. V případě, že střevo obsahovalo zbytky potravy, bylo předem propláchnuto injekční stříkačkou sterilním fyziologickým roztokem. Některé úseky střev jsme nerozstříhávali, ale obrátili lumen vně, navlékli na tampón, opláchli ve fyziologickém roztoku a udělali otisk celého lumen střeva. Od tohoto druhého způsobu bylo později upuštěno pro pracnost, protože se neprokázal rozdíl v kvalitě mezi oběma způsoby zhotovení otisku.

Otiskové preparáty byly fixovány po dobu 20 minut ve vychlazeném acetonu při $+4^{\circ}\text{C}$. Potom byly převrstveny globulinem značeným FITC proti VGP, umístěny ve vlhké komůrce a inkubovány 30 min při termostátové teplotě. Dále byly 2×10 min propírány v pomalu cirkulujícím veronalovém pufru o pH 8,7, který byl jednou měněn. Otisky byly montovány do pufovaného glycerinu o pH 7,2 a prohlíženy fluorescenčním mikroskopem M1-2 s rtuťovou výbojkou DRŠ — 250 W, s excitačními filtry: FS 1-2, BS 8-2, SZS 7-2, zábranným okulárovým filtrem ŽS 18-2, osvětlení shora s binokulární hlavicí S faktorem 1,1krát. Zvětšení: 200—450.



1. Pozitivní fluorescence enterocytů přirozeně infikovaného selate (zvětš. 10×3 , film ORWO 27 Din, expozice 6 min)



2. Výrazná fluorescence enterocytů (zvětš. 40×3 , film ORWO 27 Din, expozice 4 min)



3. Specifická fluorescence shluku enterocytů (zvětš. 40×3 , film ORWO 27 Din, expozice 4 min)

Jako kontrol bylo použito:

1. otisky vyšetřovaného materiálu byly převrstveny negativním prasečím konjugátem;
2. otisky tenkého střeva zdravého selete byly převrstveny pozitivním konjugátem;
3. otisky vyšetřovaného materiálu byly převrstveny pozitivním imunním sérem nekonjugovaným a po důkladném vyprání byly převrstveny pozitivním konjugátem.

Stejné kontroly byly založeny pro metodu histologických řezů.

VÝSLEDKY

V enterocytech střevní výstelky tenkých střev nemocných VGP byla přímou imunoilufescenční metodou zjištěna jejich výrazná ilufescence. Cytoplazma infikovaných buněk vykazovala žlutozelenou ilufescenci, většinou difúzní, celé hmoty cytoplazmy nebo méně často ve formě jemných granulí. Naproti tomu cytoplazma buněk neinfikovaných nebo v negativním

preparátu měla světle zelenou nebo až tmavou barvu, takže buňky byly v zorném poli vidět jako slabě rozeznatelné pozadí (obr. 1, 2, 3).

Výsledky získané otiskovými preparáty byly druhý den porovnávány s výsledky získanými vyšetřením histologických řezů (tab. I).

Z tabulky je zřejmé, že v 99 případech byla VGP diagnostikována IF vyšetřením histologických řezů, zatímco vyšetřením otiskových preparátů jen v 90 případech.

DISKUSE

Využitím otiskových preparátů ze střev nemocných selat a přímou imunoilufescenční metodou je možné diagnostiku VGP podstatně zrychlit. Výsledku lze dosáhnout touto expres metodou již během dvou hodin. Pro metodu imunoilufescenčního vyšetření histologických řezů, jak uvádí Pospíšil a kol. (1969), je třeba časového údobí nejméně 24 hodin, nehledě na to, že tato technika je náročnější po všech stránkách.

Nejsilnější a nejmasivnější ilufescence enterocytů byla pozorována u selat na vrcholu klinického onemocnění, což odpovídá stádiu selat od tří do pěti dnů. Pro naše vyšetřování nebyl vždy tento vhodný materiál zaslán. Na vyšetření byla zaslána selata na počátku infekce, kde byl i malý počet infikovaných buněk, nebo naopak byla zaslána poslední přežívající selata z vrhu, u nichž je stanovení diagnózy velmi obtížné. Měli jsme možnost si to několikrát ověřit výjezdem do terénu a odběrem nových vzorků. V těchto případech se jeví otiskové preparáty méně citlivé než histologické řezy. Tím si lze vysvětlit jen přibližně 90% spolehlivost ve srovnání s výsledky dosahovanými vyšetřením histologických řezů.

I. Porovnání otiskových preparátů s histologickými řezy

Výsledek	Otiskové preparáty	Histologické řezy
Pozitivní	90	99
Negativní	152	143

Pospíšil a kol. (1969) upozorňuje na větší nebezpečí nespecifické fluorescence u otiskových preparátů. Nepozorovali jsme silnější nespecifickou fluorescenci, a naopak u otiskových preparátů nedochází k nespecifické fluorescenci báze všech enterocytů, jak se stává v některých případech u histologických řezů. Rovněž nevzniká nespecifická fluorescence histiocytů.

Konishi a Bankowski (1967) pozorovali v otiskových preparátech ze střev experimentálně infikovaných SPF selat pozitivně fluoreskující enterocyty jen v 73,3 % případů. K infikování použili selata sedm dnů stará a vyšetřovali je různou dobu po infikování (1–7 dnů), což může být příčinou poměrně nízkého procenta pozitivně fluoreskujících enterocytů. Tíž autoři přesto považují metodu otiskových preparátů za dostatečně senzitivní a specifickou, aby mohla prokázat akutní infekci VGP již v prvních dnech onemocnění.

Literatura

- KONISHI S., BANKOWSKI A. R., 1967, Use of Fluorescein-Labeled Antibody for Rapid Diagnosis of Transmissible Gastroenteritis in Experimentally Infected Pigs. *Am. J. vet. Res.* 28 : 937-942.
- MC CLURKIN A. W., 1965, Studies on Transmissible Gastroenteritis of Swine. I. The Isolation and Identification of a Cytopathogenic Virus of Transmissible Gastroenteritis in Primary Swine Kidney Cell Cultures. *Can. J. comp. Med. Vet. Sci.* 29 : 46-53.
- NORMAN J. O., MC CLURKIN A. W., BACHRACH H. L., 1968, Infectious Nucleic Acid from a Transmissible Agent Causing Gastroenteritis in Pigs. *J. comp. Path.* 78 : 227-237.
- OLSON L. D., 1971, Induction of Transmissible Gastroenteritis in Feeder Swine. *Am. J. vet. Res.* 32, 3 : 411-417.
- POSPÍŠIL Z., MESÁROŠ E., ŠTĚPÁNEK J., 1969, Diagnostika virové gastroenteritidy prasat z histologických řezů pomocí přímé imunofluorescenční metody. *Vet. Med. (Praha)* 14, 6 : 351-356.
- ŠTĚPÁNEK J., MESÁROŠ E., POSPÍŠIL Z., 1969, Izolace cytopatogenních kmenů původce virové gastroenteritidy prasat ve tkáňových kulturách. *Vet. Med. (Praha)* 14, 12 : 665-674.
- TRAPP A. L., SANGER V. L., STALNAKER E., 1966, Lesions on the Small Intestinal Mucosa in Transmissible Gastroenteritis Infected Germfree Pigs. *Am. J. vet. Res.* 27 : 1695-1702.
- ŽURAVLEV A. M., 1964, Infekcionnyj gastroenterit svinej. Kliničeskije priznaki i patomorfologičeskije izmenenija. *Veterinarija* 41 : 43-46.

Došlo dne 18. 1. 1973

ГОРЫНА Б. (Центральный государственный ветеринарный институт, Прага, Чехословакия). Использование препаратов с отпечатками в иммунофлуоресцентной диагностике вирусного гастроэнтерита свиней. *Vet. Med. (Praha)* 18 (8) : 485-489, 1973.

Иммунофлуоресцентное обследование препаратов с отпечатками кишок поросят, больных вирусным гастроэнтеритом можно использовать для быстрого определения диагноза. С иммунофлуоресцентным обследованием препаратов с отпечатками кишок поросят, больных гастроэнтеритом сравнивался метод гистологических срезов. Согласно результатам эту скоростную диагностику можно применить для рутинного обследования поросят из естественных эпизоотий ВГП. Однако, предупреждаем о ее 90 % надежности при сравнении с конформным методом гистологических срезов.

вирусный гастроэнтерит; иммунофлуоресценция; препараты с отпечатками

HORYNA B. (Central State Veterinary Institute, Prague, Czechoslovakia). *The Use of Imprint Preparations in the Immunofluorescent Diagnosis of Virus Gastroenteritis in Pigs*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 485-489, 1973.

The immunofluorescent examination of the imprint preparations of the intestines of piglets diseased with virus gastroenteritis can be used for quick diagnosis. The method of histological cuts was compared with the immunofluorescent examination of the imprint preparations of the intestines of piglets suffering from virus gastroenteritis. As indicated by the results, this quick method can be used for the routine examination of piglets from natural VGP epizootics. It must be mentioned, however, that its reliability reaches 90 % in comparison with the conventional method of histological cuts.

virus gastroenteritis; immunofluorescence; imprint preparations

HORYNA B. (Zentralstaatsinstitute für Veterinärwesen, Praha, Tschechoslowakei). *Ausnutzung von Abdruckpräparaten in der Immunofluoreszenz-Diagnostik der Schweine Virusgastroenteritis*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 485-489, 1973.

Immunofluoreszenz-Untersuchungen von Abdruckpräparaten der Därme von an Virusgastroenteritis erkrankten Ferkeln können zur schnellen Diagnose benutzt werden. Es wurde die Methode der histologischen Schnitte mit der Immunofluoreszenzuntersuchung von Abdruckpräparaten der kranken Ferkel verglichen. Den Ergebnissen gemäß kann diese diagnostische Schnellmethode zu laufenden Untersuchungen von Ferkeln aus mit Virusgastroenteritis verseuchten Zuchten angewandt werden. Wir weisen allerdings auf die neunzigprozentige Verlässlichkeit dieser Methode beim Vergleich zu der konformen Methode histologischer Schnitte hin.

Virusgastroenteritis; Immunofluoreszenz; Abdruckpräparate

Adresa autora:

MVDr. B. Horyna, Ústřední státní veterinární ústav, 165 03 Praha 6, Lysolaje Na Vinici 156

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

JULIAN R. J. C 19.743/161
Vaccination methods for Newcastle Disease. Toronto, Ontario Min. of agric. and food 1972. 2 s. Factsheet 161. (Pseudomor drůbeže — ochrana — metody — leták)

E 35.888

Veterinaren spravočnik po parazitni bolesti. Sofija, Zemizdat 1972. 217 s. (Veterinární parazitologie — příručka)

REICHENOW E., VOGEL H., WEYER F. D 61.082
Leitfaden zur Untersuchung der tierischen Parasiten des Menschen und der Haustiere. Leipzig, Johann Ambrosius Barth 1969. 418 s. 117 obr. (Veterinární parazitologie — příručka)

STEFAŃSKI W., ŻARNOWSKI E. D 61.092
Rozpoznawanie inwazji pasożytniczych u zwierząt. Warszawa, PWRiL 1971. 419 s. 127 obr. (Veterinární parazitologie — diagnostika — příručka)

NEMESÉRI L., HOLLÓ F. E 35.755
Állatorvosi parazitológiai diagnosztika. Budapest, Mezőgazdasági kiadó 1972. 468 s. 254 obr. (Veterinární parazitologie — diagnostika — příručka)

SANDOVAL RUIZ D. J. E 13.401/72-1
La equinococosis. Madrid, Min. da agric. 1972. 16 s. 9 obr. Hojas divulgadoras 72-1. (Echinococcus — hospodářská zvířata)

SCHUSTER J. E 33.351/306
Enzymaktivitäten im Serum von Schistosoma mansoni infizierten Mastomys natalensis (Smith, 1834) unter besonderer Berücksichtigung der Chemotherapie mit Hycanthone. Inaug.-Diss. d. Justus Liebig-Universität zu Giessen. Giessen, Institut für Parasitologie und Parasitäre Krankheiten der Tiere 1971. 97 s. obr. tab. (Mastomys natalensis — nemoci parazitární — krevnička střevní — léčení — Hycanthone — výzkum/Krevnička střevní — cizopasník — Mastomys natalensis — krevní sérum — enzymy — aktivita — vztahy — výzkum — NSR — disert. práce)

LLOYD J. E., SPACKMAN E. i., PFADT R. E. E 8.063/577
Control of insect pests of Wyoming horses. Laramie, Wyoming Agric. ext. service 1972. 16 s. 21 obr. Bulletin 577. (Kůň — nemoci parazitární — hmyz — hubení — insekticidy)

CROSS R. F. D 28.346/1050
Bovine leukosis transmission. Wooster, Ohio Agricultural research and development center 1972. 14 s. 1 obr. 9 tab. (Trypanosoma theileri — skot — leukóza — vztahy — výzkum — USA)

D 60.733
Piroplazmidy krupnogo rogatogo skota i ich perenosčiki v Tadžikistane. Dušanbe, Doniš (1972). 180 s. obr. (Piroplazmóza skotu — SSSR — sborník)

LAUTENSLAGER J. P. C 19.743/83
Lungworm in cattle. Toronto, Ontario Depart. of agric. and food 1971. 2s. 2 obr. Factsheet 83. (Plicnivka jelení — cizopasník — skot — leták)

BARRACH A. E 32.333/770
Einfluss von Temperatur und Larvaler Fasciola Hepatica-Infektion auf die Zwergschlamm Schnecke Galba (L.) truncatula M. Inaug.-Diss. d. Freien Universität Berlin. Berlin, Institut für Parasitologie 1972. 35 s. obr. tab. (Motolice jaterní — meziphostitelé — bahnatka malá — napadení — teplota — vliv — výzkum — NSR — disert. práce)

DETEKCIA PRECIPITAČNÉHO ANTIGÉNU V KOŽI A PERÍ HYDINY SO ZRETELOM NA DIAGNOSTIKU MARKOVEJ CHOROBY

E. Časnocha, J. Salaj

Štátny veterinárny ústav, Zvolen
Výskumné stredisko Bioveta, Nitra

ČASNOCHA E., SALAJ J. *Detekcia precipitačného antigénu v koži a perí hydiny so zreteľom na diagnostiku Markovej choroby.* Vet. Med. (Praha) 18 (8): 491-498, 1973.

Precipitáciou v agarovom géle bol dokazovaný špecifický antigén v koži a perii infikovanej hydiny vírusom Markovej choroby (M. ch.). Špecifický antigén bol zistený u 84,6% kurčiat s nádorovou formou ochorenia. U kurčiat s paralytickou formou M. ch. bol antigén dokázaný v 51,2%. Tiež kurčatá, ktoré prežili infekciu a klinicky neochoreli, mali v koži antigén (50%). Neoperená časť kože dala negatívny výsledok. Rovnako bol negatívny výsledok precipitácie antigénov peria a kože pripravených zo zvierat notoricky zdravých a vakcinovaných proti M. ch. Predbežné výsledky naznačujú, že metóda precipitácie v agarovom géle s antigénom získaným z kože resp. z peria je špecifická, rýchla a tým výhodná pre diagnostiku M. ch. Priemerná zachytnosť metódy (cca 65%) upozorňuje na to, že negatívny výsledok precipitácie nevylučuje M. ch.

Markova choroba; precipitácia v agarovom géle; vírusové a bunkové antigény

Doterajšie virologické metódy diagnostiky M. ch. spočívajú hlavne na izolácii pôvodcu na tkanivových kultúrach (TK) a kuracích embryách (Anonym 1970). Tieto metódy sú náročné a pomerne zdĺhavé (10–16 dní) a uskuutočniteľné len zo živého materiálu. Preto sa hľadali možnosti rýchlejšieho, intravitalného i postmortálneho dôkazu ochorenia.

Chubb a Churchill (1968) poukázali na to, že TK infikované vírusom M. ch. obsahujú špecifický antigén, ktorý sa dá dokázať v agarovej precipitácii pomocou špecifických antisér. Obdobne dokazovali sérové protilátky u chorej hydiny pomocou antigénu pripraveného z infikovaných TK. Prítomnosť protilátok v sére svedčí o tom, že hydina prišla do styku s antigénom M. ch. (Ahmed a kol. 1970, Witter a kol. 1971, Ianconescu a Samburg 1971, Kottaridis a Luginbuhl 1972).

Štúdium patogenézy M. ch. privedlo viacerých autorov k sledovaniu distribúcie antigénu M. ch. v tele infikovanej hydiny. Imunofluorescenciou sa jeho maximum zistilo v koži, resp. v perových folikuloch chorej hydiny (Calnek a kol. 1969, 1970, Nazerian a Witter 1970).

Kottaridis a kol. (1968) zistili antigén M. ch. v plazme a kostnej dreni chorej hydiny okrem fluorescenčnej metódy aj pomocou agarovej imunodifúzie. Eidsen a kol. (1971) použil ako antigén kožu infikovaných kurčiat, v ktorej detekoval špecifický antigén M. ch. s pozitívnymi precipitačnými sérami.

Tieto poznatky nás viedli k pokusu využiť metódu agar-gélovej precipitácie (AGP) pre dôkaz prítomnosti antigénu M. ch. v koži a v perí chorej hydiny a získané pozitívne výsledky pokusu využiť pre diagnostiku ochorenia.

MATERIÁL A METÓDA

Antigén tkanivových kultúr (TK): Z infikovaných tkanivových kultúr sme pripravili precipitačný antigén prispôbenou metódou Chubba a Churchill (1968). Vírus M. ch., kmeň Š-I (Časnocha a Salaj 1972), sme kultivovali na kuracích obličkových bunkách v 500 ml Roux fľašiach. Druhý deň po objavení sa charakteristického cytopatického efektu (CPE) sme odstránili kultivačné médium a bunkový porast sme trikrát zmrazili (-70°C) a rozmrazili ($+37^{\circ}\text{C}$). Lyzovaný infikovaný bunkový materiál bol používaný ako pozitívny precipitačný antigén TK.

Antiséra: Jednodňové kurčatá (Shaver) sme vakcinovali kmeňom THV-Bio-I. Dva týždne po vakcinácii boli čelenžované vírusom M. ch. Š-I (0,3 ml infekčnej krvi i. p.). Precipitačné protilátky sme zisťovali v 8. až 10. týždni, kedy kurčatá boli opäť infikované i. m. krvou trikrát v týždenných intervaloch. Kurčatá, u ktorých sa zistili precipitačné protilátky, sme vo veku 15 týždňov vykrevili.

Druhé precipitačné sérum sme získali z kurčiat (Hampshire), ktoré boli infikované vírusom Š-I ako jednoduché a infekciu prežili. Vykrevné boli v 15. týždni.

Kožný antigén (KA): Z laterálnej strany lýtky kurčiat sme ostrihali perie a odobrali sme kožu o váhe 3 až 4 g (2×5 cm). V tretej miske sme dokonale kožu rozstrihali, pridali 7 až 9 ml PBS a pomocou morského piesku sme pripravili suspenziu. Túto sme ponechali 2 hod. v mrazničke (-20°C) a po rozmrazení odstredili 30 min. pri 12 000 obr./min. Supernatant (bez tuku) sme odsali a používali ako antigén. Prípadný zákal bol odstránený chloroformom.

Perový antigén (PA): Z laterálnej strany lýtky, stehna až chrbáta vyšetrovaných kurčiat sme vytrhali 40 až 50 krycích pier. Z koncov bŕk (*calamus*) dĺžky 8 až 10 mm sme s 2 až 3 ml PBS pripravovali suspenzie, obdobne ako u KA.

Precipitačný agar: V destilovanej vode sme rozvarili 2% „Oxoid“ agar No 3 (Oxoid Limited-London). Po stuhnutí bol rozkrájaný na kocky 10×10 mm a vypieraný dva dni v destilovanej vode. Tento zásobný agar uschovávame v chladničke. Potrebné množstvo agaru na precipitáciu pripravujeme ako 1% agar s obsahom 8% kuchynskej soli a upravíme pH na 7,4 (Okazaki a kol. 1970). Zohriatou pipetou nanášame 5 ml agaru na podložené sklíčko (36×76 mm). Pripravené agarové platne uložené vo vlhkej komôrke v chlade používame do troch týždňov od prípravy.

Prevedenie precipitačného testu: Z ekonomických dôvodov sme používali mikrometódu. Injekčnou ihlou upravenou na spôsob korkovrtu sme vykrájali jamky do agaru o priemere cca 1,5 až 2 mm. Jedna jamka bola stredová a 5 až 6 jamiek na vrcholoch 5 až 6uholníka (obr. 2). Vzdialenosť medzi jamkami sa rovnala približne ich priemeru. Jamky sme plnili Pasteurovou pipetou po úroveň agaru. Antigén rýchlejšie difunduje, preto sme najskôr do stredovej jamky nanášali precipitačné sérum a potom antigény do obvodových jamiek. AGP prebiehala vo vlhkej komôrke pri 37°C . Výsledky sme hodnotili

po 1, 3 a 20 hodinách pri bočnom osvetlení, pomocou lupy, bez predchádzajúceho vypierania prebytočných bielkovín z agaru. Pre dokumentáciu resp. fotografovanie výsledkov AGP sme sklíčka s agarom vypierali dva dni vo fyziologickom roztoku, vysušili pod papierom Wattmann č. 1 a farbili 1 hod. 0,1% kys. fuchsínom v 10% kyseline octovej. Na diferenciaciu a odplavenie prebytočného farbiva z agarových platní sme použili 2% kyselinu octovú (0,5—1 hod.).

Iné metódy potvrdzujúce resp. vylučujúce M. ch. u kurčiat sme používali podľa nášho predchádzajúceho zdelenia (Časnoch a Salaj 1972).

VÝSLEDKY

Špecifickosť AGP reakcie sme sledovali prípravou kožných a perových antigénov z pokusne infikovaných kurčiat (Hampshire) vírusom M. ch. kmeňom Š-I. 19 jednodňových kurčiat sme infikovali i. p. po 0,2 ml citrátovej krvi z klinicky chorých kurčiat. Kontrolná skupina mala 5 kurčiat. Z pokusnej skupiny klinicky ochorelo 15 kurčiat v priebehu 3 až 10 týždňov (z toho 4 uhynuli náhle a kultivácia vírusu sa nedala uskutočniť). Štyri kurčatá infekciu prežili a boli usmrtené v 13. týždni života spolu s kontrolnými kurčatami (tab. I). V tabuľkách čísla v čitateli vyjadrujú počet pozitívnych nálezov, v menovateli je celkové množstvo vyšetrených zvierat.

Paralelný pokus sme previedli s morkami (9 moriek infikovaných kmeňom Š-I a 5 kontrolných). Výsledok pokusu je v tab. II. Na rozdiel od predchádzajúceho, bolo ukončenie v 15. týždni p. i.

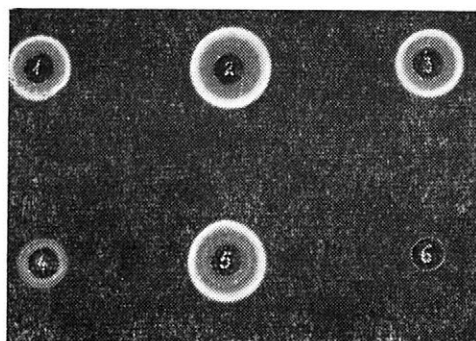
Obr. 1 znázorňuje, ktorá časť kože a peria infikovaných kurčiat dáva najlepšiu precipitáciu s hyperimunným sérom v agare (radiálna imunodifúzia). Z veľkosti a intenzity precipitačného prstenca sa dá usudzovať na pomerne množstvo antigénu. V excíziach neoperenej kože nebol precipitačný antigén, naproti tomu jeho najväčší obsah bol v perových brkách.

I. Špecifickosť AGP reakcie u kurčiat

Kurčatá	AGP		Kultivácia vírusu na TK	Patológia, histológia
	KA	PA		
Infikované — klinicky choré	13/15	13/15	6/7	12/15
Prežili infekciu	2/4	2/4	1/2	1/4
Neinfikované	0/5	0/5	0/3	0/5

II. Špecifickosť AGP reakcie u moriek

Morky	AGP		Kultivácia vírusu na TK	Patológia, histológia
	KA	PA		
Infikované — klinicky choré	0/3	0/3	1/2	2/3
Prežili infekciu	0/6	0/6	0/3	0/6
Neinfikované	0/5	0/5	0/2	0/5



1. Radiálna imunodifúzia antigénov M. ch. s hyperimunným sérom v agare
Antigény: 1 a 3 = z kože infikovaného kurčafa po vytrhnutí peria, 2 = z perových bŕk, 4 = z perových praporov, 5 = z kože po ostrihaní peria, 6 = z neoperených častí kože

III. Vývoj antigénu M. ch. v perí infikovaných kurčiat

Kurča č.	Týždne p. i. — výsledok AGP						
	2	3	5	7	8	9	10
1	0	—	+	+	+	+	+
2	—	+	+	+	+	+	+
3	—	—	— (úhyn)				+
4	0	—	+	+	+	+	+
5	—	+	+				
6	—	—	+	+	+	+	+
7	0	—	—	—	—	—	—
8	—	—	+	+	+	+	+
9	0	—	—	—	—	—	—
10	0	+	+	+	—	+	+

Legenda: 0 = AGP neprevedená, + pozitívna, — negatívna; u uhynutých kurčiat č. 3 a 5 bol patologický nález nádorov pozitívny

Obdobie vzniku antigénu M. ch. po infekcii v perí infikovaných kurčiat sleduje tab. III. V pokuse boli jednodňové kurčatá infikované nízkou dávkou infekčnej krvi (0,05 ml i. p.). Prvé pozitívne precipitácie PA boli tri týždne p. i.

Tab. IV uvádza výsledky vyšetrovania hydiny z terénnych chovov i niektoré laboratórne pokusy. Najvyššie percento pozitivity AGP (84,6 %) sa dosiahlo pri akútnej forme M. ch. so súčasným nálezom nádorov. Kurčatá s chronickou formou (parézy, očná forma dva kusy) mali zriedkavejšie dokázateľný špecifický antigén M. ch. v koži (51,2 %). Kurčatá, ktoré prežili infekciu virulentným vírusom, mali antigén v 50 %. U kurčiat vakcinovaných, ako aj u kurčiat notoricky zdravých (t. j. klinicky zdravé zo zdravých chovov) nebol v koži a perí dokázateľný antigén M. ch. Z kurčiat vakcinovaných a následne čelenžovaných malo 75 % zvierat precipitačný antigén.

V pokuse zameranom na výskyt precipitačného antigénu M. ch. v rôznych orgánoch infikovaných kuracích embryí sme zvolili rovnaký postup prípravy ako pri KA. Z infikovaných embryí (kmeňom Š-I), ktoré mali uzlíkové zmeny

IV. Výsledky precipitácie kožných a perových antigénov v agarovom géle

Kurčatá	Týždne veku	AGP	% pozitívnych AGP	Nález tumorov
Zo zamorených chovov — klinicky zdravé	8—14	7/24	29,2	0/24
S akútnou formou M. ch	4—14	22/26	84,6	18/26
S chronickou a zmiešanou formou M. ch.	6—16	21/41	51,2	11/41
Vakcinované kmeňom THV-Bio-I.*	15	0/4	0,0	0/4
Vakcinované kmeňom THV-Bio-I.*	5	0/20	0,0	N**
Vakcinované + členené — klinicky zdravé	5	15/20	75,0	N**
Infikované (Š-I), ale infekciu prežili	15	7/14	50,0	0/14
Notoricky zdravé	8—14	0/31	0,0	0/31

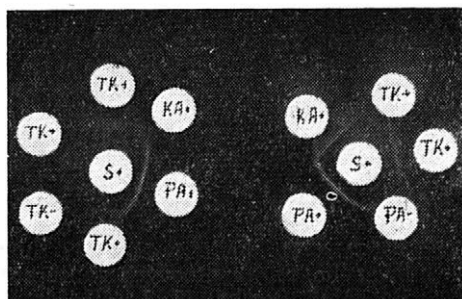
Legenda: * jednoduché kuričky (Shaver) očkované i. m. dávkou 25-250 PFU/0,2 ml vírusu
THV-Bio-I

** pitva zvierat neprevedená

na chorioalantoickej blane a splenomegaliu, sme pripravili 50% suspenziu z blán, sleziny, obličky, pečene a kože. Vo všetkých (8) prípadoch sme dostali negatívne výsledky.

DISKUSIA

Epitel perového folikulu podľa doterajších poznatkov pôsobí ako hlavný zdroj vírusu pri prirodzenom šírení ochorenia. Toto potvrdzujú aj výsledky detekcie precipitačného antigénu v koži a perí chorej hydiny. Už tri týždne po infekcii kurčiat sa podarilo detekovať antigén M. ch. v perových brkách. Uvedený časový interval súhlasí so zisteniami Eidsona a kol. (1971) i Kenzyho a Biggsa (1967) o začiatku vylučovania vírusu M. ch. do prostredia infikovanými kurčatami.



2. Precipitácia antigénu M. ch. z peria infikovaných kurčiat a tkaninových kultúr

Antigén M. ch. v koži je totožný s antigénom v perí i s antigénom pripraveným z infikovaných tkanivových kultúr, pretože precipitačné línie na seba nadväzujú (obr. 2). Špecifitu reakcie potvrdzujú predovšetkým laboratorne pokusy s vírusovým kmeňom Š-I, ako aj úplná negativita reakcie z notoricky zdravých zvierat. Malé množstvo pokusov a neštandardná kvalita precipitačných sér nám nedovoľujú zaujať stanovisko k otázke prítomnosti antigénu M. ch. v iných orgánoch infikovanej hydiny okrem kože. V orgánoch kuracích embryí infikovaných virulentným vírusom akútnej formy M. ch. nebol dokázaný precipitačný antigén.

Súhlasne s výsledkami Eidsa a kol. (1971) sme v koži vakcinovanej hydiny nezistili antigén M. ch. (resp. antigén THV-Bio-I).

Pozitívna precipitácia z peria a kože koreluje s pitevným nálezom. Domnievame sa, že prítomnosť antigénu M. ch. poukazuje na vysoký stupeň vnímavosti a virémie a takéto kurčatá sú nebezpečným zdrojom nákazy.

V novej literatúre sme nenašli zmienku o klinickej forme M. ch. moriek. Vírusom Š-I sa nám podarilo experimentálne vyvolať ochorenie troch moriek, na ktorých sa dali pozorovať príznaky analogické chorým kurčatám. U jednej morky boli tumory sleziny a pečene, ďalšie dva kusy boli vychudnuté s parézami končatín, v histologickom obraze sedacích nervov bola mierna difúzna agranulocytárna infiltrácia. Kultivácia herpetického vírusu bola úspešná z jednej klinicky chorej morky. Je pravdepodobné, že u moriek je odlišná patogenéza ochorenia ako u kurčiat, nakoľko sa nám nepodarilo dokázať antigén M. ch. ani u klinicky chorých moriek s patologickými zmenami v orgánoch. Malé množstvo zvierat v pokuse nedovoľuje zaujať zásadnejšie stanovisko.

Záchytnosť precipitačnej metódy (tab. IV) z terénneho materiálu bola u akútnej formy M. ch. 84,6 % a u chronickej, resp. zmiešanej formy 51,2 %. Preto nedosahuje diagnostickú hodnotu kultivačnej metódy (Časnocha a Salaj 1972), ani nepriamej hemaglutinačnej reakcie (Hong-Chou a Sevoian 1972). Nevýhody spojené s nižšou citlivosťou metodiky však vyvažuje jej jednoduchosť, špecifita a možnosť vyšetrenia väčšieho množstva chorých zvierat, ako aj časová úspora pre dosiahnutie výsledku (1–20 hod.). Veľkou výhodou študovanej metodiky je, že sa môže v chove orientačne stanoviť diagnóza M. ch. intravitálne i postmortálne.

Technicky spolupracovali: M. Katreniaková a M. Koppalová

Literatúra

- AHMED M., JENSEN K. E., SLATTERY S. M., LEECH J. B., SCHIDLOWSKY G., 1970, Detection of Marek's disease herpesvirus antigen by fluorescent and coating antibody. *Avian Dis.* 14, 2 : 349-363.
- ANONYM, 1970, Methods in Marek's disease research. *Avian Dis.* 14, 4 : 820-828.
- CALNEK B. W., HITCHER S. B., 1969, Localization of viral antigen in chickens infected with Marek's disease herpesvirus. *J. natn. Cancer. Inst.* 43 : 935-949.
- CALNEK B. W., ADLINDER H. K., KAHN D. E., 1970, Feather follicle epithelium: a source of enveloped and infectious cell-free herpes-virus from Marek's disease. *Avian Dis.* 14, 2 : 219-233.
- ČASNOCHA E., SALAJ J., 1972, Štúdium vlastností cytopatogenného agens izolovaného na tkaninových kultúrach z hydiny s príznakmi Markovej choroby. *Vet. Med. (Praha)* 17, 7 : 429-436.

- EIDSON C. S., FLETCHER O. J., KLEVEN S. H., ANDERSON D. P., 1971, Detection of Marek's disease antigen in feather follicle epithelium of chickens vaccinated against Marek's disease. *J. natn. Cancer. Inst.* 47, 1:113-120.
- HONG CHOU C., SEVOIAN M., 1972, Comparison of indirect hemagglutination and immunodiffusion tests for detecting type II leukosis (Marek's) infection in S and K line chickens. *Appl. Microbiol.* 23, 3:449-453.
- CHUBB R. C., CHURCHILL R. E., 1968, Precipitating antibodies associated with Marek's disease. *Vet. Rec.* 83:4-7.
- IANCONESCU M., SAMBERG Y., 1971, Etiological and immunological studies in Marek's disease. II. Incidence of Marek's disease precipitating antibodies in commercial flocks and in eggs. *Avian Dis.* 15, 1:177-186.
- KENZY S. G., BIGGS P. M., 1967, Excretion of the Marek's disease agent by infected chickens. *Vet. Rec.* 80:565-568.
- KOTTARIDISS S. D., LUGINBUHL R. E., CHOMIAK T. W., 1968, Marek's disease. IV. Antigenic components demonstrated by the immunodiffusion test. *Avian Dis.* 12, 3:394-401.
- KOTTARIDIS S. D., LUGINBUHL R. E., 1972, Precipitating antibody development in birds infected with Marek's disease virus. *Avian Dis.* 16, 2:439-443.
- NAZERIAN K., WITTER R. L., 1970, Cell-free transmission and in vivo replication of Marek's disease virus. *J. Virol.* 5:388-397.
- OKAZAKI W., PURCHASE H. G., NOLL L., 1970, Effect of different conditions on precipitation in agar between Marek's disease antigen and antibody. *Avian Dis.* 14, 3:532-537.
- WITTER R. L., SOLOMON J. J., CHAMPION L. R., NAZERIAN K., 1971, Long-term studies of Marek's disease infection in individual chickens. *Avian Dis.* 15, 2:346-365.

Došlo dne 22. 12. 1972

ЧАСНОХА Э., САЛАЙ Й. (Научно-исследовательский центр, Биоветта, Нитра, Чехословакия). Детекция преципитационного антигена в коже и перьях домашней птицы с учетом диагностики болезни Марека. *Vet. Med. (Praha)* 18 (8):491-489, 1973.

При помощи преципитации в агаровом геле был доказан специфический антиген в коже и перьях домашней птицы, зараженной вирусом болезни Марека. Специфический антиген был установлен у 84,6% цыплят с формой заболевания в виде опухоли. У цыплят с паралитической формой болезни Марека антиген был доказан у 51,2%. Цыплята, которые пережили инфекцию и клинически не заболели, также имели в коже антиген (50%). Неоперенная часть кожи дала отрицательный результат. Отрицательный результат реакции преципитации антигенов перьев и кожи наблюдался также у животных исторически здоровых и получивших прививку против болезни Марека. Предварительные результаты показывают, что метод преципитации в агаровом геле с антигеном, полученным из кожи, или перьев, специфичен, быстрый, а следовательно, и выгоден для диагностики болезни Марека. Средняя охватываемость метода (примерно 65%) обращает внимание на то, что отрицательная реакция преципитации не исключает заболевание болезнью Марека.

болезнь Марека; преципитация в агаровом геле; вирусные и клеточные антигены

ČASNOCHA E., SALAJ J. (Research Centre, Bioveta, Nitra, Czechoslovakia). *The Detection of the Precipitation Antigen in Poultry Skin and Feathers with Respect to the Diagnosis of Marek's Disease.* *Vet. Med. (Praha)* 18 (8):491-498, 1973.

Agar gel precipitation was employed to demonstrate the specific antigen in the skin and feathers of poultry infected with the virus of Marek's disease. The specific antigen was found in 84.6% of the chickens showing the tumorous form of the disease. In the chickens with the paralytic form of Marek's disease the antigen was found in 51.2% of the cases. The chickens which survived the infection without showing clinical signs of the disease also had the antigen in their skin (50%). The parts of skin without feathers gave a negative result. A negative result was obtained also in the precipitation of antigens from the feathers and skins of healthy birds and birds vaccinated against Marek's disease. Preliminary results suggest that agar gel precipitation method with antigen obtained from skin

or feathers is specific and quick - hence it is suitable for the diagnosis of Marek's disease. The average intercepting capacity of the method (ca. 65 %) shows that a negative result of precipitation does not exclude Marek's disease.

Marek's disease; agar gel precipitation; virus and cell antigens

CASNOCHA E., SALAJ J. (Forschungszentrum, Bioveta, Nitra, Tschechoslowakei)
Detekcia des Präzipitationsantigens in der Haut und im Gefieder des Geflügels mit Hinsicht auf die Diagnostik der Marekschen Geflügellähme. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 491-498, 1973.

Mit Hilfe der Präzipitation im Agargel wurde das spezifische Antigen in der Haut und dem Gefieder des mit dem Virus der Marekschen Geflügellähme infizierten Geflügels nachgewiesen. Das spezifische Antigen wurde bei 84,6 % von Küken mit der Tumorform der Erkrankung festgestellt. Bei Küken mit der Paralyseform der Marekschen Krankheit wurde das Antigen in 51,2 % der Fälle nachgewiesen. Auch Küken, die die Infektion überlebten und klinisch nicht erkrankten, wiesen in der Haut das Antigen auf (50 %). Der nichtbefiederte Hautteil wies ein negatives Resultat auf. Auch bei notorisch gesunden und gegen die Mareksche Geflügellähme vakzinierten Tieren war das Ergebnis der Präzipitation der Antigene im Gefieder und in der Haut negativ. Aus den vorläufigen Ergebnissen geht hervor, daß die Präzipitation im Agargel mit dem aus der Haut bzw. dem Gefieder gewonnenen Antigen eine spezifische, schnelle und damit vorteilhafte Methode der Marekschen Geflügellähme-Diagnostik ist. Die durchschnittliche Verlässlichkeit der Methode (zirka 65 %) weist darauf hin, daß ein negatives Präzipitationsresultat die Mareksche Geflügellähme nicht ausschließt.

Mareksche Geflügellähme; Präzipitation im Agargel; Virus und Zellantigene

Adresa autorů:

MVDr. E. Časnocha, Štátny veterinárny ústav 960 86 Zvolen
MVDr. J. Salaj, Výskumné stredisko Bioveta, 949 91 Nitra

VLIV TRANSPORTU JAKO STRESSOVÉHO FAKTORU NA KREVŇÍ OBRAZ PSA – NĚMECKÉHO OVČÁKA

E. Dobšínská, F. Lehký

Vojenský veterinární výzkumný ústav, Praha

DOBŠÍNSKÁ E., LEHKÝ F. *Vliv transportu jako stressového faktoru na krevní obraz psa — německého ovčáka.* Vet. Med. (Praha 18 (3): 499-506, 1973.

Deset psů obojího pohlaví, plemene německý ovčák, bylo hematologicky vyšetřeno těsně před přepravou, za 12 hodin po dovozu a dále za 8 a 15 dnů po něm. Bylo zjištěno, že množství erytrocytů, hemoglobin, hodnota hematokritová a střední hemoglobinová koncentrace 12 hodin po přepravě signifikantně klesly, 8. den potom došlo k jejich zvýšení ještě nad klidovou hodnotu, ale 15. den se opět vrátily k hodnotám zjišťovaným před přepravou. Pouze u středního objemu erytrocytů po přechodném zvýšení za 12 hodin po přepravě bylo zjištěno jeho zmenšení, zvětšující se ještě 15. den. Střední hemoglobinový obsah zůstal téměř beze změn. Množství leukocytů za 12 hodin po přepravě rovněž kleslo a tento pokles přetrvával až do 15. dne. Současně došlo ke zvýšení relativního počtu neutrofilů, k poklesu relativního počtu lymfocytů a vzestupu eosinofilů. 12. hodinu po transportu bylo zjištěno rovněž zrychlení sedimentace erytrocytů, které se však za osm dnů po přepravě upravilo. Na základě uvedených výsledků považujeme za vhodné zařazovat psy do pokusů za čtrnáct dnů až tři týdny po přepravě.

transport; pes; hematologické změny; doba trvání; návrat k výchozím hodnotám

Stressem ve vlastním slova smyslu je třeba rozumět jen to, jak organismus odpovídá na neobvyklé zatížení, čili soubor nápravných opatření (Charvát 1970). U vyšších organismů je stressový stav provázen řadou změn cirkulačních, exkrečních a metabolických. Zatímco v humánní medicíně se změnami v jednotlivých systémech, vyvolanými různými stressory, zabývají celé pracovní skupiny, ve veterinární medicíně se tomuto závažnému problému věnuje stále nedostatečná pozornost. Přesto však v poslední době jsou v živočišné velkovýrobě studovány vlivy různých druhů stressorů s tím cílem, aby se jim mohlo předcházet a dosáhnout tak maximální požadované užitkovosti hospodářských zvířat. Důkazem toho jsou práce věnované stressu u drůbeže, které byly prezentovány na IV. celostátní konferenci o fyziologii drůbeže r. 1971, studie Chin Kong Son a (1971), který rozebral stressory v moderní drůbežářské zootechnice a studoval možnosti zmírnění jejich nepříznivých vlivů, studie změn v hematologických hodnotách, vyvolaných různým druhem stressu, jako je práce Meaghera a Tashera (1972) o vlivu vzrušení a následného uklidnění na hemogram u koní nebo práce Dvořáka (1968, 1972) o vlivu traumatického stressu na bílý krevní obraz v raném vývoji u selat a dále o hematologických příznacích stressu při odstavu selat.

K závažným příčinám vyvolávajícím stress zvířat patří i jejich přeprava. Krevní obraz u krys po transportu studoval P u j m a n a S ý k o r a (1968), kteří uvedli, že nejvýraznější změny v bílém krevním obraze se objevují za jeden týden po přepravě, přičemž nenašli žádné změny v množství erytrocytů a hemoglobinu. M í k a (1970) rovněž u krys zjistil, že množství erytrocytů i jednotlivé složky bílého krevního obrazu se po přepravě výrazně mění a upravují se až asi za 30 dnů. Konečně vlivem simulovaného a skutečného transportu na krevní obraz laboratorních zvířat, včetně psů — beaglů, se ve své práci velmi obšírně zabývala P o k o r n á (1972), přičemž dospěla k tomu, že změny v některých hematologických hodnotách po simulovaném transportu se sice již zjišťují, ale mnohem výraznějších výchylek dosahují až při transportu skutečném.

Obdobně i v naší práci byl sledován vliv přepravy na jednotlivé hematologické parametry u psa — německého ovčáka a nalezené hodnoty byly srovnány s hodnotami nalezenými v klidové fázi.

M A T E R I Á L A M E T O D Y

Sedm psů a tři feny plemene německý ovčák, ve stáří dva až osm roků, byli přepravováni nákladním autem do vzdálenosti 300 km. Psi před přepravou i po ní byli krmeni stejnou krmnou dávkou, voda jim byla podávána *ad libitum*. Ustájení psů před transportem i po něm bylo obdobné, psi byli chováni jednotlivě v zastřešených kotcích s boudami. Zdravotní stav psů byl dobrý.

Hematologické vyšetření psů bylo provedeno těsně před transportem, po dovozu za 12 hodin a dále 8. a 15. den. Krev od psů byla odebírána vždy mezi 8. až 10. hod. dopolední z *v. cephalica antebrachii* sterilní jehlou do zkumavky, jako antikoagulans bylo použito EDTA. Krevní nátěry byly připravovány z kapky nativní krve, barveny byly po 24 hod. panoptickou Pappenheimovou metodou. Diferenciální rozpočet byl počítán ze 100 buněk bílé řady. Množství hemoglobinu bylo stanoveno metodou cyanhemoglobinovou (S k a l a a M a t y s k o v á 1965), červené krvinky byly počítány v Hayemově roztoku, bílé krvinky v Türckově roztoku obvyklým způsobem v Bürkerově komůrce. Sedimentace erytrocytů byla dělána ve Wintrobových zkumavkách postavených v kolmé poloze (S c h a l m 1964). Sedimentační rychlost byla odečítána za 15, 30, 45 a 60 min (S o v a a kol. 1965). Po odečtení sedimentace byly Wintrobovy zkumavky centrifugovány při 3000 obr/min po dobu 30 min a byla stanovena hematokritová hodnota. Střední objem erytrocytu (SOČK), střední hemoglobinová koncentrace (SHK) a střední hemoglobinový obsah (SHO) byly vypočítány ze získaných hodnot podle platných vzorců.

Hematologické parametry od sledovaných psů byly v uvedených časových intervalech mezi sebou vyhodnoceny Studentovým *t*-testem na hladině významnosti na 1 % a na 5 %.

V Ý S L E D K Y

Během prvních 12 hodin po přepravě byl u psů zaznamenán signifikantní pokles ($p < 0,05$) v množství hemoglobinu, erytrocytů a v hematokritové hodnotě (tab. I) a nesignifikantní pokles ve střední hemoglobinové koncentraci, zatímco střední objem erytrocytu nesignifikantně stoupl a střední hemoglobinový obsah zůstal beze změn (tab. II). Rozkolísanost všech hodnot červeného krev-

I. Množství hemoglobinu, erytrocytů a hodnota hematokritová u transportovaných psů

	n	Hb – g %			Er – 10 ⁶ /l cmm krve			Hk – %		
		$\bar{x}$	$\pm s$	V	$\bar{x}$	$\pm s$	V	$\bar{x}$	$\pm s$	V
Před transportem	10	15,4	1,4	8,8	7,1	1,0	13,7	50,9	2,5	4,9
12 hodin po dovozu	10	12,8	2,8	22,1	5,9	1,3	22,2	43,4	2,8	6,3
8. den po transportu	10	16,1	1,3	8,1	7,7	0,6	8,3	52,5	3,4	6,6
15. den po transportu	9	15,7	1,2	7,7	7,5	0,6	8,2	46,0	5,9	12,8

II. Hodnoty SOČK, SHK a SHO u psů před transportem a po něm

	n	SOČK – / μ^3			SHK – %			SHO – pg		
		$\bar{x}$	$\pm s$	V	$\bar{x}$	$\pm s$	V	$\bar{x}$	$\pm s$	V
Před transportem	10	72,5	9,9	13,7	30,2	2,2	7,3	21,8	2,3	10,6
12 hodin po dovozu	10	76,0	18,7	24,6	28,5	6,1	21,3	21,4	3,1	14,6
8. den po transportu	10	68,5	3,9	5,6	30,7	1,7	5,6	21,0	1,1	5,3
15. den po transportu	9	62,2	11,2	17,9	34,6	4,6	13,2	21,1	1,1	5,1

ního obrazu se výrazně odrazila i ve variačním koeficientu, který byl rovněž mnohem vyšší. Za osm dnů po přepravě však došlo k vzestupu množství hemoglobinu, erytrocytů, hematokritu a střední hemoglobinové koncentrace, takže překročilo hodnoty zjištěné před transportem. Variační koeficient však u těchto hodnot již poklesl. 15. den po přepravě se všechny hodnoty erytrogramu vrátily zhruba k nálezům zjišťovaným v době klidu před přepravou. Pouze střední objem erytrocytů (tab. II) byl signifikantně menší v porovnání s klidovou hodnotou a střední hemoglobinová koncentrace signifikantně převýšila výchozí hodnotu.

Celkové množství leukocytů (tab. III) sledovalo obdobnou křivku jako hodnoty červeného krevního obrazu. V prvních 12 hodinách po transportu se dostavila mírná leukopenie se značně vysokým variačním koeficientem, na konci prvního týdnu po transportu došlo ke zvýšení počtu leukocytů, ale 15. den byl zaznamenán opět pokles. Diferenciální rozpočet byl 12. hodinu po přepravě charakterizován mírným nesignifikantním vzestupem percentuálního počtu neutrofilů se současným poklesem relativního i absolutního počtu lymfocytů (tab. III), přičemž percentuální zastoupení neutrofilů bylo nejvyšší a absolutní i relativní počet lymfocytů nejnižší 15. den. To bylo doprovázeno signifikantním vzestupem percentuálního počtu eosinofilů a signifikantním poklesem relativního počtu monocytů, nalezeným až 15. den po přepravě.

III. Množství leukocytů a hodnoty leukogramu u transportovaných psů

	n	Le — 10 ³ /l cmm krve			Ne — %	
		$\bar{x}$	$\pm s$	V	$\bar{x}$	$\pm s$
Před transportem	10	11650	3110	26,7	66,3	10,8
12 hodin po dovozu	10	8680	3150	36,3	68,0	10,0
8. den po transportu	10	9110	230	25,3	66,7	8,6
15. den po transportu	9	8770	2234	25,5	74,4	8,4

IV. Sedimentace erytrocytů u transportovaných psů

	n	15 min	30 min	45 min	60 min
		mm			
Před transportem	10	0,3	0,6	1,3	1,7
12 hodin po dovozu	10	4,6	7,8	9,7	10,7
8. den po transportu	10	0,8	1,8	2,8	3,7
15. den po transportu	9	0,4	1,1	1,5	1,8

Výrazně byla změněna sedimentace erytrocytů (tab. IV). K jejímu značnému zrychlení došlo ve všech časových ukazatelích 12 hodin po přepravě, v dalším sledovaném období se však vrátila k výchozím hodnotám.

DISKUSE

V současné době se ve všech oborech medicíny značně diskutuje o otázce vlivu stresových faktorů na některé hematologické ukazatele. Z tohoto hlediska jsme také přistupovali v naší práci ke zhodnocení změn v jednotlivých hematologických parametrech u psů po přepravě, protože bývají často přepravováni a bezprostředně potom využíváni ať již ke služebním, laboratorním nebo jiným účelům.

Ze získaných výsledků sledovaných hematologických hodnot u psů před přepravou a 12 hodin, 8 a 15 dnů po přepravě můžeme zhruba říci, že 12 hodin po přepravě se dostavuje jak v hodnotách červeného krevního obrazu (množství hemoglobinu, erytrocytů, hematokritu a SHK), tak i v celkovém množství leukocytů signifikantní pokles se značně vysokým variačním koeficientem, což svědčí o velké rozkolísanosti sledovaných ukazatelů. Osmý den po přepravě však dochází ke zvýšení uvedených hodnot a kolem 15. dne, s výjimkou leukocytů, nastává návrat na výchozí hladiny. Rovněž Pokorná (1972) zaznamenala druhý den po transportu u beagů pokles erytrocytů, hematokritu a nevýrazný pokles hemoglobinu, avšak od pátého dne po zátěži začaly tyto hodnoty stoupat až k osmému dni, kdy stejně jako u nás bylo

Eo — %		Ba — %		Ly — %		Mo — %	
$\bar{x}$	$\pm s$	$\bar{x}$	$\pm s$	$\bar{x}$	$\pm s$	$\bar{x}$	$\pm s$
1,4	1,3	1,4	1,3	29,0	10,2	3,5	3,4
3,7	2,2	0	0	24,2	9,5	3,9	2,1
4,9	2,8	0	0	24,2	7,2	4,2	1,5
3,4	2,9	0	0	21,3	7,2	0,9	2,3

zjištěno maximální množství erytrocytů. Námi zjištěný pokles barevné koncentrace druhý den po transportu však tato autorka nezaznamenala, avšak SOČK i podle ní ihned po přepravě stoupl a až od pátého dne došlo k jeho snížení pod klidovou hodnotu. K obdobným závěrům došel i Míka (1970), který za 24 hodiny po přepravě kryších samců našel prudký pokles erytrocytů, upravující se až 35. den. Rovněž i Singh a Som (1965) zjistili prudký pokles erytrocytů a hematokritu u býčků po náhlé intenzivní práci, což vysvětluje destrukcí erytrocytů nebo hemodilucí. Naproti tomu Pujman a Sýkora (1968) u přepravovaných SPF Wistar krys nenalezli žádné změny v počtu červených krvinek ani v množství hemoglobinu. Shodujeme se však s těmito autory v tom, že po přepravě nastává pokles bílých krvinek, který se u našich psů neupravil ještě ani za 15 dnů, a u krys jimi sledovaných tento zřetelný pokles setrval až do konce pokusu. Naproti tomu Míka (1970) u krys našel zpočátku mírný, kolem 14. až 21. dne výrazný vzestup leukocytů. Rovněž Pokorná (1972) zjistila druhý den po zátěži vyšší množství leukocytů, k jejichž mírnému poklesu došlo až při dalším časovém vyšetření. Náš nález však podporuje i práce Meaghera a Tashera (1972), kteří po pěti-minutovém prudkém cvičení koní našli nesignifikantní pokles leukocytů s nepatrným vzestupem neutrofilů a monocytů.

Z jednotlivých hodnot diferenciálního rozpočtu u psů námi sledovaných se jeví, že za 12 hodin po přepravě se dostavuje zpočátku mírný, 15. den vyšší vzestup procentuálního počtu neutrofilů se současným poklesem procentuálního zastoupení lymfocytů, signifikantním vzestupem eozinofilů a do 8. dne i monocytů. Stoupající tendenci neutrofilů a klesající tendenci lymfocytů popsala také Pokorná (1972), nezjistila však větší změny v relativním počtu eozinofilů. Lymfopenii s nesignifikantní neutrofilii popsal rovněž Dvořák (1968) při traumatickém stresu u selat. Pujman a Sýkora (1968) dávají pokles leukocytů do souvislosti s poklesem lymfocytů, přičemž počet neutrofilů, eozinofilů i monocytů nebyl u krys narušen. Míka (1970) našel u krys již první den po transportu mírný vzestup neutrofilů se současným vzestupem monocytů a eozinofilů, což odpovídá i našim výsledkům.

Zvýšenou sedimentaci erytrocytů bezprostředně po přepravě nemůžeme prakticky konfrontovat s žádnými literárními citacemi. Pouze Dalton (1972) sledoval u koní sedimentaci erytrocytů při tréninku, při odpočinku a v útlumu vyvolaném sedativy a zjistil, že sedimentační rychlost ve jmenovaném pořadí stoupá.

Z dosažených výsledků vyplývá, že jednotlivé hodnoty krevního obrazu psa — německého ovčáka jsou po transportu výrazně narušeny a že se upravují až kolem 15. dne po zátěži. Výjimku tvoří hodnoty bílého krevního obra-

zu, které se neupravily ani koncem námi sledovaného období. Z hlediska laboratorního využití těchto zvířat se proto domníváme, že psy je možno zařadit do pokusů nejdříve za čtrnáct dnů a lépe až za tři týdny po transportu, kdy nastává již návrat k výchozím hematologickým hodnotám. Pokud se týká služebního využití psů, je třeba zvážit, o jaký druh zátěže se jedná, ale jistě i zde určitý interval od přepravy může být pouze k prospěchu.

Literatura

- DALTON R. G., 1972, The significance of variations with activity and sedation in the haematocrit, plasma protein concentration and erythrocyte sedimentation rate of horses. *Br. vet. J.* 128, 9 : 439-445.
- DVOŘÁK M., 1968, The effect of traumatic stress on the leucocyte blood picture in the course of the postnatal development of piglets. *Acta Univ. Agric. (Brno)* 37 : 537-544.
- DVOŘÁK M., 1972, Hematologické příznaky stressu při odstavu selat. *Vet. Med. (Praha)* 17, 2 : 81-90.
- CHARVÁT J., 1970, Život, adaptace a stress. *Avicenum, Praha.*
- CHIN KONK SON, 1971, Stress in poultry. *Veter. Mocamb.* 4 : 23-31.
- MEAGHER D. M., TASHER D. J. B., 1972, Effects of excitement and tranquilization on the equine hemogram. *Mod. vet. Pract.* 3 : 41-43.
- MIKA J., 1970, Krevní obraz jako ukazatel reakce organismu po transportu krys. *Sborník věd. prací Veter. výzk. střed., Praha*, 6 : 86-97.
- POKORNÁ D., 1972, Vliv transportu na krevní obraz laboratorních zvířat. *Kand. disertační práce, Praha.*
- PUJMAN V., SÝKORA I., 1968, Změny krevního obrazu SPF krys po transportu. *Sborník z konf. o laboratorních zvířatech, St. Smokovec* : 106-111.
- SCHALM O. W., 1964, Hematología veterinaria. *UTEHA, Mexiko.*
- SINGH S. P., SOM B. K., 1965, Hematological changes evoked by exercise in working bullocks. *Indian vet. J.* 45, 3 : 212-216.
- SKALA E., MATYSKOVÁ L., 1965, Určování obsahu hemoglobinu v krvi. *Prakt. lék.* 45, 13 : 512-514.
- SOVA Z., JÍCHA J., POSPÍŠIL J., KONRÁD J., 1965, Hematologické a biochemické standardy domácích zvířat. III. sdělení. *Standardy u psů. Sborník AF VŠZ Praha* : 571-574.
- , 1971, Sborník ze IV. celostátní konference o fyziologii drůbeže. *Praha.*

Došlo dne 20. 2. 1973

ДОБШИНСКА Э., ЛЕГКИ Ф. (Военный ветеринарный научно-исследовательский институт, Прага, Чехословакия). Влияние транспорта, как стрессового фактора, на анализ крови у собак — немецкой овчарки. *Vet. Med. (Praha)* 18 (8) : 499-506, 1973.

10 собак обоих полов, породы немецкая овчарка, было гематологически обследовано непосредственно перед транспортировкой, через 12 часов после перевозки и далее, через 8—15 дней. Было установлено, что число эритроцитов, гемоглобин, величина гематокрита и средняя гемоглобиновая концентрация через 12 часов после перевозки, заметно понизились. На 8 день после перевозки они повысились и превзошли уровень покоя, а на 15 день — опять вернулись к величинам, установленным до перевозки. Только средний объем эритроцитов после временного повышения через 12 часов после перевозки уменьшился, а на 15 день повысился. Среднее содержание гемоглобина практически не изменилось. Число лейкоцитов 12 часов спустя после перевозки также понизилось, и это понижение продолжалось еще на 15 день. Одновременно наблюдалась относительная нейтрофилия, самая заметная на 15 день после перевозки, с одновременной относительной лимфопенией и подъемом эозинофилов. На 12 день после транспортировки произошло также ускорение седиментации эритроцитов которая, однако, через 8 дней после перевозки уравнилась.

транспорт; стресс; немецкая овчарка; гематологические величины

DOBŠINSKÁ E., LEHKÝ F. (Military Veterinary Research Institute, Praha, Czechoslovakia). *The Effect of Transportation as a Stress Factor on the Blood Picture of the Dog - German Shepherd Dog*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 499-506, 1973.

Ten dogs of both sexes, breed German Shepherd Dog, were subject to hematological examination immediately before transport, 12 hours after transport and 8 and 15 days after transport. It was found that there was a significant decrease in the amount of erythrocytes, hemoglobin, the hematocrit value and mean corpuscular hemoglobin concentration 12 hours after transport. The eighth day the values increased above the rest level but on the 15th day they returned to the levels measured before transport. It was only in mean corpuscular volume that a decrease was observed after a temporary increase 12 hours after transport; this decrease was even larger the 15th day. The mean corpuscular hemoglobin remained practically unchanged. The amount of leucocytes 12 hours after transport also decreased, and this decrease continued until the 15th day. At the same time, relative neutrophilia was observed with its peak on the 15th day from transportation. Neutrophilia was accompanied by relative lymphopenia and an eosinophile increase. An increased erythrocyte sedimentation rate was also observed 12 hours after transport; however, its level returned to the normal value after 8 days from transport.

transport; stress; German Shepherd Dog; hematological values

DOBŠINSKÁ E., LEHKÝ F. (Militär-Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Praha, Tschechoslowakei). *Einfluß des Transportes als Stressfaktors auf das Blutbild des Deutschen Schäferhundes*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 499-506, 1973.

Kurz vor dem Transport, in 12 Stunden, weiteren 8 und 15 Tagen nach demselben wurden zehn Hunde beiderlei Geschlechts hämatologisch untersucht. Es wurde eine signifikante Abnahme der Erythrozyten- Hämoglobin- und Hämatokritwerte sowie der mittleren Hämoglobin-konzentration in 12 Stunden nach dem Transport der Tiere festgestellt. Am 8. Tag danach erhöhten sich diese Werte über die Ruhewerte, um aber am 15. Tag wiederum auf die vor dem Transport festgestellten Werte abzusinken. Nur bei dem mittleren Erythrozytenvolumen wurde nach einer vorübergehenden Erhöhung in 12 Stunden nach dem Transport eine Abnahme desselben festgestellt, die noch am 15. Tag andauerte. Der mittlere Hämoglobingehalt blieb praktisch gleich. Die Leukozytenanzahl in 12 Stunden nach dem Transport nahm ebenfalls ab. Diese Abnahme dauerte bis zum 15. Tag. Gleichzeitig trat eine relative Neutrophilie auf, und zwar insbesondere bis zum 15. Tag nach dem Transport, mit gleichzeitiger relativer Lymphopenie und einer Erhöhung der Eosinophilenzahl. In 12 Stunden nach dem Transport kam es auch zu einer Beschleunigung der Erythrozytensedimentation, die aber in acht Tagen nach dem Transport wieder normal war.

Transport; Streß; Deutscher Schäferhund; hämatologische Werte

DOBŠINSKÁ E., LEHKÝ F. (Institut militaire de recherches vétérinaires, Praha, Tchécoslovaquie). *Influence du transport, en tant que facteur de stress, sur la formule sanguine du chien — berger allemand*. Vet. Med. (Praha) 18 (3) : 499-506, 1973.

Sur dix chiens des deux sexes, de la race berger allemand, on a effectué l'exploration hématologique et cela d'une part juste avant leur transport et d'autre part au bout de douze heures après le transport et puis encore au bout de huit et de quinze jours après le transport. Il a été identifié que le nombre d'érythrocytes, l'hémoglobine, la valeur de l'hématocrite et la concentration moyenne de l'hémoglobine sont tombés douze heures après le transport d'une manière significative. Le huitième jour après le transport on a constaté leur augmentation, dépassant même la valeur de repos, mais le quinzième jour après le transport tout a retourné aux valeurs constatées avant le transport. Ce n'est que le volume moyen d'érythrocytes qui, augmentant passagèrement douze heures après le transport, a diminué, cette diminution s'élevant encore le quinzième jour. La teneur moyenne en hémoglobine est restée pratiquement sans changements. Le volume de leucocytes a également diminué douze heures après le transport, cette réduction persistant jusqu'au quin-

zième jour. En même temps, on a pu constater la neutrophilie relative qui était la plus marquante le quinzième jour après le transport, étant simultanément accompagnée de lymphopénie relative et d'augmentation des éosinophiles. De même, il y a eu douze heures après le transport l'accélération de la sédimentation des érythrocytes qui s'est normalisée cependant huit jours après le transport.

transport; stress; chein berger allemand; valeurs hématologiques

Adresa autorů:

MVDr. E. Dobšínská, CSc., MVDr. F. Lehký, CSc., Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha

HEMATOLOGICKÉ ZMĚNY V KOSTNÍ DŘENÍ PŘI MODELOVÝCH NEKONTAKTNÍCH POPÁLENINÁCH U KRYŠ

J. Janeček, Z. Prouza, J. Moserová, V. Kalousová

Vojenský veterinární výzkumný ústav, Praha

Klinika plastické chirurgie LFHUK, Praha

Biofyzikální ústav UH, Praha

JANEČEK J., PROUZA Z., MOSEROVÁ J., KALOUSOVÁ V. *Hematologické změny v kostní dřeni při modelových nekontaktních popáleninách u kryš.* Vet. Med. (Praha) 18 (8): 507-513, 1973.

Při použití modelových nekontaktních popálenin u kryš byly sledovány kvantitativní i kvalitativní změny v kostní dřeni pokud se týče buněčných elementů. U 4sec. expozice se jeví snížená buněčnost téměř v celém průběhu sledování. Dále u této expozice lze pozorovat poněkud zvýšené počty především nejzralejších forem u erytroidní řady.

absolutní buněčnost kostní dřene; myeloidní řada; erytroidní řada; dřeňové mononukleáry; M : E

Současně s hematologickými změnami v periferní krvi jsme se snažili postihnout i vliv zmíněného druhu popálení na eventuální změny v kostní dřeni. Není sporu o tom, že odezva v periferní krvi souvisí s určitými změnami v hemopoetických orgánech, tedy především v kostní dřeni.

Uvádí se, že v důsledku popálení dochází k inhibici hemopoetické aktivity kostní dřene toxiny infekčního původu (Batchelor 1953-54; Postnikov 1955). To někdy mívá, vedle jiných možných vlivů působících poruchu hemopoézy, za následek tzv. popáleninovou anemii.

MATERIÁL A METODY

Bylo použito téhož zařízení k vyvolání modelových nekontaktních popálenin, jež je popsáno v práci Janečka a kol. (1973). Jednalo se rovněž o stejný druh popálení a stejné pokusné zvíře.

Percentuální složení myelogramu bylo stanoveno obvyklými hematologickými metodami. Absolutní počet dřeňových buněk pak byl stanoven podle metody popsané v práci Janečka (1968).

Kostní dřeň se odebírala po vykrvení zvířat z vypreparovaného femuru.

Ke statistickému hodnocení bylo použito Studentova *t*-testu.

VÝSLEDKY

V kostní dřeni byl sledován:

a) Absolutní počet dřeňových buněk:

U kryš po 4sec. expozici se pohybují hodnoty na významně nižší úrovni, vyjma 1. a 28. den, kdy jde o hodnoty blízké kontrolním a 14. den, kdy jde o významné zvýšení.

I. Změny absolutních počtů dřevných buněk

Skupina	N	T	$\bar{X}$ $\times 10^3$	SE $\times 10^3$	P
Nepopálené	6	0	1600,00	54,7	—
1sec. expozice	6	1 d	1610,00	57,4	0,70
		2 d	1620,00	70,0	0,60
		4 d	1640,00	50,0	0,10
		7 d	1540,00	62,4	0,05
		10 d	1620,00	47,9	0,40
		14 d	1480,00	64,0	0,01
		21 d	1640,00	57,4	0,20
		28 d	1480,00	51,9	0,01
4sec. expozice	6	1 h	1490,00	36,0	0,01
		6 h	1480,00	55,6	0,01
		1 d	1580,00	73,5	0,60
		2 d	1490,00	64,8	0,01
		4 d	1400,00	43,5	0,01
		7 d	1500,00	36,0	0,01
		10 d	1400,00	81,8	0,01
		14 d	1700,00	52,9	0,01
		21 d	1460,00	56,6	0,01
		28 d	1600,00	67,8	—

II. Změny absolutních počtů dřevných buněk myeloidní řady

Skupina	N	T	$\bar{X}$ $\times 10^3$	SE $\times 10^3$	P
Nepopálené	6	0	655,30	37,4	—
1sec. expozice	6	1 d	777,07	123,2	0,02
		2 d	874,71	189,2	0,01
		4 d	1082,16	400,0	0,02
		7 d	631,65	83,0	0,50
		10 d	758,30	55,7	0,01
		14 d	428,33	17,3	0,01
		21 d	630,12	74,1	0,40
		28 d	429,54	48,9	0,10
4sec. expozice	6	1 h	423,97	72,1	0,01
		6 h	425,65	106,7	0,01
		1 d	557,90	94,3	0,01
		2 d	518,49	118,3	0,02
		4 d	252,29	91,6	0,01
		7 d	463,97	28,2	0,01
		10 d	608,33	103,9	0,30
		14 d	408,12	52,9	0,01
		21 d	360,62	47,9	0,01
		28 d	509,33	46,9	0,01

III. Změny absolutních počtů dřehových buněk erytroidní řady

Skupina	N	T	$\bar{X}$ $\times 10^3$	SE $\times 10^3$	P
Nepopálené	6	0	744,40	68,5	—
1sec. expozice	6	1 d	677,91	100,4	0,20
		2 d	475,39	43,5	0,01
		4 d	965,13	56,5	0,01
		7 d	651,13	58,3	0,01
		10 d	429,79	82,4	0,01
		14 d	797,79	63,2	0,10
		21 d	812,92	132,6	0,30
		28 d	842,86	52,9	0,01
4sec. expozice	6	1 h	789,76	69,2	0,20
		6 h	851,99	71,4	0,01
		1 d	719,70	87,7	0,60
		2 d	672,90	94,8	0,10
		4 d	885,47	89,4	0,01
		7 d	924,58	17,3	0,01
		10 d	722,21	87,1	0,60
		14 d	1047,87	74,8	0,01
		21 d	952,30	76,1	0,01
		28 d	771,22	51,9	0,40

IV. Změny absolutních počtů dřehových mononukleárů

Skupina	N	T	$\bar{X}$ $\times 10^3$	SE $\times 10^3$	P
Nepopálené	6	0	196,93	34,6	—
1sec. expozice	6	1 d	152,40	27,4	0,01
		2 d	181,39	54,7	0,50
		4 d	186,20	34,6	0,50
		7 d	188,43	47,9	0,70
		10 d	341,59	38,7	0,01
		14 d	604,62	180,3	0,01
		21 d	498,64	155,2	0,01
		28 d	502,28	211,2	0,01
4sec. expozice	6	1 h	151,20	53,8	0,02
		6 h	267,03	33,0	0,01
		1 d	302,40	23,5	0,01
		2 d	299,95	67,8	0,01
		4 d	233,07	60,8	0,20
		7 d	181,15	48,7	0,50
		10 d	212,79	36,0	0,40
		14 d	252,09	45,0	0,02
		21 d	131,46	25,7	0,01
		28 d	278,57	54,2	0,01

U krys po 1sec. expozici je možné zaznamenat 14. a 28. den významné snížení, 7. den jen mírnější snížení (tab. I).

b) Absolutní počet buněk myeloidní řady:

U krys po 4sec. expozici jsou hodnoty, až na 10. den, významně sniženy.

U krys po 1sec. expozici po počátečním významném zvýšení jsou již 7. a také 21. den hodnoty v mezích kontrol. Jinak, s výjimkou 10. dne, jde rovněž o významně nižší hodnoty (tab. II).

c) Absolutní počet buněk erytroidní řady:

U krys po 4sec. expozici už po 6 hodinách dochází k významnému zvýšení, které je zaznamenáno také 4., 7., 14. a 21. den.

U krys po 1sec. expozici naopak 2., 7. a 10. den jsou hodnoty významně nižší, 4. a 21. den významně vyšší (tab. III).

d) Absolutní počet dřevných mononukleárů:

U krys po 4sec. expozici jsou hodnoty významně vyšší již za 6 hodin a dále 1., 2., částečně 14. a 28. den. Po jedné hodině je málo významný pokles, který je významnější 21. den.

U krys po 1sec. expozici je významně nižší hodnota pouze 1. den. Po 7. dni nastává prudký vzestup, vrcholící 14. den a udržující se téměř na stejné úrovni po celou dobu pozorování (tab. IV).

e) Vyzrávání buněk myeloidní řady:

U obou skupin krys se nedá uvažovat o poruchách granulopoézy, i když snad 4. a 7. den u skupiny krys po 4sec. expozici by tomu mohl alespoň částečně nasvědčovat (tab. V a VI).

f) Vyzrávání buněk erytroidní řady:

U krys po 4sec. expozici je možné uvést poněkud zvýšené množství nejzralejších forem, tj. normoblastů.

V. Vyzrávání buněk myeloidní a erytroidní řady u krys popálených při 4sec. expozici ($\bar{x} \cdot 10^3$) — absolutní hodnoty

Druh	1 h	6 h	1 d	2 d	4 d	7 d	10 d	14 d	21 d	28 d
Myeloblast	18,7	9,8	11,2	16,5	4,9	25,3	23,6	13,6	29,8	38,0
Promyelocyt	19,4	14,0	34,4	18,2	9,5	12,4	17,8	3,5	13,0	19,8
Myelocyt	165,6	180,0	209,5	294,5	107,8	143,9	341,3	245,7	196,3	291,5
Metamyelocyt	64,2	25,3	61,1	62,1	55,6	76,4	43,2	50,6	36,4	44,7
Tyč	145,7	54,2	97,4	56,1	48,1	190,5	150,6	32,0	50,0	61,0
Proerythroblast	11,4	3,3	—	3,5	7,8	7,0	8,5	10,5	5,2	9,5
Erythroblast	6,6	11,3	—	10,1	19,0	29,0	14,6	12,5	9,5	12,1
Normoblast	883,1	840,5	736,3	663,8	870,0	699,4	911,9	1040,7	940,8	741,4

Kontroly: Myeloblast — 21,2
 Promyelocyt — 11,9
 Myelocyt — 205,5
 Metamyelocyt — 63,3
 Tyč — 274,6
 Proerythroblast — 7,6
 Erythroblast — 8,6
 Normoblast — 738,0

U krys po 1sec. expozici nenalézáme změny (tab. V a VI).

g) Poměr myeloidní a erytroidní řady (M : E):

Tento poměr je vyjádřen v tab. VII. Vykazuje u krys po 4sec. expozici vcelku nižší hodnoty, kdežto u krys po 1sec. expozici jsou to spíše vyšší hodnoty.

VI. Vyzrávání buněk myeloidní a erytroidní řady u krys popálených při 1sec. expozici ($\bar{x} \cdot 10^3$) — absolutní hodnoty

Druh	1 h	6 h	1 d	2 d	4 d	7 d	10 d	14 d	21 d	28 d
Myeloblast	—	—	13,7	5,7	6,6	5,2	22,3	6,6	9,6	7,3
Promyelocyt	—	—	13,6	3,1	10,9	7,5	8,8	12,2	7,8	3,7
Myelocyt	—	—	132,0	135,9	100,3	125,0	620,9	161,8	145,9	159,1
Metamyelocyt	—	—	53,3	45,4	40,5	101,0	68,8	35,6	47,2	51,0
Tyč	—	—	434,2	740,2	325,8	339,5	145,3	185,8	358,1	203,6
Proerytroblast	—	—	4,6	5,8	5,1	8,2	5,8	4,0	17,6	4,9
Erytroblast	—	—	8,3	7,0	8,0	2,5	9,3	24,1	43,8	10,8
Normoblast	—	—	651,4	464,6	956,0	653,9	432,1	788,5	764,6	946,9

VII. Změna poměru myeloidních a erytroidních buněk kostní dřeně

	1 h	6 h	1 d	2 d	4 d	7 d	10 d	14 d	21 d	28 d
1sec. expozice	—	—	1,49	1,93	1,04	1,06	2,24	0,57	0,91	0,56
4sec. expozice	0,50	0,57	0,90	0,94	0,31	0,50	1,01	0,40	0,41	0,75
Kontrolní	1,02									

DISKUSE

Paralelně se změnami v periferní krvi jsme se snažili postihnout takové změny také v kostní dřeni a popřípadě je vzájemně uvést do korelace. Jako vhodné kritérium bylo stanovení absolutní buněčnosti kostní dřeně spolu s absolutními počty jednotlivých buněčných složek kostní dřeně.

Většinou se setkáváme s údaji zachycujícími relativní hodnoty myelogramu. Vedle histologických, izotopových a jiných metod, které lze použít při zjišťování dřevové buněčnosti, je zjišťování počtů dřevových elementů ve váhové jednotce kostní dřeně. Podobně jako u jiných zátěží, např. u ionizujícího záření (Arient 1965), jsme se snažili postihnout absolutní buněčnost kostní dřeně.

Z těchto našich nálezů vyplývá, že u krys po 4sec. expozici lze hovořit o nižších hodnotách takřka v celém průběhu vyjma 1. a 28. den a dále 14. den, kdy je zaznamenáno zvýšení. U skupiny krys po 1sec. expozici jde o určité snížení pouze 14. a 28. den.

Ve srovnání s normálními hodnotami uváděnými Arientem (1965), tj. 1 126 000, se pohybuje náš údaj okolo 1 600 000.

Důležité však je na základě tohoto zjištění absolutní buněčnosti kostní dřene posoudit i její důležité složky, jimiž jsou myeloidní a erytroidní řada a dřevné mononukleáry a také vzájemný vztah či poměr mezi oběma stěžejními složkami, tj. myeloidní a erytroidní. V neposlední řadě je to také zhodnocení vyzrávání buněk těchto dvou řad.

Pokud se týká změn absolutních hodnot v myeloidní řadě, dosažené hodnoty neukazují na poškození granulopoézy. Ani náznaky zachycené 4. a 7. den o tom nepřesvědčují. Zajímavá je jen otázka nižších hodnot po 4sec. expozici v celém průběhu sledování.

V erytroidní řadě sledovaných krys poněkud zvýšené absolutní počty především nejzralejších forem po 4sec. expozici ukazují, že nejde o poruchu v pravém slova smyslu, nýbrž spíše o určitou kompenzaci. Také lze uvažovat o možné stimulaci hemopoézy, jak se někdy uvádí při menších dávkách různých škodlivých nox (např. ionizující záření apod. — A r i e n t 1965).

Zajímavé je, že se uvádí absolutní zmnožení počtu dřevných mononukleárů u nižších a subletálních dávek pronikavé radiace jako dobré prognostické znamení (A r i e n t 1965). I když nechceme srovnávat tyto dvě jistě rozdílné zátěže, je toto zmnožení nápadné od 10. dne pozorování u krys po 1sec. expozici (lehčí popálenina).

Vyzrávání myeloidní řady nepoukazuje u obou skupin krys na nějaké poruchy granulopoézy. U erytroidní řady je to již zmíněné pravděpodobně kompenzační zmnožení nejzralejších forem (normoblastů) nebo stimulace dřevné činnosti.

M : E, čili poměr dřevných buněk myeloidní a erytroidní řady, ukazuje poněkud nižší hodnoty u krys po 4sec. expozici, což poukazuje na zmnožení podílu erytroidních buněk (zejména normoblastů).

Určitým zajímavým jevem je i ta skutečnost, že v literatuře o experimentálních popáleninách nám dostupné se autoři zabývali většinou jen odezvou v periferním krevním obraze. Kostní dřev či případně jiné hemopoetické orgány byly sledovány jen namnoze v souvislosti s použitím značených sloučenin apod. Chybí tedy i možnost náležitého srovnání.

Závěrem je nutné podotknout, že nejen periferní krevní obraz, ale také kostní dřev může být při popáleninách postižena určitými, namnoze i významnými změnami, které pomáhají objasnit závažnost popálení, prognostické aspekty a případné terapeutické zásahy.

Literatura

- ARIENT M., 1965, Vliv ionizačního záření na dřevnou krvetvorbu. SZdN.
BATCHELOR A. D. R., 1953–54, The control of extensive burns. Brit. J. Plast. Surg. 6 : 57.
JANEČEK J., 1968, Příspěvek k standardizaci modelových nekontaktních popálenin u krys. Kandidátská dizertační práce. Praha.
JANEČEK J., PROUZA Z., MOSEROVÁ J., KALOUSOVÁ V., 1973, Hematologické změny v periferní krvi při modelových nekontaktních popáleninách u krys. Vet. Med. (Praha) 4 : 259–268.
POSTNIKOV B. N., 1955, Moderne Behandlung thermischer Verbrennungen. Berlin, VEB Verlag Volk- und Gesundheit.

Došlo dne 22. 11. 1972

ЯНЕЧЕК И., ПРОУЗА З., МОЗЕРОВА Й., КАЛОУСОВА В. (Военный ветеринарный научно-исследовательский институт, Прага, Чехословакия). Гематологические изменения костного мозга при модельных неконтактных ожогах крыс. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 507-513, 1973.

На модели неконтактных ожогов крыс (см. I сообщение) изучали количественные и качественные изменения костного мозга в отношении клеточных элементов. При экспозиции 4 сек. клеточность сокращается в течение почти всего хода наблюдений; кроме того, несколько увеличивается количество, главным образом, самых зрелых форм эритроидного ряда.

абсолютная клеточность костного мозга; миелоидный ряд; эритроидный ряд; мононуклеары клетчатки; М; Е

JANEČEK J., PROUZA Z., MOSEROVÁ J., KALOUSOVÁ V. (Military Veterinary Research Institute, Praha, Clinic of Plastic Surgery of the Medical Faculty of Hygiene of Charles University, Praha, Czechoslovakia). *Hematological Changes in Bone Marrow in Model Non-Contact Burns in Rats*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 507-513, 1973.

Model non-contact burns were produced in rats (see communication I), to study the quantitative and qualitative changes in bone marrow, as to the cellular elements. The 4-second exposure reduced the cell rate almost throughout the study. Furthermore, this exposure time involves some increase in the number of, first of all, the ripest forms in the erythroidal series.

absolute cell rate of bone marrow; myeloid series; erythroid series; marrow mononuclears; M; E

JANEČEK J., PROUZA Z., MOSEROVÁ J., KALOUSOVÁ V. (Militär-Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Praha; Klinik für plastische Chirurgie der Medizinischen Fakultät der Karls-Universität, Praha, Tschechoslowakei). *Hämatologische Veränderungen im Knochenmark bei nichtkontakten Modellverbrennungen bei Ratten*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 507-513, 1973.

Bei der Untersuchung von nichtkontakten Modellverbrennungen bei Ratten (siehe I. Mitteilung) wurden quantitative und qualitative Veränderungen im Knochenmark mit Bezugnahme auf die Zellelemente verfolgt. Bei der 4 Sek.-Exposition zeigte sich eine herabgesetzte Zellulisation im ganzen Verlauf der Untersuchungen. Ferner können bei dieser Exposition etwas erhöhte Zahlen vor allem bei den reifsten Formen der erythroiden Reihe beobachtet werden.

Absoloute Zellulisation des Knochenmarks; myeloide Reihe; erythroide Reihe; mononukleäre Knochenmarkzellen; M; E

Adresy autorů:

MVDr. J. Janeček, CSc., RNDr. V. Kalousová, Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha, ing. Z. Prouza, Biofyzikální ústav UK, 120 00 Praha, MUDr. J. Moserová, Klinika plastické chirurgie LFH UK, 100 00 Praha

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Pokyny pro lektory

Počet vědeckých prací, které mají být publikovány v časopise VETERINÁRNÍ MEDICÍNA stále roste, ale v dohledné době nelze počítat s rozšířením stránkového rozsahu časopisu. Proto je nutno, aby lektori posuzovali nejen vědeckou úroveň a společenský význam práce, ale také jejich rozsah.

Od 1. 1. 1968 byla zavedena v časopise VETERINÁRNÍ MEDICÍNA nová grafická úprava článků, která má především umožnit, aby publikované práce mohly být evidovány těmi dokumentačními středisky a organizacemi, které používají strojné početní evidence. Nejde jen o formální, vnější úpravu, ale má se změnit i obsahová náplň článků.

Prosíme proto lektory, aby při posuzování prací přihlíželi hlavně k těmto okolnostem:

- Zda publikování práce bude přínosem pro zemědělskou vědu, zda přináší originální poznatky a jaké.
- Má-li článek členění požadované ve směrnících pro autory.
- Zda je v úvodu správně a co nejstručněji naryšován důvod a cíl práce.
- Bylo-li pro řešení úkolu použito správné metodiky a zda počet a rozsah pokusů a pozorování je dostačující k spolehlivým závěrům. Dále je nutno uvážit, zda je metodika tak originální, že je ji nutno popisovat, či zda postačí odkaz na původní pramen.
- Jsou-li správně hodnoceny výsledky pokusů a pozorování a vyvozeny správné výsledky pro praxi a další výzkum.
- Zda souhrn dostatečně přesně vyjadřuje obsah práce podle nových směrnic a není-li delší než 170 slov.
- Jsou-li klíčová slova vhodně volena a seřazena, zda opravdu vyjadřují obsah práce, zda jich není zbytečně mnoho a naopak zase tak málo, že k vyjádření obsahu práce nestačí.
- Je-li rozsah práce odůvodněn a zda jsou všechny v práci obsažené tabulky, grafy a ilustrační materiál nezbytně nutné k doložení závěrů.
- Zda je zachován přiměřený rozsah citované literatury. Autor má citovat jen literaturu, která se vztahuje k publikované práci a nikoliv veškerou literaturu, která je o tématu známa. V seznamu literatury na konci práce má uvést jen tu literaturu, na niž se v textu článku odvolává.
- Je-li uváděna podle pokynů pro autory a zkratky časopisů podle World Medical Periodicals WMA New York 1961 nebo List of serial Publications regularly scanned by the Commonwealth Bureau of Animal Health, January 1967. Soupis zkratk názvů periodik zpracovávala u nás H. Kašpárková a vydal VÚVL v Brně.

Pokud dojde lektor k názoru, že práce může být bez újmy na vědeckém obsahu zkrácena, a to i pod limit pokyny určený (8–10 stran se všemi přílohami), prosíme, aby pokyny ke zkrácení byly co nejkonkrétnější.

ZMĚNY V ENZYMATICKÉM VYBAVENÍ ABSORPČNÍCH BUNĚK TENKÉHO STŘEVA U MORČAT OZÁŘENÝCH CELOTĚLOVĚ Co^{60}

P. Otoupal, Z. Lojda, J. Hrušovský

Vojenský veterinární výzkumný ústav, Praha

1. Hlavňv patologicko-anatomický ústav, FVL UK, Praha

OTOUPAL P., LOJDA Z., HRUŠOVSKÝ J. *Změny v enzymatickém vybavení absorpčních buněk tenkého střeva u morčat ozářených celotělově Co^{60}* . Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 515-521, 1973.

V enterocytech různých úseků tenkého střeva morčat starých tři a půl a dvanáct měsíců, ozářených celotělově Co^{60} dávkou 260 R (dávkou nižší než LD 50/30), byly sledovány histochemicky alkalická a kyselá fosfatáza, leucyl- β -naftylamidáza, sacharáza, trehaláza, nespecifická esteráza, α -glycerolfosfátdehydrogenáza a sukcinátdehydrogenáza. Tenké střevo bylo vyšetřováno 6 a 12 hodin, 1., 3., 5. a 8. den po ozáření. U nespecifické esterázy, kyselé fosfatázy a částečně u sukcinátdehydrogenázy a α -glycerolfosfátdehydrogenázy byl zjištěn pokles aktivity už 12 hodin po ozáření. U disacharidáz a leucyl- β -naftylamidázy bylo však pozorováno po 12 hodin přechodné zvýšení aktivit. K obrazu shodnému s kontrolní skupinou došlo u všech sledovaných enzymů 3. až 5. den. Enterocyty v různých úsecích tenkého střeva reagovaly obdobně. Pokud je v enzymatickém vybavení vyjádřen proximodistální gradient, zůstal po ozáření zachován. Změny u mladších zvířat nastupovaly rychleji než u zvířat starších. Výsledky ukazují, že digestivní a metabolická kapacita enterocytů je změněna už během prvních tří dnů po ozáření dávkami nižšími než LD 50/30.

nemoc z ozáření; tenké střevo; enterocyty; histochemie; enzymy; rozdíly stáří; morčata

Po prvních radiobiologických pracích, zabývajících se úlohou poškozeného živáčního aparátu v postiradiačním syndromu (Bloom 1948, Quastler a kol. 1951, 1956, Osborne 1956, Bon 1963), se výzkum v této oblasti zaměřil v posledních letech také na posouzení resorpční schopnosti sliznice pro proteiny, cukry, tuky, léky a jiné látky. V této souvislosti byla věnována také pozornost enzymatickým aktivitám enterocytů.

Podrobnější studii na tenkém střevě krysy a morčat ozářených dávkou 1200 R provedli Ansari, Eder a Nägele (1963), kteří sledovali adenosintrifosfatázu, β -glukuronidázu, monoaminoxidázu a cholinesterázu. Zjistili, že u většiny enzymů dochází krátce po ozáření k poklesu aktivity, kromě β -glukuronidázy, kde byl patrný mírný vzestup. Po 48 hodinách došlo u všech enzymů k výraznému poklesu jejich aktivity. K podobným závěrům dospěli také Spiro a Pearse (1964) při studiu histochemických změn na duodenu ozářených myši.

Ve většině prací věnovaných studiu postiradiačního poškození tenkého střeva histochemickými metodami bylo použito k ozáření pokusných zvířat dávek vyšších než je LD 50/30, většinou tak vysokých, že byl vyvolán syndrom střevní smrti. Zde je nutno uvést, že při použití těchto vysokých dávek dochází už k rozsáhlým dystrofickým změnám na epitelální výstelce tenkého střeva, které jsou patrné také při běžném vyšetření. Je tedy logické, že musí být poškozeno i enzymatické vybavení enterocytu. Z hlediska vysvětlení změn střevní funkce po ozáření i malými dávkami

pronikavé radiace (Bond 1969) je důležité sledování enzymů střevní sliznice v časných obdobích po expozici.

Literární údaje o změnách enzymů enterocytů po ozáření nižšími dávkami nejsou úplné.

Kosmider a kol. (1964) našli u morčat ozářených dávkou 400 R změny v aktivitě enzymů (alkalické fosfatázy, ATP-ázy, NADH₂-tetrazoliumreduktázy, sukcinátdehydrogenázy) hlavně od 4. dne. Walther a kol. (1968) pozorovali na skupině krys ozářených dávkou 650 R u sukcinátdehydrogenázy a malátdehydrogenázy zřetelný vzestup aktivity v epitelu tenkého střeva po 24 hodinách, kdežto třetí den po ozáření došlo už k poklesu aktivit. Galjaard a kol. (1970) zjistili, že nízké dávky x záření (50–400 R) nevyvolávají u krys změny v aktivitách aminopeptidázy, fosfatázy a různých dehydrogenáz v prvním období po ozáření, kdežto u nespecifické esterázy zjistili po 36 hodinách výrazný pokles.

Vztahu stáří pokusných zvířat ke změnám aktivity enzymů tenkého střeva po ozáření si všiml Brodskij a Nikolajeva (1969). U krys ve stáří 3–9 týdnů použili dávky 500 R a sledovali za týden po ozáření alkalickou fosfatázu a sukcinátdehydrogenázu. Vyšetřovali tři různé úseky tenkého střeva a u krys starších tří týdnů pozorovali nejvýraznější pokles aktivity alkalické fosfatázy v prvním a druhém úseku. U stejně starých zvířat byla snížena aktivita sukcinátdehydrogenázy ve všech třech úsecích, zatímco u zvířat starších 5–6 týdnů nebylo snížení aktivity výrazné.

V této práci, která navazuje na naši dřívější publikaci (Otoupal, Kunstýř 1969) se zabýváme histochemickým sledováním aktivit některých enzymů, které mají význam pro posouzení funkční zdatnosti enterocytů (Lojda a kol. 1970) v různých úsecích tenkého střeva různě starých morčat po celotělovém ozáření dávkou nižší než LD 50/30.

MATERIÁL A METODY

K pokusu bylo použito mladších morčat samčího pohlaví stáří tři a půl měsíce, průměrné váhy 380 g (290–480 g) a skupiny starších zvířat stáří jednoho roku, průměrné váhy 660 g (560–730 g). Morčata ve skupinách po pěti jedincích obou věkových skupin byla exponována a utrácena společně po pěti. Jako kontrol bylo použito šesti zvířat ze starší a devíti zvířat z mladší skupiny.

Ozařovací podmínky: V ozařovacím zařízení Co⁶⁰ se dvěma zářiči v každé stěně ozařovacího prostoru bylo umístěno komůrkové rotující zařízení se zvířaty. Expozice byla 260 R při expoziční rychlosti 11,4 R za minutu, která byla štanovena skleněnými a termoluminiscenčními lithiumfluoridovými dozimetry.

Zvířata byla utrácena v intervalech 6 a 12 hodin, 1, 3, 5 a 8 dní po ozáření v éterovém oblužení vykrvením z podpažního cévního pletence. Vzorky z duodena, jejunu a ilea byly zmrazeny proudem CO₂ a zpracovány v kryostatu bezprostředně po zabíjení. Rezy byly přeneseny na nevychlazená podložní sklíčka a nechaly roztát a uschnout.

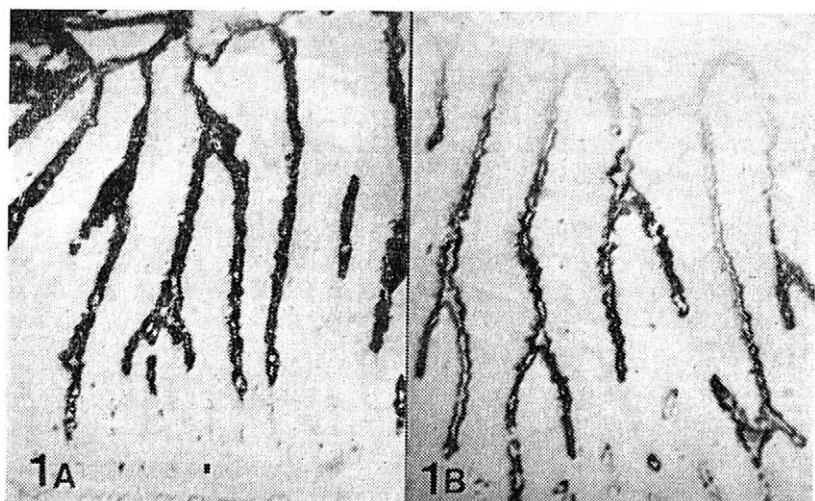
Na řezech byly prováděny reakce na enzymy kartáčového lemu (alkalickou fosfatázu, leucyl- β -naftylamidázu, sacharázu, trehalázu) a z lysosomálních enzymů byla sledována kyselá fosfatáza. Stav endoplazmatického retikula byl sledován reakcí na nespecifickou esterázu. Z mitochondriálních enzymů byly sledovány α -glycerolfosfátdehydrogenáza a sukcinátdehydrogenáza. Všechny reakce byly dělány v modifikacích nebo metodách podle Lojdy (Lojda a Papoušek 1970).

VÝSLEDKY

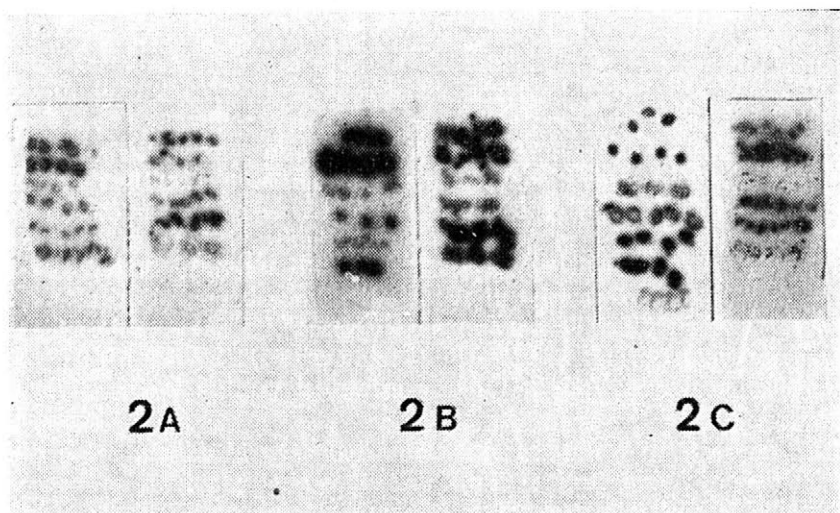
Alkalická fosfatáza: Změny aktivity byly nalezeny v kartáčovém lemu enterocytů. U starších morčat byl pozorován pokles 24 hodiny po ozáření (nejzřetelnější snížení aktivity bylo patrné v jejunu, obr. 1b). U skupiny mladších zvířat bylo snížení aktivity patrné většinou již po 12 hodinách. U zvířat obou skupin utrácených třetí den po ozáření jsme našli ve srovnání se skupinou zabitou dříve aktivitu o něco vyšší (avšak nižší než u kontrol). Pátý den už nebyl patrný proti kontrolní skupině žádný rozdíl.

Leucyl- β -naftylamidáza: V aktivitě, lokalizované v kartáčovém lemu diferencovaných enterocytů, byly zjištěny po ozáření změny poněkud odlišné od alkalické fosfatázy v tom, že 12 hodin po ozáření byla aktivita u starších morčat ve všech úsecích tenkého střeva zvýšená, 24 hodiny po ozáření klesla a třetí den dosáhla stupně kontrolních zvířat. U mladších morčat byl trend aktivit podobný.

Průběh změn aktivit sacharázy a trehalázy se nelišil. U obou enzymů byl patrný vzestup aktivit v prvním údobí po ozáření, vyjádřený nejmarkantněji po 12 hodinách (obr. 2). V dalším období došlo k poklesu aktivit



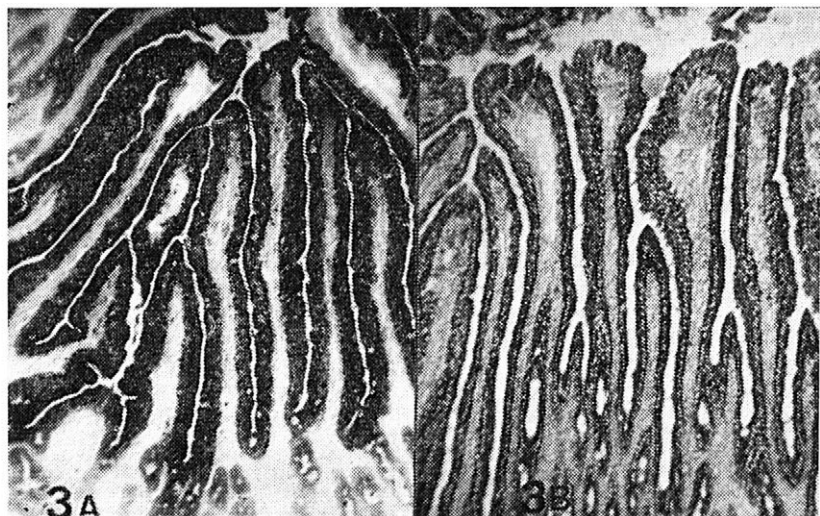
1. Průkaz alkalické fosfatázy u skupiny starších morčat v jejunu: A) neozářená kontrola, B) pokles aktivity za 24 hodiny po expozici (zvětšení 160 $\times$)



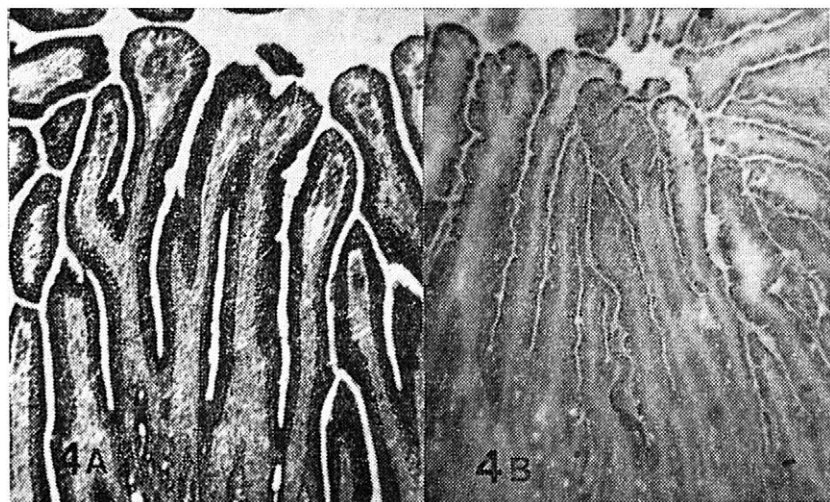
2 Průkaz trehalázy: A) kontrolní skupina starších morčat, B) vzestup aktivity 12 hodin po ozáření starší skupiny, C) vzestup aktivity poněkud menší u mladší skupiny, (makrosnímek kryostatových řezů na podložním skle)

a 3. až 5. den byly aktivity obou disacharidáz na úrovni kontrolní skupiny. Proximodistální gradient (nejvyšší aktivity v proximálním jejunu, nejnižší v ileu) zůstal při těchto změnách zachován. U mladších morčat bylo vyrovnání aktivit rychlejší.

Kyselá fosfatáza: Na kryostatových řezech není patrná ostrá lysosomální lokalizace. Zbarvení apikální cytoplazmy entrocytů je difúzní s akcentací v oblasti lysosomů. U ozářených zvířat byl zaznamenán mírný pokles aktivity u některých starších morčat 24 hodiny po ozáření. U mladších zvířat byl pozorován pokles aktivity jen ve dvou případech. K vyrovnání aktivity došlo třetí den po expozici.



3. Průkaz nespecifické esterázy u mladší skupiny morčat v jejunu: A) neozářená kontrola, B) pokles aktivity za 24 hod. po expozici (zvětšení 160X)



4. Průkaz sukcinátdehydrogenázy v jejunu mladších morčat: A) neozářená kontrola, B) výrazný pokles aktivity enzymu 12 hod. po expozici (zvětšení 160X)

Nespecifická esteráza má v enterocytech vysokou aktivitu na bocích a hrotu klků a nižší aktivitu v kryptách. Proximodistální gradient v aktivitě tohoto enzymu nebyl u sledovaných morčat příliš vyznačen. U obou skupin bylo pozorováno u většiny morčat snížení aktivity v intervalu 24 hodiny po expozici v celém průběhu tenkého střeva (obr. 3b). Zvýšení aktivity na úroveň nálezu u kontrolní skupiny bylo pozorováno třetí den po ozáření a v dalších intervalech nebyly už nalezeny podstatnější odchylky.

Sukcinátdehydrogenáza a α -glycerolfosfátdehydrogenáza jsou lokalizovány v mitochondriích enterocytů s maximem v apikální části a při bázi buňky. Aktivity nevykazují v jednotlivých úsecích střeva podstatnější rozdíly. U ozářených starších morčat nebyly pozorovány v aktivitě enzymů významnější změny, i když u některých zvířat došlo ke snížení aktivity v prvních intervalech po ozáření. U skupiny mladších morčat byl zaznamenán u většiny zvířat za 12 a 24 hodiny po ozáření pokles aktivity v celém průběhu tenkého střeva (obr. 4b). V dalším intervalu, tj. třetí den po ozáření, nebyly již patrné významnější rozdíly ve srovnání s nálezy u kontrolních zvířat.

DISKUSE

V této práci jsme se zaměřili na sledování enterocytů, které hrají při procesu absorpce hlavní úlohu. Studovali jsme zatím jen některé enzymy.

Z výsledků vyplývá, že aplikace dávky nižší než LD 50/30 ovlivní enzymatické aktivity v těchto buňkách už v časných stadiích po ozáření. Změny jsme našli i v některých aktivitách enzymů kartáčového lemu. Za zajímavé pokládáme zjištění, že aktivity disacharidáz a leucyl- β -naftylamidázy se po ozáření přechodně zvyšují a teprve v dalším údobí klesají na původní hodnotu. V žádném případě jsme však nenašli snížení aktivity disacharidáz. Jakým mechanismem k tomuto zvýšení dochází a jak se toto zvýšení projeví *in vivo* si nedovedeme zatím vysvětlit. Je to předmětem našeho dalšího studia. U alkalické fosfatázy jsme naopak zaznamenali přechodný pokles aktivity. Ve své dřívější práci (Otoupal a Kunstýř 1969) jsme obdobný pokles aktivity našli u prasat. V této souvislosti uvádíme, že Galjaard a kol. (1970) nenašli u krys žádné změny v aktivitě tohoto enzymu. K vysvětlení této diskrepance je třeba dalšího studia.

Dalším zajímavým zjištěním je pokles aktivity nespecifické esterázy, který byl patrný už po 12 hodinách. Rovněž u prasat byl pokles aktivity tohoto enzymu markantní (Otoupal a Kunstýř 1969). Galjaard a kol. (1970) zaznamenali výrazný pokles aktivity nespecifické esterázy také u krys.

V aktivitě sledovaných dehydrogenáz jsme podstatnější změny nezjistili, pouze u některých zvířat byl zaznamenán přechodný pokles. To je ve shodě s údaji Galjaarda a kol. (1970).

K úpravě všech aktivit enzymů došlo v našich pokusných podmínkách mezi 3. až 5. dnem. Předpokládáme, že v této době je už epiteliální výstelka tvořena novou buněčnou populací. Enterocyty v různých úsecích tenkého střeva reagovaly obdobně. Pokud je v aktivitách enzymů patrný proximodistální gradient, zůstává při změnách aktivit zachován.

Tato práce je pouze začátkem systematického sledování, kterým se v korelaci s biochemickými a fyziologickými nálezy snažíme o vysvětlení změn v tenkém střevě po ozáření, a proto upustíme od diskuse vztahu změněných aktivit k funkci.

Literatura

- ANSARI P. M., EDER H., NÄGELE W., 1963, Histochemische Untersuchungen über den Einfluss von Co^{60} -Gammastrahlen auf einige Fermente der Darmwand bei Ratte und Meerschweinchen. *Strahlentherapie* 120 : 275-296.
- BLOOM W., 1948, *Histopathology of irradiation from external and internal sources*. Mc Graw Hill, New York, Toronto, London.
- BOND V. P., 1963, Effects of radiation on intestinal absorption. *Am. J. Physiol.* 12 : 194-204.
- BOND V. P., 1969, The gastrointestinal syndrome. In: BOND V. P., SUGAHARA T., Comparative cellular and species radiosensitivity. Igaku Shoin, Tokyo : 235-243.
- BRODSKIJ R. A., NIKOLAJEVA N. N., 1969, Изменение активности фосфатазы и сукцинатдегидрогеназы в слизистой оболочке тонкой кишки при лучевых поражениях в раннем онтогенезе. *Med. Radiol. (Moskva)* 14 : 81-82.
- GALJAARD H., BUYS M., van DUUREN M., GIESEN J., 1970, Quantitative histochemical study of intestinal mucosa after x-irradiation. *J. Histochem. Cytochem.* 18 : 291-301.
- KOSMIDER S., JONEK J., KAISER J., 1964, Untersuchungen über Verteilung und Aktivität einiger Enzyme der Dünndarmschleimhaut in verschiedenen Stadien akuter Strahlenkrankheit. *Strahlentherapie* 124 : 261-269.
- LOJDA Z., FRÍČ P., JODL J., CHMELÍK V., 1970, Cytochemistry of the human jejunal mucosa in the norm and in malabsorption syndrome. *C. T. Pathol.* 52 : 1-63.
- LOJDA Z., PAPOUŠEK F., 1970, Základy histochemického průkazu enzymů. Ústav pro doškolování středních zdravotnických pracovníků, Brno.
- OSBORNE J. W., 1956, Prevention of intestinal irradiation death by removal of the irradiated intestine. *Rad. Res.* 4 : 541-546.
- OTOUPAL P., KUNSTÝR I., 1969, K některým histochemickým změnám v tenkém střevě po ozáření. *Sborník Čs. společnosti histo- a cytochemické* 3 : 359-365.
- QUASTLER H., LANZL E. F., KELLER M. E., OSBORNE J. W., 1951, Acute intestinal radiation death. *Am. J. Physiol.* 164 : 546-556.
- QUASTLER H., 1956, The nature of intestinal radiation death. *Radiat. Res.* 4 : 303-320.
- SPIRO H. M., PEARSE A. G. E., 1964, A histochemical analysis of the effect of irradiation on murine duodenal mucosa. *J. Path. Bact.* 88 : 55-60.
- WALTHER G., SCHMIDT K. J., LADNER H. A., 1968, Das histochemische Verhalten der Isocitrat-, Succinat-, und Malatdehydrogenase sowie der Cytochromoxydase in Rattenorganen nach Ganzkörperbestrahlung. *Strahlentherapie* 136 : 500-507.

Došlo dne 21. 9. 1972

ОТОУПАЛ П., ЛОЙДА З., ГРУШОВСКИ Й. (Военный ветер. научно-исследовательский институт, I. Патолого-анатомический институт, Прага, Чехословакия). Изменения энзиматического содержания абсорбционных клеток тонкой кишки у морских свинок, облученных по всему телу Co^{60} . *Vet. Med. (Praha)* 18 (8) : 515-521, 1973.

В энтероцитах разных участков тонкой кишки морских свинок в возрасте три с половиной и 12 месяцев, облученных по всему телу Co^{60} дозой 260 Р (менее, чем доза LD 50/30), гистохимическим путем изучали щелочную и кислую фосфатазы, лейцил- β -нафтиламидазу, сахаразу, трепалазу, неспецифическую эстеразу, α -глицерофосфатдегидрогеназу. Тонкую кишку исследовали в течение 6 и 12 час. на 1-й, 3-й, 5-й и 8-й дни после облучения. Что касается неспецифической эстеразы, кислой фосфатазы, а частично также сукцинатдегидрогеназы и α -глицеролфосфатдегидрогеназы, их активность понизилась уже спустя 12 час. после облучения. Наоборот, спустя 12 час. активность дисахаридазы и лейцил- β -нафтиламидазы временно усилилась. Подобная контрольной группе картина имела место на 3-5-й день у всех ферментов. Схожей была и реакция энтероцитов в разных участках тонкой кишки. Проксимодистальный градиент после облучения сохранялся в энзиматическом содержании (поскольку он там существовал). Молодые животные подвергались изменениям быстрее, чем старые. Данные показывают, что пищеварительная и метаболическая емкости энтероцитов изменяются уже в течение первых 3 дней после облучения дозами менее LD 50/30.

лучевая болезнь; тонкая кишка; энтероциты; гистохимия; ферменты; возрастные различия; морские свинки

OTOUPAL P., LOJDA Z., HRUŠOVSKÝ J. (Military Veterinary Research Institute, I. Hlava's Institute of Pathological Anatomy, Praha, Czechoslovakia). *Changes in the Enzymatic Equipment of the Absorption Cells of the Small Intestine in Guinea Pigs after Whole Body Irradiation*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 515-521, 1973.

The enterocytes of different parts of the small intestine of guinea pigs, old three and a half and twelve months and irradiated with the dose of 260 R (dose lower than 50/30) of Co^{60} all over their bodies, were examined histochemically for alkaline and acid phosphatase, leucyl- β -naphthylamidase, sucrase, trehalase, non-specific esterase, α -glycerolphosphatdehydrogenase and succinate-dehydrogenase. The small intestine was examined 6 and 12 hours, 1, 3, 5 and 8 days after irradiation. It was already 12 hours after irradiation that an activity drop was observed in non-specific esterase, acid phosphatase and — partially — in succinatdehydrogenase and α -glycerolphosphat-dehydrogenase. On the other hand, disaccharidases and leucyl- β -naphthylamidase showed a temporary activity increase after 12 hours. The third to fifth day the activities returned to the levels of the control group. Within the enterocytes in different parts of the small intestine reacted in a similar way. Where the proximo-distal gradient was present in the enzymatic equipment, it remained the same after irradiation. In the younger animals the changes occurred more quickly than in older guinea pigs. The results show that the digestive and metabolic capacity of enterocytes is already changed in the course of the first three days after irradiation with doses lower than LD 50/30.

irradiation disease; small intestine; enterocytes; histochemistry; enzymes; differences in age; guinea pigs

OTOUPAL P., LOJDA Z., HRUŠOVSKÝ J. (Militär-Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Praha; I. Pathologisch-Anatomisches Institut, Praha, Tschechoslowakei). *Veränderungen der enzymatischen Ausgestaltung der Absorptionszellen des Dünndarms bei ganzkörperlich durch Co^{60} bestrahlten Meerschweinchen*. Vet. Med. (Praha) 18 (8) : 515-521, 1973.

In den Enterozyten der einzelnen Abschnitte des Dünndarms von dreienhalb und 12 Monate alten Meerschweinchen, die ganzkörperlich durch Co^{60} mit einer Dosis von 260 r (kleinere Dosis als LD_{50/30}) bestrahlt wurden, wurden histochemisch die alkalische und saure Phosphatase, Leucyl- β -Naphthylamidase, Saccharase, Trehalase, nichtspezifische Esterase, α -Glycerolphosphat-Dehydrogenase und Succinat-Dehydrogenase verfolgt. Der Dünndarm wurde 6 und 12 Stunden, den 1., 3., 5. und 8. Tag nach der Bestrahlung untersucht. Bei der nichtspezifischen Esterase, der sauren Phosphatase und teilweise auch bei der Succinat-Dehydrogenase und α -Glycerolphosphat-Dehydrogenase wurde eine Aktivitätsabnahme bereits 12 Stunden nach der Bestrahlung verzeichnet. Bei den Disaccharidasen und der Leucyl- β -Naphthylamidase wurde jedoch nach 12 Stunden eine vorübergehende Aktivitätserhöhung beobachtet. Ein Zustand, der dem der Kontrollgruppe gleich, wurde bei allen verfolgten Enzymen am 3. bis 5. Tag erreicht. Die Enterozyten in den einzelnen Dünndarmabschnitten reagierten auf ähnliche Weise. Insofern in der enzymatischen Ausgestaltung ein proximo-distaler Gradient ausgedrückt ist, blieb er nach der Bestrahlung erhalten. Die Veränderungen trafen bei jüngeren Tieren schneller ein als bei den älteren. Resultate erwiesen, daß die digestive und metabolische Kapazität der Enterozyten schon im Verlaufe der ersten 3 Tage nach einer Bestrahlung mit Dosen, die kleiner als LD_{50/30} sind, geändert ist.

Strahlenkrankheit; Dünndarm; Enterozyten; Histochemie; Enzyme; Altersunterschiede; Meerschweinchen

Adresy autorů:

MVDr. P. Otopal, CSc., doc. MVDr. J. Hrušovský, CSc., Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha
Prof. MUDr. Z. Lojda, DrSc., 1. Hlavův patologicko-anatomický ústav FVL UK, 120 00 Praha 2, Studničkova 2

POKYNY PRO AUTORY

Od 1. 1. 1968 byla zavedena nová úprava článků, které mají být publikovány v časopise Veterinární medicína.

Tato nová úprava je příspěvkem k současné snaze o mezinárodní normalizaci a má umožnit, aby časopis pronikl do dokumentačního materiálu velkých mezinárodních agentur a organizací, které používají systémů strojové evidence.

Zůstává zásadou, že přednostně budou publikovány práce prioritní, vědeckého charakteru, přinášející výsledky použitelné v zemědělské praxi.

Aby nová úprava přinesla ten výsledek, který od ní očekáváme, je třeba, aby autoři přesně dodržovali tyto pokyny:

Jednotlivé práce nemají mít větší rozsah než 8–10 stran na stroji se všemi přílohami. Autoři nechť se vyvarují nadměrného množství tabulek a používají raději grafy.

Technická úprava rukopisu

Úprava rukopisu má odpovídat státní normě ČSN 880220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojité mezery). Ilustrace, grafy, tabulky a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na zadní straně se vyznačí tužkou pořadové číslo obrázku nebo grafu a napíše se jméno autora článku. Texty k obrázkům a grafům se dodávají na zvláštním listě, umístění se označuje na levém okraji příslušné strany rukopisu číslicí v kroužku. Tabulky se číslovají zvlášť římskými číslicemi.

Vlastní úprava práce

Název práce (titul) nemá přesahovat 85 úhozů. Je nutno vyvarovat se v názvu obecných frází jako: Studie o . . . Příspěvek k . . . Pokus o . . . Každý zaslaný článek musí být samostatnou prací, nemohou být publikovány články na pokračování, označené např.: Studie o . . . I., II., III., atd., stejně tak jsou vyloučeny podtitulky článků.

Jména autorů se uvádějí bez titulů s počátečním písmenem křest. jména.

Souhrn

Vypracování souhrnu je nutno věnovat obzvláštní péči. Autor do něho má shrnout vše, co je na jeho práci pozoruhodné a nové a co má být dokumentováno. Souhrn má být nekritickým informačním výběrem významného obsahu a závěru článku, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, nemá ji však nahradit. Nesmí překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl psán celými větami a ne telegrafickým způsobem. Souhrn začíná jménem autorů, titulem článku a citací: Vet. Med. (Praha) 000 (000): 000-000, 1973. Místa označená nulami doplní na kompletní citaci při korektuře redakce.

Souhrn má obsahovat:

Jméno studovaného organismu či jiného předmětu studie.
Materiál, způsob jeho použití nebo aplikace, hlavní nálezy a výsledky.
Nové techniky, jejich použití a kvality.
Nové přístroje a způsoby jejich použití.
Nová nebo ověřená data trvalé hodnoty (např. absorpční spektra, počty chromosomů, konstanty, naměřené fyziologické hodnoty atd.).
Nové teorie, interpretace výsledků a jejich případné využití.

Klíčová slova (Key words, index terms)

Pod souhrn je nutno po vynechání řádky připojit klíčová slova. Ta mají sloužit:

- a) K rychlé orientaci čtenáře (jakýsi „zkrácený referát“). Nestačí-li pouhá jednotlivá slova, je možné použít i složených výrazů, popř. i stručné věty.
- b) Při zařazování práce do kartotéky.
- c) K rychlému uspořádání věcného rejstříku na konci roku.

Pod tímto zorným úhlem je nutné klíčová slova psát. Pojmy obsažené v titulu článku se zpravidla již nezařazují.

Klíčových slov by nemělo být méně než 3 a více než 12. Začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Uvod

Úvod má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce uskutečněna a velmi stručnou formou stav studované otázky. Je nutno se v něm vyhnout rozsáhlým historickým přehledům. Uvádí se bez nadpisu, je možno v něm uvést k práci se vztahující autory, doporučuje se co nejnižší počet (4–8 autorů).

Materiál a metody

Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní, jinak postačuje citovat autora metod a uvádět jen případné odchylky. Je v nich popsán pokusný materiál včetně údajů o zvířatech. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoli z odborníků mohl podle něho a při použití uvedených citací práci opakovat.

Výsledky

Doporučuje se nepoužívat k vyjádření kvantitativních stavů tabulek a dát přednost grafům, anebo tabulky shrnout v statistickém hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse

Obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostacích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, kteří mají k publikované práci bližší vztah), pokud mají souvislost nebo jsou s předloženou prací nějak srovnatelné.

Poděkování

Uvádí se, je-li to nutné, stručné poděkování (jedna až dvě věty), např.: Za technickou spolupráci, Za pomoc při statistickém zpracování, Za poskytnutí méně běžného léčiva apod.

Literatura

V textu práce se při citaci uvede jméno autora a rok publikování. Do seznamu se zařadí zpravidla jen práce citované v textu článku, a to podle abecedy, bez číslování, každá citace na novém řádku. Je-li více prací od téhož autora ve stejném roce, přidá se k letopočtu označení a, b, c.

Zkratky názvů časopisů je třeba bezpodmínečně dodržovat podle publikace World Medical Periodicals WMA, New York, 1961, nebo podle List of serial Publications regularly scanned by the Commonwealth Bureau of Animal Health, January 1967. Soupis zkratk názvů periodik zpracovala u nás H. Kašpárková a vydal VÚVL v Brně.

Citace časopisu:

Jméno, zkratka křestního jména, letopočet, název článku, zkratka časopisu, ročník, stránky.

Citace knihy:

Jméno, zkratka křestního jména, letopočet, název knihy, vydavatel, stránky.

K práci je nutno připojit tři exempláře souhrnu na zvláštním listu navíc jako podklad pro cizojazyčné souhrny.

Pokud autor používá v práci zkratk jakéhokoliv druhu, je nutno, aby byly alespoň jednou vypsány, aby se předešlo omylům při překladech. V názvu práce a v souhrnu je lépe zkratk neužívat.

Na zvláštním listě uvede autor akademický titul, křestní jméno, jméno, vědeckou hodnost, název a adresu pracoviště, jméno vedoucího pracoviště.

K práci je nutno dále připojit souhlas vedoucího pracoviště s publikací článku a prohlášení, že ji autor nezaslal ani v jiném znění jinému časopisu ani v ČSSR, ani v zahraničí.

REDAKČNÍ RADA ČASOPISU VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rukopis odevzdán k tisku 28. 5. 1973 — Podepsáno k tisku 28. 10. 1973

OBSAH

Slanina L., Lehočský J., Sokol J., Rosival I., Burdová O.: Pufrácia kŕmnej dávky montmorillonitom (bentonitom) u prežúvavcov v experimentálnych podmienkach	465
Kabelík V., Horyna B., Bratršovský J.: Kultivace viru infekční bovinní rhinotracheitidy — infekční pustulární vulvovaginitidy skotu na stabilní linii epitelu telecích ledvin	475
Horyna B.: Využití otiskových preparátů v imunofluorescenční diagnostice virové gastroenteritidy prasat	485
Časnocha E., Salaj J.: Detekcia precipitačného antigénu v koži a perí hydiny so zreteľom na diagnostiku Markovej choroby	491
Dobšínská E., Lehký F.: Vliv transportu jako stressového faktoru na krevní obraz psa — německého ovčáka	499
Janeček J., Prouza Z., Moserová J., Kalousová V.: Hematologické změny v kostní dřeni při modelových nekontaktních popáleninách u krys	507
Otoupal P., Lojda Z., Hrušovský J.: Změny v enzymatickém vybavení absorpčních buněk tenkého střeva u morčat ozářených celotělově Co ⁶⁰	515

СОДЕРЖАНИЕ

Сланина Л., Легоцки Я., Сокол Й., Росивал И., Бурдова О.: Буферация кормового рациона монтмориллонитом (бентонитом) у жвачных в экспериментальных условиях	427
Кабелик В., Горина Б., Братршовски Я.: Культивирование вирусов инфекционного бычьего ринотрахеита — инфекционного пустулезного вульвовагинита крупного рогатого скота (IBR-IPV) на стабильные линии эпителия телячьих почек (ТП 72)	484
Горына Б.: Использование препаратов с отпечатками в иммунофлуоресцентной диагностике вирусного гастроэнтерита свиней	488
Часноха Э., Салай Й.: Детекция преципитационного антигена в коже и перьях домашней птицы с учетом диагностики болезни Марека	497
Добшинска Э., Легки Ф.: Влияние транспорта, как стрессового фактора, на анализ крови у собак — немецкой овчарки	504
Янечек Й., Проуза З., Мозерова Й., Калусова В.: Гематологические изменения костного мозга при модельных неконтактных ожогах крыс	513
Отоупал П., Лойда З., Грушовски Й.: Изменения энзиматического содержания абсорбционных клеток тонкой кишки у морских свинок, облученный по всему телу Co ⁶⁰	520

CONTENT

Slanina L., Lehočský J., Sokol J., Rosival I., Burdová O.: Buffering of Feed Ration with Montmorillonite (Bentonite) in Ruminants under Experimental Condition	473
Kabelík V., Horyna B., Bratršovský J.: The Cultivation of the Virus of Infectious Bovine Rhinotracheitis — Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV) in a Stable Line of Calf Kidney Epithelium	484
Horyna B.: The Use of Imprint Preparations in the Immunofluorescent Diagnosis of Virus Gastroenteritis in Pigs	489
Casnocha E., Salaj J.: The Detection of the Precipitation Antigen in Poultry Skin and Feathers with Respect to the Diagnosis of Marek's Disease	497
Dobšínská E., Lehký F.: The Effect of Transportation as a Stress Factor on the Blood Picture of the Dog - German Shepherd Dog	505
Janeček J., Prouza Z., Moserová J., Kalousová V.: Hematological Changes in Bone Marrow in Model Non-Contact Burns in Rats	513
Otoupal P., Lojda Z., Hrušovský J.: Changes in the Enzymatic Equipment of the Absorption Cells of the Small Intestine in Guinea Pigs after Whole Body Irradiation	521

Slanina L., Lehotský J., Sokol J., Rosival I., Burdová O.: Puffern der Futterration mit Montmorillonit (Bentonit) bei Wiederkäuern unter Versuchsbedingungen	473
Kabelík V., Horyna B., Bratršovský J.: Kultivation des Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis — infektiösen pustularen Vulvovaginitis der Rinder (IBR-IPV) auf der stabilen Epithellinie der Kalbsnieren (TL 71)	484
Horyna B.: Ausnutzung von Abdruckpräparaten in der Immunofluoreszenz-Diagnostik der Schweine Virusgastroenteritis	489
Casnocha E., Salaj J.: Detektion des Präzipitationsantigens in der Haut und im Gefieder des Geflügels mit Hinsicht auf die Diagnostik der Marekschen Geflügellähme	498
Dobšínská E., Lehký F.: Einfluß des Transportes als Streßfaktors auf das Blutbild des Deutschen Schäferhundes	505
Janeček J., Prouza Z., Moserová J., Kalousová V.: Hämatologische Veränderungen im Knochenmark bei nichtkontakten Modellverbrennungen bei Ratten	513
Otoupal P., Lojda Z., Hrušovský J.: Veränderungen der enzymatischen Ausgestaltung der Absorptionszellen des Dünndarms bei ganzkörperlich durch Co ⁶⁰ bestrahlten Meerschweinchen	521

TABLE DES MATIÈRES

Slanina L., Lehotský J., Sokol J., Rosival I., Burdová O.: Tamponnement de la ration alimentaire par la montmorillonite (bentonite) chez les ruminants dans les conditions expérimentales (res. An, Al/473)	
Kabelík V., Horyna B., Bratršovský J.: Culture du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine — de la vulvo-vaginite pustulée infectieuse des bovins sur la ligne stable de l'épithélium des reins de veau (res. An, Al/484)	
Horyna B.: Utilisation des préparations d'empreintes pour le diagnostic d'immunofluorescence de la gastro-intérite à virus des porcs (res. An, Al/489)	
Casnocha E., Salaj J.: Détection de l'antigène de précipitation dans la peau et les plumes de la volaille en regard du diagnostic de la maladie de Marek (res. An/497, Al/498)	
Dobšínská E., Lehký F.: Influence du transport en tant que facteur de stress, sur la formule sanguine du chien — berger allemand (505)	
Janeček J., Prouza Z., Moserová J., Kalousová V.: Altérations hématologiques dans la moelle osseuse provoquées par les brûlures modèles sans contact des rats (res. An, Al/513)	
Otoupal P., Lojda Z., Hrušovský J.: Changements de la teneur enzymatique des cellules d'absorption de l'intestin grêle des cobayes irradiés sur la totalité du corps par Co ⁶⁰ (res. An, Al/521)	